



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

***EVALUACIÓN CONCEPTUAL DEL PROCESO  
PARA LA OBTENCIÓN DEL FACTOR DE  
TRANSFERENCIA***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**P R E S E N T A :  
GUILLERMO ITZAMNA PLATAS JIMENEZ**



MEXICO DF

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

***JURADO ASIGNADO:***

**Presidente:** JOSE ANTONIO ORTIZ RAMIREZ.  
**Vocal:** RODOLFO PASTELIN PALACIOS.  
**Secretario:** EZEQUIEL MILLAN VELASCO.  
**1er suplente:** CONSTANTINO III ROBERTO LOPEZ MACIAS.  
**2do suplente:** JORGE FERNANDO PANIAGUA SOLIS.

Sitio donde se desarrolló el tema:

**Facultad de Química, UNAM**

---

M. en I. José Antonio Ortiz Ramírez  
Asesor del tema

---

Guillermo Itzamná Platas Jiménez  
Sustentante

## DEDICATORIAS

*A mi familia:*

*Por su apoyo, compañía y cariño brindado siempre y en cada momento de mi vida, siempre impulsándome a seguir adelante y nunca dejarme solo. ¡Muchas Gracias!*

*A mi tía Nena y tío Salvador:*

*Por sus consejos, cariño y motivación que me dieron a lo largo de mi vida y todos mis estudios; siempre procurando mí excito personal y profesional. Les agradezco enormemente por el apoyo dado, los quiero mucho.*

*A mi tía Toto:*

*Por tu cariño, amistad, comprensión y apoyo que me ha dado en cada etapa y momento de mi vida. Gracias a tu apoyo he seguido adelante aprendiendo a vivir y disfrutar de mi vida y aprender de mis errores. TQM*

*A Luis:*

*Por tu gran amistad, cariño y enorme apoyo que me has brindado en todos los años de mi vida. Tú eres para mí una persona especial, mi mejor amigo y un hermano. Gracias por siempre apoyarme, acompañarme y compartir grandes momentos de mi vida.*

*A grupo JANDI:*

*Por ser un grupo donde pudiera aprender muchas cosas como persona, por compartir grandes momentos de mi vida y permitir realizarme personalmente para bien de todos y de DIOS.*

*A Ceci:*

*Por tu apoyo, amistad, cariño y entusiasmo para siempre seguir adelante, compartiendo muchos momentos y consejos, por motivarme a crecer como persona y siempre dándome tu gran amistad; así como compartiendo tu experiencia.*

*A Carlos:*

*Por enseñarme a siempre dar lo mejor, para lograr nuestros propósitos y siempre seguir adelante. Gracias por tu amistad, por compartir muchos momentos y sobre todo por tu apoyo en cada instante.*

*A Omar:*

*Por enseñarme a ser una persona humana, sencilla y alegre. Gracias por tu amistad, por acompañarme siempre, por ser un gran amigo, por tu apoyo y entusiasmo.*

*A Pedro:*

*Por ser un gran amigo, demostrarme y darme tu apoyo, amistad y ser un ejemplo para seguir logrando alcanzar un éxito profesional y personal.*

*A Salvador:*

*Por dedicar y compartir muchos momentos, experiencias y alegrías; por ser un gran amigo y demostrarme que se puede aprender en todo momento grandes experiencias, sin importa la edad; también por enseñarme a ser una persona decidida y coherente en lo que uno quiere. ¡Gracias brother! ¡¡Ehhh Shiiii!!!*

*A Jorge:*

*Por tu gran amistad, apoyo, comprensión y por cada consejo dado para seguir creciendo como persona y amigo. Gracias por tu apoyo y cariño, también enseñarme a siempre buscar lo mejor en cada una actividades que yo realice.*

*A Paco:*

*Gracias a ti, por tu gran amistad incondicional, por tu sencillez y entusiasmo a seguir adelante. Me has enseñado a ser fuerte y no darme por vencido ante cualquier circunstancia. Pero sobre todo a ser un gran amigo en todo momento.*

***En especial dedicatoria a mi Madre:***

***Por dar en todo y en cada momento su tiempo, esfuerzo, sufrimiento, alegría y cariño a mí. Gracias a ti, es este logro y éxito en mi vida; aprecio y agradezco de todo corazón, por siempre hacer todo lo imposible por sacarme adelante ante todas las dificultades y deficiencias. Este éxito y logro es solo para ti. No hay palabras para agradecerte todo esto. Quiero que sepas simplemente que te doy gracias por cada momento que me has brindado y por siempre estar a mi lado. Te amo mucho. ¡Gracias Mamá!***

**INDICE**

INDICE	1
RESUMEN	2
OBJETIVOS	3
INTRODUCCION	4
CAPITULO 1: CARACTERISTICAS DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA	7
1.1 Estructura y propiedades químicas	7
1.2 Funciones y atributos del Factor de Transferencia	15
CAPITULO 2: OBTENCION DE FACTOR DE TRASFERENCIA A PARTIR DEL ROMPIMIENTO LEUCOCITARIO	16
2.1 Factor de transferencia por método de Extracto Leucocitario (EL)	16
2.2 Inmunización de sujetos	17
2.3 Proceso de obtención por rompimiento leucocitario	17
2.4 Método mejorado de extracto leucocitario	20
CAPITULO 3: OBTENCION DE FACTOR DE TRASFERENCIA A PARTIR DEL HUEVOS DE AVES	24
3.1 Método no mamífero de producción de factor de transferencia	24
3.2 Inmunización de las aves para un antígeno específico	24
3.3 Proceso de obtención a partir de los huevos de las aves	25
CAPITULO 4: OBTENCION DE FACTOR DE TRASFERENCIA A PARTIR DEL CALOSTRO	29
4.1 Preparación de calostro para un antígeno específico	29
4.2 Proceso de obtención a partir del calostro	30
4.3 Factor de transferencia de células calostrales	30
4.4 Balance de producción para los procesos de obtención de Factor de Transferencia	38
CAPITULO 5: ESTIMACIÓN DEL CONSUMO DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA Y DIMENSIONES DEL MERCADO	39
5.1 Balance de producción para los procesos de obtención de Factor de Transferencia	39
5.2 Estimación del mercado consumidor del factor de transferencia	41
5.3 Datos estimados de producción de factor de transferencia	45
5.3.1 Recursos necesarios y producción de factor de transferencia por medio de calostro	45
5.3.2 Recursos necesarios y producción de factor de transferencia por medio de huevos de gallina	47
5.3.3 Comparación de los Recursos necesarios y de Producción de Factor de Transferencia de los dos procesos.	48
5.4 Precios y ventas estimadas anuales por factor de transferencia	50
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFIA	57
ANEXOS	58

## RESUMEN

En la presente tesis se realiza una evaluación conceptual de los procesos existentes para la producción de Factor de Transferencia, desde el punto de vista de ingeniería química

El Factor de Transferencia es una sustancia compuesta de proteínas con capacidad de dar y transmitir inmunidad para un antígeno específico; ya sea bacterias, hongos, virus, parásitos u otros. El factor de transferencia son moléculas similares a los anticuerpos producidos por el sistema inmune; pero con pesos moleculares más bajos, con capacidad de inducir, y dar respuesta inmunitaria, así como atacar a infecciones y enfermedades por medio de su información que transmite a las células del sistema inmune.

En esta tesis se presentarán tres de los principales procesos para obtención del factor de transferencia para cualquier antígeno específico. Estos tres principales métodos de obtención son: Rompimiento leucocitario, extracción de huevos de aves inmunizadas y extracción de calostro de mamíferos en lactancia.

En la presente tesis, se describe cada método, se habla de sus características, así como la evaluación pertinente de dicho proceso. Así como una evaluación en un enfoque de producto dirigido a un sector de la población, el cual puede consumirlo obteniendo un beneficio.

Este tema fue seleccionado dada la trascendencia y el impacto social que tendrá en los próximos años y constituye una evaluación preliminar que permita visualizar la posibilidad de producirlo a gran escala y bajo costo.

## OBJETIVOS

- Desarrollar el tema a cerca de Factor de Transferencia, describir sus cualidades, atributos y características específicas.
- Realizar una evaluación conceptual de los procesos existentes para la producción de Factor de Transferencia, desde el punto de vista de ingeniería química
- Describir y conocer la cantidad estimada de Factor de Transferencia por obtener para cada método de producción
- Estimar la cantidad de Factor de Transferencia posible para cada método descrito; así como también, el posible mercado consumidor de Factor de Transferencia y la producción requerida para satisfacerla, considerando cada uno de los procesos descritos.
- Estimar los posibles costos y ventas del Factor de Transferencia por el mercado propuesto para cada proceso de obtención, comparándolo con los mercados existentes.

## INTRODUCCIÓN

El Factor de Transferencia representa uno de los avances más importantes para la salud y el sistema inmune. Ha sido definido como un material dializable o familia de materiales que pueden ser extraídas de células linfoides de humanos y otros ciertos animales y tienen la capacidad de transferir respuestas inmunes de un individuo a otro, y entre especies. Este material es una sustancia obtenida de los leucocitos usualmente lisados, de humanos u otros vertebrados que han sido sensibilizados para expresar hipersensibilidad de tipo retrasado o respuestas inmunes mediadas por células para un antígeno.

Los Factores de transferencia son pequeñas moléculas de proteínas, los cuales son producidos por las células inmunes llamadas células T. Estos están basados en el fundamento de la información clave inmune que puede ser transferida de una célula a otra. Estas células pueden después enseñar a nuestro sistema inmune para mejorar la defensa de nuestra salud. Debido a que el sistema inmune está diseñado para reconocer y defender al cuerpo de invasiones de organismos patógenos, así como de parásitos, bacterias, hongos y virus. El sistema inmune típicamente incluye un componente celular un componente no celular (Inmunología celular e inmunología humoral).

El Factor de Transferencia continúa a educar al sistema inmunitario a través de la vida y puede compartirse entre diferentes especies. Esto significa que los sistemas inmunitarios pueden beneficiarse grandemente de Factor de Transferencia que viene de fuentes de animales, tal como vacas y gallinas.

A fines de la década del 40, mientras estudiaba la tuberculosis, el Dr. H. Sherwood Lawrence determinó que una sustancia en un extracto de leucocitos (glóbulos blancos) tomada de un individuo que se había recuperado de la Tuberculosis podía transferirle a un receptor que no había sido infectado todavía una respuesta inmunitaria positiva a la tuberculosis. En 1949 llegó a la conclusión

de que el extracto contenía un factor capaz de transferir la inmunidad del donante a cualquier receptor. Lawrence denominó esta sustancia como “Factor de Transferencia”. En 1955 Lawrence describió el Factor de transferencia en dicho extracto leucocitario obtenido mediante diálisis. Si bien es cierto que no lo pudo aislar como un producto puro, ya que en dicho extracto existía una gran cantidad de pequeñas biomoléculas con alguna actividad biológica, si pudo establecer la propiedad de transferir la experiencia inmunológica de un donador ante un antígeno en especial a un receptor que no había estado en contacto previo con dicho antígeno. Sherwoold usó como modelo experimental la respuesta de la intradermorreacción al PPD (Proteína purificada derivada del M. tuberculosis), en la cual los sujetos negativos a dicha prueba respondían, es decir, se volvían positivos. Dicha actividad biológica se obtenía de productos con un peso molecular menor a 10 kDa, lo cual se lograba gracias a la técnica de la diálisis.

Poco después de los hallazgos del Dr. Lawrence, los investigadores comprendieron que los animales ofrecían una fuente efectiva y económica de moléculas de Factores de Transferencia. Los investigadores han llevado a cabo numerosos estudios para explorar la seguridad y efectividad de los factores de transferencia, y cientos de artículos científicos se han publicado, que documentan los beneficios de los factores de transferencia para la salud inmunitaria global así como también para enfermedades específicas.

A pesar del tiempo transcurrido a la fecha el método sigue siendo empleado por diversos investigadores, quizá, porque sus propósitos estén centrados en la investigación de los efectos del extracto dializable sobre la respuesta inmune, ante diversos padecimientos. Sin embargo, algunos autores como el mismo Lawrence en 1956; Baram y Mosko 1962; Baram en 1966; Gottlieb en 1973, intentaron purificarlo por cromatografía líquida de baja presión, electroforesis y métodos enzimáticos y lograron establecer que el extracto dializable leucocitario posee una fracción peptídica y una fracción correspondiente a un ácido nucleico. Burger en

1979, gracias a este cúmulo de información y sus propios trabajos, propone un modelo molecular bastante aproximado.

Vandenbrak y Cols. En 1977 usando ultrafiltración por cromatografía en un gel aunado a isoelectroenfoque y HPLC, logró purificar parcialmente los oligopéptidos del dializado de leucocitos humanos lisados. Kirkpatrick y Rozzo. En 1992, publican una metodología para la purificación del extracto dializable leucocitario, usando una combinación de cromatografía de afinidad, fase reversa y HPLC, obteniendo el producto el cual fue estudiado por electroforesis en gel de poliacrilamida y SDS, comprobando actividad biológica.

Además de estos investigadores, se han sumado muchos más, para el estudio e investigación del factor de transferencia y sus aplicaciones en el área inmunológica. El aislamiento y caracterización sustancialmente de un material de factor de transferencia puro ha sido investigado por una gran comunidad de investigadores por más de treinta años. Muchos de estos investigadores, proponiendo nuevos métodos de obtención y de purificación de dicho material; extrayéndolos por ejemplo, de fuentes mamíferas (Por leche o calostro) y fuentes no mamíferas (Por huevos de aves inmunizadas). También métodos de purificación de dicho material. Además se han dedicado al estudio de sus aplicaciones y la efectividad en la actividad biológica de dicho material.

En la actualidad, el calostro de la vaca o la cabra (la leche que una madre produce justo después del parto) y los huevos de la gallina son reconocidos como las fuentes polivalentes más comunes debido a su eficacia, abundancia y a los aspectos económicos. Los factores de transferencia o las extracciones de los factores de transferencia se siguen obteniendo de la sangre así como también del cultivo in vitro. Sin embargo, estas fuentes son normalmente antígeno específicas y se reservan para fines de investigación debido a la carencia de fondos y disponibilidad.

## **CAPITULO I**

### **CARACTERISTICAS DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA**

#### 1.1 ESTRUCTURA Y PROPIEDADES QUÍMICAS

Los Factores de Transferencia tienen bajos pesos moleculares, aislados de los linfocitos principalmente. Los Factores de Transferencia son proteínas con longitudes de alrededor cuarenta y cuatro (44) aminoácidos. Típicamente son moléculas que tienen un peso molecular en el rango de 3'000 a 5'000 Daltons (Da) ó 3 kDa a 5 kDa, pero puede ser posible se encuentren pesos moleculares fuera de este rango.

Las moléculas de Factor de Transferencia son hidrofílicas (solubles en agua) y polares en su forma nativa. Además las actividades de las moléculas de factor de transferencia sobreviven a temperaturas de 56°C pero no a 75°C por 30 min y exposiciones menos breves a 95% de etanol. La naturaleza de las moléculas del factor de transferencia aun no es muy bien conocida. Son resistentes a deoxiribonucleasas, ribonucleasas y digestión de tripsina, además poseen un pico cromatográfico mostrando mejores absorbancias de 260 nm a 280 nm.

Gottlieb postuló que el factor de transferencia consiste en 12 aminoácidos y un oligonucleótido. Muchos reportan altas notas de 254/260 nm a 280 nm de absorbancia. La actividad del factor de transferencia es descrita como un polipéptido y es sensible a la proteasa.

Se cree que contienen proteínas y ARN (ácido ribonucleico), pero no ADN (ácido desoxirribonucleico). El hecho de que sean pequeños, hace que no ocasionen alergias y permite que conserven su máxima eficacia.

Previos resultados de investigadores en factores de transferencia de humanos, burros y ovejas indican que son tres formas diferentes de estructuras del factor de transferencia, cada una con sección para un antígeno específico.

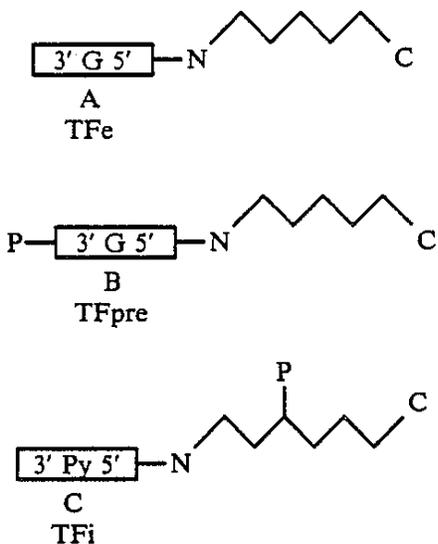
Dos de estas tres formas son intracelulares o de la superficie de los linfocitos, una tercera forma de factor de transferencia es secretada o liberada por la células inmunológicas.

Una de las formas es el factor de transferencia excretado (TFe), este es liberado de las células que contienen factor de transferencia y puede ser recolectado de los fluidos extracelulares. La segunda forma es el factor de transferencia pre-excretado (TFpre) se produce dentro de la célula o sobre la superficie de esta y se cree que es liberado, con unas pequeñas modificaciones estructurales que el TFe. La tercera forma es el factor de transferencia interno (TFi), es también encontrado dentro de la célula o sobre la superficie, este no es liberado; y se cree que es diferente en estructura que los otros dos.

El factor de transferencia excretado (TFe) específico para un antígeno puede ser obtenido por la recolección por material secretado; por ejemplo, el calostro o leche secretado por las glándulas mamarias de un adecuado mamífero en lactancia bajo condiciones adecuadas tal que materiales que interfieran con la eficacia de la actividad del factor de transferencia, sean removidas así obteniendo el factor de transferencia. El calostro es una fuente rica de factor de transferencia.

Las relaciones estructurales (modelos simples que en forma presenta datos que no se consideran estructuras detalladas que excluirían otras estructuras moleculares son aun desconocidos) pueden ser deducidos.

Una representación de la de estas tres estructuras de factor de transferencia se muestra en las siguientes figuras. Cabe señalar que no son estructuras detalladas ni exactas, solo formas deducidas por las pruebas experimentales realizadas antes.



Donde:



Representa una fracción de oligoribonucleótido en el cual las instrucciones 3' (2') y 5' son indicadas por 3' y 5', respectivamente, N representa un número pequeño desconocido de 25 ribonucleótidos en el cual el TFe y TFpre tienen como mínimo una purina interna posiblemente es guanósina (G) y el TFi tiene como mínimo una pirimidina interna (Py). P representa un fosfato externo sensible para remover por la fosfatasa.



Re presenta un parte de un péptido en cual el amino y el carboxil, son representados por la N y C respectivamente. La unión del péptido y el oligoribonucleótido es desconocida y los modelos presentados son para ser interpretados solo como modelos de demostración no para excluir otras secciones de moléculas que eventualmente podrían confirmarse estar parte de la estructura molecular del factor de transferencia.

Hay tres formas básicas de las estructuras moleculares con actividad de factor de transferencia presentados en la figura anterior. La estructura A tiene una guanosina interna y no tiene un fosfato en su extremo 2', 3'. La estructura B tiene una purina interna posiblemente sea guanosina y tiene un fosfato en su extremo 2', 3'. La estructura C tiene una pirimidina interna y no tiene fosfato en su extremo 2', 3'; pero este tiene un fosfato sensible para remover por fosfatasa alcalino bacterial, posiblemente atacado para su mitad del péptido.

La estructura A (TFe) es encontrada en el suero calostroal y es la forma de factor de transferencia liberado por las células cuando estas son incubadas. Las estructuras B y C (TFpre y TFi) son encontradas dentro de la célula o sobre la superficie celular. Las tres partes del factor de transferencia representadas por las estructuras A, B y C son capaces de dar inmunidad mediada por células. La estructura B tiene movilidad en celulosa TLC (Metanol:HCl:H<sub>2</sub>O/70:20:10) aproximadamente similar a la de guanosina, mientras que las estructuras A y C tienen movilidad aproximadamente similar a la uridina 2' (3') monofosfato.

La actividad positiva del Factor de Transferencia ha sido estudiada y medida para un mejor manejo y comprensión de dicha sustancia; ya sea para un uso general o para la acción contra un antígeno específico. La Tabla 1.1 Muestra la inactividad para TFe, TFpre y TFi en varios ambientes y degradaciones enzimáticas, se observa que en algunas de estas degradaciones pierde su actividad y en otras no.

La unidad de medición de la actividad de Factor de Transferencia es definida como la cantidad de muestra contenedora de factor de transferencia (expresado en el número de equivalentes de células mononucleares (ce) a partir de la cual este se deriva) requerida para producir una respuesta de hinchazón media-máxima en la planta de pie de un ratón, y donde el factor de transferencia aislado es capaz de transferir inmunidad de tipo retrasado por mediación de células de un individuo no inmune.

**Tabla 1.1** : Estudios de Inactividad enzimática en la Actividad de FT

	Enzima	Actividad		
		A (Tfe)	B (TFpre)	C (Tfi)
1	PI nucleasa	-	-	-
2	TI RNasa	-	-	+
3	RNasa A	+	+	-
4	Fosfodiesterasa de ser- piente de veneno (SV)	-	+	-
5	Fosfatasa bacterial alca- lina (BA)	+	+	-
6	SA + BAP	-	-	-
7	Fosfatasa ácido (AP)	+	+	-
8	Fosfodiesterasa de bazo (SP)	+	+	+
9	AP + SP	+	+	-
10	Pronasa	-	-	-
11	Carboxipeptidasa A Leucin amino	-	-	-
12	peptidasa	+	+	+

La degradación de la actividad después de un tratamiento por encimas está indicado por (-) mientras que ningún efecto producido en la actividad por las enzimas está indicado por (+). Tabla tomada de Wilson et. al.

