

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 517**

51 Int. Cl.:

A61K 35/16 (2015.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2017** **E 21197363 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2024** **EP 3995141**

54 Título: **Fracciones de plasma como terapia para el cáncer de timo**

30 Prioridad:

28.04.2016 US 201662329061 P

18.08.2016 US 201662376529 P

24.10.2016 US 201662412262 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
08.07.2024

73 Titular/es:

ALKAHEST, INC. (100.0%)
125 Shoreway Road, Suite D
San Carlos, CA 94070, US

72 Inventor/es:

BRAITHWAITE, STEVEN P.;
MINAMI, S. SAKURA y
MCCRACKEN, JOSEPH

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 975 517 T3

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

DESCRIPCIÓN

Fracciones de plasma como terapia para el cáncer de timo

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Esta invención se refiere al tratamiento del cáncer de timo. En particular, la invención se refiere a una Fracción de Proteínas de Plasma para su uso en el tratamiento del cáncer de timo.

ANTECEDENTES

Lo que sigue se ofrece únicamente como información de fondo y no se admite como técnica anterior a la presente invención.

El cáncer es una de las enfermedades más comunes que afectan a la humanidad y es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Sólo en Estados Unidos, es la segunda causa de muerte, por detrás de las enfermedades coronarias.

El envejecimiento de un organismo va acompañado de una acumulación de cambios a lo largo del tiempo. Se trata de un proceso multifactorial que provoca el deterioro progresivo de los sistemas orgánicos y los tejidos corporales. El envejecimiento es el resultado de factores genéticos y ambientales, tales como la dieta, el ejercicio, la exposición a microorganismos, los contaminantes químicos y la exposición a radiaciones naturales y artificiales. (Nigam Y, et al., J. Aging Research, Vol. 2012, Art. ID nº 468469.) El envejecimiento se compone de tres grupos de cambios: cambios en los mecanismos homeostáticos, tales como la temperatura corporal y los volúmenes de sangre y líquido extracelular; disminución de la masa de los órganos; y disminución o pérdida de las reservas de los sistemas corporales. Se cree que este último cambio coincide con el deterioro de la capacidad de adaptación a retos externos tales como la cirugía u otros tipos de traumatismos. El reto es mantener la salud de la población mundial que envejece para conservar la calidad de vida y reducir la carga de las infraestructuras médicas. (Véase *id.*)

El cáncer acompaña frecuentemente al envejecimiento y es una enfermedad de crecimiento celular incontrolado. De hecho, el mayor factor de riesgo para desarrollar cáncer es el envejecimiento. Más del 60% de los cánceres en Estados Unidos se dan en personas de 65 años o más.

Se considera que el cáncer comprende seis rasgos distintivos: (1) mantener la señalización proliferativa; (2) evadir los supresores del crecimiento; (3) activar la invasión y la metástasis; (4) permitir la inmortalidad replicativa; (5) inducir la angiogénesis; y (6) resistir la muerte celular. (Hanahan D., et al., Cell Vol. 144, (2011) pp. 646-74). En las últimas décadas han surgido diversos tratamientos contra el cáncer para contrarrestar estos procesos. Por ejemplo, el cáncer se suele tratar por medio de uno o varios de los siguientes procedimientos: cirugía, quimioterapia (incluida la terapia con moléculas pequeñas dirigida a dianas específicas), radioterapia, inmunoterapia y terapia con anticuerpos monoclonales. La localización y el grado del tumor, así como el estadio de la enfermedad, suelen determinar el tipo de terapia aplicada. Aunque se han logrado avances mensurables desde que se declaró la "Guerra contra el Cáncer" hace más de cuatro décadas, existe la necesidad de nuevas terapias, en particular terapias con bases naturales con capacidad para elevar la calidad de vida, mejorar el cumplimiento terapéutico y producir menos efectos secundarios que los que presentaban las terapias oncológicas anteriores.

Se ha observado que el cáncer y la autoinmunidad comparten una relación bidireccional. (Tal Sapir, et al., Uncovering the Hidden Potential of Intravenous Immunoglobulin as an Anticancer Therapy, 29 Clin. Rev. Allergy & Immunology 307 (2005)). En consecuencia, se ha informado de que la administración de inmunoglobulina intravenosa (comúnmente abreviada como IVIg, IVIG o IGIV), un preparado de plasma humano, tiene ciertos efectos observables en la regresión del cáncer. (véase *Id.*) Se cree que esta función autoinmune está mediada por los efectos que la IgIV tiene sobre las células T del individuo. (Jagadeesh Bayry, et al., Inmunoglobulina intravenosa expande las células T reguladoras en la enfermedad reumática autoinmune, 32 J. Rheumatology 450 (2012)).

Se han descrito otros enfoques para tratar el cáncer por medio de la administración de un producto de plasma sanguíneo, incluidas composiciones ricas en plaquetas (US 2013/0121979, Mishra; WO 2011/028733mishra), agentes antitumorales derivados del suero de caimanes o cocodrilos (WO 03/007874, Natural Cure Ltd.), preparados inmunitarios contra tumores (EP 0 091 784, Baylor College Medicine) o fracciones de plasma (US 2007/117180, Morikawa et al.).

SUMARIO

La presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas y describe una Fracción de Proteína de Plasma para su uso en el tratamiento de un cáncer de timo en un individuo diagnosticado con el cáncer de timo, en el que la FPP comprende una solución estéril de proteína compuesta de albúmina y globulina, derivada de plasma humano, con un contenido de albúmina de al menos el 83% con no más del 17% de globulinas y otras proteínas de plasma, y no más del 1% de gammaglobulina. Aunque la IVIg es un componente conocido del plasma sanguíneo, la presente invención describe un uso para el tratamiento del cáncer independiente de la IVIg. En primer lugar, por ejemplo, las fracciones de plasma sanguíneo se han agotado de IVIg. Además, el plasma sanguíneo y las fracciones de plasma

sanguíneo utilizadas en ratones inmunocomprometidos que carecen de células T, células B y células asesinas naturales funcionales siguen mostrando inhibición del crecimiento tumoral. Además, los niveles estándar de tratamiento con IgIV administrados en estudios sobre el cáncer (2g/kg) son casi 25 veces superiores a los niveles de IgIV presentes en el plasma sanguíneo. Además, las realizaciones de la invención que comprenden fracciones de plasma sanguíneo no contienen más de un 1% de gammaglobulina (IVIg), mientras que los productos estándar de IVIg contienen al menos un 95% de IVIg. (A. Buchacher and W. Kaar; Intravenous Immunoglobulin G from Human Plasma Purification Concepts and Important Quality Criteria; PRODUCTION OF PLASMA PROTEINS FOR THERAPEUTIC USE; Ch. 13 at 192 (J. BERTOLINI ET AL, EDS., 2013).

El plasma sanguíneo también puede fraccionarse en fracciones de plasma sanguíneo, muchas de las cuales están efectivamente desprovistas de IgIV. En consecuencia, la invención actual aborda las deficiencias de los tratamientos actuales contra el cáncer por medio de, entre otras cosas, la utilización de fracciones de plasma sanguíneo desprovistas tanto de IgIV como de factores de coagulación para tratar el crecimiento y la progresión del cáncer. Dado que las realizaciones de la invención actual se derivan de forma natural de la sangre humana, su eficacia en el tratamiento del cáncer se ve aumentada por la reducción significativa o inexistencia de efectos secundarios, así como por un mayor cumplimiento por parte del paciente.

La presente invención se refiere a una Fracción de Proteína de Plasma para su uso en el tratamiento del cáncer de timo. La presente invención reconoce la necesidad de nuevos tratamientos de enfermedades oncológicas, en particular tratamientos con bases naturales que mejoren la calidad de vida, mejoren el cumplimiento y presenten menos efectos secundarios que las terapias oncológicas actuales. Derivada del plasma sanguíneo y de fracciones de plasma sanguíneo, la presente invención se refiere a una solución para las deficiencias de las terapias actuales por medio de la utilización de una Fracción de Proteínas de Plasma con eficacia antitumoral.

Las realizaciones de la invención también pueden incluir la administración, por ejemplo, de una fracción derivada de un grupo de donantes, tales donantes de una edad media o un intervalo de edad específico. Otra realización de la invención puede incluir la monitorización de la mejora de un individuo diagnosticado con un cáncer que ha sido tratado con un FPP.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los dibujos adjuntos ilustran realizaciones de la invención y, junto con la descripción, sirven para explicar la invención. Estos dibujos se ofrecen a título ilustrativo y no limitativo; se subraya que las diversas características de los dibujos pueden no estar a escala.

Figura 1. La figura 1 muestra el cambio en el peso corporal de cuatro grupos de ratones tratados por separado como porcentaje del peso corporal inicial determinado una semana antes del tratamiento.

Figura 2. En la figura 2 se muestra la supervivencia de cada grupo de tratamiento, determinada por el momento de la muerte de cada ratón en relación con el calendario del estudio.

Figura 3. La figura 3 muestra los pesos tumorales de los tumores de timo de ratones al final de un estudio en el que se administró solución salina, plasma joven o plasma viejo a ratones viejos.

Figura 4. La figura 4 representa el tamaño de los tumores de timo de ratones al final de un estudio en el que se administró solución salina, plasma joven o plasma viejo a ratones viejos.

Figura 5. La figura 5 muestra la supervivencia de los ratones NODscid tratados con solución salina (línea continua) o con FPP1 (línea discontinua) a partir de los 6 meses de edad.

Figura 6. La figura 6 muestra el peso tumoral de los tumores de timo extirpados de ratones NODscid tratados con FPP1 o con controles salinos.

Figura 7. La figura 7 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer de colon CXF.

Figura 8. La figura 8 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer gástrico GXF.

Figura 9. La figura 9 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer de hígado LIXF.

Figura 10. La figura 10 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular del linfoma de Burkitt de linfocitos B LYXFNH.

Figura 11. La figura 11 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer de páncreas PAXF.

Figura 12. La figura 12 muestra el efecto dependiente de la dosis de plasma joven y FPP1 sobre la viabilidad de la línea celular de cáncer renal RXF.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La invención se define por medio de las reivindicaciones adjuntas.

A pesar de la Guerra contra el Cáncer declarada por el Gobierno de los Estados Unidos hace más de cuarenta años, el cáncer sigue siendo una enfermedad mortal y muy extendida. Las terapias actuales, tales como la quimioterapia tradicional y la terapia dirigida con moléculas pequeñas, siguen teniendo una aplicación limitada debido a sus

devastadores efectos secundarios y al reducido cumplimiento terapéutico por parte de los pacientes. Se necesitan nuevas terapias, sobre todo aquellas que, además de ser eficaces, tengan una base natural, eleven la calidad de vida, mejoren el cumplimiento terapéutico de los pacientes y reduzcan los efectos secundarios adversos.

La invención actual se refiere a una Fracción de Proteína de plasma (FPP) para su uso en el tratamiento de un cáncer de timo en un individuo diagnosticado con el cáncer de timo.

1. Introducción

Se proporcionan productos sanguíneos y composiciones para tratar el cáncer en un individuo. Los aspectos incluyen la administración de una composición al individuo de una manera suficiente para tratar el cáncer del individuo, la composición que comprende componentes de plasma incluye, plasma sanguíneo, o fracciones del mismo, o proteínas identificadas en plasma o fracciones de plasma que exhiben eficacia antitumorigénica.

La divulgación se refiere a la identificación y descubrimiento de composiciones para el tratamiento y/o prevención del cáncer y su progresión. En el presente documento se describen composiciones para el tratamiento de individuos que padecen dicha enfermedad. Las composiciones descritas en la presente memoria son útiles para: prevenir el cáncer; mejorar los síntomas del cáncer; ralentizar la progresión del cáncer, incluidas las metástasis; y/o revertir la progresión del cáncer o el crecimiento tumoral. Una realización incluye fracciones de plasma sanguíneo para su uso en dicho tratamiento, tales como una o más fracciones o efluentes obtenidos a partir de procesos de fraccionamiento de la sangre como el proceso de fraccionamiento de Cohn descrito a continuación.