El Factor de Transferencia, preferiblemente debe tener una actividad específica mínima de 5'000 unidades de actividad de factor de transferencia por unidad de absorbancia de 214 nm. Aunque, se busca que la actividad específica sea mínimo de 10'000 unidades por AU<sub>214</sub>. Sin embargo, el más preferido, de actividad específica sea entre 20'000 a 60'000 unidades por AU<sub>214</sub>. El factor de transferencia sustancialmente puro es un polipeptido con un peso molecular de aproximadamente 4'900 a 5'500 Daltons y que puede transferir inmunidad de tipo retrasado por células mediadoras a individuo no inmune.

La actividad específica es definida en términos de la actividad de factor de transferencia por unidad de absorbancia de 214 nm. Esta medición de actividad específica fue desarrollada porque porciones sustancialmente de las muestras

habrían sido requeridos para hacer determinaciones convencionales de proteínas, y porque absorbancias de longitud de ondas cortas de luz UV es aceptada, medios no destructivos de el sistema para la detección de péptidos y proteínas. El desarrollo de estos sistemas para la actividad relativa del factor de transferencia para ser monitoreada totalmente en el proceso de purificación.

## 1.2 FUNCIONES Y ATRIBUTOS DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA

Los Factores de Transferencia son moléculas naturales y microscópicas que residen en los cuerpos de todos los animales. Son mensajeros que transmiten la información inmunitaria sobre la presencia de una amenaza al sistema inmunitario, ya sea externa o interna, y sobre cómo responder adecuadamente, de célula inmunitaria a célula inmunitaria.

Los Factores de Transferencia almacenan "fotografías químicas" de virus, bacterias, hongos y parásitos. Estos, puede ser usados para dar inmunidad contra enfermedades asociadas con un antígeno específico. Es conocido que los Factores de Transferencia pueden estimular o transferir inmunidad mediada por células contra ciertas enfermedades en humanos y otros animales, esta transferencia puede ser dada entre especies. Es también conocido, que son específicos para un antígeno dado el cual la fuente animal o humana estuvo expuesta antes o fue inmunizado de dicho antígeno.

Se cree que los Factores de Transferencia pueden ser obtenidos de la memoria de los linfocitos T y liberados por estas células que lo contienen dentro del medio ambiente extracelular. También se cree que solo funcionan en las células T con una actividad correspondiente para un antígeno específico. En la cual participa en la activación de la célula T a través de una unión específica del factor de transferencia con un antígeno. Son liberados por estimulación de las células T dentro del medio ambiente extracelular, donde se unen a una molécula

receptora de factor de transferencia sobre la superficie de una célula T sencilla cercana.

Unen a los antígenos homólogos y tiene la capacidad de transferir hipersensibilidad de tipo retrasado o respuesta inmune mediada por células de un individuo a otro. Estos son más pequeños que los anticuerpos, y no transfieren respuestas mediadas por anticuerpos, ni ellos inducen la producción de anticuerpos.

Enseñan al sistema inmunitario a discernir entre agentes externos favorables y perjudiciales en el cuerpo y a recordar los agentes a los que se enfrentó el cuerpo en ocasiones anteriores. Brindan las claves genéticas que su cuerpo necesita para descubrir cómo resolver el problema. Activan el sistema de respuesta innato del cuerpo, los linfocitos citolíticos naturales (NK) que trabaja para restaurar y respaldar la salud y el balance.

Los Factores de Transferencia son producidos por los linfocitos con inmunidad celular. Transportan la inmunidad celular antígeno específica del linfocito fuente (hipersensibilidad retardada) a los linfocitos no sensibilizados, o vírgenes. También pueden incrementar la actividad de estimulación inmunitaria no antígeno específica de los linfocitos receptores.

Se ha demostrado que transmiten la información inmunitaria (reconocimiento de los agentes patógenos y respuesta inmunitaria adecuada) a través de tres fracciones funcionales. Cada uno de los cuales puede incluir diferentes tipos de moléculas de factor de transferencia estas tres fracciones son: Una fracción inductora; una fracción inmunosupresora; y una fracción para el antígeno específico.

Muchos creen también que el factor de transferencia tiene una parte de nucleótidos; el cual, está podría ser parte de las fracciones inductoras o supresoras del factor de transferencia.

*La fracción inductora* favorece un estado de rapidez en la acción del sistema inmune. Permite que los factores de transferencia respalden la respuesta inmunitaria de adaptación a las infecciones virales, parásitos, malignidades, enfermedades bacterianas y mico bacterianas, infecciones por hongos, trastornos auto inmunes y enfermedades neurológicas. Este factor puede transferir una respuesta inmunitaria en menos de 24 horas y reducir significativamente o eliminar los síntomas de la enfermedad.

*La fracción supresora* es responsable de controlar la respuesta inmune que pueden dar lugar a desórdenes autoinmunes. Evita que el sistema inmunitario reaccione en forma excesiva, por ejemplo al polen y a otros cuerpos extraños, así como también a sí mismo como es el caso del trastorno auto inmune.

Tanto la fracción inductora como la supresora no son específicas de cada especie y son universalmente efectivos.

*La fracción antigénica específica* es un "archivo" de identificación de enemigos del sistema inmune y es específica de cada especie. Transporta etiquetas que son vitales para que el sistema inmunitario identifique los microbios y las células extrañas; y se cree que tiene alrededor de ocho (8) a doce (12) aminoácidos.

Los Factores de Transferencia se encuentran incluso en los sistemas inmunitarios más primitivos. De por sí, los factores inductores y supresores de los factores de transferencia son universales y pueden transferir la inmunidad, atravesando la barrera de las especies. En consecuencia, los factores de transferencia de una vaca pueden dotar de inmunidad a una persona. El factor antigénico específico puede transferir inmunidad entre especies cuando existe una coincidencia entre los agentes patógenos antigénico específicos, como ser en la viruela y la vaccinia, la Escherichia Coli, etc.

Se han realizado numerosos estudios en personas con afecciones distintas, al ser tratados con Factores de Transferencia, han obtenido beneficios en aliviar, disminuir o eliminar sus afecciones o síntomas. Numerosos estudios han demostrado la efectividad de los factores de transferencia al eliminar o aliviar síntomas de herpes, del síndrome de fatiga crónica, de la enfermedad de Epstein Barr (mononucleosis infecciosa), de la hepatitis, de la sobre infección causada por el SIDA, de la candida, del cáncer y de muchos otros trastornos. Los estudios también han demostrado que su uso continuo provee mayor beneficio con una máxima actividad inmunitaria 24 a 48 horas luego de la primera dosis. Por lo que La inmunidad para un antígeno específico puede ser detectado en tan solo pocas horas después de la administración del factor de transferencia.

La forma más común de recibir el Factor de Transferencia es por medio inyectable el cual es similar a las vacunas. Pero, en lugar de exponer el sistema inmunitario del paciente a la enfermedad real o a una versión neutralizada de la misma, los factores de transferencia exponen el sistema inmunitario del paciente a la memoria de una amenaza a la salud, ya sea externa o propia, y al conocimiento de cómo responder mejor para protegerse a sí mismo.

## **CAPITULO II**

### **OBTENCIÓN DE FACTOR DE TRANSFERENCIA A PARTIR DEL EXTRACTO LEUCOCITARIO**

#### **2.1 FACTOR DE TRANSFERENCIA POR METODO DE EXTRACTO LEUCOCITARIO (EL)**

Uno de los principales y más usados métodos para obtener factor de transferencia para reforzamiento del sistema inmune o para acción contra un antígeno en específico es el método de Extracto Leucocitario (EL)

Este método consiste en la extracción de leucocitos de una fuente sanguínea mamífera, que pueden ser ratones, conejos, puercos o sangre humana. El cual con una cantidad de sangre extraída, se somete a un procedimiento para separar los leucocitos que son la fuente principal del Factor de Transferencia.

Una vez extraídos estos leucocitos son sometidos a un rompimiento para extraer la mayor cantidad de Factor de Transferencia que se encuentran dentro de ellos ó sobre la membrana de su superficie exterior e interior. Ya que lisados (sometidos a un rompimiento), se someten a procesos físicos de separación y purificación, para así obtener el Factor de Transferencia.

Este método es el más usado por los investigadores y algunos laboratorios de venta de este producto; gran parte de estos investigadores usa este método, ya que es el método donde se puede obtener más cantidad de Factor de Transferencia, usando la sangre de ratones o la humana que son las fuentes más comunes.

## 2.2 INMUNIZACIÓN DE LOS INDIVIDUOS PARA UN ANTIGENO ESPECÍFICO

Si se requiere de Factor de Transferencia para un cierto antígeno específico primero y previamente a la recolección de sangre. El mamífero o la persona el cual será extraída su sangre, deberá ser inmunizado para en antígeno deseado; con cualquier método conocido, ya sea con vacunas y sus respectivos refuerzos, una inmunización alternativa o contacto directo. A su vez deberá ser tratado y ser cuidado dependiendo los riesgos que pueda haber en la inmunización o el periodo necesario en que se lleve a cabo.

Es recomendable que transcurran tres o cuatro semanas después de la inmunización o último refuerzo de la vacuna para dicho propósito, o bien hacer estudios y pruebas conocidos en el área, para comprobar y reconocer que se ha inmunizado por completo al individuo para dicho antígeno específico

## 2.3 PROCESO DE OBTENCIÓN A PARTIR EXTRACTO LEUCOCITARIO

La sangre extraída de cualquier animal vertebrado o persona al que fue inmunizado antes con el antígeno específico deseado, será preparada en una suspensión de células simple por un método de forzamiento suave con el paso a través de una pantalla de malla 60 de alambre de acero inoxidable estéril. Siguiendo a esto, las células serán lavadas tres veces con HBSS (Hank's balanced salt solution). Para la evaluación de la calidad, se puede tomar una alícuota para el conteo de las células mononucleares usando Trypan Blue con el método vital de exclusión de colorante (Exclusión dye). La viabilidad global generalmente será mejor de 90%.

Después del lavado, las células serán suspendidas en agua purificada estéril y se llevaran a un rompimiento de las células por medio de repeticiones de Congelación-Descongelación con baños de hielo seco-etanol y baños de agua a

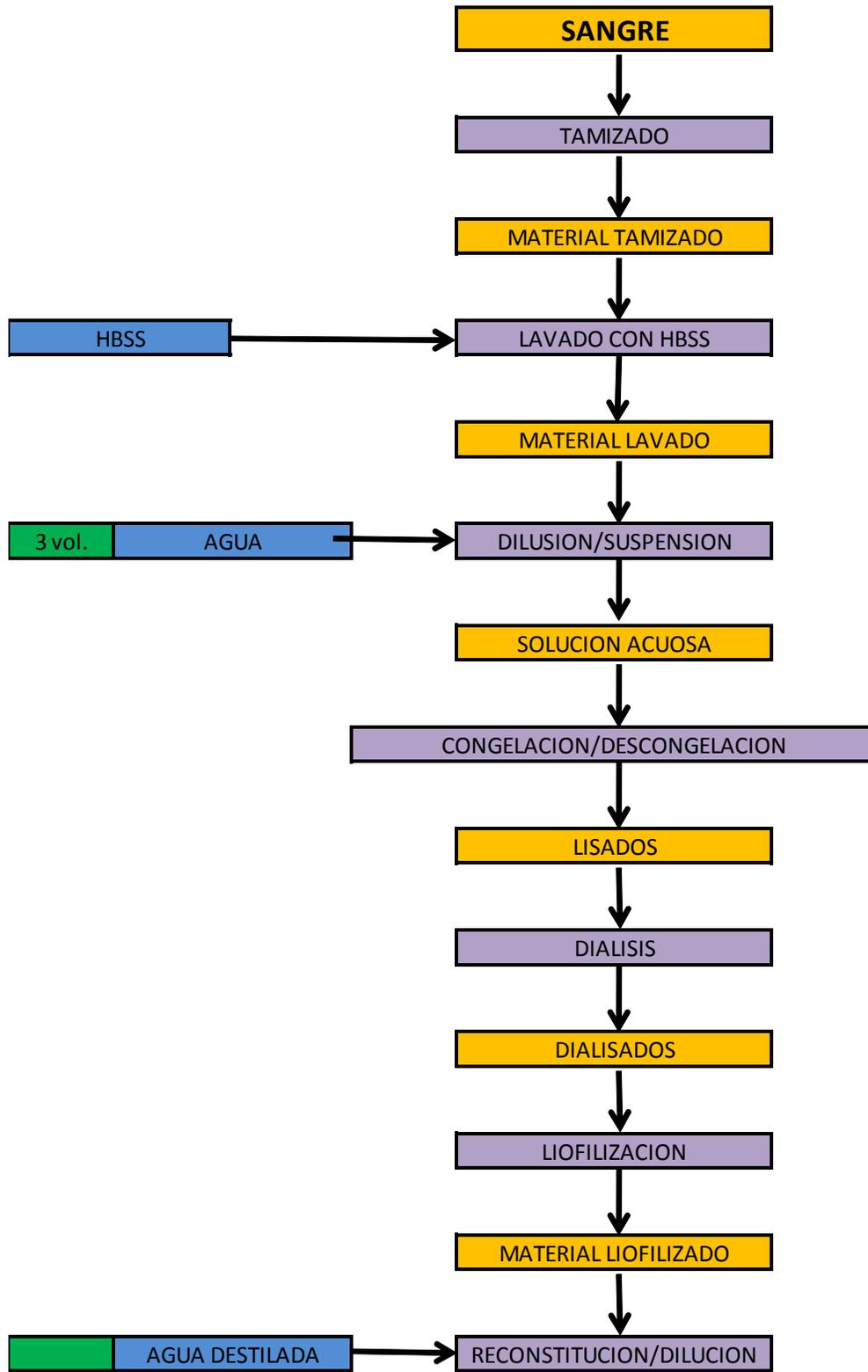
37°C. Para una mejor calidad se puede confirmar en microscopio que el rompimiento fue esencialmente completo.

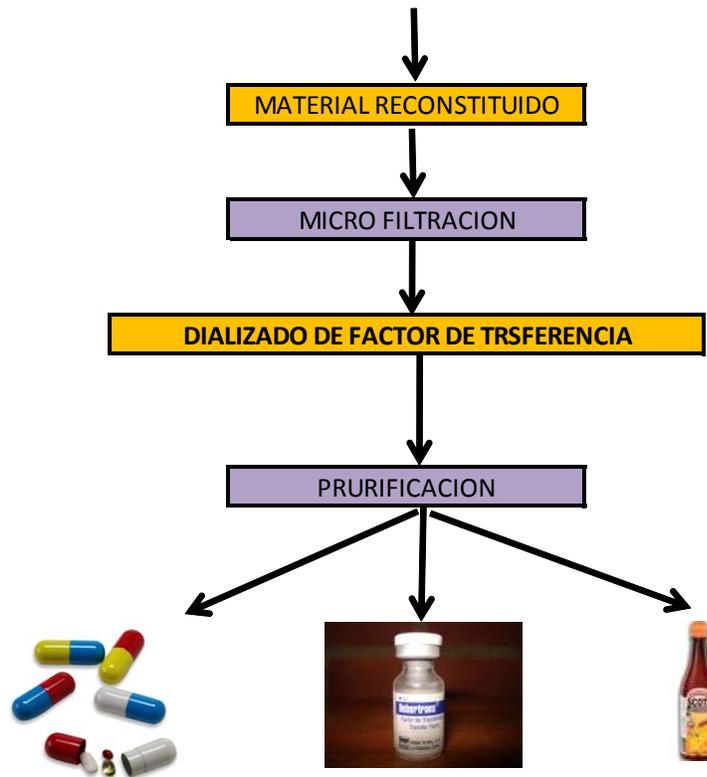
Los lisados serán colocados en bolsas de diálisis los cuales preferiblemente se recomienda que sean previamente hervidos en agua para su esterilización. Estas bolsas son de “cut offs” de peso moleculares alrededor de 6'000 a 8'000 Daltons (Da). La diálisis es llevada a cabo a 4°C contra 50 volúmenes de agua estéril purificada bajo constante agitación por 24 hrs. Esto se realiza dos veces, en forma serial. Los dializados los cuales resultaran de esto, son agrupados y liofilizados para su recuperación, y el material liofilizado será reconstituido para tener  $1 \times 10^8$  equivalentes mononucleares (ce)/mL (de manera que el material tenga  $1 \times 10^8$  linfocitos en 1 mL), usando agua purificada estéril. Después la esterilización se puede llevar a cabo por el paso del material a través de un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$ ; y la confirmación de la esterilización se puede realizar por pruebas con alícuotas sobre cultivos de sangre Agar.

Con este último paso se afina y se obtiene un solución con el Factor de Transferencia deseado, el cual puede ser sometido a cualquier método de purificación y esterilización para su almacenamiento para su uso posterior o proceso final de presentación, ya sea para capsulas, sueros, inyectables o cualquier otra presentación.

Muchos investigadores como método de purificación el cual es el punto central en el que la mayoría se ha enfocado, han tratado de crear varios métodos para este propósitos; muchos de ellos, por cromatografía liquida en fase reversa, por uso de columnas Sephadex, ultrafiltración, diálisis u otros método.

El siguiente diagrama de cuadros (Diagrama 2.1), representa el proceso de obtención de Factor de Transferencia por Extracto leucocitario.

**Diagrama 2.1:** Diagrama de cuadros de Proceso de Extracto Leucocitario

**Diagrama 2.1.:** Continuación

## 2.4 METODO MEJORADO DE EXTRACTO LEUCOCITARIO

Muchos científicos han estudiado el método del extracto leucocitario y mejorándolo para tener concentraciones mayores y mejores del Factor de Transferencia, para que su aplicación y uso médico sea de mejor calidad y de tratamientos de menos duración.

Uno de estos científicos es el Dr. Sergio Estrada Parra. Investigador mexicano jefe del departamento de inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) de Instituto Politécnico Nacional (IPN). Logró mejorar este método, teniendo mejores resultados y concentraciones para este producto y contando con la calidad médica necesaria. Y pudiendo llevar a cabo su proceso a nivel de producción de una pequeña planta piloto, que actualmente ya no está operando para realizar un proyecto mejor y renovado.

Este método propuesto por el Dr. Sergio Estrada trata de un método que comprende el fraccionamiento de con alto nivel de rendimiento para la purificación de los oligopéptidos contenidos en el extracto de leucocitos cuyos pesos moleculares van de 1'000 a 10'000 Da y su formulación farmacéutica para uso inyectable. Este método de manera muy general consiste en:

1. Separación de la fracción leucocitaria, contenida en una unidad de sangre total (450 mL), de donadores sanos (VIH, hepatitis, VDRL NEGATIVOS).
2. Se rompen las células obteniendo un lisado celular.
3. Una vez roto los leucocitos, el lisado celular se vacía bajo condiciones asépticas en garrafones, ajustando volúmenes y obteniendo una suspensión del lisado celular, en un volumen conocido.
4. Clarificación de la suspensión por ultrafiltración. Mediante centrifugación a una velocidad de 25'000 rpm y con un flujo continuo de 10-15 L/h, se elimina con esto detritus celulares del producto.
5. Se somete este material a filtración, mediante el uso de placas de celulosa y prefiltros de Hyflow-supercell; con lo cual se elimina el color y probables endotoxinas bacterianas.
6. Diafiltración a través de casete de 10 kDa de corte. Lo que permite retener la fracción con actividad biológica del producto.
7. Concentración mediante filtración tangencial o ultrafiltración con casete de 1 kDa de corte, eliminando grandes volúmenes de agua y quedando concentrada la muestra.

8. Formulación que consiste en adicionar soporte de sacarosa y estabilizador de glicina, ajustando pH; con lo cual el producto queda listo para liofilización.
9. Se esteriliza el producto mediante filtración a través de membranas de 0.8, 0.45 y 0.22 micras; quedando en el producto únicamente los oligopéptidos con la actividad biológica.
10. Control del proceso, muestreando la solución para pruebas de esterilidad: El producto es un preparado en condiciones de esterilidad.
11. Se introduce el material necesario para envase (una unidad, que es el producto obtenido de un paquete de sangre de 450mL). Para estos se debe contar con una jeringa llenadora, frasco, tapón tipo ventana estéril, este paso es preparatorio al envasado.
12. Se conecta de manera estéril la salida del sifón del garrafón a la entrada de la llenadora; procediéndose a llenar dentro de la campana de flujo laminar, 1 mL por frasco, que corresponde al volumen ajustado final de una unidad de Factor de Transferencia.
13. Liofilización, la cual permite obtener el producto final en la forma de una pastilla seca de fácil solubilidad en agua.
14. Engargolado y marbeteado; asegura las condiciones de pureza y esterilidad del producto mientras esté almacenado hasta su uso.
15. Pruebas biológicas y fisicoquímicas (de seguridad, esterilidad, pirógenos, PH, solubilidad, proteínas, hermeticidad) del lote, requisito necesario para la liberación del producto para su uso.

De tal forma este proceso es una mejora al descrito anteriormente con un uso médico probado y garantizado, para la obtención de Factor de transferencia.

### **CAPITULO III**

#### **OBTENCION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA A PARTIR DEL HUEVOS DE AVES**

##### **3.1 MÉTODO NO MAMÍFERO DE PRODUCCION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA**

Un método eficiente y barato para la producción de Factor de transferencia de fuentes no mamíferos es mediante la inmunización de aves y la extracción del factor de transferencia a través de sus huevos producidos.

Esté método propone como fuente principal de obtención de factor de transferencia, los huevos producidos por aves inmunizadas para cierto antígeno. Principalmente se prefiere la inmunización y uso de los huevos de gallina, por su gran facilidad de tratamiento y a su vez, son aves comunes, de gran desarrollo y facilidad de manejo.

A través de este método se puede obtener Factor de transferencia para cualquier tipo de antígeno, ya sea, virus, bacterias, hongos, parásitos u otros. Mediante la inmunización de una o varias gallinas y la recolección de sus huevos producidos por ellas. Permite la producción de una sustancia el cual contenga Factor de transferencia de la fracción de la yema o clara de huevo o ambas de un huevo teniendo pesos moleculares de menos de 10'000, el antígeno usado para este propósito puede ser seleccionado para que actúe para una infección o enfermedad de dicho antígeno en una animal o persona. Por medio de una aplicación parenteral u otra forma de administración.

##### **3.2 INMUNIZACIÓN DE LAS AVES PARA UN ANTIGENO ESPECÍFICO**

Para la inmunización del o las aves las cuales se usaran para producir el factor de transferencia de un antígeno específico se puede usar cualquier método

de inmunización que existe en el ámbito. Ya sea, por exposición directa al antígeno específico, por vacunas con sus respectivos refuerzos u otro método. Teniendo en cuenta, el cuidado pertinente y el tiempo necesario para dicha inmunización.

Usualmente, pocas semanas después de la inoculación; la gallina o ave, empieza a ser sensible al antígeno. EL factor de transferencia empieza a ser producido dentro del cuerpo de la gallina o ave, y en un huevo formado por la gallina contiene también dicho Factor de transferencia. La presencia y el nivel de titulo de dicho factor de transferencia específico para un antígeno en la gallina y huevos pueden ser medidos y confirmado por cualquier método conocido de las pruebas inmunológicas en el ámbito

### 3.3 PROCESO DE OBTENCIÓN A PARTIR DE LOS HUEVOS DE LAS AVES

Se recolectarán varios huevos de las gallinas previamente inmunizadas con el antígeno específico. Las yemas de las primeras tomas de muestras de los huevos que contienen Factor de Transferencia serán separadas de las claras, y diluidas de seis a nueve veces, en volumen de agua desionizada y después será la solución congelada. La capa de lípidos de estas yemas congeladas será mecánicamente separada por la fracción soluble de las yemas de huevo. Esta fracción soluble en agua, será después descongelada a temperatura de 4°C a 6°C y filtrada a vacío con el uso de un papel filtro. El filtrado será también filtrado a vacío a través de un filtro de microfibras de vidrio. Una tercera filtración será después conducida para recolectar proteínas y remover lípidos y lipoproteínas de la solución. La tercera filtración será realizada mediante una membrana hidrofílica (Puede ser DURAPORE). La fracción que contienen las proteínas, el cual incluye el Factor de Transferencia y anticuerpos específicos fue recolectada.

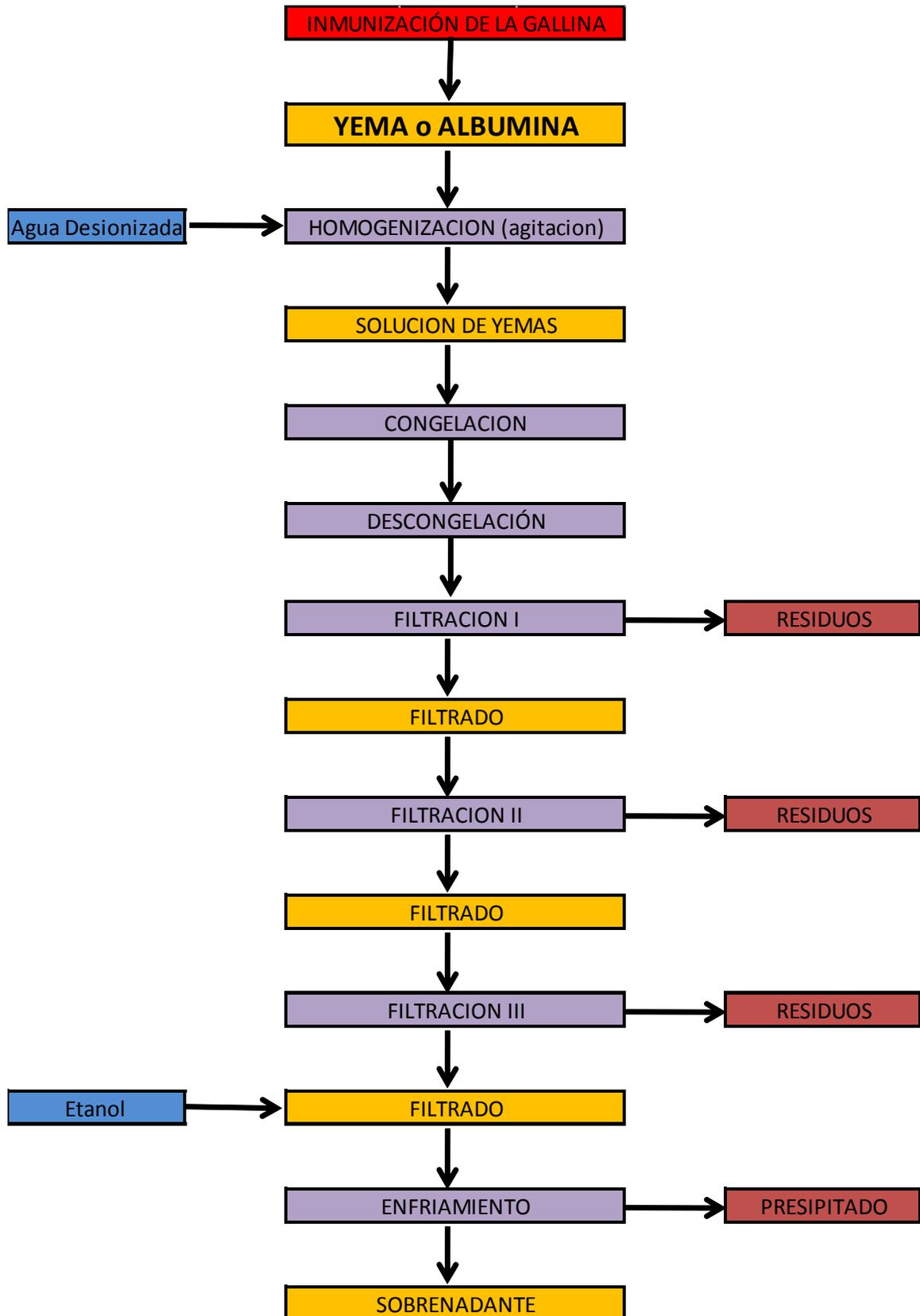
Un adecuado volumen de etanol será agregado a la fracción que contiene las proteínas para diluir al etanol a la concentración de alrededor de 60% del total de volumen de la solución de fracción de alcohol-proteína. Esta solución será después enfriada a una temperatura de 4° a 6° C por un suficiente periodo de tiempo (por la noche ó de 10 a 12 Hrs.) para que moléculas de proteínas de pesos moleculares grandes, incluyendo anticuerpos presentes en la solución precipiten de está. Las proteínas de pequeños pesos moleculares (alrededor de 8'000 Da o menores), contienen todos los Factores de Transferencia de las yemas de huevo, estas estarán presentes en la solución.

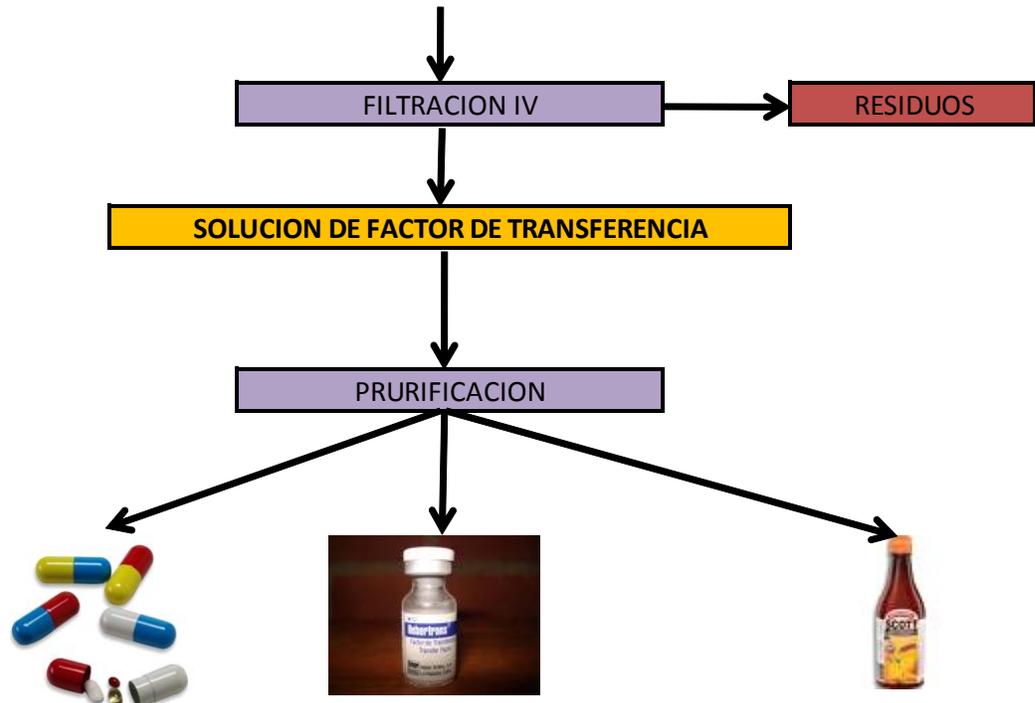
Las dos fases serán separadas por una filtración de la solución a través de un filtro de microfibra de vidrio. La sustancia libre y filtrada será después recolectada, congelada y liofilizada. Este material Contiene el factor de transferencia específico y puede ser almacenado tal cual, en una solución, o puede ser secado o tratado en dicha presentación de administración; para uso oral, inyectado, parenteral, etc.

El proceso de obtención detallado en este capítulo, se encuentra descrito en el siguiente diagrama de flujo.

El siguiente diagrama de cuadros (Diagrama 3.1), representa el proceso de obtención de Factor de Transferencia por método de huevos de gallina.

**Diagrama 3.1:** Diagrama de cuadros de proceso por Huevos de Gallina



**Diagrama 3.1:** Continuación

El diagrama anterior simplifica de manera gráfica el proceso y los pasos en que consta este método de obtención de Factor de Transferencia. Desde el la inmunización hasta la presentación final del producto.

## **CAPITULO IV**

### **OBTENCION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA A PARTIR DEL CALOSTRO**

#### **4.1 CALOSTRO**

Durante los primeros días de lactancia de un mamífero, las glándulas mamarias secretan un fluido llamado "Calostro" el cual es bastante diferente de la leche normal. Ambos; calostro y leche, contienen anticuerpos del sistema inmune y células conocidas por su función en el sistema inmune celular incluyendo células T, Células B y macrófagos. La relación y cantidades de los anticuerpos y tipos de células varían entre la leche y el calostro para una especie dada y entre especies.

El calostro es producido en los primeros 3 a 4 días a partir del parto; es un fluido amarillento, espeso de alta densidad y escaso volumen. Entre 2 y 20 mL por toma es suficiente para satisfacer al recién nacido. A diferencia de la leche; el calostro, tiene menos contenido energético, lactosa, lípidos, glucosa, urea, vitaminas hidrosolubles, PTH y nucleótidos. Sin embargo, contiene más proteínas, ácido siálico, vitaminas liposolubles E, A, K y carotenos, además de mayor concentración de zinc, hierro, azufre, selenio, manganeso y potasio. Pero, sobre todo, el calostro tiene un contenido muy elevado de inmunoglobulinas, lactoferrina, linfocitos y macrófagos, oligosacáridos y otros agentes que ayudan a defender al recién nacido de cualquier problema de salud.

El calostro de todos los mamíferos es rico en factores de transferencia y es vital para los recién nacidos a los que se los dota de forma pasiva de inmunidad al ingerir el mismo durante el amamantamiento o lactancia materna.

Cuando un recién nacido es amamantado por su madre, su inmunidad inicial queda establecida rápidamente gracias a la "información" contenida en el calostro. Los Factores de transferencia son pasados de las madres a sus descendientes a través de la leche o calostro transfiriendo así su inmunidad. Así, cuando una

madre amamanta a su hijo, le transfiere su inmunidad al bebé, toda esa información que el sistema inmunológico de la madre ha obtenido a lo largo de su vida.

#### 4.2 PREPARACIÓN DE CALOSTRO PARA UN ANTIGENO ESPECÍFICO

Un adecuado mamífero en lactancia debe ser empleado para este método; puede ser un humano, una vaca, una cabra u otro el cual se le dará inmunidad para un antígeno específico.

Un periodo de tiempo suficiente, generalmente como mínimo alrededor de una o dos semanas, debe ser asignado después de la inmunización del mamífero y antes de la recolección del material (calostro o leche); para que el mamífero responda al antígeno inmunizado.

La concentración del factor de transferencia del material recolectado dependerá sobre que tan bien respondió el adecuado mamífero a la inmunización del antígeno específico y del tiempo transcurrido en el cual el material es recolectado relativamente cercano al parto; además de otros factores.

Para la inmunización del mamífero adecuado puede ser empleado cualquier método conocido en el campo. Ya sea, por exposición directa al antígeno específico, por vacunas u otro método. Siempre y cuando se dé el cuidado pertinente y el tiempo necesario para dicha inmunización.

#### 4.3 PROCESO DE OBTENCIÓN A PARTIR DEL CALOSTRO

Preferentemente el Calostro es empleado como fuente de Factor de Transferencia (FT) y este es tratado para obtener el suero calostrado que este a su vez, es tratado para separar células, desecho de células, caseína, inmunoglobulinas y otros materiales. Sin embargo también la leche puede ser empleada para este caso.

Los métodos de separación, concentración y purificación los cuales pueden ser usados uno o varios, estos métodos pueden realizados por: Centrifugación, extracción, precipitación, ultrafiltración, diálisis, cromatografía y liofilización.

Adecuadamente el tratamiento para remover substancialmente células, desechos de células, caseína y grasa comprende de baja velocidad de centrifugación (100-12,000 g) por un periodo de tiempo (5 min. a 1 h), seguido por una centrifugación de alta velocidad (10,000-100,000 g) por otro periodo de tiempo (10 min. a 1 h). La centrifugación de baja velocidad en esta y otras secciones, abarca no solo centrifugación tradicional pero si, también procesos en un separador de crema convencional.

En una tiempo adecuado pre- y post-parto el calostro (o leche) es recolectado y centrifugado a bajas velocidades, aproximadamente 38 g (100 a 200 g), por 15 min. Alrededor de 4°C - 37°C, estas bajas velocidades son preferidas donde la colección de células para su uso subsecuente es decidido. La grasa es desnatada de la superficie y el sobrenadante restante es decantado para la precipitación de células. Las células precipitadas son guardadas para preparación de extracto de leucocito celular dializable (DEL). El sobrenadante desgrasado es después centrifugado a velocidades altas, aproximadamente 25,000 g (10,000 a 110,000 g) por 30-60 min. Alrededor de 4°C-37°C. Bajas fuerzas (g) posiblemente también pueden ser empleadas pero el tiempo requerido podría ser largo y el producto puede ser menos puro. La centrifugación puede ser llevada a cabo solamente a fuerzas altas (g), aunque también el tratamiento puede evitar la sobrevivencia de células viables o la recuperación de células con cantidades extremas de contaminación con grasa, caseína o ambas. Cualquier sobra de grasa es desnatada de la superficie del material y el sobrenadante restante llamado "Suero calostrual" es decantado de la caseína y desechos de célula.

Alternativamente, la caseína puede ser precipitada por adición de  $\text{CaCl}_2$  y Rennina (también llamado Chymosin) también, o por acidificación (pH 4-5), el sobrenadante de velocidad baja y el precipitado removido por filtración o centrifugación utilizando procedimiento estándares. Alternativamente, la precipitación de la caseína puede ser dada usando precipitaciones secuenciales primero por  $\text{CaCl}_2$  y Rennina, seguido por diálisis del suero y una segunda precipitación de la caseína del suero por acidificación.

Alternativamente, el tratamiento puede comprender velocidades bajas de centrifugación para el calostro, como previamente se describió, seguido por una adición de una adecuada cantidad de una gente el cual también substancialmente las inmunoglobulinas precipiten. En esta sección el pH del suero calostrual puede ser ajustado aproximadamente a pH 6.0 por uso de 0.1 volumen de acetato de sodio 3 M y el factor de transferencia de suero calostrual se obtendrá posteriormente, purificándolo utilizando el método de precipitación con etanol, siendo que de  $0^\circ - 4^\circ\text{C}$  ó  $0^\circ - 20^\circ\text{C}$  (arriba de dos volúmenes de etanol) y  $-20^\circ\text{C}$  (arriba de 4 volúmenes de etanol). La interface no es necesario ser preservada, las fases acuosas y etanol puede ser mezclada. Después refrigeración por 1 h, el precipitado de factor de transferencia puede ser recolectado por centrifugación aproximadamente 12,000 g (10,000 a 20,000 g). El fraccionamiento del factor de transferencia del suero calostrual puede ser reforzado por adición secuencialmente de 0.5 volúmenes de etanol a los sobrenadantes en pasos seguido por refrigeración y centrifugación como es citado anteriormente.

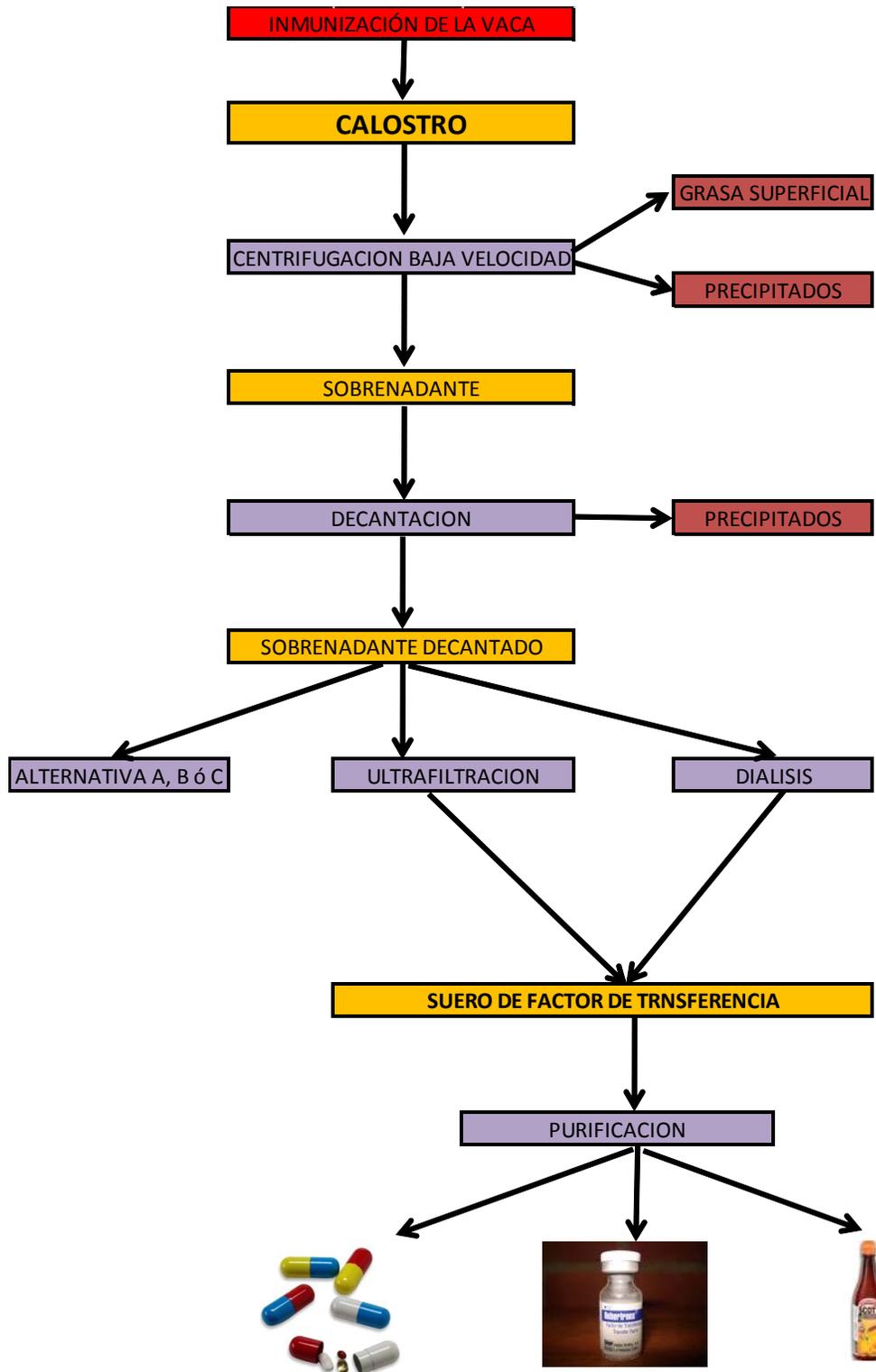
En resumen, la purificación por precipitación con etanol puede ser realizada y una variedad de parámetros puede ser variada. [e.g. fuerza iónica, pH, temperaturas, relación de etanol con el agua agregada en cada paso, concentración de ácido nucléico y proteínas]. Estos parámetros han sido variados y ha sido encontrado para una relación dada de etanol-agua, el factor de transferencia puede ser movido del precipitado al sobrenadante dependiendo de las condiciones usadas para la purificación dada. El fraccionamiento secuencial

usando otros solventes orgánicos misibles en agua como isopropanol, t-butanol o acetona puede también ser usado para remover contaminantes indeseados del factor de transferencia. Reactivos conocidos a los de habilidad ordinaria en el campo para precipitación de péptidos y ácidos nucleicos, [e.g. alcoholes, cetonas y olietilenglicol], posiblemente también puede ser usados para precipitar factor de transferencia o para contaminantes indeseados del factor de transferencia.