Otro enfoque incluye el uso de Fracción de Plasma (una solución compuesta de albúmina humana normal, alfa y beta globulinas, gamma globulina, y otras proteínas ya sea individualmente o como complejos, de en adelante en la presente memoria referida como "Fracción de Plasma"). Otro enfoque incluye el uso de la fracción de solución de albúmina humana (HAS) como tratamiento. Otro enfoque incluye el uso de efluentes de procesos de fraccionamiento de sangre tales como el efluente I o los efluentes II/III descritos a continuación. Un enfoque adicional incluye una fracción de plasma sanguíneo de la que se han eliminado sustancialmente todos los factores de coagulación con el fin de conservar la eficacia al tiempo que se reduce el riesgo de trombosis (por ejemplo, véase la Solicitud de patente de EE.UU. nº 62/236.710 y 62/376,529). La invención incluye el uso de la Fracción de Proteína de Plasma (FPP) como tratamiento.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, a la décima de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre los límites superior e inferior de dicho intervalo también se desvela específicamente. La invención abarca todos los intervalos menores entre cualquier valor declarado o valor intermedio de un intervalo declarado y cualquier otro valor declarado o valor intermedio de ese intervalo declarado. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse o excluirse independientemente en el intervalo, y cada intervalo en el que uno, ninguno o ambos límites estén incluidos en los intervalos más pequeños también se engloba dentro de la invención, individuo a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen uno o ambos límites incluidos también se incluyen en la invención. "Entre", cuando se utiliza en el contexto de un intervalo numérico, incluye todos los números dentro del intervalo, incluidos los límites superior e inferior, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

Cabe señalar que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base previa para el uso de terminología exclusiva tal como "únicamente", "sólo" y similares en relación con el enunciado de los elementos de la reivindicación, o el uso de una limitación "negativa".

2. Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende una persona con conocimientos ordinarios en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o ensayo de la presente invención se pueden utilizar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, a continuación se describen algunos procedimientos y materiales potenciales y preferentes. Todas las publicaciones mencionadas en la presente memoria desvelan y describen los procedimientos y/o materiales en relación con los cuales se citan las publicaciones. Se entiende que la presente divulgación sustituye a cualquier divulgación de una publicación incorporada en la medida en que exista una contradicción.

Cabe señalar que, como se utilizan en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno" y "los" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a "una célula" incluye una pluralidad de tales células y la referencia a "el péptido" incluye la referencia a uno o más péptidos y equivalentes de los mismos, por ejemplo, polipéptidos, conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Al describir las composiciones de la presente invención, los términos "huésped", "individuo", "individuo" y "paciente" se utilizan indistintamente y se refieren a cualquier mamífero que necesite dicho tratamiento de acuerdo con los procedimientos divulgados. Dichos mamíferos incluyen, por ejemplo, humanos, ovinos, bovinos, equinos, porcinos,

caninos, felinos, primates no humanos, ratones y ratas. En ciertas realizaciones, el individuo es un mamífero no humano. En algunas realizaciones, el individuo es un animal de granja. En otras realizaciones, el individuo es un animal de compañía. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero. En algunos casos, el individuo es humano. Otros individuos pueden ser animales domésticos (por ejemplo, perros y gatos), ganado (por ejemplo, vacas, cerdos, cabras, caballos y similares), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas, como en los modelos animales de enfermedades), así como primates no humanos (por ejemplo, chimpancés y monos). Como tales, los individuos de la invención, incluyen pero no se limitan a los mamíferos, por ejemplo, los seres humanos y otros primates, tales como los chimpancés y otros simios y especies de monos; y similares, en las que en ciertas realizaciones el individuo son los seres humanos. El término individuo también incluye a una persona u organismo de cualquier edad, peso u otra característica física, que pueden ser un adulto, un niño, un lactante o un recién nacido.

Por "joven", "individuo joven" o "donante joven" se entiende un individuo que tiene una edad cronológica de 40 años o menos, por ejemplo, 35 años o menos, incluso 30 años o menos, por ejemplo, 25 años o menos o 22 años o menos. En algunos casos, el individuo que sirve como fuente del hemoderivado que contiene plasma joven es uno que tiene 10 años o menos, por ejemplo, 5 años o menos, incluyendo 1 año o menos. En algunos casos, el individuo es un recién nacido y la fuente del producto plasmático es el cordón umbilical, en el que el producto plasmático se recoge del cordón umbilical del recién nacido. Como tal, "joven" e "individuo joven" pueden referirse a un individuo que tiene entre 0 y 40 años, por ejemplo, 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 años. En otros casos, "joven", "individuo joven" y "donante joven" pueden referirse a una edad biológica (en contraposición a la cronológica), tal como un individuo que no ha mostrado los niveles de citocinas inflamatorias en el plasma que muestran los individuos comparativamente mayores. Por el contrario, los términos "joven" e "individuo joven" pueden referirse a una edad biológica (en contraposición a la cronológica) como, por ejemplo, un individuo que presenta mayores niveles de citoquinas antiinflamatorias en el plasma en comparación con los niveles de individuos comparativamente mayores. A modo de ejemplo, y no de limitación, la citocina inflamatoria es la Eotaxina, y la diferencia de pliegues entre un individuo joven o un individuo joven y los individuos mayores es de al menos el 20%. Del mismo modo, la diferencia de pliegues entre individuos mayores y más jóvenes en otras citocinas inflamatorias se puede utilizar para referirse a una edad biológica. (Véase la U.S. Pat. Solicitud nº 13/575.437). Por lo general, el individuo está sano, por ejemplo, no padece ninguna neoplasia hematológica ni enfermedad autoinmune en el momento de la extracción. En otros casos, "joven", "individuo joven" y "donante joven" pueden referirse a una edad relativa entre el donante o grupo de donantes "jóvenes" y el individuo que recibe el tratamiento. A modo de ejemplo, y no de limitación, el grupo de donantes puede tener un intervalo de edad superior que sea 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 años más joven que el individuo a tratar. Otro ejemplo es que el grupo de donantes puede tener una media de edad inferior a la edad del individuo tratado.

"Tratamiento", "tratar" y similares significan que se logra al menos una mejora de uno o más síntomas asociados con un cáncer que afecta al individuo, en el que mejora se usa en un sentido amplio para referirse a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo, un síntoma asociado con el cáncer que se está tratando. Como tal, "tratamiento", "tratamiento" y similares también incluyen situaciones en las que una condición patológica, o al menos los síntomas asociados con la misma, se inhiben completamente, por ejemplo, se evita que ocurra, o se detienen, por ejemplo, se terminan, de forma que el individuo ya no sufre el cáncer, o al menos presenta los síntomas asociados con la enfermedad. En algunos casos, "tratamiento", "tratar" y similares se refieren a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevención total o parcial de una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de curación parcial o completa de una enfermedad y/o efecto adverso atribuible a la enfermedad. "Tratamiento" puede ser cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, e incluye: (a) prevenir la aparición de la enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a padecerla pero al que aún no se le ha diagnosticado; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; o (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar su regresión. El tratamiento puede dar como resultado una variedad de manifestaciones físicas diferentes, por ejemplo, modulación en la expresión genética, regresión en el crecimiento o tamaño de los tumores o en el recuento de células cancerosas, inhibición de la metástasis, disminución del dolor asociado con un cáncer, etc. Tratamiento de una enfermedad en curso, en la que el tratamiento estabiliza o reduce los síntomas clínicos indeseables del paciente, ocurre en algunas realizaciones. Dicho tratamiento puede realizarse antes de la pérdida completa de función en los tejidos afectados. La terapia del sujeto puede administrarse durante la fase sintomática de la enfermedad y, en algunos casos, después de la fase sintomática de la enfermedad.

Productos sanguíneos con componentes de plasma. En la práctica de la divulgación, un producto sanguíneo que comprende componentes de plasma se administra a un individuo que lo necesita, por ejemplo, un individuo que padece o corre el riesgo de padecer un cáncer. Como tal, la divulgación incluye la administración de un producto sanguíneo que comprende componentes de plasma de un individuo (el "individuo donante", o "donante") a un individuo al menos en riesgo de padecer o sufrir un cáncer (el "individuo receptor" o "receptor"). Por "producto sanguíneo que comprende componentes de plasma" se entiende cualquier producto derivado de la sangre que comprenda plasma (por ejemplo, sangre total, plasma sanguíneo o fracciones del mismo), cuando en algunos casos el producto no sea sangre total. El término "plasma" se utiliza en su sentido convencional para referirse al componente líquido de color pajizo/amarillo pálido de la sangre compuesto por aproximadamente un 92% de agua, un 7% de proteínas tales como albúmina, gammaglobulina, factor antihemofílico y otros factores de coagulación, y

un 1% de sales minerales, azúcares, grasas, hormonas y vitaminas. Ejemplos no limitativos de productos sanguíneos que contienen plasma adecuados para su uso incluyen sangre total tratada con anticoagulantes (por ejemplo, EDTA, citrato, oxalato, heparina, etc.), productos sanguíneos producidos por filtración de sangre total para eliminar los glóbulos blancos ("leucorreducción"), productos sanguíneos consistentes en plasma derivado plasmapheréticamente o derivado aphereticamente, plasma fresco congelado, productos sanguíneos consistentes esencialmente en plasma purificado y productos sanguíneos consistentes esencialmente en fracciones de plasma. En algunos casos, el producto plasmático que se emplea es un producto plasmático de sangre no total, lo que significa que el producto no es sangre total, dado que carece de uno o más componentes que se encuentran en la sangre total, tales como eritrocitos, leucocitos, etc., al menos en la medida en que estos componentes están presentes en la sangre total. En algunos casos, el producto plasmático es sustancialmente, si no completamente, acelular, en el que en tales casos el contenido celular puede ser

5% en volumen o menos, tal como 1% o menos, incluyendo 0,5% o menos, en los que en algunos casos las fracciones de plasma acelular son aquellas composiciones que carecen completamente de células, es decir, no incluyen células.

Recogida de productos sanguíneos que comprenden componentes de plasma. La divulgación incluye la administración de productos sanguíneos que comprenden componentes de plasma que pueden derivarse de donantes, incluidos voluntarios humanos. El término "de origen humano" puede referirse a este tipo de productos. Los procedimientos de obtención de plasma que comprende productos sanguíneos de donantes son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo MANUAL TÉCNICO DE LA AABB, (Mark A. Fung, et al., eds., 18ª ed. 2014).

En una realización, las donaciones se obtienen por venopunción. En otra realización, la venopunción es una única venopunción. En otra realización, no se emplea ningún reemplazo de volumen salino. En una realización, el proceso de plasmaféresis se utiliza para obtener el plasma que comprende los productos sanguíneos. La plasmaféresis puede consistir en la extracción de un volumen de plasma ajustado al peso con devolución de componentes celulares al donante. En una realización, el citrato de sodio se utiliza durante la plasmaféresis para prevenir la coagulación celular. El volumen de plasma recogido de un donante se sitúa preferentemente entre 690 y 880 mL tras la administración de citrato, y se coordina preferentemente con el peso del donante.

3. Fracciones de plasma

Durante la Segunda Guerra Mundial, surgió la necesidad de un expansor de plasma estable que pudiera emplearse en el campo de batalla cuando los soldados perdían grandes cantidades de sangre. Como resultado, se desarrollaron procedimientos para preparar plasma liofilizado. Sin embargo, el uso de plasma liofilizado era difícil en situaciones de combate, dado que la reconstitución requería agua estéril. Como alternativa, el Dr. E.J. Cohn sugirió que podía utilizarse albúmina y preparó una solución estable lista para usar que podía introducirse inmediatamente para el tratamiento del shock. (Véase JOHAN VANDERSANDE, CURRENT APPROACHES TO THE PREPARATION OF PLASMA FRACTIONS in (BIOTECHNOLOGY OF BLOOD) 165 (Jack Goldstein ed., 1ª ed., 1991). 1991)). El procedimiento del Dr. Cohn para purificar las fracciones de plasma utiliza etanol frío por su efecto desnaturizante, y emplea cambios de pH y temperatura para lograr la separación.

En la presente memoria se describe la administración de fracciones de plasma a un individuo. El fraccionamiento es el proceso por medio del cual se separan del plasma determinados subconjuntos de proteínas. La tecnología de fraccionamiento es conocida en la técnica y se basa en las etapas desarrolladas por Cohn et al. durante la década de 1940. (E. Cohn, Preparación y propiedades de las proteínas séricas y de plasma. IV. Sistema de separación en fracciones de los componentes proteínicos y lipoproteínicos de tejidos y fluidos biológicos. 68 J Am Chem Soc 459 (1946)). En este proceso intervienen varias etapas, cada una de las cuales implica concentraciones específicas de etanol, así como cambios de pH, temperatura y osmolalidad que dan lugar a la precipitación selectiva de proteínas. Los precipitados también se separan por medio de centrifugación o precipitación. El "proceso de fraccionamiento de Cohn" original implicaba la separación de proteínas a través de precipitados en cinco fracciones, designadas fracción I, fracción II+III, fracción IV-1, fracción IV-4 y fracción V. La albúmina era el producto final (fracción V) originalmente identificado de este proceso. Cada fracción (o efluente de una etapa previa de separación) contiene o puede contener fracciones de proteínas terapéuticamente útiles. (Véase Thierry Burnouf, Modern Plasma Fractionation, 21(2) Transfusion Medicine Reviews 101 (2007); Adil Denizli, Fraccionamiento del plasma: procedimientos convencionales y cromatográficos para la purificación de la albúmina, 4 J. Biol. & Chem. 315, (2011); y T. Brodniewicz-Proba, Human Plasma Fractionation and the Impact of New Technologies on the Use and Quality of Plasma-derived Products, 5 Blood Reviews 245 (1991), y Patentes estadounidenses n.º 3869431, 5110907, 5219995, 7531513 y 8772461). Se pueden ajustar los parámetros experimentales anteriores para obtener fracciones de proteínas específicas. El uso de operaciones de precipitación y secado en el fraccionamiento del plasma permite preparar la fracción final estable de proteínas del plasma humano como una solución de casi cualquier concentración de proteínas. (Hink J.H., Jr., et al., Preparation and Properties of a Heat-Treated Human Plasma Protein Fraction, Vox SANGUINIS 2, 174, (1957)).