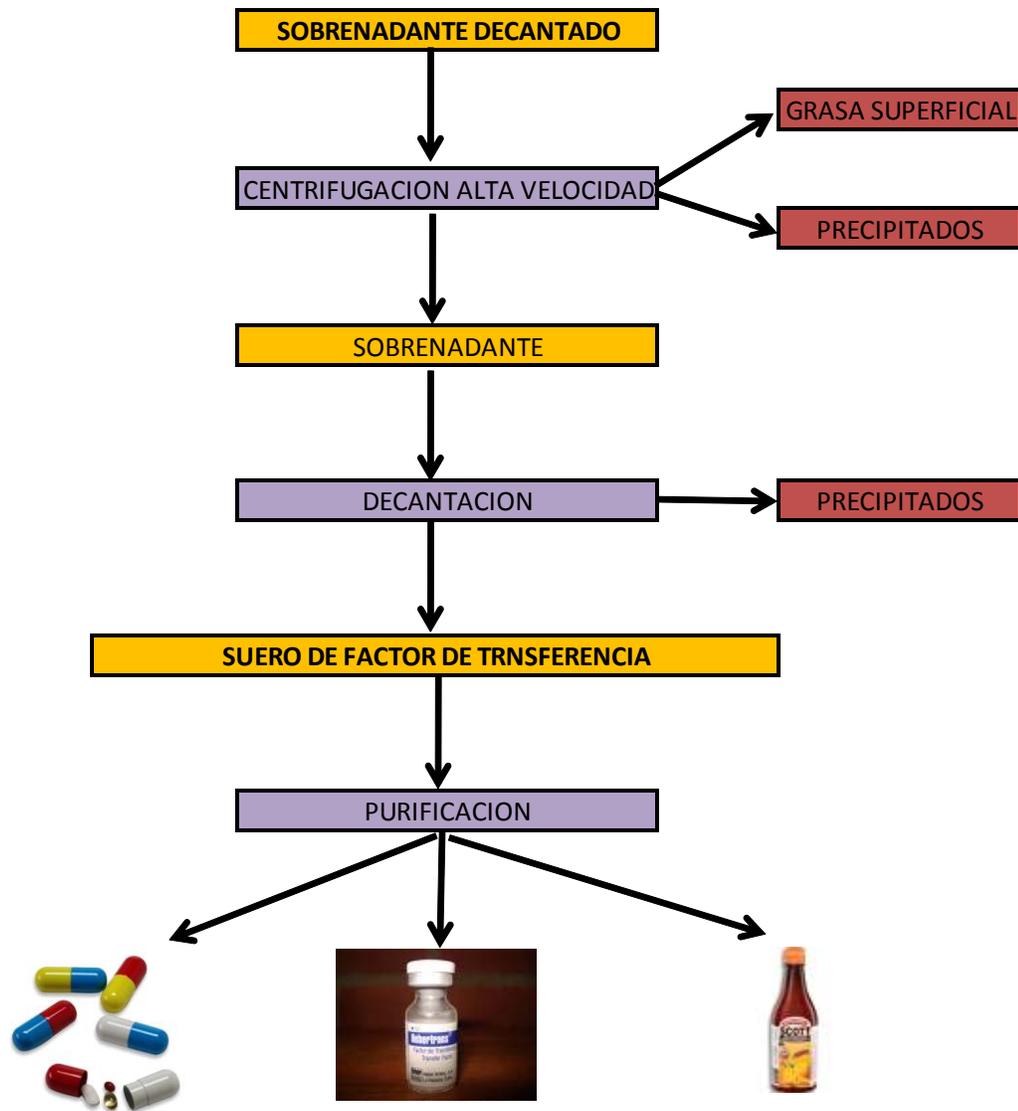
En otras ocasiones el material colectado (calostro), es tratado con bajas velocidad de centrifugación como se describió antes, seguido por ultrafiltración o diálisis. Y esas secciones el factor de transferencia puede ser separado para de largas moléculas usando membranas de diálisis convencional o filtros con “cut-offs” de peso molecular conocidos, [e.g. un “cut-off” de 20,000 de peso molecular]. La filtración o diálisis puede ser llevado a cabo después de la precipitación de contaminantes donde el solvente orgánico, [e.g. isopropanol, es compatible con el filtro o membranas]. El factor de transferencia también puede ser separada por pequeñas moléculas por uso convencional de membranas de diálisis o filtros con “cut-offs” de peso molecular conocidos [e.g. un “cut-off” de 1,000 de peso molecular].

El proceso de obtención detallado en este capítulo, se encuentra descrito en el siguiente diagrama de cuadros (Diagrama 4.1).

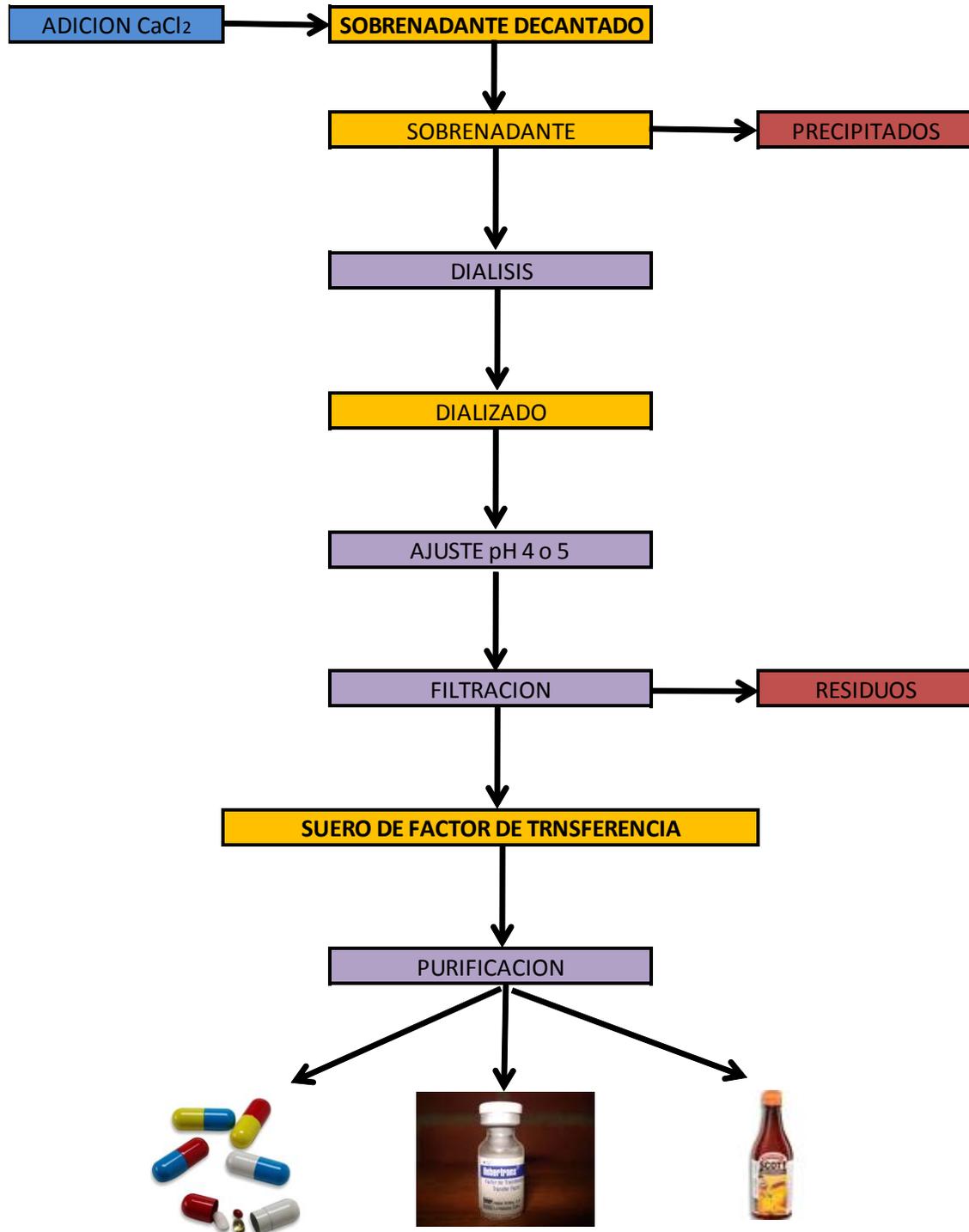
**Diagrama 4.1:** Proceso Principal de obtención Factor de Transferencia a partir del calostro



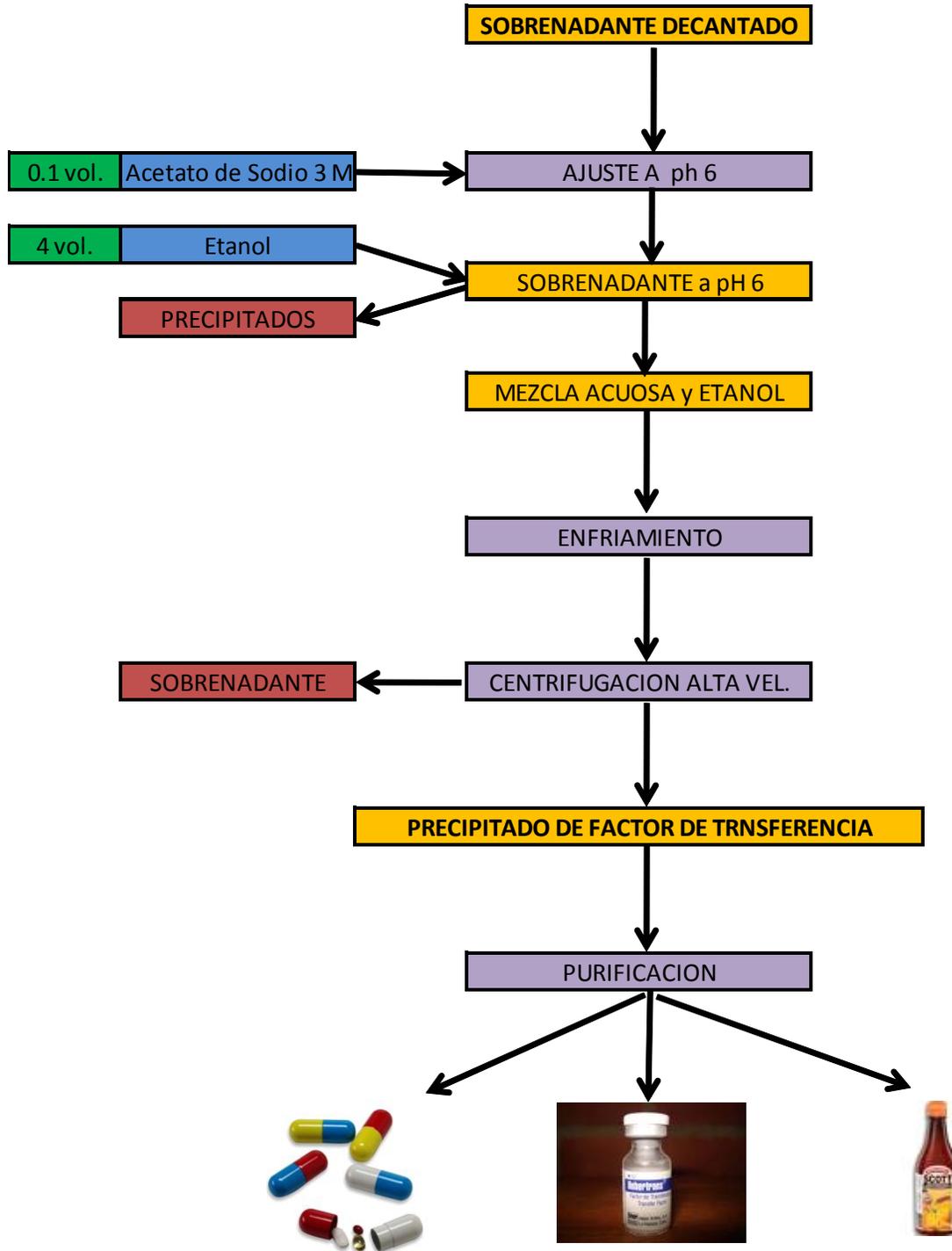
**Diagrama 4.2:** Alternativa A de proceso de obtención de Factor de Transferencia a partir del calostro



**Diagrama 4.3:** Alternativa B de proceso de obtención de Factor de Transferencia a partir del calostro



**Diagrama 4.4:** Alternativa C de proceso de obtención de Factor de Transferencia a partir del calostro



#### 4.4 FACTOR DE TRANSFERENCIA DE CÉLULAS CALOSTRALES.

Alternativamente el Factor de Transferencia puede ser obtenido por la asociación a las células calostrales (Leucocitos) que vienen dentro del calostro y que son recolectados en el método ya anteriormente descrito.

También este método permite la obtención de factor de transferencia asociada a las células para un antígeno específico. La recolección del material (leche o calostro) secretado por el adecuado mamífero en lactancia permite la recuperación y tratamiento enteras del material recolectado, estas células también recuperadas bajo adecuadas condiciones. Así como también, permite retirar materiales que afecten a la eficiencia del factor de transferencia.

El tratamiento comprende la interrupción celular para liberar el factor de transferencia por el método de rompimiento de Congelación-Descongelación y recuperación de factor de transferencia de las células interrumpidas (Método descrito anteriormente). El método de la interrupción celular puede ser aplicado repetidamente para asegurarse la interrupción completamente. El factor de transferencia liberado de las células interrumpidas puede ser recuperado por los métodos previamente mencionados (centrifugación, ultrafiltración, diálisis, etc.) El factor de transferencia así obtenido puede después ser concentrado o purificado o ambas, también con algunos de los métodos ya mencionados.

El factor de transferencia del suero calostrual resultante de cualquier método y alternativa; puede ser esterilizado vía ultrafiltración u otras técnicas. El factor de transferencia del suero calostrual puede ser directamente adecuado para empacar y usar o puede ser más tratado; según el uso y administración que se requiera. La administración puede ser oral, tópica, o por inyección, etc.

## **CAPITULO V**

### **ESTIMACIÓN DEL CONSUMO DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA Y DIMENSIONES DEL MERCADO**

#### **5.1 BALANCE DE PRODUCCIÓN PARA LOS PROCESOS DE OBTENCIÓN DE FACTOR DE TRNASFERENCIA**

Para realizar un estimado de consumo y producción para un producto en general; y hablando más específicamente para Factor de Trasferencia es necesario, conocer el proceso y hacer un balance global de los recursos necesarios para esto y de la cantidad de producto requerido que se puede obtener por este proceso.

Para conocer la cantidad de Factor de Transferencia que podemos obtener por cierta cantidad de Fuentes/Recursos primarios nos enfocaremos en solo dos procesos de obtención de Factor de transferencia descritos antes (dos de tres procesos descritos); Uno de ellos es el proceso a partir de Calostro (de vaca) y el segundo es a partir de Huevos en este caso de Gallina.

Considerando el procesos a partir de los huevos de gallina y ya descrito el proceso en capítulos anteriores, es necesario conocer la calidad de la fuente principal que se requiere en este proceso (En este proceso son los huevos de gallina). Tomando información y datos generales sobre la calidad promedio del huevo por el Instituto de Estudios del Huevo (la tabla se muestra en el Anexo VII) se observa que en promedio por cada 100 g de huevo de gallina se encuentran 16.5 g de proteínas totales solo en la yema del huevo (recordando que se usa la yema en este proceso); a su vez tomando en cuenta que no hay datos reportados a cerca de la proporción de Factor de Transferencia en esa cantidad de proteínas que se encuentra en la yema, se hace un estimado en el que el 40% de esas proteínas totales son Factor de transferencia.

Con estos datos se hace un balance global considerando pérdidas de 2% ó recuperaciones en un promedio del 98% entre cada paso del proceso ya descrito antes. Se muestra que por cada 100 g de huevo obtendríamos de Factor de Transferencia una cantidad promedio de **4.33 g**.

En el caso del siguiente proceso (A partir de calostro de vaca); es necesario tomar la calidad promedio que puede tener este recurso. De acuerdo con los datos generales publicados por la UNICEF en 1995 (Anexo VI), en un estudio de composición de la leche y calostro de las vacas y la humana, muestra que por cada 100 mL de calostro hay 2.3 g de proteínas totales y tomando en cuenta que no hay datos reportados a cerca de la proporción de Factor de Transferencia en esa cantidad de proteínas en el calostro, se hace un estimado en el que el 40% de esas proteínas totales son Factor de Transferencia.

Con estos datos se hace un balance global considerando pérdidas de 1.5% ó recuperaciones en un promedio del 98.5% entre cada paso del proceso ya descrito antes, y entre cada uno de las alternativas o rutas del proceso que se pueden llevar a cabo. En la siguiente tabla (Tabla 5.1) se muestra el estimado de de Factor de Transferencia obtenido por cada alternativa o ruta tomada del proceso. Cabe señalar que cada ruta o alternativa de este proceso difiere en la calidad y purificación, que es deseado o requerido.

**Tabla 5.1:** Factor de Transferencia obtenido por rutas/alternativas de proceso

<b>Factor de Transferencia (g)</b>	
<b>Proceso Principal</b>	0.79
<b>Proceso por Alternativa A</b>	0.67
<b>Proceso por Alternativa B</b>	0.71
<b>Proceso por Alternativa C</b>	0.77
<b>Proceso por Diálisis</b>	0.76
<b>Proceso por Filtración</b>	0.75
<b>PROMEDIO</b>	0.74

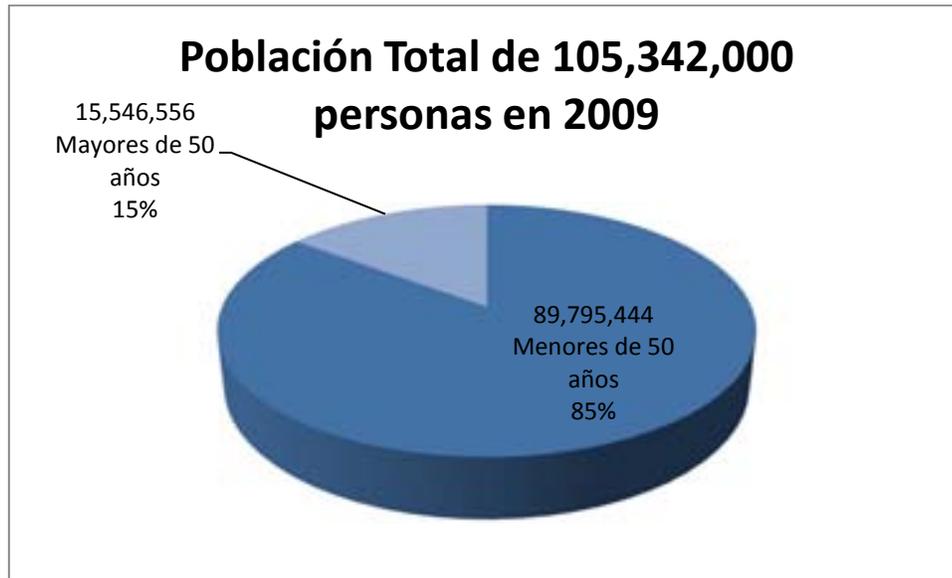
La tabla muestra la cantidad de Factor de Transferencia de cada ruta o alternativa por cada 100 mL de calostro. Muestra que por cada 100 mL de calostro obtendríamos de Factor de Transferencia una cantidad promedio de **0.74 g**.

## 5.2 ESTIMACION DEL MERCADO CONSUMIDOR DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA

Como se ha demostrado y explicado en capítulos anteriores, el Factor de Transferencia aporta una gran ventaja y ayuda para la salud de las personas, ya sea, como un refuerzo y apoyo al sistema inmunológico o como una alternativa eficaz para el tratamiento de enfermedades provocado por varios tipos de agentes infecciosos.

Por esta razón, se pretende atender a cierta parte de la población en México que requiere apoyo en el tratamiento de sus enfermedades y en el refuerzo de su salud inmunológica. Por esta razón es necesario conocer el posible mercado a quienes se dirigirá este producto; y también, con estos datos conocer la producción necesaria para satisfacer el consumo por parte de ellos. Para este efecto se considera como mercado consumidor o a cinco principales grupos de la población mexicana que requiere atención en este aspecto y que está presente en una cantidad considerable entre los mexicanos.

Estos grupos son: Las personas mayores de 50 años que sabemos que mientras una persona va adquiriendo cierta edad adulta su sistema inmune se va debilitando y esto causa que la persona sea más propensa a problemas de salud y ataques por agentes infecciosos. En México se cuenta con una población total en el año 2009 alrededor de 105'342'000 personas, datos tomados del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); de las cuales 15'546'556 personas o bien el 14.76% de la población total de México es mayor de 50 años. Estos datos apuntan que en unos 10 años hacia adelante la población de México será adulta y habrá menos jóvenes.

**Gráfica 5.2:** Porcentaje de personas en México mayores de 50 años

El siguiente grupo de personas que se considera como posible mercado consumidor son los enfermos de Cáncer de los cuales se crea un subgrupo de mayor atención que son los enfermos de Leucemia. El Cáncer es un padecimiento que en la actualidad ha crecido mucho entre la población mundial y en México también ha sido un gran problema y causante del crecimiento de mortalidad en México. Si bien es un padecimiento que afecta solo a una o varias partes del cuerpo y va creciendo, El sistema inmune se ve afectado y debilitado por tratar de disminuir o contrarrestar los efectos del cáncer. Por tal razón, las personas afectadas por este padecimiento son considerados como consumidores, ya que requieren que se refuerce su sistema inmune. Además si se considera que gran parte de ellos reciben tratamientos de quimioterapia o radioterapia, es bien sabido que este tipo de tratamientos contra el Cáncer acaban y debilitan mucho más al sistema inmune. De igual forma, se da un énfasis a los pacientes con Leucemia (Cáncer en la sangre), que este tipo de padecimiento acaba y ataca de manera grave a todo el sistema inmune.

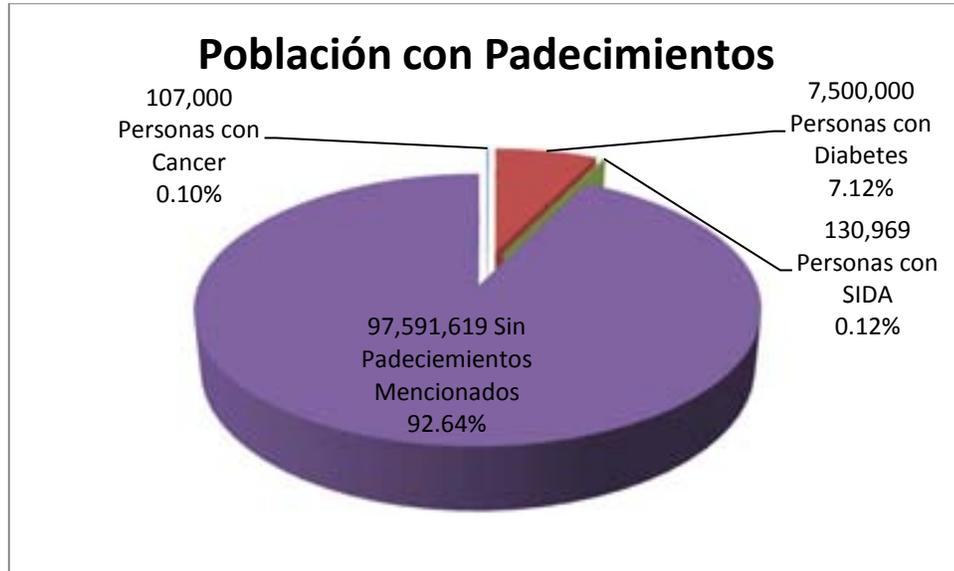
En México hay 107'000 personas con algún tipo de Cáncer, según datos del INEGI; esto representa que el 0.10% de la población mexicana tiene Cáncer; de

las cuales, 12'412 personas con Cáncer son enfermos de Leucemia o bien el 0.12% de las personas que padecen de Cáncer son enfermos de Leucemia.

Otro grupo que se considera posible consumidor son las personas enfermas de Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH/SIDA). El crecimiento de la población con este padecimiento ha sido considerable y rápido en poco tiempo; afectando en gran parte a jóvenes, pero se encuentra presente en cualquier edad y sexo. Se sabe que el virus del SIDA afecta y ataca directamente al sistema inmunológico, en especial a los glóbulos blancos (defensas) dejando propensa a la persona de sufrir el ataque de cualquier otro padecimiento provocado por algún antígeno. Hay 130'969 personas enfermas de SIDA en México que representa el 0.12% de la población total (Datos obtenidos del INEGI), pero estos datos son solo los casos diagnosticados, pero sabemos que hay personas que pueden estar infectadas sin saberlo.

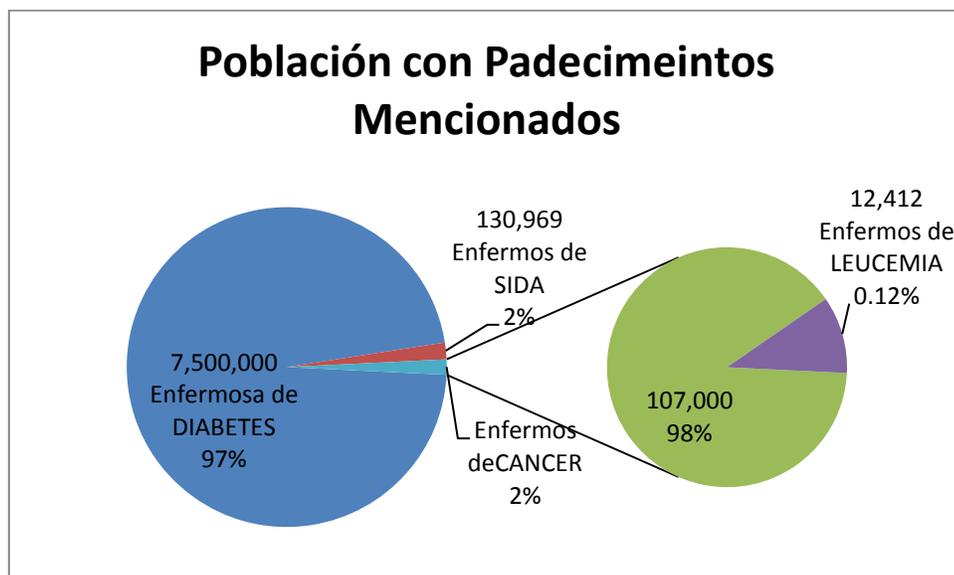
El último grupo considerado para dicho propósito son las personas que padecen de Diabetes (Todos los tipos). En México es una de las enfermedades principales que tiene la población que se presenta en personas grandes, sin embargo, es tal el crecimiento que también empieza a ser encontrada en niños. Este padecimiento es causado principalmente por la mala alimentación, ritmo de vida como estrés y nervios y el factor hereditario. Que a su vez esta enfermedad causa una debilidad en el sistema cardiaco y sistema inmunológico, entre muchas más. Por lo que también las personas con Diabetes son propensas a ser atacadas por otras enfermedades por su sistema inmunológico débil. La población con Diabetes en México representa un 7.12% de la población, lo cual representa que 7'500'000 personas tienen diabetes.

**Gráfica 5.3:** Porcentajes del total de enfermos mencionados como mercado consumidor.



Considerando solo los cuatro grupos con padecimientos mencionados anteriormente (Diabetes, Cáncer, Leucemia y SIDA), suman 7'750'381 personas del total de la población, que representa solo el 7.32% de las personas en México.

**Gráfica 5.4:** Distribución de porcentajes de enfermos con algún padecimiento mencionado.



Estos cinco grupos son los principales a considerar para hacer una estimación de de la producción necesaria. Claro está que estos grupos considerados no son los únicos que requieren o puedan necesitar el Factor de Transferencia, sin embargo, son de gran ayuda para hacer una buena estimación, a demás no se requiere tener algún padecimiento para ser administrado el factor de transferencia. Si no este puede ser tomado por la población en general.

### 5.3 DATOS ESTIMADOS DE PRODUCCION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA

Una vez conocido los datos cuantitativos del proceso y también el posible mercado a quien puede ser dirigido el Factor de Transferencia, se puede estimar la producción necesaria de Factor de Transferencia para satisfacer el mercado mencionado. Para esto, es necesario considerar datos específicos de las fuentes principales de cada proceso, así como, las características posibles del producto final y también la dosis de administración que se requiere por persona, entre otros más. Por lo que se analizará para los dos diferentes procesos (Calostro y huevos de gallina) la producción necesaria y recursos necesarios para dicha producción, para satisfacer la demanda del mercado considerado.

Para el tratamiento de una enfermedad o el simple refuerzo y ayuda del sistema inmunológico requiere de una dosis como cualquier otro medicamento depende de la persona y el padecimiento; sin embargo, por fines prácticos y sólo de manera generalizada como una primera aproximación y estudio de este propósito; pero con una investigación previa. Tomaremos un promedio de dosis por persona de **0.104 g de FT por año** (104 mg de FT por año).

Para estimar la producción necesaria de Factor de Transferencia para cubrir el mercado propuesto antes, compuesto por los cuatro grupos de padecimientos (Cáncer, Leucemia, Diabetes y SIDA) y por parte, la población mayor de 50 años;

teniendo en cuenta la dosis anual por persona y los datos estadísticos de estos grupos, es posible obtener la producción requerida anual de la siguiente forma.

Para la población mayor de 50 años

$$(15,546,556 \text{ personas}) \left( \frac{0.104 \text{ g}^{FT}}{\text{año}} \right) = 1,621,284 \text{ g}^{FT} / \text{año}$$

Por lo que la producción necesaria de Factor de Transferencia para cubrir el mercado de la población de personas mayores de 50 años, se requiere producir **1'621'284 g de FT por año** (1'621.284 Kg de FT por año). Siendo que pueden ser datos muy elevados para un producto que apenas está siendo conocido, si se decidiera solo satisfacer el 10 % de esta población mencionada, solo se produciría **162'128.4 g de FT por año** (162.128 Kg de FT por año).

Si tomamos la población de Personas con algún padecimiento mencionado, de igual forma, se puede conocer la producción necesaria para cubrir esa demanda anual. De la siguiente forma:

$$(7,737,969 \text{ personas}) \left( \frac{0.104 \text{ g}^{FT}}{\text{año}} \right) = 806,960 \text{ g}^{FT} / \text{año}$$

Para satisfacer el mercado de la población con alguno de los cuatro padecimientos mencionados. Es necesario producir **806'960 g de FT por año** (806.96 Kg de FT por año). Si de igual forma solo quisiéramos cubrir solo el 10% de esa población, solo se debería producir **80'696 g de FT por año** (80.7 Kg de FT por año).

Conociendo los datos anteriores se puede conocer los recursos necesarios para producir la esas cantidades de Factor de transferencia por cada uno de los dos procesos en los que nos enfocamos.

### 5.3.1 Recursos necesarios y Producción de Factor de Transferencia por medio de Calostro.

Como se ha mencionado antes, para este proceso el principal recurso o fuente para extraer y obtener el factor de transferencia es el Calostro; que en especial nos enfocaremos en el calostro de vaca. Para esto es necesario conocer las características del calostro y de su producción.

Basado en datos estadísticos una vaca en promedio produce calostro entre los tres y cuatro primeros días postparto, el volumen producido es de 2 a 20 mL por mamada. Las vacas tienen un periodo de gestación de 9 meses, por lo que solo una vez al año en promedio pueden tener periodo de lactancia con calostro. Esto quiere decir que aproximadamente producen 100 mL por día de calostro y en un año solo producirán alrededor de 500 mL. Haciendo un cálculo sencillo con estos datos y descrito antes, también se sabe que por cada 100 mL de calostro se tiene 0.74 g de Factor de transferencia; se puede conocer un estimado de producción anual de Factor de transferencia por vaca. De la siguiente forma:

$$\left(\frac{7,737,969 \text{ personas}}{1 \text{ año} * \text{ vaca}}\right) \left(\frac{0.74 \text{ gFT}}{100 \text{ mL calostro}}\right) = 3.7 \frac{\text{gFT}}{\text{año} * \text{ vaca}}$$

Por lo que por cada vaca, se obtiene en promedio **3.7 g de FT por año**. Con estos datos, y los mencionados anteriores, se puede calcular las vacas requeridas por año para satisfacer la demanda de cada población posible a considerar (mayores de 50 años y enfermos mencionados), esto de la siguiente forma. Para mayores de 50 años:

$$\left(\frac{\text{año} * \text{ vaca}}{3.7 \text{ gFT}}\right) \left(\frac{1,621,284 \text{ gFT}}{1 \text{ año}}\right) = 438,185 \text{ vacas}$$

Para Personas con algún padecimiento de los cuatro grupos mencionados:

$$\left(\frac{\text{año} * \text{vacca}}{3.7gFT}\right) \left(\frac{806,960gFT}{1\text{año}}\right) = 218,097 \text{vacas}$$

Se puede observar que para la producción requerida para la población de personas mayores de 50 años se requiere como mínimo **438'185 vacas** al año en lactancia y para la población con alguna enfermedad de los cuatro grupos mencionados antes se requiere **218'097 vacas** en lactancia al año. Si también, solo se quisiera cubrir el 10% de cada una de esas dos poblaciones solo serán requeridos 43'819 vacas para la primera población y 28'810 vacas para la segunda población respectivamente.

Si estos datos los comparamos con estadísticas nacionales de ganado vacuno en México, solo representa en promedio el 0.69% de cabezas totales de ganado vacuno total; ya que México, cuenta en el año 2009 alrededor de 31.69 millones de cabezas de ganado vacuno. Esto representa una pequeña cantidad, por lo que es factible cubrir la producción necesaria.

5.3.2 Recursos necesarios y Producción de Factor de Transferencia por medio de huevos de gallina.

En este proceso también es necesario conocer las características generales de las fuentes y recursos primarios que se requieren para obtener el Factor de Transferencia, así como los datos requeridos para saber su producción y su obtención.

Una gallina es capaz de poner entre uno y dos huevos al día; en promedio un huevo sin cascarón consta de 35 g de los cuales se dividen en clara y yema. Por lo que se puede entender que una gallina al año pone alrededor de 365 huevos equivalentes a 12'775 g de huevo. Descrito antes, se sabe que por cada 100 g de

huevo se obtiene en el proceso en promedio 4.33 g de FT, por lo que haciendo un pequeño cálculo sencillo de la siguiente forma:

$$\left(\frac{4.33gFT}{100g\ de\ huevo}\right)\left(\frac{12,775g\ de\ huevo}{1\ año * gallina}\right) = 553.2 \frac{gFT}{año * gallina}$$

Se obtiene que por cada gallina se puede obtener en promedio **553.2 g de FT** al año. Tomando en cuenta las dos poblaciones antes mencionadas para posible mercado consumidor, se realiza los siguientes cálculos sencillos para obtener la cantidad de huevos necesarios para satisfacer la demanda propuesta de Factor de Transferencia.

Para mayores de 50 años:

$$\left(\frac{año * gallina}{553.2\ gFT}\right)\left(\frac{1,621,284\ gFT}{1\ año}\right)\left(\frac{365\ Huevos}{gallina * año}\right) = 1,069,801 \frac{Huevos}{año}$$

Para Personas con algún padecimiento de los cuatro grupos mencionados (Diabetes, Cáncer, Leucemia y SIDA):

$$\left(\frac{año * gallina}{553.2\ gFT}\right)\left(\frac{806,960\ gFT}{1\ año}\right)\left(\frac{365\ Huevos}{gallina * año}\right) = 532,471 \frac{Huevos}{año}$$

Se obtiene que se requieren para el primer grupo de población una cantidad de **1'069'801 huevos por año** si solo se quisiera de la misma manera al proceso anterior cumplir con el 10% de la demanda propuesta, solo se necesitaría 106'980 huevos por año. Para el segundo grupo se necesitaría **532'471 huevos por año**; y solo el 10% representaría 53'247 huevos por año.

Recordando que en un año una gallina promedio pone un huevo al día, entonces de la siguiente manera se puede calcular la cantidad de gallinas requeridas para poder producir la cantidad requerida de Factor de Transferencia.

$$\left(\frac{1,069,801 \text{ Huevos}}{\text{año}}\right) \left(\frac{1 \text{ Gallina}}{365 \text{ Huevos/año}}\right) = 2,931 \text{ Gallinas}$$

Y

$$\left(\frac{532,471 \text{ Huevos}}{\text{año}}\right) \left(\frac{1 \text{ Gallina}}{365 \text{ Huevos/año}}\right) = 1,459 \text{ Gallinas}$$

Entonces para el primero grupo considerado se requiere de **2'931 gallinas** o bien solo el 10% sería de 293 gallinas. Para el segundo grupo considerado se requiere de **1'459 gallinas** y en caso de cubrir solo el 10% sería de 146 gallinas.

5.3.3 Comparación de los Recursos necesarios y de Producción de Factor de Transferencia de los dos procesos.

De manera conceptual se puede observar en las dos siguientes tablas los recursos/fuentes primarios necesarios para la obtención de Factor de Transferencia para cubrir los dos grupos principales considerados como posibles consumidores (mayores de 50 años y enfermos de Cáncer, Leucemia, Diabetes y SIDA). La tabla 5.5 representa la cantidad completa de los dos grupos y la tabla 5.6 solo representa el 10% del total de cada uno de los dos grupos recordando si solo se decidiera cubrir ese porcentaje.

**Tabla 5.5:** Recursos necesarios para producción total de Factor de Transferencia

Fuente/Recursos necesarios para producción				
Población	Huevos/año	Calostro (mL/año)	Gallinas	Vacas
FT anual (+ 50 años)	1,069,801	219,092,392	2,931	438,185
FT anual (Cáncer)	7,363	1,507,915	20	3,016
FT anual (Leucemia)	854	174,918	2	350

<b>FT anual (Diabetes)</b>	516,096	105,694,981	1,414	211,390
<b>FT anual (SIDA)</b>	9,012	1,845,702	25	3,691
<b>FT anual Enfermos</b>	532,471	109,048,598	1,459	218,097

**Tabla 5.6:** Recursos necesarios para producción de 10% de Factor de Transferencia

<b>Fuente/Recursos necesarios para producción solo al 10%</b>				
<b>Población</b>	<b>Huevos/año</b>	<b>Calostro (mL/año)</b>	<b>Gallinas</b>	<b>Vacas</b>
<b>FT anual (+ 50 años)</b>	106,980	21,909,239	293	43,818
<b>FT anual (Cáncer)</b>	736	150,792	2	302
<b>FT anual (Leucemia)</b>	85	17,492	0	35
<b>FT anual (Diabetes)</b>	51,610	10,569,498	141	21,139
<b>FT anual (SIDA)</b>	901	184,570	2	369
<b>FT anual Enfermos</b>	53,247	10,904,860	146	21,810

#### 5.4 PRECIOS y VENTAS ESTIMADAS ANUALES POR FACTOR DE TRANSFERENCIA

Como se mencionó en un capítulo anterior el Factor de Transferencia es producido en México por la Escuela de Nacional Ciencias Biológicas (ENCB) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) el cual producen Factor de Transferencia por el Método de extracto leucocitario llamado en el mercado como “TRANSFERON®”; el cual lo vende en dos presentaciones que son inyectable y oral. El producto en forma oral contiene una unidad de factor de transferencia, equivalente a 2 mg de proteína de FT en un excipiente de 5 mL. El costo de este producto es de \$350 pesos mexicanos.

De igual forma, una empresa americana, produce Factor de Transferencia principalmente de los procesos por medio de calostro y de huevos de gallina y

varias presentaciones del producto manejan diferentes proporciones de FT de huevo y de FT de calostro. Esta empresa llamada "4 Life" importa y vende en México su producto en varias presentaciones jugo, capsulas o suplemento alimenticio. La presentación más sencilla de Factor de transferencia que ofrece esta empresa es el Factor de Transferencia Clásico (Transfer Factor Clasic®) en presentación de cápsulas; cada frasco con 60 cápsulas tiene un precio de \$850 pesos mexicanos.

Si se considerara que un precio para este producto adecuado para ser al nivel económico promedio del mercado consumidor y que a la vez sea competitivo con los existentes. Tomando en cuenta el precio promedio del producto de la empresa 4Life; supongamos un precio de \$800 por 900 unidades de Factor de Transferencia (18'000 mg de proteína de FT) sea en cualquier presentación del producto. Considerando que es el precio final, que involucra gastos y costos de producción. A su vez, tomando los datos anteriores de producción necesaria de Factor de transferencia a cubrir por año, para cualquiera de los dos grupos mencionados antes. Podría estimarse que por la venta anual de la producción estimada requerida, se puede calcular de la siguiente forma un estimado de la venta total del Factor de Transferencia.

Para la producción requerida para el grupo de personas mayores de 50 años:

$$\left(\frac{1,621,284 \text{ g de FT}}{\text{año}}\right) \left(\frac{1000 \text{ mg de FT}}{1 \text{ g de FT}}\right) \left(\frac{\$800}{18'000 \text{ mg de FT}}\right) = 72,057,067 \frac{\text{Pesos}}{\text{año}}$$

Considerando el segundo grupo de personas enfermas con padecimiento de Cáncer, Leucemia, Diabetes y SIDA:

$$\left(\frac{806,690 \text{ g de FT}}{\text{año}}\right) \left(\frac{1000 \text{ mg de FT}}{1 \text{ g de FT}}\right) \left(\frac{\$800}{18'000 \text{ mg de FT}}\right) = 35,864,889 \frac{\text{Pesos}}{\text{año}}$$

Podemos darnos cuenta que las ventas netas anuales por este producto considerando que fueran estas al 100 % serían para el primer grupo de **72.1 millones de pesos** y solo para el segundo grupo a considerar serían de **35.9 millones de pesos** de venta neta. O bien, si se deseara satisfacer solo el 10% de la producción requerida por cada uno de estos grupos, es evidente que solo se obtendrían el 10% de estas cantidades como ventas netas anuales; 7.2 millones de pesos y 3.6 millones de pesos para cada grupo respectivamente.

Cabe mencionar que estos valores son ventas netas no ganancias, para considerar las ganancias por este producto, tendríamos que restar a estas cantidades, los gastos de inversión, los costos fijos y variables de la producción, ya sean de materia prima, administrativos y otros gastos indirectos, los impuestos y otras más concernientes por cada producto; o bien, se requiere de un estudio de mercado completo para considerar el precio real del producto. Sin embargo hablando de cuestiones económicas, estos datos apuntan de cualquier forma a grandes ingresos económicos por tan solo poco producto de salida.