Más recientemente, el fraccionamiento ha alcanzado una mayor complejidad. Este reciente aumento de la complejidad se ha producido gracias a: la introducción de la cromatografía, que ha dado lugar al aislamiento de nuevas proteínas a partir de fracciones existentes tales como el crioprecipitado, el plasma criopobre y las fracciones

de Cohn; el aumento de la recuperación de IgG mediante la integración de la cromatografía y el proceso de fraccionamiento en etanol; y la reducción/inactivación/eliminación viral. (Id.) A fin de capturar proteínas a pH y fuerza iónica fisiológicos, se puede utilizar la cromatografía de intercambio aniónico. Esto preserva la actividad funcional de las proteínas y/o fracciones proteicas. La heparina y los anticuerpos monoclonales también se utilizan en la cromatografía de afinidad. Un experto en la técnica reconocerá que los parámetros descritos anteriormente se pueden ajustar para obtener fracciones que contengan proteínas de plasma específicas.

En una realización de la invención, el plasma sanguíneo se fracciona en un entorno industrial. El plasma congelado se descongela entre 1°C y 4°C. Se aplica centrifugación refrigerada continua al plasma descongelado y se aísla el crioprecipitado. El crioprecipitado recuperado se congela a -30°C o menos y se almacena. El plasma pobre en crioprecipitado ("criopobre") se procesa inmediatamente para la captura (por medio de, por ejemplo, cromatografía primaria) de factores de coagulación lábiles tales como el complejo del factor IX y sus componentes, así como de inhibidores de proteasas como la antitrombina y el inhibidor de la esterasa C1. La centrifugación en serie y el aislamiento del precipitado pueden aplicarse en etapas posteriores. Estas técnicas son conocidas por los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Patentes estadounidenses nos. 4624780, 5219995, 5288853 y Solicitud de patente de EE.UU. nos. 20140343255 y 20150343025.

La fracción de plasma puede comprender una fracción de plasma que contenga una concentración sustancial de albúmina (por ejemplo, Fracción de Proteína de Plasma (humana), Albúmina (humana)). La fracción de plasma puede comprender una fracción de plasma que contenga una concentración sustancial de IgG o inmunoglobulina intravenosa (IGIV). La fracción de plasma puede comprender una fracción de plasma IGIV que haya sido sustancialmente desprovista de inmunoglobulina (IgG) por procedimientos bien conocidos por un experto en la materia, tal como por ejemplo, la depleción de proteínas mediada por la proteína A. (Véase Keshishian, H., et al., Multiplexed, Quantitative Workflow for Sensitive Biomarker Discovery in Plasma Yields Novel Candidates for Early Myocardial Injury, Molecular & Cellular Proteomics, 14 en 2375-93 (2015)). La fracción de plasma sanguíneo puede ser una en la que se eliminen sustancialmente todos los factores de coagulación a fin de conservar la eficacia de la fracción con un riesgo reducido de trombosis. Por ejemplo, la fracción de plasma puede ser una fracción de plasma como se describe en la Patente de los Estados Unidos n.º 62/376.529 presentada el 18 de agosto de 2016.

4. Productos de albúmina

Para los expertos en la técnica, existen dos categorías generales de productos de albúmina de plasma ("APP"): la fracción de proteína de plasma (FPP) y la solución de albúmina humana (HAS). La FPP se deriva de un proceso con un mayor rendimiento que el HAS, pero tiene una pureza mínima de albúmina inferior a la del HAS (>83% para la FPP y > 95% para el HAS). (Producción de solución de albúmina humana: un coloide en continuo desarrollo, P. Matejtschuk et al., British J. of Anaesthesia 85(6): 887(95):915-888 (2000)). Además, algunos han señalado que la FPP tiene una desventaja debido a la presencia de "contaminantes" proteínicos como la PKA. *Id.* Como consecuencia de ello, los preparados de FPP han perdido popularidad como productos de plasma de albúmina, e incluso han sido suprimidos de las farmacopeas de algunos países. *Id.* Contrariamente a estas preocupaciones, la invención hace un uso beneficioso de estos "contaminantes" Además de las α , β y γ globulinas, así como la ya mencionada PKA, se utilizan otras proteínas u otros factores dentro de los "contaminantes" que son eficaces en el tratamiento del cáncer.

Los expertos en la técnica reconocerán que existen, o han existido, varias fuentes comerciales de FPP (los "Preparados Comerciales de FPP") Entre ellos se incluyen Plasma-Plex® FPP (Armour Pharmaceutical Co., Tarrytown, NY), Plasmanate™ FPP (Grifols, Clayton, NC), Plasmatein™ FPP (Alpha Therapeutics, Los Angeles, CA), y Protenate™ FPP (Baxter Labs, Inc. Deerfield, IL).

Los expertos en la técnica también reconocerán que existen, o han existido, varias fuentes comerciales de HAS (los "Preparados Comerciales de HAS") Entre ellas se encuentran Albuminar™ HAS (CSL Behring), AlbuRx™ HAS (CSL Behring), Albutein™ HAS (Grifols, Clayton, NC), Buminat™ HAS (Baxatla, Inc., Bannockburn, IL), Flexbumin™ HAS (Baxatla, Inc., Bannockburn, IL) y Plasbumin™ HAS (Grifols, Clayton, NC).

A. Fracción de proteína de plasma (humana) (FPP)

De acuerdo con la Food and Drug Administration ("FDA") de los Estados Unidos, "Plasma Protein Fraction (Human)", o FPP, es el nombre propio del producto definido como "una solución estéril de proteína compuesta de albúmina y globulina, derivada de plasma humano" (Código de Reglamentos Federales "CFR" 21 CFR 640.90). El material fuente de FPP es plasma recuperado de Sangre Total preparada como se prescribe en 21 CFR 640.1 - 640.5, o Plasma Fuente preparado como se prescribe en 21 CFR 640.60 - 640.76.

La FPP se prueba para determinar si cumple las siguientes normas según 21 CFR 640.92:

- (a) El producto final será una solución de proteínas al 5,0 +/- 0,30 por ciento; y
- (b) La proteína total del producto final consistirá en al menos un 83% de albúmina y no más de un 17% de globulinas. No más del 1% de la proteína total será gammaglobulina. La composición proteínica se determina por medio de un procedimiento que ha sido aprobado para cada fabricante por el Director del Centro de Evaluación e Investigación Biológica de la Administración de Alimentos y Medicamentos.

Como se utiliza en la presente memoria, "Fracción de Proteína de plasma" o "FPP" se refiere a una solución estéril de proteína compuesta de albúmina y globulina, derivada de plasma humano, con un contenido de albúmina de al menos 83% con no más de 17% de globulinas (incluyendo α_1 , α_2 , β , y γ globulinas) y otras proteínas de plasma, y no más de 1% de gamma globulina determinada por electroforesis. (Hink, J.H., Jr., et al., Preparation and Properties of a Heat-Treated Human Plasma Protein Fraction, Vox SANGUINIS 2(174) (1957)). FPP también puede referirse a una forma sólida que, cuando se suspende en disolvente, tiene una composición similar. La fracción de globulina total se puede determinar restando la albúmina de la proteína total. (Busher, J., Albúmina y globulina séricas, procedimientos clínicos: THE HISTORY, PHYSICAL, AND LABORATORY EXAMINATIONS, Capítulo 10, Walker HK, Hall WD, Hurst JD, eds. (1990)).

B. Albúmina (humana) (HAS)

De acuerdo con la FDA, "Albúmina (Humana)" (también denominada en la presente memoria "HAS") es el nombre propio del producto definido como "solución estéril de la albúmina derivada del plasma humano" (Código de Reglamentos Federales "CFR" 21 CFR 640.80.) El material fuente para la Albúmina (Humana) es plasma recuperado de Sangre Total preparada como se prescribe en 21 CFR 640.1-640.5, o Plasma Fuente preparado como se prescribe en 21 CFR 640.60-640.76. Otros requisitos para la Albúmina (Humana) se enumeran en 21 CFR 640.80 - 640.84.

La albúmina (humana) se prueba para determinar si cumple las siguientes normas según 21 CFR 640.82:

- (a) *Concentración de proteínas.* El producto final deberá ajustarse a una de las siguientes concentraciones: 4.0 +/-0,25 por ciento; 5,0 +/-0,30 por ciento; 20,0 +/-1,2 por ciento; y 25,0 +/-1,5 por ciento de solución de proteínas.
- (b) *Composición proteínica.* Al menos el 96% de la proteína total del producto final deberá ser albúmina, determinada por medio de un procedimiento aprobado para cada fabricante por el Director del Centro de Evaluación e Investigación Biológica de la Administración de Alimentos y Medicamentos.

Como se usa en la presente memoria, "Albúmina (Humana)" o "HAS" se refiere a una solución estéril de proteína compuesta de albúmina y globulina, derivada de plasma humano, con un contenido de albúmina de al menos 95%, con no más de 5% de globulinas (incluyendo α_1 , α_2 , β , y γ globulinas) y otras proteínas de plasma. HAS también puede referirse a una forma sólida que, cuando se suspende en disolvente, tiene una composición similar. La fracción de globulina total puede determinarse restando la albúmina de la proteína total.

Como puede reconocer un experto en la materia, la FPP y las fracciones HAS también se pueden liofilizar o presentar en otra forma sólida. Dichas preparaciones, con los aditivos adecuados, se pueden utilizar para fabricar comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo. La forma sólida se puede formular en preparados inyectables por medio de disolución, suspensión o emulsión en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes.

5. Fracciones reducidas por factor de coagulación

Otro enfoque utiliza una fracción de plasma sanguíneo de la que se eliminan sustancialmente todos los factores de coagulación para conservar la eficacia de la fracción con un riesgo reducido de trombosis. Convenientemente, el producto sanguíneo puede derivarse de un donante joven o de un grupo de donantes jóvenes, y puede ser desprovisto de IgM para proporcionar un producto sanguíneo joven que sea ABO compatible. Actualmente, el plasma que se transfunde se hace corresponder con el grupo sanguíneo ABO, dado que la presencia de anticuerpos naturales contra los antígenos A y B puede provocar reacciones a la transfusión. La IgM parece ser la responsable de las reacciones transfusionales cuando se administra a los pacientes plasma no compatible ABO. La eliminación de la IgM de los productos o fracciones sanguíneas ayuda a eliminar las reacciones transfusionales en los individuos a los que se administran los productos sanguíneos y las fracciones de plasma sanguíneo de la invención.

En consecuencia, la invención puede estar dirigida a tratar o prevenir una afección relacionada con el envejecimiento, tal como el cáncer, en un individuo. Esto puede comprender: administrar al individuo un producto sanguíneo o fracción sanguínea derivada de sangre total de un individuo o grupo de individuos, en el que el producto sanguíneo o fracción sanguínea está sustancialmente desprovisto de (a) al menos un factor de coagulación y/o (b) IgM. Los individuos de los que se puede obtener el hemoderivado o la fracción sanguínea son individuos jóvenes. El hemoderivado puede estar sustancialmente desprovisto de al menos un factor de coagulación y de IgM. El hemoderivado puede estar sustancialmente desprovisto de fibrinógeno (Factor I). El hemoderivado puede carecer sustancialmente de eritrocitos y/o leucocitos. El hemoderivado puede ser sustancialmente acelular. El hemoderivado puede derivarse del plasma. Tales realizaciones se apoyan además en Solicitud de patente de EE.UU. nº 62/236.710 y 62/376,529.

6. Productos proteicos de plasma enriquecido con proteínas

Otros enfoques utilizan fracciones de plasma con una concentración reducida de albúmina en comparación con la FPP, pero con mayores cantidades de globulinas y otras proteínas de plasma (lo que algunos han denominado

"contaminantes"). Al igual que la FPP, la HAS, el efluente I y el efluente II/III carecen efectivamente de factores de coagulación. Dichas fracciones de plasma se denominarán en lo sucesivo "productos proteicos de plasma enriquecidos en proteínas". Por ejemplo, una realización de la invención puede utilizar un producto proteico plasmático enriquecido en proteínas compuesto por un 82% de albúmina y un 18% de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se puede utilizar un producto proteico plasmático enriquecido en proteínas compuesto por un 81% de albúmina y un 19% de α , β y γ globulinas y/u otras proteínas de plasma. Se puede utilizar un producto proteico plasmático enriquecido en proteínas compuesto en un 80% de albúmina y en un 20% de α , β y γ globulinas y/u otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 70-79% de albúmina y un 21-30% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 60-69% de albúmina y un 31-40% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 50-59% de albúmina y un 41-50% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 40-49% de albúmina y un 51-60% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 30-39% de albúmina y un 61-70% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos con proteínas que contengan entre un 20 y un 29% de albúmina y entre un 71 y un 80% de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas, compuestos por un 10-19% de albúmina y un 81-90% correspondiente de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. Se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos con proteínas que contengan entre un 1 y un 9% de albúmina y entre un 91 y un 99% de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma. También se pueden utilizar productos proteínicos de plasma enriquecidos en proteínas compuestos por un 0-1% de albúmina y un 99-100% de α , β y γ globulinas y otras proteínas de plasma.

Las composiciones descritas anteriormente también pueden tener concentraciones totales de gammaglobulina de 0-5%.

Las concentraciones específicas de proteínas en una fracción de plasma pueden determinarse mediante el uso de técnicas bien conocidas por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica. A título de ejemplo, y no limitativo, dichas técnicas incluyen la electroforesis, la espectrometría de masas, el análisis ELISA y el análisis Western blot.

7. Preparación de fracciones de plasma sanguíneo

Los procedimientos para preparar FPP y otras fracciones de plasma son bien conocidos por los expertos en la técnica. Una realización de la invención permite que la sangre utilizada en la preparación de la fracción de proteínas de plasma humanas se recoja en matraces con citrato o solución anticoagulante de citrato dextrosa para la inhibición de la coagulación, con separación posterior de las fracciones I, II + III, IV y FPP según el procedimiento divulgado en Hink et al. (Véase Hink, J.H., Jr., et al., Preparation and Properties of a Heat-Treated Human Plasma Protein Fraction, Vox SANGUINIS 2(174) (1957)) De acuerdo con este procedimiento, la mezcla puede recogerse a 2 - 8 °C. A continuación, el plasma se puede separar por centrifugación a 7 °C, extraer y almacenar a -20 °C. A continuación, el plasma se puede descongelar a 37°C y fraccionar, preferentemente en las ocho horas siguientes a su extracción del almacenamiento a -20°C.

El plasma se puede separar de la Fracción I mediante el uso de etanol al 8% a pH 7,2 y una temperatura de -2 a -2,5°C con una concentración de proteínas de 5,1 a 5,6 por ciento. Se puede añadir etanol frío al 53,3 por ciento (176 mL/L de plasma) con tampón acetato (200 mL de acetato sódico 4M, 230 mL de ácido acético glacial quantum satis a 1 L con H₂O) mediante el uso de chorros a una velocidad, por ejemplo, de 450 mL/minuto durante la bajada de la temperatura del plasma a -2°C. La fracción I se puede separar y eliminar del efluente (efluente I) por medio de ultracentrifugación. El fibrinógeno se puede obtener a partir de la fracción I por procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica.

La Fracción II + III puede ser separada del Efluente I a través del ajuste del efluente a 21 por ciento de etanol a pH 6,8, temperatura a -6°C, con concentración de proteína de 4.3 por ciento. Se puede añadir etanol frío al 95 por ciento (176 mL/L de Efluente I) con ácido acético 10 M utilizado para ajustar el pH mediante el uso de chorros a una velocidad, por ejemplo, de 500 mL/minuto durante la reducción de la temperatura del Efluente I a -6°C. El precipitado resultante (Fracción II + III) se puede eliminar por centrifugación a -6°C. La gammaglobulina se puede obtener a partir de la Fracción II + III mediante el uso de procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica.

La Fracción IV-1 se puede separar del Efluente II + III por medio del ajuste del efluente a 19 por ciento de etanol a pH 5.2, temperatura a -6°C, y concentración de proteína de 3 por ciento. El H₂O y el ácido acético 10 M utilizados para ajustar el pH se pueden añadir mediante el uso de chorros mientras se mantiene el efluente II + III a -6°C durante 6 horas. La Fracción VI-1 precipitada se puede sedimentar a -6°C durante 6 horas y separar posteriormente del efluente por centrifugación a la misma temperatura. La fracción de proteína de plasma estable se puede recuperar del Efluente IV-1 por medio del ajuste de la concentración de etanol al 30 por ciento a pH 4,65, temperatura -7°C y concentración de proteína del 2,5 por ciento. Esto se puede lograr al ajustar el pH del efluente

IV-1 con ácido-alcohol frío (dos partes de ácido acético 2 M y una parte de etanol al 95%). Mientras se mantiene una temperatura de -7°C, a cada litro de Efluente IV-1 ajustado se añaden 170 mL de etanol frío (95%). Las proteínas que precipitan se pueden dejar sedimentar durante 36 horas y eliminar posteriormente por centrifugación a -7°C.

Las proteínas recuperadas (fracción de proteínas de plasma estables) se pueden secar (por ejemplo, por liofilización) para eliminar el alcohol y el H₂O. El polvo seco resultante se puede disolver en agua destilada estéril, por ejemplo mediante el uso de 15 litros de agua/kg de polvo, con la solución ajustada a pH 7,0 con 1 M de NaOH. Se puede alcanzar una concentración final del 5% de proteínas al añadir agua destilada estéril que contenga acetil-triptófano sódico, caprilato sódico y NaCl, ajustar a concentraciones finales de 0,004 M de acetil-triptófano, 0,004 M de caprilato y 0,112 M de sodio. Por último, la solución se puede filtrar a 10°C para obtener una solución clara y posteriormente tratar térmicamente para inactivar los agentes patógenos a 60°C durante al menos 10 horas.

Los procedimientos precedentes de preparación de fracciones de plasma sanguíneo y fracción de proteína de plasma (FPP) son sólo ejemplares e implican meramente realizaciones de la invención. Un experto en la técnica reconocerá que estos procedimientos pueden variar. Por ejemplo, el pH, la temperatura y la concentración de etanol, entre otras cosas, se pueden ajustar para producir diferentes variaciones de las fracciones de plasma y de la fracción de proteínas de plasma en las diferentes realizaciones y composiciones de la invención. En otro ejemplo, otras realizaciones de la invención contemplan el uso de la nanofiltración para la eliminación/inactivación de patógenos de fracciones de plasma y de la fracción de proteínas de plasma.

Una realización adicional de la invención contempla productos y composiciones que utilizan y/o comprenden fracciones adicionales de plasma sanguíneo. Por ejemplo, las fracciones con una concentración de albúmina inferior a las de las preparaciones FPP o HAS, tales como las fracciones que tienen menos del 83% de albúmina, están contempladas por la invención.

8. Tratamiento

Los aspectos descritos en el presente documento incluyen el tratamiento de un individuo con una cantidad eficaz de un producto sanguíneo que comprende plasma, como una fracción de plasma sanguíneo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. Se puede incluir el tratamiento de un individuo humano con una cantidad eficaz de un plasma que comprenda un hemoderivado. Un experto en la técnica reconocerá que el tratamiento de individuos con una cantidad eficaz de plasma que comprende productos sanguíneos está reconocido en la técnica. El plasma fresco congelado se puede administrar a un individuo para el tratamiento de un cáncer. En una realización, el plasma que contiene el hemoderivado se administra inmediatamente, por ejemplo, en las 12-48 horas siguientes a la extracción del donante, a la persona que padece cáncer. En tales casos, el producto se puede almacenar refrigerado, por ejemplo, a 0-10°C. El plasma fresco congelado se puede almacenar congelado (crioconservado) a -18°C o menos. Antes de su administración, el plasma fresco congelado se descongela y, una vez descongelado, se administra al individuo entre 60 y 75 minutos después de iniciado el proceso de descongelación. Cada individuo puede recibir una sola unidad de plasma fresco congelado (200-250 mL), el plasma fresco congelado puede proceder de donantes de un intervalo de edad predeterminado. El plasma fresco congelado puede ser donado por (derivado de) individuos jóvenes. El plasma fresco congelado puede ser donado por (derivado de) donantes del mismo sexo. El plasma fresco congelado puede ser donado por (derivado de) donantes de edades comprendidas entre los 18 y los 22 años. El plasma fresco congelado puede ser donado por (derivado de) donantes de un intervalo de edad de 40 años o menos, 30 años o menos, o 25 años o menos. El plasma fresco congelado puede ser donado por (derivado de) donantes de una edad media inferior a la del individuo o individuos tratados. En una realización, los individuos son tratados dos veces por semana con 3-4 días entre infusiones. En una realización de la invención, el tratamiento persiste hasta que se alcanza un punto final específico.

En otra realización de la invención, el plasma que comprende los productos sanguíneos se analiza después de la donación según el grupo sanguíneo. En otra realización de la invención, el plasma que comprende los productos sanguíneos se analiza para detectar agentes de enfermedades infecciosas tales como VIH I y II, VHB, VHC, HTLV I y II, anti-HBc según los requisitos de 21 CFR 640.33 y las recomendaciones contenidas en los documentos de orientación de la FDA.

El individuo puede ser tratado además con una Fracción de Plasma. En una realización de la invención, la Fracción de plasma es una FPP. En otra realización de la invención, la Fracción de plasma es una fracción FPP derivada de donantes jóvenes; o es una fracción FPP modificada que ha sido sometida a fraccionamiento o procesamiento adicional (por ejemplo, una FPP con una o más proteínas específicas parcial o sustancialmente eliminadas). La fracción de plasma puede ser una fracción de plasma IGIV, que ha sido sustancialmente desprovista de inmunoglobulina (IgG). La Fracción de plasma también puede ser una fracción que ha sido sustancialmente desprovista de factores de coagulación. Una fracción sanguínea que está "sustancialmente empobrecida" o que tiene proteínas específicas "sustancialmente eliminadas", tales como la IgG, se refiere a una fracción sanguínea que contiene menos del 50% de la cantidad presente en el producto de referencia o en el plasma sanguíneo completo, tal como menos del 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, niveles indetectables, o cualquier número entero entre estos valores, medidos por medio de ensayos estándar bien conocidos en la técnica.

9. Puntos finales

Los aspectos descritos en la presente memoria incluyen la medición de puntos finales del tratamiento del cáncer. Estos criterios de valoración se pueden utilizar, por ejemplo, en ensayos clínicos o en el tratamiento individual de un individuo. Los criterios de valoración descritos en la presente memoria no pretenden ser limitativos y se presentan únicamente a modo de ejemplo. Los criterios de valoración oncológicos son conocidos por los expertos en la técnica. (Véase *Oncology Endpoints in a Changing Landscape, Managed Care (Suppl.)* pp. 1-10 (2016)) y se pueden agrupar en dos categorías generales: criterios de valoración centrados en el paciente y centrados en el tumor. Los criterios de valoración centrados en el paciente incluyen la supervivencia global (SG) y la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS). Los criterios de valoración centrados en el tumor suelen incluir la supervivencia sin progresión (SLP) y el tiempo hasta la progresión (TTP), y se utilizan como sustitutos de los criterios de valoración centrados en el paciente en los ensayos clínicos. Otros criterios de valoración son: la supervivencia libre de enfermedad (SLE), que es el tiempo transcurrido desde la aleatorización en un ensayo clínico hasta la recidiva o la muerte por cualquier causa; la tasa de respuesta objetiva o la tasa de respuesta global (TRO), que mide la proporción de pacientes con una reducción del tamaño del tumor en una cantidad predefinida; la duración de la respuesta (DdR), que es el tiempo transcurrido desde la documentación de la respuesta tumoral hasta la progresión de la enfermedad; el tiempo hasta el fracaso del tratamiento (TTF), que mide el tiempo transcurrido desde la aleatorización en un ensayo clínico hasta la interrupción del tratamiento por cualquier motivo; los criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario (IRRC) (A. Hoos et al., *Improved endpoints for cancer immunotherapy trials* 23(suppl. 8) *Ann. Oncol.* viii47 (2012)); la enfermedad mínima residual (EMR), que detecta rastros de determinados cánceres sanguíneos; los criterios de valoración del sistema nervioso central (SNC), que incluyen la tasa de respuesta global del SNC, la tasa de control de la enfermedad en el SNC; y la respuesta patológica completa (RPC), que se utiliza para evaluar la eficacia de los fármacos administrados como tratamientos neoadyuvantes.