## CONCLUSIONES

El Factor de Transferencia es un producto natural secretado por el mismo sistema inmunológico y que por sus grandes características químicas y de actividad biológica, ha sido un gran descubrimiento y puede tener un gran avance en la medicina como tratamiento y/o prevención de enfermedades; sean éstas, causadas por algún antígeno que afecte la salud y que a su vez el sistema inmunológico requiera de apoyo para reconocerlo, atacarlo y reforzarlo para atacar el padecimiento. Otra de las ventajas del producto, es que no tiene efectos secundarios y se puede obtener en cualquier parte del mundo.

Si bien el Factor de Transferencia ha sido motivo de investigación por varios años de muchos investigadores del área, es necesario seguir investigando más, tanto en la línea de mecanismos de acción, formas de purificación, nuevas vías de obtención y sobre todo la eficiencia para tratar padecimientos de cualquier tipo. Sin embargo, como ya se ha demostrado en investigaciones realizadas, el Factor de Transferencia es una nueva alternativa comprobada para tratar y prevenir muchas enfermedades causadas por virus, bacterias y otros microorganismos; por lo que puede ser considerado en la medicina para dicho propósito.

Para la obtención de Factor de transferencia, se evaluó tres diferentes procesos; que son: Método por extracto leucocitario, por calostro y por huevos de gallina; siendo estos dos últimos evaluados más a fondo en este trabajo; debido a que el primero, por ser una método que requiere de sangre; necesita una evaluación más compleja en cuestiones de producción, ya de la sangre como recurso primario, para satisfacer las producciones necesarias, sería de difícil accesibilidad, manejo, y tratamiento, además que insuficiente para cubrir la demanda requerida propuesta; sin incluir las cuestiones éticas y sociales que también conllevan.

Los métodos por calostro y por huevos de gallinas son más accesibles y factibles, dando buenas cantidades de Factor de Transferencia y de mejor calidad, son procesos baratos y muy sencillos. El método por calostro es un proceso, sencillo, barato y muy eficiente, sin embargo tiene la desventaja que produce menos cantidad de Factor de Transferencia que el método por huevos de gallina, pero tiene la gran cualidad que por ser un método proveniente de una fuente mamífera, el Factor de Transferencia es más a fin, más compatible y reconocido por el sistema inmune.

El método por medio de huevos de gallina, es también un proceso barato, sencillo y eficiente. A comparación del anterior, se obtiene mayores cantidades de Factor de Transferencia; sin embargo, como se menciona en el punto anterior, este método por ser de una fuente no mamífera, el Factor de transferencia tiene una menor eficiencia (poco considerable) en su funcionalidad contra en el tratamiento de algún padecimiento. Sin embargo, esta pequeña diferencia es tan poco considerable que el método sigue siendo de las principales para obtener este producto.

Evaluando los datos estadísticos de las poblaciones a considerar como posibles consumidores del Factor de Transferencia, es difícil satisfacer el 100 % de cualquiera de esos dos grupos (Mayores de 50 años y Enfermos de Cáncer, Leucemia, Diabetes y SIDA) ya que los recursos o fuentes primarias de cada uno de estos procesos (vacas y gallinas) son cantidades considerablemente grandes que requieren de muchos otros puntos importantes a evaluar fuera de los necesarios del proceso. Más aun para el proceso por medio de calostro, que es difícil manejar esa cantidad numerosa de vacas por año, las cuales no son solo vacas lecheras, si no también deben estar embarazadas para aprovechar sus primeros días de lactancia postparto, lo que requiere de cuidado, tratamiento y mucho aspectos más a considerar, que dificultan la producción en general de este producto.

Por lo que de manera inicial y en primera fase de un proyecto así, sería necesario solo satisfacer al menos un 10 % de la población; siendo que, para este porcentaje de producción, las ventas netas apuntan grandes cantidades de dinero, que son de gran consideración.

Por último es necesario reiterar que el Factor de Transferencia es un gran avance científico y médico, que brinda una gran alternativa eficiente, rápida y comprobada para el tratamiento y la curación de muchas enfermedades causadas por algún antígeno; dando oportunidad de reducir o eliminar el padecimiento en un periodo corto de tiempo, de una manera sencilla y eficiente, Sin contraindicaciones y sin efectos secundarios de ningún tipo; ya que el Factor de Transferencia es producido y proviene del mismo sistema inmune. También, tiene la gran cualidad de ayudar a reforzar el sistema inmune a aquellas personas que se les administre sin padecer alguna enfermedad, y que al ser usado como refuerzo o suplemento alimenticio, no genera ninguna reacción contraproducente; si no que ayuda de manera integral a la salud de las personas.

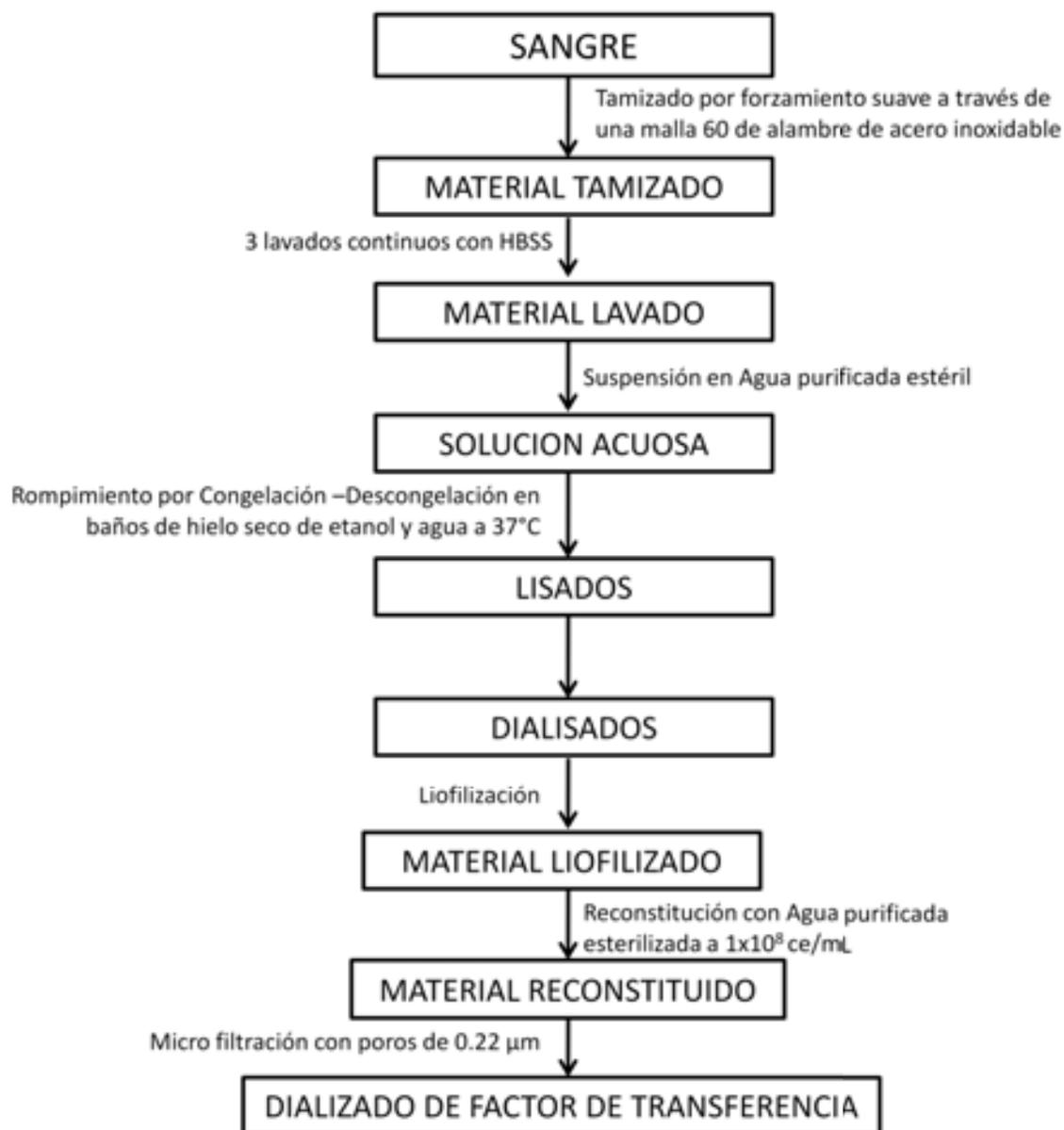
Por tal razón, el Factor de Transferencia se puede considerar como un producto novedoso y versátil, que podría tener un mercado consumidor muy considerable y puede beneficiar mucho a todas las personas que lo consuman, por sus grandes características y cualidades; por lo que puede ser dirigida a toda la gente. Como producto, hablando de manera estratégica, puede causar grandes ventas y la producción de este, puede ser considerado como un negocio factible e interesante.

**BIBLIOGRAFIA**

- A. Abbas, A. Lichtman, J. Pober. "Inmunología Celular y Molecular". McGraw Hill, Cuarta Edición. España. 2002
  - Patente Mexicana MX9504215A, Sergio Estrada Parra
  - U.S. Pat. No. 3,991,182, Spitler, et. al.
  - U.S. Pat. No. 4,468,379, Gottlieb, et. al.
  - U.S. Pat. No. 4,816,563, Wilson, et. al.
  - U.S. Pat. No. 5,080,895, Tokoro, et. al.
  - U.S. Pat. No. 5,470,853, Kirkpatrick, et. al.
  - U.S. Pat. No. 5,840,700, Kirkpatrick, et. al.
  - U.S. Pat. No. 5,883,224, Kirkpatrick, et. al.
  - U.S. Pat. No. 6,468,534, Hennen, et. al.
  - U.S. Pat. No. 2007/0053919, Lisonbee, et. al.
  - Baram, et. al., "Studies on the Transfer of Human Delayed Hypersensitivity," J. Immunol. Vol. 97, No. 3, pp. 407-420 (1965)
  - Petersen, et. al., "Murine Transfer Factor: I. Description of the Model and Evidence for Specificity," J. Immunol. Vol.126, No. 6, pp. 2480-2484 (1981)
  - Kirkpatrick, et. al., "Murine Transfer Factor: II. Transfer of Delayed Hypersensitivity to Synthetic Antigens," J. Immunol. Vol.134, No. 3, pp. 1723-1727 (1985)
  - Kirkpatrick, et. al., "Murine Transfer Factor: III. Specific Interactions Between Transfer Factor and Antigen," J. Immunol. Vol.135, No. 6, pp. 4027-4033 (1985)
  - INEGI 2009 [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx) (31 de Octubre de 2009)
  - Instituto de Estudios del Huevo 2009 [www.institutohuevo.com](http://www.institutohuevo.com) (20 de octubre de 2009)
  - Escuela Nacional de Ciencias Biológicas de Instituto Politécnico Nacional. Proyecto de Factor de Transferencia 2009 [www.factordetransferenciaipn.com.mx](http://www.factordetransferenciaipn.com.mx) (Septiembre 2009)
-

# ANEXO I

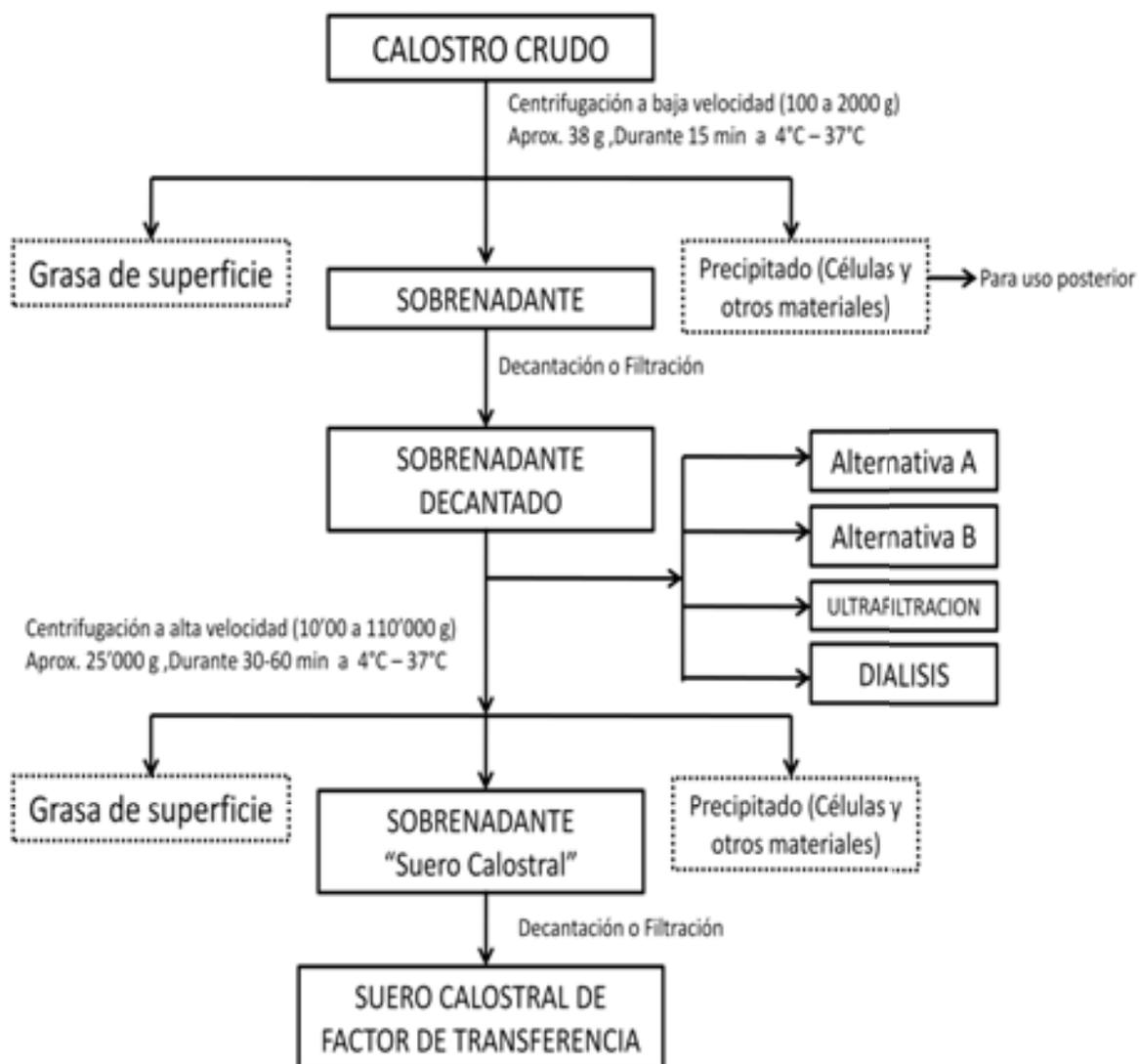
## DIAGRAMA DE OBTENCION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA POR EXTRACTO LEUCOCITARIO