10. Supervisión

Otro aspecto de la invención incluye la monitorización de un individuo que es tratado como se describe en el presente documento. Dichos procedimientos de control incluyen, entre otros, las siguientes pruebas patológicas, tales como la evaluación microscópica de células anormales; diagnóstico por imagen, tal como por rayos X, tomografía computarizada (TC), tomografía por emisión de positrones (PET), resonancia magnética (RM) y cualquier combinación de las mismas; análisis de sangre para medir sustancias en la sangre que indiquen el grado de avance del cáncer u otros problemas relacionados con el mismo; medición de biomarcadores tumorales (tales como ácidos nucleicos, metabolitos o proteínas) en muestras de pacientes, tales como las procedentes de sangre, orina u otros tejidos/secreciones, que presentan niveles superiores o inferiores a los normales en determinados tipos de cáncer; o pruebas genómicas. Esto incluye, por ejemplo y sin carácter limitativo, biomarcadores que están presentes en cantidades o concentraciones diferentes en el plasma sanguíneo o en fracciones de plasma sanguíneo de individuos jóvenes en relación con individuos relativamente mayores. Además, otro aspecto de la invención incluye la monitorización de las constantes vitales básicas de un individuo que es tratado mediante el uso de los procedimientos descritos en la presente memoria. A modo de ejemplo, y no como una limitación, tales signos vitales pueden incluir el peso corporal, la presión arterial, la movilidad, la cognición, el grado de dolor y la temperatura corporal.

11. Administración

Al practicar la divulgación, se administra al individuo un producto de plasma sanguíneo, tal como plasma sanguíneo o una fracción de plasma sanguíneo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. En una realización, el plasma sanguíneo o la fracción de plasma sanguíneo se administra por medio de infusión intravenosa. La velocidad de infusión puede variar, pero en una realización de la invención, la velocidad de infusión es de 5-8 mL/minuto. Los expertos en la técnica reconocerán que la velocidad de infusión puede depender del estado del individuo y de su respuesta a la administración.

En aquellas realizaciones en las que se administra una cantidad eficaz de un agente activo al mamífero, la cantidad o dosis es eficaz cuando se administra durante un periodo de tiempo adecuado, tal como una semana o más, incluyendo dos semanas o más, tal como 3 semanas o más, un mes o más, 2 meses o más, 3 meses o más, 4 meses o más, 5 meses o más, 6 meses o más, 1 año o más, etc., a fin de evidenciar una reducción de la afección, por ejemplo, proliferación tumoral, crecimiento tumoral, metástasis tumoral, dolor asociado y/o angiogénesis en el mamífero. Por ejemplo, una dosis eficaz es la dosis que, cuando se administra durante un periodo de tiempo adecuado, ralentizará la afección, por ejemplo, en un 20% o más, por ejemplo, en un 30% o más, en un 40% o más, o en un 50% o más, en algunos casos en un 60% o más, en un 70% o más, en un 80% o más, o en un 90% o más. Por ejemplo, para indicaciones tumorales, detendrá: la proliferación tumoral, el crecimiento tumoral, la metástasis, el dolor asociado y/o la angiogénesis en un paciente que padezca cáncer. En algunos casos, una cantidad o dosis eficaz de agente activo no sólo ralentizará o detendrá la progresión de la enfermedad, sino que también inducirá la reversión de la enfermedad, es decir, provocará una disminución del tamaño del tumor. Por ejemplo, en algunos casos, una cantidad eficaz es la cantidad que, administrada durante un periodo de tiempo adecuado, mejorará los síntomas de una persona que padece un tumor en, por ejemplo, 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, en algunos casos 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces o más en relación con el tamaño del tumor, el dolor asociado o la angiogénesis antes de la administración del hemoderivado.

Bioquímicamente, por una "cantidad efectiva" o "dosis efectiva" de agente activo se entiende una cantidad de agente activo que inhibirá, antagonizará, disminuirá, reducirá o suprimirá en aproximadamente un 20% o más, p. ej., en un 30% o más, en un 40% o más, o en un 50% o más, en algunos casos en un 60% o más, en un 70% o más, en un 80% o más, o en un 90% o más, en algunos casos en aproximadamente un 100%, es decir, hasta cantidades insignificantes, y en algunos casos invierte el tamaño del tumor, o el grado de: proliferación; dolor asociado; metástasis; y/o angiogénesis.

12. Fracción de proteínas de plasma

En la práctica de la invención, se administra una FPP al individuo. En una realización, la FPP se selecciona de los Preparados FPP Comerciales.

En otra realización, la FPP está compuesta por un 88% de albúmina humana normal, un 12% de alfa y beta globulinas y no más de un 1% de gammaglobulina, según se determine por electroforesis. Las realizaciones de esta realización utilizadas en la práctica de los procedimientos de la invención incluyen, por ejemplo, esta realización como una solución al 5 % de FPP tamponada con carbonato de sodio y estabilizada con caprilato de sodio 0,004 M y acetiltriptófano 0,004 M. En la práctica de los procedimientos de la invención se pueden utilizar otras formulaciones, incluidas las que modifican el porcentaje de FPP (por ejemplo, de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%, de aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, de aproximadamente 20% a 25%, de aproximadamente 25% a 30%) en solución, así como las concentraciones de disolvente y estabilizadores.

13. Fracciones de plasma de la edad específica del donante

La divulgación incluye administrar una fracción de plasma sanguíneo o una Fracción de Plasma derivada del plasma de individuos de ciertos intervalos de edad. Otras realizaciones de la invención incluyen la administración de una fracción de proteína de plasma derivada del plasma de individuos de determinados intervalos de edad. Una realización incluye la administración de un FPP derivado del plasma de individuos jóvenes. En otra realización de la invención, los individuos jóvenes son de una sola edad específica o de un intervalo de edad específico. En otra realización, la edad media de los donantes es inferior a la del individuo o inferior a la edad media de los individuos tratados.

Ciertas realizaciones de la invención incluyen agrupar sangre o plasma sanguíneo de individuos de intervalos de edad específicos y fraccionar el plasma sanguíneo como se ha descrito anteriormente para obtener un producto de fracción de proteína de plasma tal como FPP. En una realización alternativa de la invención, la fracción de proteínas de plasma o la fracción específica de proteínas de plasma se obtiene de individuos específicos que se ajustan a un intervalo de edad especificado. En otra realización de la invención, la fracción de plasma sanguíneo, la fracción de plasma o el producto de fracción de proteína de plasma específico se obtiene de un grupo de individuos jóvenes, de los cuales "joven" puede determinarse por la edad cronológica o biológica como se describe anteriormente, y la edad (s) de los individuos puede ser una edad específica o intervalo de edad.

14. Indicaciones

Como se ha resumido anteriormente, los aspectos de la divulgación incluyen el tratamiento de un cáncer en un individuo. El cáncer se puede manifestar, por ejemplo, como tumores sólidos o cáncer de la sangre. El cáncer también se puede manifestar en una serie de tejidos (incluso como metástasis) o como especies de cáncer que incluyen, a título de ejemplo y no limitativo, los siguientes: leucemia linfocítica aguda (LLA); leucemia mieloide aguda (LMA); suprarrenal, anal; angiosarcoma; astrocitoma; cáncer de células basales; ducto biliar; vejiga; hueso; cerebro; carcinoide; cardíaco; sarcoma cardíaco; sistema nervioso central; cervical; leucemia linfocítica crónica (LLC); leucemia mieloide crónica (LMC); colon; craneofaringioma; ependimoma; esofágico; tumores de Ewing; ojo; fibroma; vesícula biliar; gástrico; tumores carcinoides gastrointestinales; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); célula germinal; glioma; glioma multiforme; hemangioblastoma; hemangiopericitoma; hamartoma; cabeza y cuello; linfoma de Hodgkin; hipofaríngeo; sarcoma de Kaposi; laríngeo; leucemia; hígado; pulmón; tumor carcinoide de pulmón; ganglios linfáticos; linfoma; melanoma; meningioma; cáncer de piel de células de Merkel; mesotelioma; mieloma múltiple; síndrome mielodisplásico; mieloma; mixoma; cavidad nasal y seno paranasal; nasofaríngeo; neuroblastoma; linfoma no Hodgkin; cáncer de pulmón no microcítico; cavidad oral y orofaríngeo; osteosarcoma; ovario; páncreas; pene; pineal; pituitaria; tumor cardíaco primario; neuroectodérmico primitivo (incluido el meduloblastoma); rectal; renal; retinoblastoma; rhabdomioma; rhabdiosarcoma; glándula salival; schwannoma; piel; linfoma cutáneo; cáncer de pulmón microcítico; sarcomas de partes blandas; médula espinal; carcinoma de células escamosas; cáncer de piel de células escamosas; testicular; de timo; tiroides; uterino; vaginal; vulvar; macroglobulinemia de Waldenstrom; y tumor de Wilms.

Cáncer de timo. La invención incluye una FPP para su uso en el tratamiento de neoplasias y no neoplasias tímicas. Las neoplasias del timo incluyen timoma, linfoma, carcinoma de timo, carcinoide de timo, timolipoma, tumores de células germinales y metástasis pulmonares. Las no neoplasias del timo incluyen el bocio intratorácico, los quistes tímicos, los linfangiomas y los aneurismas aórticos. La etiología y los factores de riesgo de los tumores tímicos no se conocen por completo, pero la irradiación previa y las infecciones por el virus de Epstein-Barr son candidatos a desempeñar ese papel. (Omar M. Rashid et al., Thymic neoplasm: a rare disease with a complex clinical

presentation 5(2) J Thorac Dis 173 (2013)). Aunque se consideran neoplasias raras, la tasa de supervivencia a cinco años de los pacientes que presentan timomas es de aproximadamente el 78%, y la del carcinoma de timo de aproximadamente el 40%. (David S. Ettinger, et al., Timomas y carcinomas tímicos 11(5) J. Natl Comprehensive Cancer Network 562 (2013)). El tratamiento de los timomas y el carcinoma de timo incluye la resección quirúrgica y la quimioterapia, con escasa respuesta a la quimioterapia, especialmente en el carcinoma de timo. (*Id.*)

Cáncer gástrico: Tratamiento del cáncer gástrico. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del adenocarcinoma gástrico, los tumores carcinoides gástricos, los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) y los linfomas gástricos. Entre los síntomas del cáncer gástrico que se pueden reducir o revertir se incluyen, a título meramente enunciativo y no limitativo, dolor de estómago, heces sanguinolentas, vómitos, pérdida de peso, dificultad para tragar, ictericia en ojos/piel, hinchazón de estómago, estreñimiento o diarrea, fatiga y ardor de estómago.

Cáncer de páncreas Tratamiento del cáncer de páncreas. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del cáncer pancreático exocrino, los tumores neuroendocrinos pancreáticos (NET o tumores de células de los islotes), el insulinoma, el glucagonoma, el gastrinoma, el somatostatina, los VIPomas y los PPomas. Entre los síntomas del cáncer de páncreas que se pueden reducir o revertir se incluyen, a título meramente enunciativo y no limitativo, la diabetes, la pérdida de peso, la ictericia, el dolor abdominal y de espalda y la diarrea.

Cáncer renal (riñón). Tratamiento del cáncer renal. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del carcinoma de células renales, el carcinoma de células transicionales, el sarcoma renal, el tumor de Wilms y el linfoma renal. Los tipos de células cancerosas renales que se pueden tratar, a título de ejemplo y no limitativo, son los de células claras, papilares, sarcomatoides, medulares/de conducto colector, cromóforos, oncocitomas y angiomiolipomas. Los síntomas del cáncer renal que se pueden reducir o revertir son, por ejemplo y sin carácter limitativo, sangre en la orina, bultos en el abdomen, pérdida de apetito, pérdida de peso, dolor lateral, fiebre, fatiga, anemia e hinchazón de pies, tobillos o piernas.

Cáncer de hígado. Tratamiento del cáncer de hígado. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del carcinoma hepatocelular (CHC), el colangiocarcinoma (cáncer de vías biliares) y el angiosarcoma. Entre los síntomas del cáncer de hígado que se pueden reducir o revertir se incluyen, a título meramente enunciativo y no limitativo, pérdida de apetito, pérdida de peso, náuseas/vómitos, agrandamiento del hígado, agrandamiento del bazo, dolor abdominal o cerca del omóplato derecho, hinchazón abdominal o acumulación de líquido, picor, ictericia, fiebre, venas dilatadas en el vientre, hematomas anormales o hemorragias anormales, hipercalcemia, hipoglucemia, ginecomastia, eritrocitosis y colesterol alto.

Cáncer colorrectal. Tratamiento del cáncer colorrectal. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del adenocarcinoma colorrectal, el tumor carcinoide, el tumor del estroma gastrointestinal (GIST), el carcinoma de células pequeñas, el sarcoma y el linfoma. Entre los síntomas del cáncer de hígado que se pueden reducir o revertir se incluyen, a título meramente enunciativo y no limitativo, la pérdida de peso, los dolores o calambres abdominales, la fatiga, las hemorragias rectales, la sangre en las heces y los cambios en los hábitos intestinales.

Linfoma. Tratamiento de los linfomas. A modo de ejemplo y no de limitación, se contempla el tratamiento del linfoma de Hodgkin, el linfoma de Hodgkin infantil, el linfoma no Hodgkin y el linfoma no Hodgkin infantil. Estos ejemplos incluyen subtipos de linfomas como los linfomas de células B, células T y células NK, linfoma de Hodgkin de esclerosis nodular, linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos, linfoma de Hodgkin de celularidad mixta, linfoma de Hodgkin con depleción linfocitaria, linfoma de Hodgkin nodular con predominio linfocitario, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma linfocítico pequeño, linfoma mediastínico primario de células B grandes, linfoma de células B de la zona marginal esplénica, linfoma de células B de la zona extranodal de MALT, linfoma de células B de la zona marginal ganglionar, linfoma linfoblástico, linfoma de Burkitt/leucemia de células de Burkitt, linfoma/leucemia de células T del adulto (virus linfotrópico de células T humano tipo I positivo), linfoma extraganglionar de células NK/T de tipo nasal, linfoma de células T asociado a enteropatía, linfoma de células T hepatoesplénico gamma/delta, linfoma de células T subcutáneo de tipo paniculitis y micosis fungoide. Entre los síntomas del cáncer de hígado que se pueden reducir o revertir se incluyen, por ejemplo y sin carácter limitativo, la inflamación de los ganglios linfáticos, la hinchazón de piernas/tobillos, la distensión abdominal y los calambres, la pérdida de peso, la pérdida de apetito, los escalofríos, la fatiga, el picor y la tos persistente.

16. Terapia combinada

Para su uso en los procedimientos del individuo, los productos de plasma sanguíneo descritos en la presente memoria se pueden administrar en combinación con otros agentes farmacéuticamente activos, incluidos otros agentes que tratan la afección subyacente o un síntoma de la afección. "En combinación con" se refiere a usos en los que, por ejemplo, el producto de plasma sanguíneo se administra durante todo el curso de la administración del segundo compuesto; en los que el producto de plasma sanguíneo se administra durante un período de tiempo que se solapa con la administración del segundo compuesto, por ejemplo, en el que la administración del producto de plasma sanguíneo comienza antes de la administración del segundo compuesto y la administración del producto de

plasma sanguíneo termina antes de que termine la administración del segundo compuesto; en el que la administración del segundo compuesto comienza antes de la administración del producto de plasma sanguíneo y la administración del segundo compuesto termina antes de que termine la administración del producto de plasma sanguíneo; cuando la administración del producto del plasma sanguíneo comience antes de que comience la administración del segundo compuesto y la administración del segundo compuesto termine antes de que termine la administración del producto del plasma sanguíneo; cuando la administración del segundo compuesto comience antes de que comience la administración del producto del plasma sanguíneo y la administración del producto del plasma sanguíneo termine antes de que termine la administración del segundo compuesto. Como tal, "en combinación" también se puede referir a un régimen que implique la administración de dos o más compuestos. "En combinación con", como se utiliza en la presente memoria, también se refiere a la administración de dos o más composiciones/compuestos que se pueden administrar en las mismas o diferentes formulaciones, por las mismas o diferentes vías, y en el mismo o diferente tipo de forma de dosificación.

Ejemplos de otros agentes para uso en terapia combinada de cáncer incluyen, pero no se limitan a, talidomida, marimastat, COL-3, BMS-275291, escualamina, 2-ME, SU6668, neovastat, Medi-522, EMD121974, CAI, celecoxib, interleucina-12, IM862, TNP470, avastin, gleevec, herceptin, y mezclas de los mismos. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos para uso en terapia combinada incluyen, pero no se limitan a, daunorrubicina, daunomicina, dactinomicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, esorubicina, bleomicina, mafosfamida, ifosfamida, arabinósido de citosina, bis-cloroetilnitrosurea, busulfán, mitomicina C, actinomicina D, mitramicina, prednisona, hidroxiprogesterona, testosterona, tamoxifeno, dacarbazina, procarbazona, hexametilmelamina, pentametilmelamina, mitoxantrona, amsacrina, clorambucilo, metilciclohexilnitrosurea, mostazas nitrogenadas, melfalán, ciclofosfamida, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-azacitidina, hidroxiurea, desoxicoformicina, 4-hidroxiperoxíciclofosforamida, 5-fluorouracilo (5-FU), 5-fluorodeoxiuridina (5-FUdR), metotrexato (MTX), colchicina, taxol, vincristina, vinblastina, etopósido (VP-16), trimetrexato, irinotecán, topotecán, gemcitabina, tenipósido, cisplatino y dietilestilbestrol (DES).

17. Kits

También se proporcionan reactivos, dispositivos y kits de los mismos para practicar uno o más de los procedimientos descritos anteriormente. Los kits temáticos pueden variar mucho.

Los kits pueden incluir bolsas de recogida de sangre, tubos, agujas, tubos de centrifugación y similares. Los kits descritos en el presente documento también pueden incluir uno o más, por ejemplo, dos o más, contenedores de producto de plasma sanguíneo, tales como la fracción de proteína de plasma, tales como tres o más, cuatro o más, cinco o más, que incluyen seis o más contenedores de producto de plasma sanguíneo. En algunos casos, el número de recipientes distintos de producto de plasma sanguíneo en el kit puede ser 9 o más, 12 o más, 15 o más, 18 o más, 21 o más, 24 o más 30 o más, que incluyen 36 o más, por ejemplo, 48 o más. Cada recipiente puede tener asociada información de identificación que incluya diversos datos sobre el producto de plasma sanguíneo contenido en el mismo, información de identificación que puede incluir uno o más de la edad del donante del producto de plasma sanguíneo, detalles de procesamiento relativos al producto de plasma sanguíneo, por ejemplo, si el producto de plasma sanguíneo se procesó para eliminar proteínas por encima de un peso molecular medio (como se ha descrito anteriormente), detalles del grupo sanguíneo, etc. En algunos casos, cada contenedor del kit incluye información identificativa sobre el plasma sanguíneo contenido en el mismo, y la información identificativa incluye información sobre la edad del donante del producto de plasma sanguíneo, por ejemplo, la información identificativa proporciona datos confirmatorios relacionados con la edad del donante del producto de plasma sanguíneo (en el que dicha información identificativa puede ser la edad del donante en el momento de la extracción). En algunos casos, cada envase del kit contiene un producto de plasma sanguíneo de un donante de una edad sustancialmente igual, es decir, todos los envases incluyen producto de donantes que tienen sustancialmente la misma edad, si no la misma. Por edad sustancialmente igual se entiende que los diversos donantes de los que se obtienen los productos de plasma sanguíneo de los kits difieren en cada uno, en algunos casos, en 5 años o menos, tal como 4 años o menos, por ejemplo, 3 años o menos, incluyendo 2 años o menos, tal como 1 año o menos, por ejemplo, 9 meses o menos, 6 meses o menos, 3 meses o menos, incluyendo 1 mes o menos. La información de identificación puede estar presente en cualquier componente conveniente del contenedor, tal como una etiqueta, un chip RFID, etc. La información de identificación puede ser legible por humanos, por ordenador, etc., según se desee. Los contenedores pueden tener cualquier configuración conveniente. Aunque el volumen de los recipientes puede variar, en algunos casos los volúmenes oscilan entre 10 ml y 5000 mL, por ejemplo, entre 25 mL y 2500 mL, por ejemplo, entre 50 mL y 1000 mL, incluidos entre 100 mL y 500 mL. Los recipientes pueden ser rígidos o flexibles, y se pueden fabricar con cualquier material conveniente, por ejemplo, materiales poliméricos, incluidos materiales plásticos de calidad médica. En algunos casos, los contenedores tienen una configuración de bolsa. Además de los recipientes, dichos kits pueden incluir dispositivos de administración, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. Los kits pueden incluir además uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, como los descritos anteriormente en relación con la terapia combinada. Los componentes de dichos kits se pueden suministrar en cualquier envase adecuado, por ejemplo, una caja o estructura análoga, configurada para contener los envases y otros componentes del kit.

Además de los componentes anteriores, los kits del sujeto incluirán instrucciones para practicar los procedimientos del sujeto. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits en cuestión en una variedad de formas, una o más

de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que pueden estar presentes estas instrucciones es como información impresa en un medio o sustrato adecuado, por ejemplo, una o varias hojas de papel en las que esté impresa la información, en el embalaje del kit, en un prospecto, etc. Otro medio sería un soporte legible por ordenador, por ejemplo, un disquete, un CD, una unidad flash portátil, etc., en el que se haya grabado la información. Otro medio que puede estar presente es una dirección de sitio web que se puede utilizar a través de Internet para acceder a la información en un sitio remoto. En los kits puede haber cualquier medio conveniente.

18. Procedimientos experimentales

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completa de cómo realizar y utilizar la presente invención, y no pretenden representar que los experimentos a continuación sean todos o los únicos experimentos realizados. Se ha procurado garantizar la exactitud de las cifras utilizadas (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio, la temperatura es grados centígrados y la presión es casi atmosférica.

Los procedimientos generales en bioquímica molecular y celular se pueden encontrar en libros de texto estándar como Clonación molecular: Manual de laboratorio, 3ª ed. (Sambrook et al., HaRBor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag et al., John Wiley & Sons 1996); Nonviral Vectors for Gene Therapy (Wagner et al. eds., Academic Press 1999); Viral Vectors (Kapliff & Loewy eds., Academic Press 1995); Immunology Methods Manual (I. Lefkovits ed., Academic Press 1997); y Cultivo de células y tejidos: Procedimientos de laboratorio en biotecnología (Doyle & Griffiths, John Wiley & Sons 1998). Los reactivos, vectores de clonación y kits para la manipulación genética a los que se hace referencia en esta divulgación están disponibles en proveedores comerciales tales como BioRad, Stratagene, Invitrogen, Sigma-Aldrich y Clontech.

A. Materiales y reactivos

La solución salina USP se compró a Hospira (Lake Forest, IL). Las inyecciones se realizaron con agujas de 27,5G o 30G, a un volumen de 150 µl por inyección. Se recogió plasma de donantes humanos de 18 y >65 años por medio de mediante plasmáfesis por Biomat®, en múltiples centros. La recogida se llevó a cabo siguiendo los procedimientos operativos estándar (POE) de Biomat® y se proporcionaron muestras de 3mL retenidas de las recogidas. Se comprobó la ausencia de VIH, Hepatitis B y Hepatitis C en todos los materiales. Los viales se enviaron al lugar del estudio en hielo seco.

La FPP disponible comercialmente ("FPP1"), tal como los preparados comerciales de FPP descritos anteriormente, en solución al 5% se almacenaron a 4°C.

B. Preparación del plasma

Al llegar al lugar del estudio, las muestras de plasma de 45-50 donantes de cada grupo de edad se centrifugaron a 3200 g a 0 °C durante 30 minutos, se filtraron a través de un filtro de 0,22 µm, se agruparon para cada grupo de edad, se alicuotaron en alícuotas de 1 ml y se congelaron a 80 °C. Los viales se descongelaron durante una hora en hielo al comienzo de cada día de inyección. Los viales se descongelaron durante una hora en hielo al principio de cada día de inyección y, en caso de que no se utilizara un vial entero, se guardó a 4°C hasta el siguiente día de inyección.

C. Abastecimiento y cría de animales

Las cepas de ratón NOD.CB17-Prkdcscid/NcrCrI ("NODscid," Strain Code 394, Charles River, MA) (Bosma, M. et al., El mutante de ratón scid. 137 Curr Top Microbiol Immunol 197 (1988)) y NODscid gamma ("NSG," Strain Code 005557, Bar Harbor, ME). Los estudios de plasma se realizaron en ratones macho. Se recibieron 18 ratones de 1 mes (jóvenes) y 44 de 10 meses (viejos) antes del inicio del estudio. Dieciocho ratones jóvenes y cuarenta y dos de edad avanzada entraron en el estudio del plasma sanguíneo (Figuras 1-4), de los cuales dieciocho y veintiocho, respectivamente, completaron el estudio por medio de la recogida de tejido en el punto final. Para el estudio FPP1 (Figuras 5 y 6), 20 ratones tratados con solución salina y 20 ratones tratados con FPP1 iniciaron el estudio a los 6 meses de edad.