# ANEXO II

## DIAGRAMA DE OBTENCION DE FACTOR DE TRNASFERENCIA POR CALOSTRO

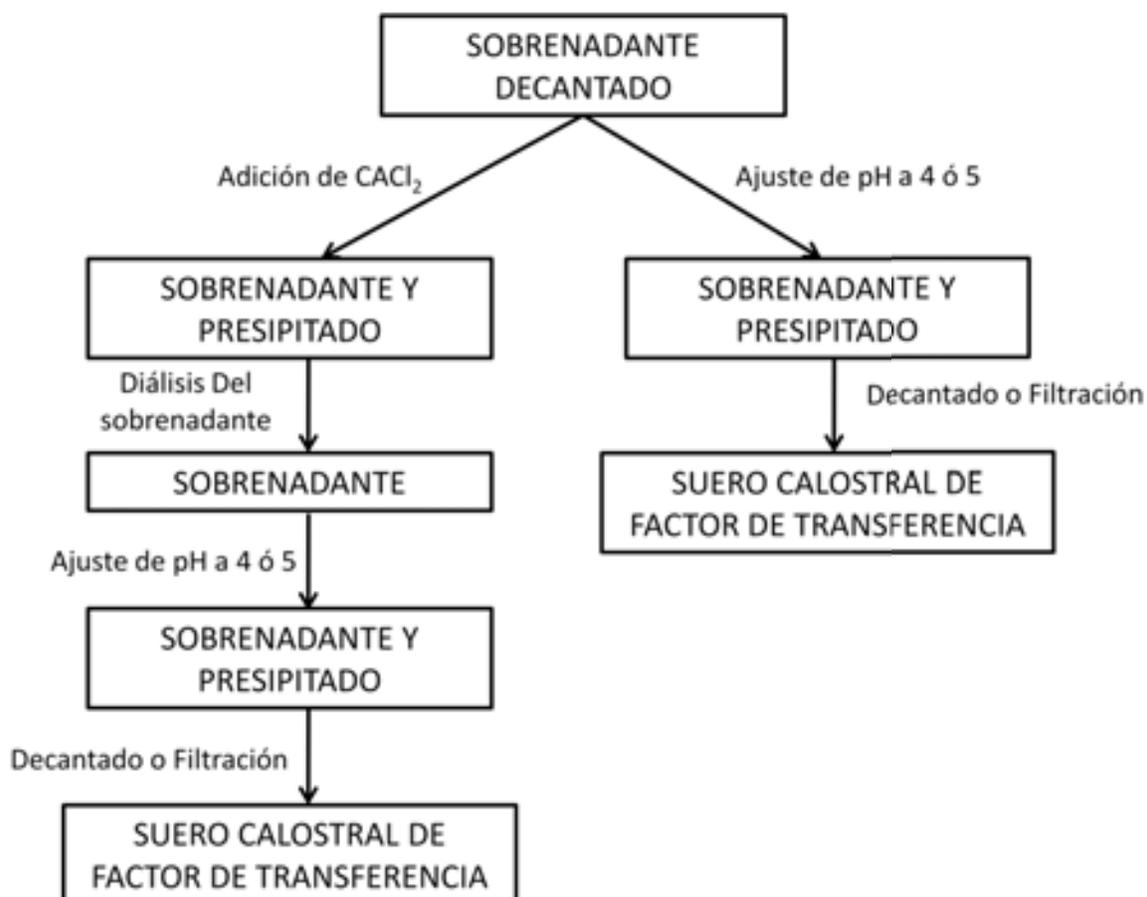
### Proceso Principal



# ANEXO III

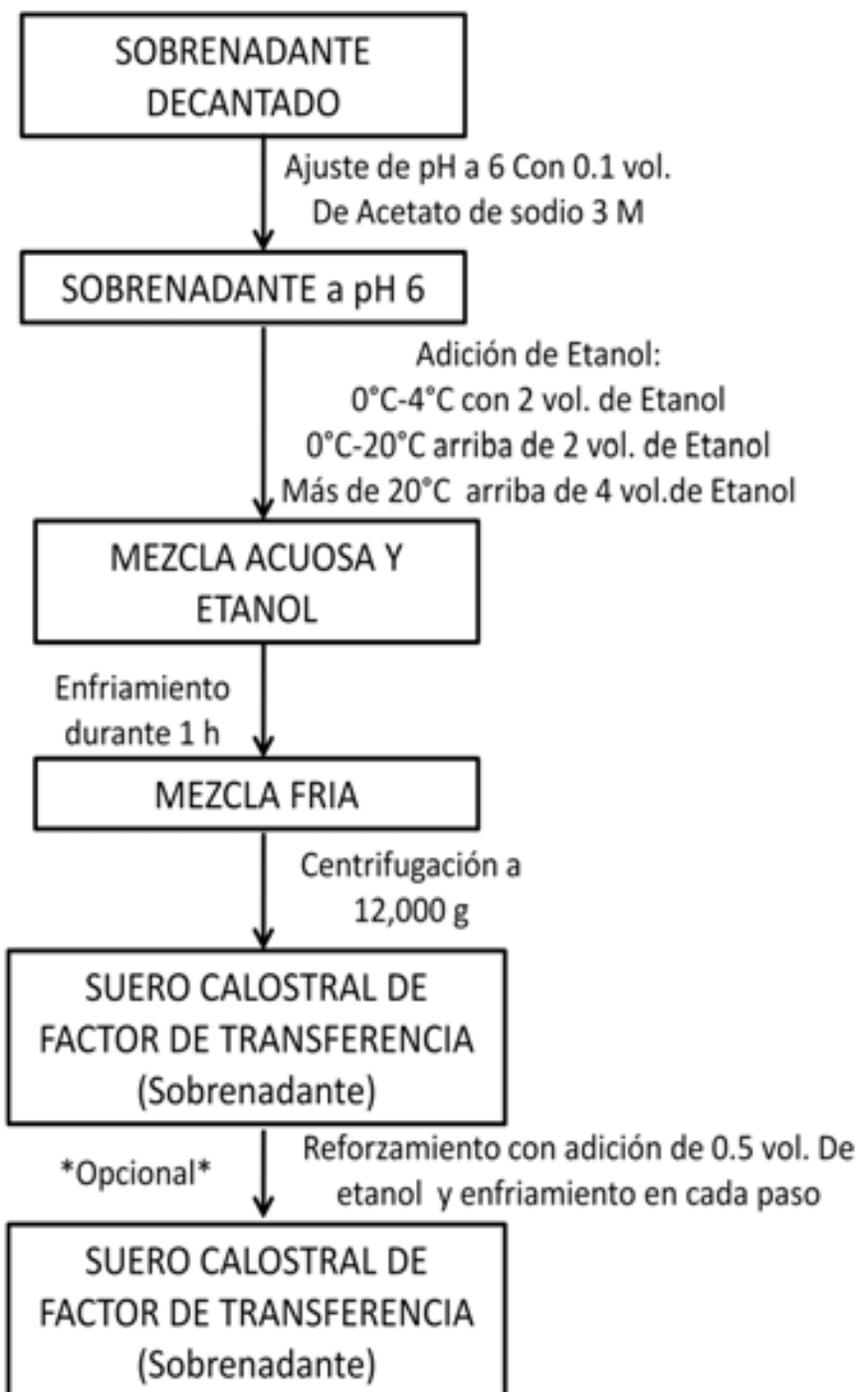
## DIAGRAMA DE OBTENCION DE FACTOR DE TRNASFERENCIA POR CALOSTRO

Alternativa A



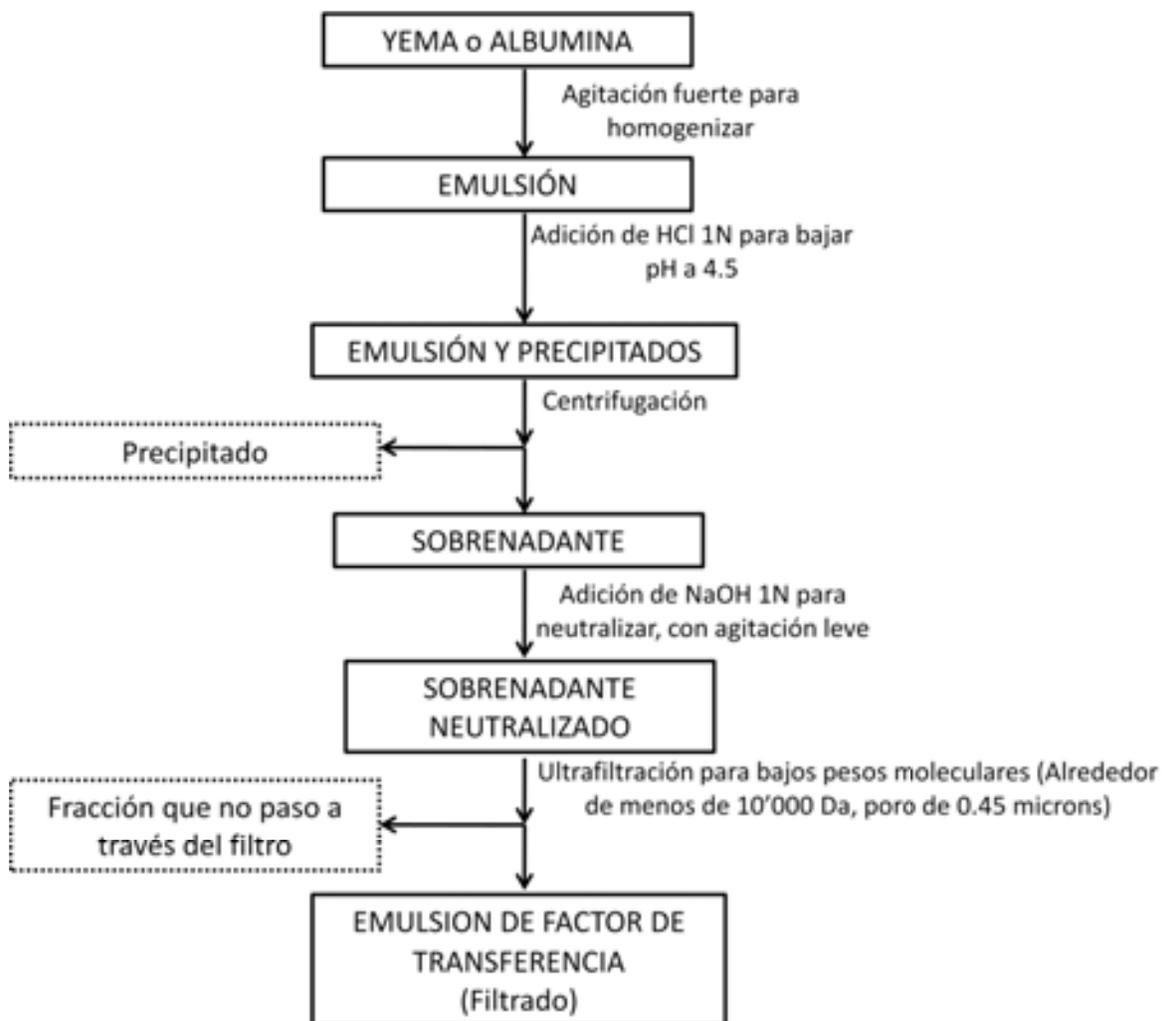
# ANEXO IV

## DIAGRAMA DE OBTENCION DE FACTOR DE TRNASFERENCIA POR CALOSTRO Alternativa B



# ANEXO V

## DIAGRAMA DE OBTENCION DE FACTOR DE TRNASFERENCIA POR HUEVOS



# ANEXO VI

## COMPOSICION DE LA LECHE HUMANA, EL CALOSTRO Y LA LECHE DE VACA.

	<b>L. Humana madura</b>	<b>Calostro</b>	<b>L. de Vaca</b>
Agua	88	87	88
Energía	70	58	69
Lactosa g/100 ml	7,3	5,3	4,8
Nitrógeno total mg/100 ml	171	360	550
Nitrógeno proteico mg/100 ml	313	512	
Nitrógeno no prot. mg/100 ml	47	32	
Proteínas totales g/100 ml	0,9	2,3	3,3
Caseína g/100 ml	0,25	---	2,73
Lactoalbúmina g/100 ml	0,26	0,16	0,11
B Lactoglobulina g/100 ml	0	0	0,36
Lactoferrina g/100 ml	0,17	0,33	Trazas
Lisozima g/100 ml	0,05	---	Trazas
IGA g/100 ml	0,14	0,36	0,003
Grasas totales g/100 ml	4,2	2,9	3,8
Acido linoleico % de la grasa	8,3%	6,8%	1,6%
Colesterol mg/100 ml	16	28	---
Calcio mg/100 ml	28	---	125
Fósforo mg/100 ml	15	---	96

Cuadro obtenido de artículo: "LA LECHE HUMANA, COMPOSICION, BENEFICIOS Y COMPARACIÓN CON LA LECHE DE VACA"

Extraído y adaptado de Manual de Lactancia para Profesionales de la Salud. Comisión de Lactancia MINSAL, UNICEF. Editoras C Shellhorn, V Valdés. Ministerio de Salud, UNICEF, Chile 1995.

# ANEXO VII

## COMPOSICIÓN DEL HUEVO

HUEVOS DE GALLINA (composición por 100 g de porción comestible)			
	Huevo	Yema	Clara
Agua (g)	74,5	51,7	88
Energía (kcal)	162	353	49,1
Proteínas (g)	12,7	16,1	11,1
Carbohidratos (g)	0,68	0,3	0,7
Almidón (g)	0	0	0
Azúcares sencillos (g)	0,68	0,3	0,7
Lípidos (g)	12,1	31,9	0,2
AGS (g)	3,3	9,5	----
AGM (g)	4,9	13	----
AGP (g)	1,8	5,5	----
Coolesterol (mg)	410	1260	0
C 18.1 A. oleico (g)	4,4	11,7	----
C 18.2 A. linoleico (g)	1,6	4,8	----
C 18.3 A. linolénico (g)	0,098	0,26	----
Fibra vegetal (g)	0	0	0
Alcohol (g)	0	0	0
Tiamina (mg)	0,11	0,29	0,022
Riboflavina (mg)	0,37	0,4	0,32
Equivalentes de Niacina (mg)	3,3	4,2	3,4
Vitamina B6 (mg)	0,12	0,3	0,012
Eq. Folato dietético (µg)	51,2	159	9,2
Vitamina B12 (µg)	2,1	2	0,1
Vitamina C (mg)	0	0	0,3
Pantoténico (mg)	1,8	3,7	0,14
Vitamina A (µg)	227	886	0
Retinol (µg)	225	881	0
Carotenoides (µg)	10	29	0
Vitamina D (µg)	1,8	5,6	0
Vitamina E (µg)	1,9	5,5	0
Vitamina K (µg)	8,9	2	0,01
Calcio (mg)	56,2	140	11
Fósforo (mg)	216	590	21
Hierro (mg)	2,2	7,2	0,2
Iodo (µg)	12,7	12	6,8
Cinc (mg)	2	3,8	0,02
Magnesio (mg)	12,1	16	12
Sodio (mg)	144	51	170
Potasio (mg)	147	138	154
Manganeso (mg)	0,071	0,13	0,04
Cobre (mg)	0,065	0,35	0,006
Selenio (µg)	10	19	5,4

Tabla Tomada del Instituto de Estudios del Huevo de Madrid, España

[www.institutohuevo.com](http://www.institutohuevo.com)

# PATENTES

Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial



(11) **MX 9504215 A**

(12)

## SOLICITUD de PATENTE

(43) Fecha de publicación: **30/04/1997** (51) Int. Cl.<sup>5</sup>: **C07C 233/00**  
 (22) Fecha de presentación: **05/10/1995**  
 (21) Número de solicitud: **9504215**

(71) Solicitante:  
**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**Juan de Dios B. Esq. Luis Enrique Zacatenco E.deM.**  
**MX 07738**

(72) Inventor(es):  
**SERGIO ANTONIO ESTRADA PARRA**  
**Juan De Dios B. Esq. Luis Enrique Zacatenco E.deM.**  
**MX 07738**  
**CARLOS ADOLFO PEREZ DE LA MORA**

(74) Representante:  
**FRANCISCO JAVIER OSORNIO CORRES.**  
**Enrique Erro s/n Edif. Dir. Gral. Gustavo A.**  
**Madero D.F. MX 07738**

(54) Title: **IMPROVED PROCESS TO PURIFY OLIGOPEPTIDES WITH MOLECULAR WEIGHTS FROM 1,000 TO 10,000 DALTONS, FROM LEUKOCYTE EXTRACTS AND THEIR PHARMACEUTICAL PRESENTATION.**

La presente invención se refiere a un procedimiento mejorado para el fraccionamiento con alto rendimiento, de un conjunto de oligopéptidos (de 1000 a 10000 daltones), recuperados a partir del rompimiento de leucocitos y que poseen actividad biológica para la regulación de la respuesta inmune que comprende los siguientes pasos: a partir de paquetes leucocitarios de donadores sanos, TODO BAJO CONDICIONES ASEPTICAS, se rompen las células, se hacen suspensiones ajustando volúmenes, y mediante ultracentrifugación, se clarifica la suspensión de los restos celulares (detritus celulares), se recuperan los oligopéptidos por medio de diafiltración y se concentran por ultrafiltración tangencial. Se formula el producto con base en su fórmula de producto terminado en presentación farmacéutica.

The present invention refers to an improved process for high yielding fractionation of an oligopeptide group (from 1000 to 10000 daltons), recovered from leukocytes breaking and having a biological activity for the regulation of an immune response, the process comprising the following steps: cells from leukocyte packages of healthy donors are broken, ALL UNDER ASEPTIC CONDITIONS, suspensions are prepared by adjusting volumes, and subsequently purified from cellular residues (cellular detritus) by ultracentrifugation, oligopeptides are recovered by diafiltration and concentrated by tangential ultrafiltration. The product is produced based on the formula of the final pharmaceutical presentation of said product.

**United States Patent** [19]  
**Wilson et al.**

[11] **Patent Number:** **4,816,563**  
 [45] **Date of Patent:** **Mar. 28, 1989**

- [54] **PROCESS FOR OBTAINING TRANSFER FACTOR FROM COLOSTRUM, TRANSFER FACTOR SO OBTAINED AND USE THEREOF**
- [75] **Inventors:** Gregory B. Wilson; Gary V. Paddock, both of Mount Pleasant, S.C.
- [73] **Assignee:** Amtron, Inc., Charleston, S.C.
- [21] **Appl. No.:** 670,596
- [22] **Filed:** Nov. 15, 1984

**Related U.S. Application Data**

- [63] Continuation-in-part of Ser. No. 554,921, Nov. 25, 1983, abandoned.
- [51] **Int. Cl.<sup>4</sup>** ..... A61K 39/00; A61K 39/02; A61K 39/12; C07H 15/12
- [52] **U.S. Cl.** ..... 530/344; 530/300; 536/22; 536/23; 536/24; 536/27; 514/2; 514/7; 514/8; 424/88; 424/89; 424/92; 424/105; 435/68
- [58] **Field of Search** ..... 424/95, 105, 88, 89, 424/92, 93; 514/2, 7, 8; 530/350, 300, 832, 833, 344, 300; 536/22, 23, 24, 27

[56] **References Cited**  
**PUBLICATIONS**

France et al *Clin Res*, vol. 28 863 A 1981 "Transfer Factor from Human Colostrum and Breast Milk Lymphocytes".  
 Ruben et al *Clin Res* vol. 27(4) 1979 698 A "Cell Medicated immunity to influenza A virus and influenza B virus in human colostrum and milk".  
 Meggs et al *Am J. Obstet Gynecol* vol. 133(6) 1979, pp. 703-707 "In-vitro Stimulation of human colostrum lymphocytes by cytomegalovirus".  
 Parmely et al *J. Dairy Science* vol. 60(4) 1977 pp.

655-665 "Colostrum cell mediated immunity and the concept of a common secretory immune system".  
 Schlesinger et al *Lancet* vol. 2 1977 pp. 529-532 "Evidence for transmission of lymphocytes response to tuberculin by breast feeding".  
 Wilson et al *Immunobiology of Transfer Factor* 1983 Kirkpatrick, Colt et al editors p. 331.  
 Wilson et al. *Immunology Today* vol. 4, p. 157.  
*Primary Examiner*—Thomas G. Wiseman  
*Assistant Examiner*—Robin L. Teskin  
*Attorney, Agent, or Firm*—John P. White; John J. Santalone

[57] **ABSTRACT**

Antigen specific excreted transfer factor may be obtained by collecting material, e.g. colostrum or milk, secreted by the mammary gland of a suitable lactating mammal, e.g. a cow having immunity to the antigen under suitable conditions such that materials which interfere with transfer factor efficacy are removed so as to obtain transfer factor. Colostrum or milk so collected may be used directly, typically after sterilization, or may be treated to further concentrate and/or purify transfer factor. Treatment to yield colostrum whey containing transfer factor is presently the preferred method for obtaining transfer factor for use in conferring immunity against diseases associated with antigens for which the transfer factor is specific. Cell-associated transfer factor specific for an antigen may also be obtained by incubation release from, or lysis of, cells obtained from the collected material. An alternative method for obtaining transfer factor is to recover it from the mammary tissue of a suitable lactating mammal. The transfer factor may be used in edible compositions and in pharmaceutical or veterinary compositions and in methods for conferring immunity in a human or lower animal to a disease associated with the antigen. The transfer factor may then be used to prevent or treat the disease.

**28 Claims, No Drawings**



US005080895A

**United States Patent** [19]  
**Tokoro**

[11] **Patent Number:** **5,080,895**  
[45] **Date of Patent:** **Jan. 14, 1992**

[54] **SPECIFIC ANTIBODY-CONTAINING SUBSTANCE FROM EGGS AND METHOD OF PRODUCTION AND USE THEREOF**

[75] **Inventor:** Hideo Tokoro, Tokyo, Japan  
[73] **Assignee:** Ghen Corporation, Gifu, Japan  
[21] **Appl. No.:** 679,839  
[22] **Filed:** Apr. 1, 1991

**Related U.S. Application Data**

[63] Continuation of Ser. No. 338,417, Aug. 4, 1988, abandoned, which is a continuation of Ser. No. 933,187, Nov. 21, 1986, abandoned.

[30] **Foreign Application Priority Data**

Nov. 25, 1985 [JP] Japan ..... 60-264108  
Sep. 17, 1986 [JP] Japan ..... 61-218859

[51] **Int. Cl.<sup>5</sup>** ..... **A61K 39/395**

[52] **U.S. Cl.** ..... **424/85.8; 424/88;**  
530/367; 530/368; 530/387

[58] **Field of Search** ..... 424/85.8, 88; 530/387

[56] **References Cited**

**U.S. PATENT DOCUMENTS**

3,984,539 10/1976 Khouw et al. .... 424/85 X  
4,284,623 8/1981 Beck ..... 424/85  
4,340,591 7/1982 Luccotte et al. .... 530/368 X  
4,357,272 11/1982 Polson ..... 530/387  
4,402,938 9/1983 Collins et al. .... 424/85  
4,534,971 8/1985 Fisher ..... 514/21  
4,550,019 10/1985 Polson ..... 424/85

**FOREIGN PATENT DOCUMENTS**

0152270 8/1985 European Pat. Off. .  
2057451A 4/1981 United Kingdom .

**OTHER PUBLICATIONS**

"Antibodies to Human Plasma Kallikrein from Egg

Yolks of an Immunized Hen: Preparation and Characterization", D. Burger et al., *Chemical Abstracts*, vol. 104, No. 1 (1986), p. 410, Abstract 4457t.

"Antibodies to Calf Thymus RNA Polymerase II from Egg Yolks of Immunized Hens", Sean B. Carroll et al., *Chemical Abstracts*, vol. 98, No. 9 (1983), p. 468, Abstract 70128y.

"Isolation of Viral IgY Antibodies from Yolks of Immunized Hens", A. Polson et al., *Chemical Abstracts*, vol. 94, No. 5 (1981), p. 400, Abstract 28656h.

"Antibodies to Proteins from Yolk of Immunized Hens", A. Polson et al., *Chemical Abstracts*, vol. 94, No. 5 (1981), p. 405, Abstract 28708b.

"Lack of Antigen Fragments in Guinea Pig Transfer Factor-Like Activity", W. Dunnick et al., *Biological Abstracts*, vol. 71, No. 1 (1981), p. 302, Ref. 2892. *Stedman's Medical Dictionary*, 1987, p. 494.

*Primary Examiner*—Howard E. Schain  
*Attorney, Agent, or Firm*—Burns, Doane, Swecker & Mathis

[57] **ABSTRACT**

A substance which contains a specific antibody or specific transfer factor-like component is produced from the yolks or albumens or both of eggs of a hen which has been immunized against a selected antigen such as a pathogenic bacteria. The substance is active against the antigen, and is useful for protecting animals from attack by the same antigen as used in immunization of the hen. It is also useful as additives in food for animals, cosmetics, and medicines. The transfer factor-like component is recovered from a fraction of at most 10,000 in molecular weight of the yolks or albumens or both of the eggs.

**7 Claims, 3 Drawing Sheets**

**United States Patent** [19] **Patent Number:** **4,468,379**  
**Gottlieb** **BEST AVAILABLE COPY** [45] **Date of Patent:** **Aug. 28, 1984**

- [54] **LEUKOCYTE EXTRACTS FOR AFFECTING THE IMMUNE SYSTEM**
- [75] Inventor: **A. Arthur Gottlieb**, New Orleans, La.
- [73] Assignee: **Endeavor Corp.**, New Orleans, La.
- [21] Appl. No.: **441,432**
- [22] Filed: **Nov. 15, 1982**

**Related U.S. Application Data**

- [63] Continuation-in-part of Ser. No. 256,886, May 6, 1982, abandoned, which is a continuation-in-part of Ser. No. 149,737, May 14, 1980, abandoned.
- [51] Int. Cl.<sup>3</sup> ..... **A61K 35/14**
- [52] U.S. Cl. .... **424/101; 424/88**
- [58] Field of Search ..... **424/101, 88**

**References Cited  
PUBLICATIONS**

Wotila-Transfer Factor & Other Immunological Activities of Human Leucocyte Dialysate and Other Dialy-

sates of Mammalian Tissues (1979), pp. 2-4, 6-7, 12-17, 22-23 and 25-27.

*Primary Examiner*—Sam Rosen  
*Attorney, Agent, or Firm*—Richard H. Stern

[57] **ABSTRACT**

A group of substances derived from human leukocytes (white blood cells) are described that amplify, suppress, or otherwise modulate the response of the immune system to reintroduction of antigens. The described materials are generically effective as to antigens rather than specific as to particular antigens, but the described modulators of immune response are effective only in respect of antigens with which the recipient has previously been challenged. The described materials are extracted from leukocyte dialysates by processes involving high pressure liquid chromatography with specified resin/solvent systems. Uses and pharmaceutical compositions for use of the materials are also described.

**43 Claims, 4 Drawing Figures**



**United States Patent** [19]  
**Kirkpatrick et al.**

[11] **Patent Number:** **5,470,835**  
 [45] **Date of Patent:** **Nov. 28, 1995**

- [54] **TRANSFER FACTOR AND METHODS OF USE**
- [75] Inventors: **Charles H. Kirkpatrick**, Denver;  
**Stephen J. Rozzo**, Aurora, both of Colo.
- [73] Assignee: **National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine**, Denver, Colo.
- [21] Appl. No.: **279,278**
- [22] Filed: **Jul. 22, 1994**

**Related U.S. Application Data**

- [63] Continuation of Ser. No. 20,244, Feb. 19, 1993, abandoned, which is a continuation of Ser. No. 718,571, Jun. 26, 1991, abandoned, which is a continuation-in-part of Ser. No. 547,500, Jul. 2, 1990, abandoned.
- [51] **Int. Cl.<sup>6</sup>** ..... **A61K 38/00; C07K 5/00; C07K 7/00; C07K 17/00**
- [52] **U.S. Cl.** ..... **514/21; 530/344; 530/417; 530/300**
- [58] **Field of Search** ..... **530/344, 417, 530/300; 514/21**

**References Cited**

**U.S. PATENT DOCUMENTS**

3,991,182	11/1974	Spitler et al.	424/101
4,001,080	1/1977	Goust et al.	
4,132,776	1/1979	Jeter	
4,289,690	9/1981	Pestra et al.	530/412
4,435,384	3/1984	Warren	424/101
4,468,379	8/1984	Gottlieb	424/101
4,616,079	10/1986	Gottlieb	
4,816,563	3/1989	Wilson et al.	