En todos los estudios, se perforó la oreja de cada ratón para designar un número de identificación único. Todos los ratones se alojaron individualmente en condiciones específicas libres de patógenos bajo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, y toda la manipulación y uso de los animales se realizó de acuerdo con las directrices estándar aprobadas por el IACUC.

D. Administración

Para el estudio del plasma sanguíneo (Figuras 1-4), los animales se dividieron en 3 cohortes de 20 ratones cada una, y el inicio del estudio se escalonó una semana entre cohortes. Cada cohorte se sometió a 5 semanas de inyecciones en la vena de la cola, dos veces por semana durante 4,5 semanas para un total de 9 inyecciones de

solución salina, plasma joven o plasma viejo. Los ratones de doce meses se dividieron uniformemente en 3 grupos de tratamiento al inicio del estudio en función del peso inicial del estudio. Los ratones se pesaron una vez a la semana desde el inicio hasta el final del estudio.

5 Para el estudio FPP1 (Figuras 5 y 6), se inyectaron ratones NODscid con solución salina USP o 5% FPP1 a partir de los 6 meses de edad mediante inyección intravenosa en la vena de la cola. Los ratones recibieron dos inyecciones semanales de 150µl durante un máximo de 5 meses.

E. Peso corporal

10 El peso de cada ratón se midió cada semana antes de la primera dosificación de la semana, y se tomó una medición final del peso antes del punto final del estudio de perfusión y recolección de tejido. La supervivencia de cada grupo se determinó trazando el punto temporal de la muerte de cada ratón en relación con la línea temporal del estudio.

15 La **Figura 1** representa el cambio en el peso corporal para cuatro grupos de tratamiento separados como porcentaje del peso corporal inicial determinado una semana antes del tratamiento (media $\pm$ s.e.m.). El peso corporal de cada ratón se midió cada semana antes de la primera dosis de la semana, y la medición final del peso se realizó antes del punto final del estudio de perfusión y recogida de tejidos. La figura 1 ilustra que el peso corporal de los ratones jóvenes aumentó gradualmente, mientras que el de todos los ratones de edad disminuyó. Se observó una tendencia al aumento del peso corporal en los ratones de edad tratados con plasma de donantes jóvenes (plasma joven).

F. Supervivencia

20 La supervivencia de los ratones NODscid tratados con solución salina, plasma joven, plasma viejo o FPP1 a partir de los 6 meses de edad se determinó trazando el punto temporal de la muerte de cada ratón en relación con la línea temporal del estudio. La **figura 2** muestra la supervivencia de los grupos tratados con suero salino, plasma joven (YP) y plasma viejo (OP), determinada por el momento de la muerte de cada ratón en relación con la línea de tiempo del estudio. La **figura 5** muestra la supervivencia de los ratones NODscid tratados con solución salina (línea continua) o con FPP1 (línea discontinua) a partir de los 6 meses de edad. La supervivencia se determinó trazando el punto temporal de la muerte de cada ratón en relación con la línea temporal del estudio. La Figura 2 ilustra que hubo una tendencia a la mejora de la supervivencia con ratones tratados con infusiones de plasma humano joven o viejo. La Figura 5 ilustra que hubo una tendencia a la mejora de la supervivencia de los ratones tratados con FPP1 en comparación con los ratones tratados con solución salina de control.

G. Peso del tumor

30 Tras la muerte, por causas naturales o eutanasia por motivos de salud, se buscó en ratones NODscid la presencia de tumores tímicos de aparición espontánea. Si se encontraban, se extirpaban los tumores y se medía y registraba el peso de cada tumor. Al final del estudio con plasma viejo y joven, se encontraron menos tumores tímicos en los ratones viejos tratados con plasma humano joven que en los controles salinos. La **figura 3** ilustra que los pesos de los tumores fueron significativamente diferentes entre los grupos de solución salina y de plasma joven (YP), según se determinó por medio de una comparación de prueba t (Mann-Whitney). (OP = plasma antiguo; sal = solución salina).

35 Al final del estudio con FPP1, se encontraron menos tumores tímicos en los ratones tratados con FPP1 que en los controles con solución salina. La **Figura 6** ilustra que el peso de los tumores tendía a disminuir en el grupo tratado con FPP1 en comparación con el grupo tratado con solución salina. (SAL = solución salina).

H. Tamaño del tumor

40 Las medidas del tamaño del tumor se tomaron en tres dimensiones mediante el uso de una regla de precisión y se trazaron. La talla y el peso se analizaron por separado. Al final del estudio, se buscó en los ratones la presencia de tumores de timo. Si se encontraban, se extirpaban los tumores y se medía y registraba el tamaño de cada tumor. En el estudio en el que el tratamiento incluyó plasma viejo (OP) y joven (YP), se encontraron menos tumores de timo en los ratones viejos tratados con plasma humano joven que en los controles salinos. La **figura 4** ilustra que los tamaños de los tumores eran significativamente diferentes entre los grupos de solución salina y de plasma joven, según se determinó por medio de una comparación de la prueba t (Mann-Whitney). (sal = solución salina).

I. Ensayos de inhibición del crecimiento de líneas celulares tumorales (CellTiter Blue Cell Viability Assay)

50 Se evaluó la actividad anticancerígena del plasma joven y FPP1 en un panel de seis líneas celulares de cáncer humano por medio del ensayo de viabilidad Cell Titer Blue de Promega. Las líneas celulares de cáncer se cosecharon a partir de cultivos en fase exponencial, se contaron y se sembraron en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos a una densidad celular que dependía de la tasa de crecimiento de la línea celular (4.000 y 30.000 células para líneas celulares de tumores sólidos, 10.000 a 60.000 para líneas celulares de cáncer hematológico). Las líneas celulares analizadas fueron: CXF269 (adenocarcinoma colorrectal); GXF251 (adenocarcinoma gástrico); LIXFC575 (carcinoma hepatocelular); LYXFN-RAJI (linfoma de Burkitt de linfocitos B); 55 PAXF1647 (adenocarcinoma pancreático); y RXF1781 (carcinoma renal). El plasma joven y la FPP1 se prepararon

con diluyente de plasma a un volumen de 50 μ L en 5 concentraciones (10 μ L de plasma o FPP1 + 40 μ L de diluyente, 20 μ L de plasma o FPP1 + 30 μ L de diluyente, 30 μ L de plasma o FPP1 + 20 μ L de diluyente, 40 μ L de plasma o FPP1 + 10 μ L, 50 μ L de plasma o FPP1 + 0 μ L de diluyente).

Tras un periodo de recuperación de 24 horas para permitir que las células reanudaran el crecimiento exponencial, se añadieron 10 μ L de medio de cultivo (cuatro pocillos de control/placa) o de medio de cultivo con el compuesto de prueba (plasma joven o FPP1) por medio de un sistema robótico de manipulación de líquidos y se continuó el tratamiento durante 4 días. Los compuestos se aplicaron en incrementos de medio logaritmo a 10 (o 5) concentraciones por duplicado. Tras el tratamiento y la incubación de las células, se añadieron 20 μ L/pocillo de reactivo CellTiter-Blue®. Tras una incubación de hasta 4 horas, se midió la fluorescencia (FU) mediante el uso del Enspire Multimode Plate Reader (excitación λ = 531 nm, emisión λ = 615 nm). Se ajustaron curvas de concentración-respuesta sigmoidales a los puntos de datos (valores T/C) obtenidos para cada línea celular mediante el uso de un ajuste de curva no lineal de 4 parámetros (Oncotest Warehouse Software). Para cada línea celular, las curvas de actividad se calcularon promediando los valores de fondo de 24 pocillos y restando este valor de cada uno de los tres valores replicados para la condición de control y las condiciones de prueba que oscilaban entre 10-50% (v/v). Se promediaron los valores ajustados al fondo para la condición de control y todos los valores (condiciones de control y de prueba) se normalizaron a este valor para generar valores ajustados al fondo, normalizados al control, para los gráficos de las **figuras 7 a 12**. Las **figuras 7 a 12** muestran que para todas las líneas celulares cancerosas, la FPP1 redujo potentemente la viabilidad de las células cancerosas de forma dependiente de la dosis, lo que indica que la FPP1 demuestra una actividad inhibidora contra diversos tipos de células cancerosas, incluidos los tumores sólidos y hematopoyéticos. Las **figuras 7 a 12** también demuestran que el plasma joven (YP) modula la viabilidad de las células cancerosas de forma dependiente de la dosis, siendo inhibidor contra una variedad de tipos de células cancerosas, incluidos tumores sólidos y hematopoyéticos a concentraciones relevantes.

J. Modelo de tumor xenoinjertado *in vivo*

Los ratones desnudos atímicos machos se obtienen de Charles River (Wilmington, MA). Los experimentos de tumorigenicidad en modelo de xenoinjerto se realizan del siguiente modo. Se inyecta por vía subcutánea en los flancos de los ratones una suspensión unicelular de una línea celular tumoral (ATCC, Manassas, VA). Los animales son evaluados cada dos días para detectar la presencia de tumores. Una vez que los tumores son palpables, se inicia la medición de los tumores y se continúa dos veces por semana hasta que los tumores alcanzan aproximadamente el 8-10% del peso corporal de los ratones. Se utilizan calibradores de precisión (calibradores Vernier, Carolina Biological Supply, Burlington, NC) para determinar la longitud (L) y la anchura (W) de los tumores y el volumen tumoral.

El volumen del tumor se mide utilizando la fórmula $(1/2)(L \times W^2)$. Los ratones se dividen en 6 cohortes y se administran inyecciones *i.v.* por la vena de la cola dos veces por semana durante cuatro semanas. A cada cohorte se le asigna una de las siguientes: 150 μ L de plasma derivado de donantes de 18 a 22 años de edad como se describe arriba; 150 μ L de plasma derivado de donantes de > 65 años de edad como se describe arriba; 150 μ L de FPP1 (solución al 5%); 150 μ L de FPP1 (solución al 10%); 150 μ L de FPP1 (solución al 20%); o 2g/kg de IVIg.

El volumen tumoral se determina al menos dos veces por semana. Tras cuatro semanas de tratamiento, se sacrifica a los ratones y se extirpan y recogen los tumores y otros órganos (cerebro, riñón, corazón, hígado, bazo, páncreas, pulmones, próstata y timo). Se determina y registra el peso de los tumores. La mitad de los tumores y otros órganos recogidos se conservan en formol al 10% y se incrustan en parafina para los análisis histológicos.

K. Diseminación tumoral *in vivo*

Los ratones NODscid son inyectados por vía venosa en la cola con suspensiones celulares de una línea celular tumoral (ATCC, Manassas, VA) de cantidades variables en el intervalo de 1×10^5 a 1×10^6 células por inyección. Los animales se observan de 17 a 30 días y se sacrifican a los 30 días. Las metástasis en los tejidos se cuantificaron por medio de escisión y recogida de tejidos (cerebro, riñón, corazón, hígado, bazo, páncreas, pulmones, próstata, timo). Los tejidos recogidos se fijaron con formalina y se determinó el número de nódulos metastásicos de cada órgano mediante el uso de un microscopio estereoscópico con zoom (AmScope, Irvine, CA).

Lo que precede sólo ilustra los principios de la invención. Además, todos los ejemplos y el lenguaje condicional que se recitan en el presente documento tienen por objeto principal ayudar al lector a comprender los principios de la invención y los conceptos aportados por los inventores para avanzar en la técnica, y deben interpretarse sin limitación a los ejemplos y condiciones específicamente recitados. Además, todas las afirmaciones que se recitan en el presente documento sobre principios, aspectos y realizaciones de la invención, así como ejemplos específicos de la misma, pretenden abarcar equivalentes estructurales y funcionales de la misma. Además, se pretende que dichos equivalentes incluyan tanto los equivalentes conocidos actualmente como los equivalentes desarrollados en el futuro, es decir, cualquier elemento desarrollado que realice la misma función, independientemente de su estructura. El alcance de la presente invención, por lo tanto, no pretende limitarse a las realizaciones ejemplares mostradas y descritas en el presente documento. Más bien, el alcance y el espíritu de la presente invención quedan plasmados en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Una Fracción Proteica de plasma (FPP) para su uso en el tratamiento de un cáncer de timo en un individuo diagnosticado con el cáncer de timo, en el que la FPP comprende una solución estéril de proteína compuesta de albúmina y globulina, derivada de plasma humano, con un contenido de albúmina de al menos el 83% con no más del 17% de globulinas y otras proteínas de plasma, y no más del 1% de gammaglobulina.
2. La FPP para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la FPP es un FPP disponible comercialmente.
3. La FPP para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el individuo es un ser humano.
4. La FPP para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la FPP se produce a partir de sangre derivada de un grupo de humanos menores de 40 años.
5. La FPP para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la FPP se produce a partir de sangre derivada de un grupo de seres humanos menores de 30 años de edad.
6. La FPP para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la FPP se produce a partir de sangre derivada de un grupo de seres humanos menores de 25 años de edad.
7. La FPP para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la FPP se produce a partir de sangre derivada de un grupo de seres humanos menores de 10 años de edad.