**FOREIGN PATENT DOCUMENTS**

0101200	7/1983	European Pat. Off.	
101200	2/1984	European Pat. Off.	
84114159	11/1984	European Pat. Off.	

**OTHER PUBLICATIONS**

- Kirkpatrick, *J. Immunol.* vol. 134(3): 1723-27 (Mar. 1985).
- Vandenbark et al. *J. Immunol.* vol. 118 No. 2 (Feb. 1977).
- Kirkpatrick et al. *J. Immunol.* vol. 135 (6) (Dec. 1985).
- Borkowsky, *J. Immunol.* vol. 120(2) 480-489 (1981).
- Super et al. *Biotechniques* Nov./Dec. 1983 198-203.
- Lawrence et al. *Cell Immunol.* vol. 82 102-116 (1983).
- Kirkpatrick, "Transfer Factor: Perspectives In Human and Veterinary Medicine," *J. Exp. Path.*, vol. 3, No. 4, pp. 383-398 (1987).
- Kirkpatrick, et al., "Transfer Factor: Progress Toward Isolation And Chemical Characterization," *The Lymphokines*, pp. 261-274 (The Humana Press 1981).
- Petersen, et al., "Selective Removal of Transfer Factor Activity With Antigen," *Immunobiology of Transfer Factor*, ed. Kirkpatrick, pp. 65-74 (Academic Press, 1983).
- Borkowsky, et al., "Deletion Of Antigen-Specific Activity from Leukocyte Dialysates Containing Transfer Factor By Antigen-Coated Polystyrene," *J. Immunol.*, vol. 126, No. 2, pp. 486-489 (1981).
- Peterson, et al., "Murine Transfer Factor: I. Description of

- the Model and Evidence for Specificity," *J. Immunol.*, vol. 126, No. 6, pp. 2480-2484 (1981).
- Kirkpatrick, et al., "Murine Transfer Factor: II. Transfer of Delayed Hypersensitivity to Synthetic Antigens," *J. Immunol.*, vol. 134, No. 3, pp. 1723-1727 (1985).
- Kirkpatrick, et al., "Murine Transfer Factor: III. Specific Interactions Between Transfer Factor and Antigen," *J. Immunol.*, vol. 135, No. 6, pp. 4027-4033 (1985).
- Huang, et al., "Nature and Antigen-Specific Activities of Transfer Factor Against Herpes Simplex Virus Type 1.," *Acta Virol.*, vol. 31, pp. 449-457 (1987).
- Kirkpatrick et al. *J. Immunol.* vol. 135 No. 6 (Dec. 1985) 402.7.
- Peterson et al. *J. Immunol.* vol. 126 No. 6 (Jun. 1981) 2480.
- Burger, et al., "Human Transfer Factor: Structural Properties Suggested By HPRP Chromatography and Enzymatic Sensitivities," *J. Immunol.*, vol. 122, No. 3, pp. 1091-1098 (1979).
- Rozzo, et al., "Murine Transfer Factor IV. Studies with Genetically Regulated Immune Responses," *Cell. Immunol.*, vol. 115, pp. 130-145 (1988).
- Lawrence, et al., "A New Basis for the Immunoregulatory Activities of Transfer Factor—An Arcane Dialect in the Language of Cells," *Cell. Immunol.*, vol. 82, pp. 102-116 (1983).
- Borkowsky, et al., "Antigen-Specific Suppressor Factor in human Leukocyte Dialysates: A Product of Ts Cells Which Bind to Anti-V Region and Anti-Ia Region Antibodies," *Immunobiology of Transfer Factor*, ed. Kirkpatrick, pp. 91-115 (Academic Press, 1983).
- Vandenbark, et al., "Human Transfer Factor: Fractionation By Electrofocusing and High Pressure, Reverse Phase Chromatography," *J. Immunol.*, vol. 118, No. 2, pp. 636-641 (1977).
- Wilson, et al., "The Chemical Nature of the Antigen-Specific Moiety of Transfer Factor", *Chemical Structure of Transfer Factor*, Publication No. 295, Dept. of Basic and Clinical Immunology and Microbiology, Medical University of South Carolina, pp. 239-256.
- Sinha, et al., "Immunomodulatory Components Present in IMREG-1, an Experimental Immunosupportive Biologic", *Bio/Technology*, vol. 6, pp. 810-815 (1988).
- Lawrence, et al., "Transfer of Immunologic Information in Humans with Dialysates of Leukocyte Extracts", *Department of Medicine, New York University School of Medicine*, pp. 84-89.
- Kirkpatrick, "Transfer Factor", *Allergy Clin. Immunol.*, vol. 81, No. 5, pp. 803-813 (1988).

(List continued on next page.)

*Primary Examiner*—Jill Warden  
*Assistant Examiner*—Sheila J. Huff  
*Attorney, Agent, or Firm*—Jones & Askew

[57] **ABSTRACT**

The invention relates to substantially pure transfer factor with a specific activity of at least 5000 units per absorbance unit at 214 nm. The present invention also relates to a process for preparing the transfer factor from cell lysates. The present invention includes the use of substantially pure transfer factor with a specific activity of at least 5000 units per absorbance unit at 214 nm to treat infectious diseases.

**23 Claims, 17 Drawing Sheets**



US005840700A

**United States Patent** [19]  
**Kirkpatrick et al.**

[11] **Patent Number:** **5,840,700**  
 [45] **Date of Patent:** **Nov. 24, 1998**

[54] **METHODS OF PRODUCING TRANSFER FACTOR**

[75] Inventors: **Charles H. Kirkpatrick**, Denver;  
**Stephen J. Rozzo**, Aurora, both of  
 Colo.

[73] Assignee: **National Jewish Center for  
 Immunology and Respiratory  
 Medicine**, Denver, Colo.

[21] Appl. No.: **441,973**

[22] Filed: **May 16, 1995**

**Related U.S. Application Data**

[62] Division of Ser. No. 279,278, Jul. 22, 1994, Pat. No. 5,470,835, which is a continuation of Ser. No. 20,244, Feb. 19, 1993, abandoned, which is a continuation of Ser. No. 718,571, Jun. 26, 1991, abandoned, which is a continuation-in-part of Ser. No. 547,500, Jul. 2, 1990, abandoned.

[51] **Int. Cl.<sup>6</sup>** ..... **C07K 17/00**

[52] **U.S. Cl.** ..... **514/21; 530/344; 530/351;**  
 530/413; 530/417

[58] **Field of Search** ..... 530/344, 351,  
 530/300, 413, 417; 514/21

[56] **References Cited**  
**PUBLICATIONS**

Pandey, "Purification of nucleotide linked peptide" Caplus AB# 1988:469727 1988.  
 Freifelder, "Physical Biochemistry, 2nd Edition" pp. 216-225, 225-265 +494-524. 1982.  
 Kirkpatrick "Murine Transfer Factors III." J. Immunol. 135 (6) pp. 4027-4033 1985.  
 Qi, H. Y. et al. "Chemical Characterization of the Purified Component of Specific Transfer Factor in the Leukocyte Dialysates from HSV-1 Immunized Goats" *Acta viro.*, vol. 36, pp. 239-244 (1992).  
 Biemann, K. "Methods for Protein Sequencing", *Analytical Chemistry*, vol. 58, No. 13, pp. 1289A-1300A (1986).

*Primary Examiner*—Cecilia J. Tsang  
*Assistant Examiner*—Patrick R. Delaney  
*Attorney, Agent, or Firm*—Jones & Askew

[57] **ABSTRACT**

The invention relates to substantially pure transfer factor with a specific activity of at least 5000 units per absorbance unit at 214 nm. The present invention also relates to a process for preparing the transfer factor from cell lysates. The present invention includes the use of substantially pure transfer factor with a specific activity of at least 5000 units per absorbance unit at 214 nm to treat infectious diseases.

**24 Claims, 17 Drawing Sheets**



US005883224A

**United States Patent** [19]  
**Kirkpatrick et al.**

[11] **Patent Number:** **5,883,224**  
[45] **Date of Patent:** **Mar. 16, 1999**

- [54] **CHARACTERIZATION OF TRANSFER FACTORS AND METHODS OF USE**
- [75] Inventors: **Charles H. Kirkpatrick**, Denver; **Martin J. McDermott**; **Stephen P. Eisenberg**, both of Boulder, all of Colo.
- [73] Assignee: **Cytokine Sciences, Inc.**, Denver, Colo.
- [21] Appl. No.: **635,062**
- [22] Filed: **Apr. 19, 1996**
- [51] **Int. Cl.**<sup>6</sup> ..... **A61K 38/08**; C07K 7/06
- [52] **U.S. Cl.** ..... **530/328**; 930/801
- [58] **Field of Search** ..... 530/328, 329, 530/350; 514/2, 15, 17; 930/801

- Huang, et al., "Nature and Antigen-Specific Activities of Transfer Factor Against Herpes Simplex Virus Type 1.," *Acta Virol.*, vol. 31, pp. 449-457 (1987).
- Burger, et al., "Human Transfer Factor: Structural Properties Suggested By HPRP Chromatography and Enzymatic Sensitivities," *J. Immunol.*, vol. 122, No. 3, pp. 1091-1098 (1979).
- Rozzo, et al., "Murine Transfer Factor IV. Studies with Genetically Regulated Immune Responses," *Cell. Immunol.*, vol. 115, pp. 130-145 (1988).
- Lawrence, et al., "A New Basis for the Immunoregulatory Activities of Transfer Factor—An Arcane Dialect in the Language of Cells," *Cell. Immunol.*, vol. 82, pp. 102-116 (1983).
- Borkowsky, et al., "Antigen-Specific Suppressor Factor in Human Leukocyte Dialysates: A Product of Ts Cells Which Bind to Anti-V Region and Anti-Ia Region Antibodies," *Immunobiology of Transfer Factor*, ed. Kirkpatrick, pp. 91-115 (Academic Press, 1983).
- Vandenbark, et al., "Human Transfer Factor: Fractionation By Electrofocusing and High Pressure, Reverse Phase Chromatography," *J. Immunol.*, vol. 118, No. 2, pp. 636-641 (1977).
- Wilson, et al., "The Chemical Nature of the Antigen-Specific Moiety of Transfer Factor", *Chemical Structure of Transfer Factor*, Publication No. 295, Dept. of Basic and Clinical Immunology and Microbiology, Medical University of South Carolina, pp. 239-256.
- Sinha, et al., "Immunomodulatory Components Present in IMREG-1, an Experimental Immunosupportive Biologic", *Bio/Technology*, vol. 6, pp. 810-815 (1988).
- Lawrence, et al., "Transfer of Immunologic Information in Humans with Dialysates of Leukocyte Extracts", Department of Medicine, New York University School of Medicine, pp. 84-89.
- Kirkpatrick, "Transfer Factor", *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 81, No. 5, pp. 803-813 (1988).
- Steele, et al., "Transfer Factor for the Prevention of Varicella-Zoster Infection in Childhood Leukemia", *N. Engl. J. Med.*, vol. 303, No. 7, pp. 355-359 (1980).
- Dwyer, "The Use of Antigen Specific Transfer Factor in the Management of Infection with Herpes Viruses", *Immunobiology of Transfer Factor*, Academic Press, New York, pp. 233-243 (1983).
- Viza, et al., "Orally Administered Specific Transfer Factor for the Treatment of Herpes Infections", *Lymphokine Res.*, vol. 4, No. 1, pp. 27-30 (1985).

[56] **References Cited**

**U.S. PATENT DOCUMENTS**

3,991,182	11/1976	Spitter .
4,001,080	1/1977	Goust et al. .
4,132,776	1/1979	Jeter .
4,289,690	9/1981	Pestra et al. .
4,435,384	3/1984	Warren .
4,468,379	8/1984	Gottlieb .
4,610,878	9/1986	Wilson et al. .
4,616,079	10/1986	Gottlieb .
4,778,750	10/1988	Gottlieb .
4,816,563	3/1989	Wilson et al. .
5,470,835	11/1995	Kirkpatrick et al. .

**FOREIGN PATENT DOCUMENTS**

0 101 200	7/1983	European Pat. Off. .
0 143 445	6/1985	European Pat. Off. .

**OTHER PUBLICATIONS**

- Kirkpatrick, "Transfer Factor: Perspectives In Human and Veterinary Medicine," *J. Exp. Path.*, vol. 3, No. 4, pp. 383-398 (1987).
- Kirkpatrick, et al., "Transfer Factor: Progress Toward Isolation And Chemical Characterization," *The Lymphokines*, pp. 261-274 (The Humana Press 1981).
- Petersen, et al., "Selective Removal of Transfer Factor Activity With Antigen," *Immunobiology of Transfer Factor*, ed. Kirkpatrick, pp. 65-74 (Academic Press, 1983).
- Borkowsky, et al., "Deletion Of Antigen-Specific Activity from Leukocyte Dialysates Containing Transfer Factor By Antigen-Coated Polystyrene," *J. Immunol.*, vol. 126, No. 2, pp. 486-489 (1981).
- Rozzo et al., "Purification of Transfer Factors," *Molecular Immunology*, vol. 29, No. 2, pp. 167-182 (1992).
- Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W.H. Freeman and Company, New York, pp. 25-28 (1984).
- Peterson, et al., "Murine Transfer Factor: I. Description of the Model and Evidence for Specificity," *J. Immunol.*, vol. 126, No. 6, pp. 2480-2484 (1981).
- Kirkpatrick, et al., "Murine Transfer Factor: II. Transfer of Delayed Hypersensitivity to Synthetic Antigens," *J. Immunol.*, vol. 134, No. 3, pp. 1723-1727 (1985).
- Kirkpatrick, et al., "Murine Transfer Factor: III. Specific Interactions Between Transfer Factor and Antigen," *J. Immunol.*, vol. 135, No. 6, pp. 4027-4033 (1985).

(List continued on next page.)

*Primary Examiner*—David Saunders  
*Assistant Examiner*—F. Pierre VanderVegt  
*Attorney, Agent, or Firm*—Jones & Askew, LLP

[57] **ABSTRACT**

Characterization of transfer factors is provided in the form of amino acid and nucleic acid sequences corresponding to at least a portion of a conserved transfer factor region. The amino acid and nucleic acid sequences, or functional homologues thereof, are provided along with methods of use thereof for diagnostic, therapeutic and other purposes.

**2 Claims, 26 Drawing Sheets**



(12) **United States Patent**  
Hennen et al.

(10) **Patent No.:** US 6,468,534 B1  
(45) **Date of Patent:** Oct. 22, 2002

- (54) **METHODS FOR OBTAINING TRANSFER FACTOR FROM AVIAN SOURCES, COMPOSITIONS INCLUDING AVIAN-GENERATED TRANSFER FACTOR, AND METHODS OF USE**
- (75) Inventors: **William J. Hennen**, Springville; **David T. Lisonbee**, Orem, both of UT (US)
- (73) Assignee: **4Life Research, LC**, Provo, UT (US)
- (\*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days.
- (21) Appl. No.: **09/667,147**
- (22) Filed: **Sep. 21, 2000**
- (51) **Int. Cl.<sup>7</sup>** ..... **A61K 39/395**; A61K 39/00; A61K 39/12; C12P 1/00; C07K 1/00
- (52) **U.S. Cl.** ..... **424/157.1**; 424/130.1; 424/184.1; 424/201.1; 424/227.1; 424/204.1; 435/41; 530/300; 530/350
- (58) **Field of Search** ..... 514/21; 424/157.12; 424/130.1, 184.1, 201.1, 227.1, 278.1, 204.1, 214.1, 212.1, 230.1, 234.1; 530/300, 350; 435/41

(56) **References Cited**

**U.S. PATENT DOCUMENTS**

4,180,627 A	12/1979	Klesius et al.	435/262
4,402,938 A	9/1983	Collins et al.	424/85
4,816,563 A	3/1989	Wilson et al.	530/344
5,080,895 A	1/1992	Tokoro	424/85.8
5,367,054 A *	11/1994	Lee	530/359
5,470,835 A	11/1995	Kirkpatrick et al.	514/21
5,538,727 A	7/1996	Stolle et al.	424/203.1
5,753,228 A	5/1998	Sterling et al.	424/151.1
5,753,268 A	5/1998	Stolle et al.	424/581
5,840,700 A	11/1998	Kirkpatrick et al.	514/21
5,849,349 A	12/1998	Stolle et al.	426/614
5,853,765 A	12/1998	Stolle et al.	424/581

**OTHER PUBLICATIONS**

- Fudenberg, H. H., et al., "Transfer Factor 1993: New Frontiers," *Progress in Drug Research*, vol. 42 (1994), pp. 309-318.
- Qureshi, M.A., et al., "Understanding Immunology in Disease Development and Control," *Poultry Science*, vol. 77 (1998), pp. 1126-1129.
- Sharma, J.M., "The Structure and Function of the Avian Immune System," *Acta Veterinaria Hungarica*, vol. 45(3) (1997), pp. 229-238.
- Xlth International Congress on Transfer Factor, Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mar. 1999.
- Egcel™ and BioChoice™, Overview for Health Care Professionals, DCV, Apr. 1999, pp. 1-4.
- Millipore Sterile Membrane Filters, <http://www.millipore.com>. (2000).
- Celite Filter Media; RH 1010, Funnel, Buchner Type; <http://www.celtic-eng.com>, <http://www.glassfilter.com>, <http://www.worldminerals.com>. (2000).
- Fabio, Anthony di, "Scope of Protection Immune Milk." pp. 1-8, *The Arthritis Trust, Dedicated to Eradicating Rheumatoid Disease, from the Earth*, 2000.

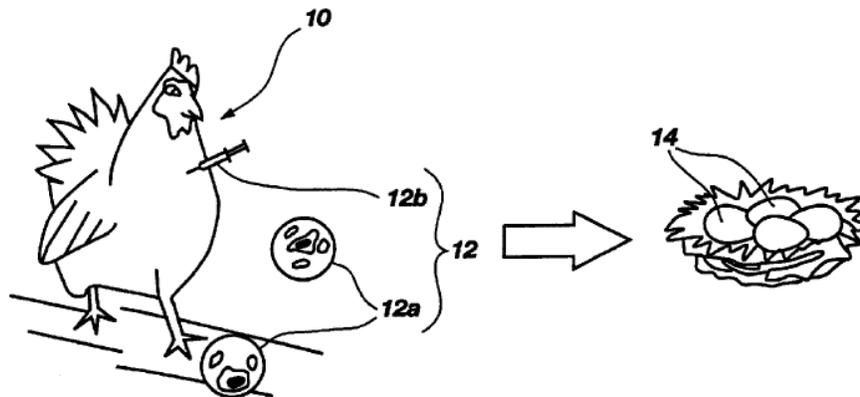
(List continued on next page.)

*Primary Examiner*—Hankyel T. Park  
*Assistant Examiner*—Stacy S. Brown  
(74) *Attorney, Agent, or Firm*—TraskBritt

(57) **ABSTRACT**

A non-mammalian transfer factor, compositions including the non-mammalian transfer factor, and methods for generating and preparing the non-mammalian transfer factor. The non-mammalian transfer factor may have specificity for one or more antigens. A method of using the non-mammalian transfer factor includes administering either antigen-specific non-mammalian transfer factor or antigen non-specific non-mammalian transfer factor to mammals to treat or prevent pathogenic infections in the mammals.

**30 Claims, 3 Drawing Sheets**





US 20070053919A1

(19) **United States**

(12) **Patent Application Publication** (10) **Pub. No.: US 2007/0053919 A1**  
**Lisonbee et al.** (43) **Pub. Date: Mar. 8, 2007**

(54) **COMPOSITIONS INCLUDING DIFFERENT TYPES OF TRANSFER FACTOR, METHODS FOR MAKING THE COMPOSITIONS, AND METHODS OF TREATMENT USING THE COMPOSITIONS**

of application No. 10/663,353, filed on Sep. 15, 2003, now Pat. No. 6,866,868.

**Publication Classification**

(76) Inventors: **David Lisonbee**, Sandy, UT (US); **William J. Hennen**, Eagle Mountain, UT (US); **F. Joseph Daugherty**, Omaha, NE (US)

(51) **Int. Cl.**  
*A61K 39/00* (2006.01)  
(52) **U.S. Cl.** ..... **424/184.1; 424/185.1**

(57) **ABSTRACT**

Correspondence Address:  
**TRASK BRITT**  
**P.O. BOX 2550**  
**SALT LAKE CITY, UT 84110 (US)**

A composition for eliciting a T-cell mediated immune response in a subject includes transfer factor from at least two different types of source animals. For example, the composition may include mammalian transfer factor and nonmammalian transfer factor. An example of the composition includes a combination of a colostrum-derived product, which includes the mammalian transfer factor, and an egg-derived product, which includes the nonmammalian transfer factor. Additionally, the egg-derived product may be substantially free of fat. Methods for forming the composition and eliciting T-cell mediated immune responses in subjects that have been treated with the composition are also disclosed.

(21) Appl. No.: **11/377,703**

(22) Filed: **Mar. 15, 2006**

**Related U.S. Application Data**

(63) Continuation-in-part of application No. PCT/US04/30307, filed on Sep. 15, 2004, which is a continuation