Figura 1

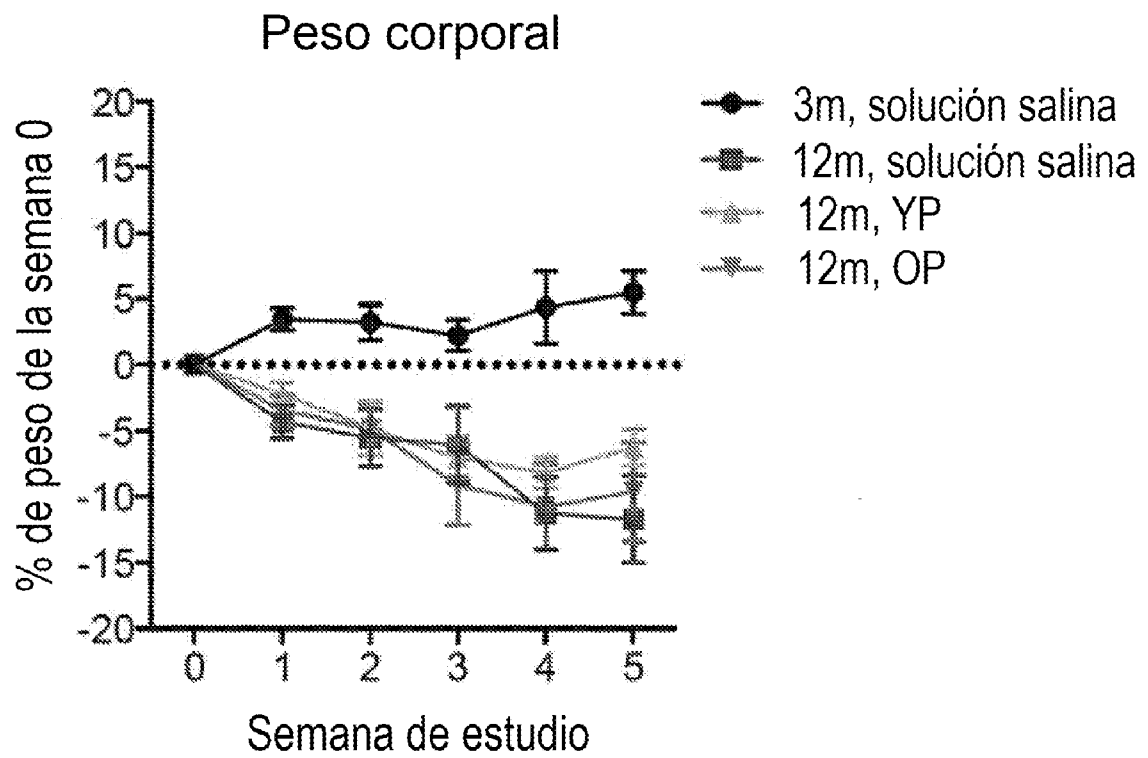


Figura 2

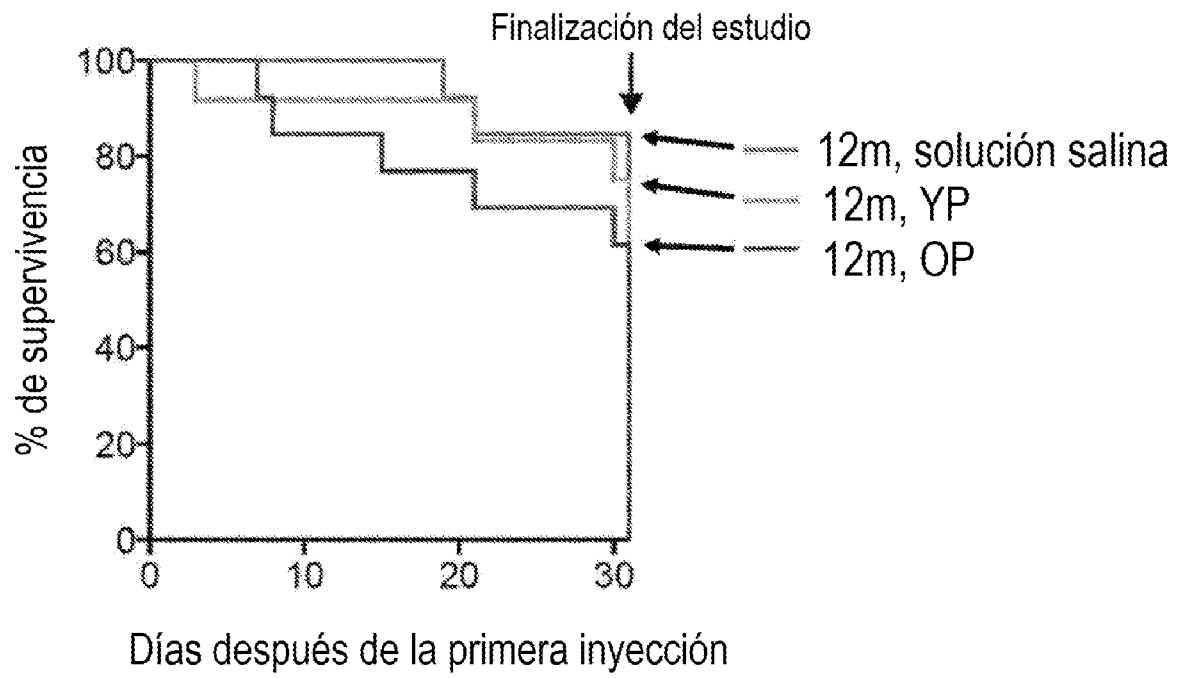


Figura 3

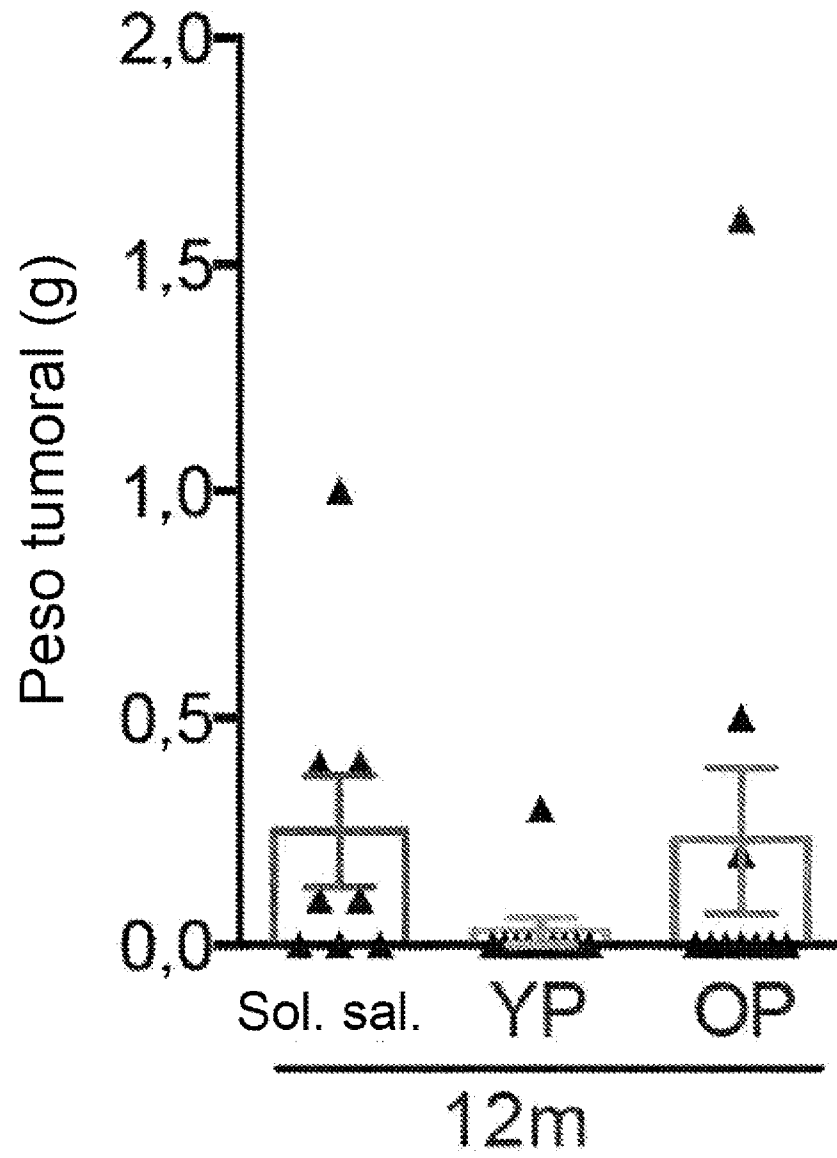


Figura 4

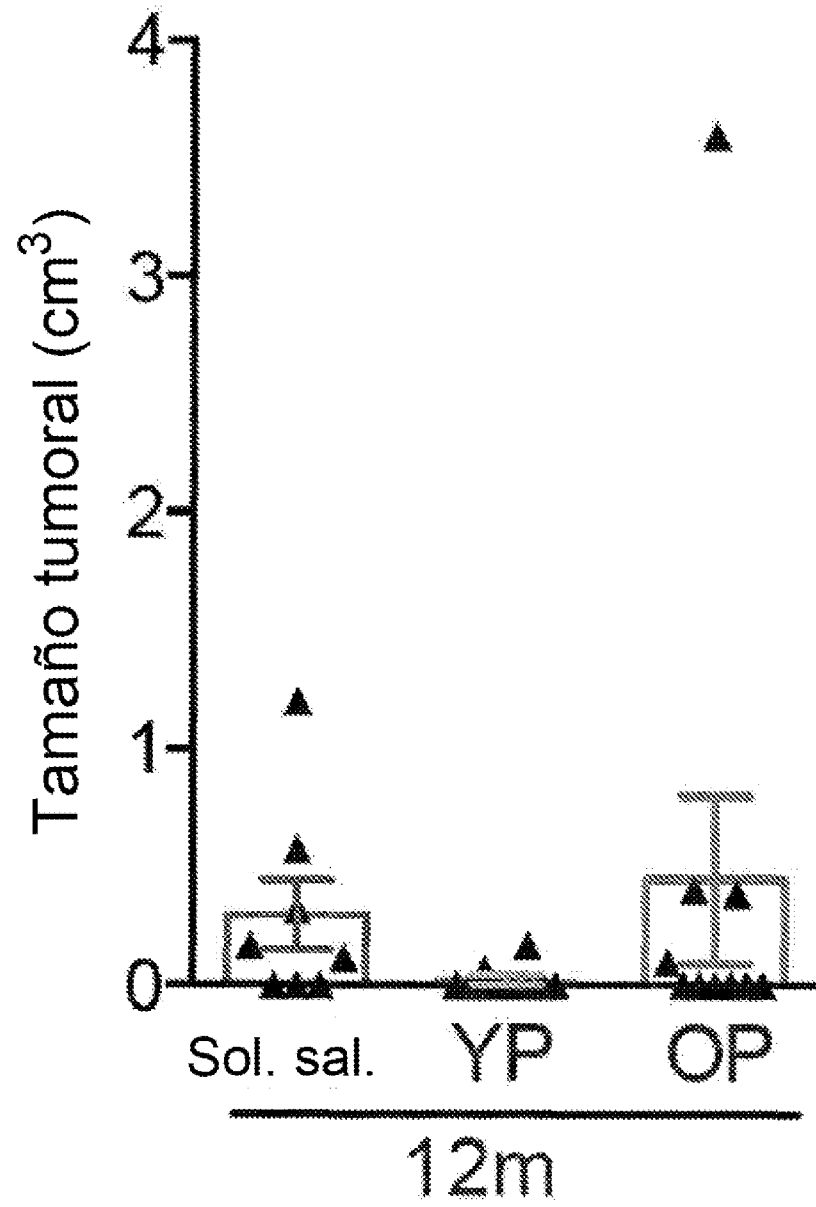


Figura 5

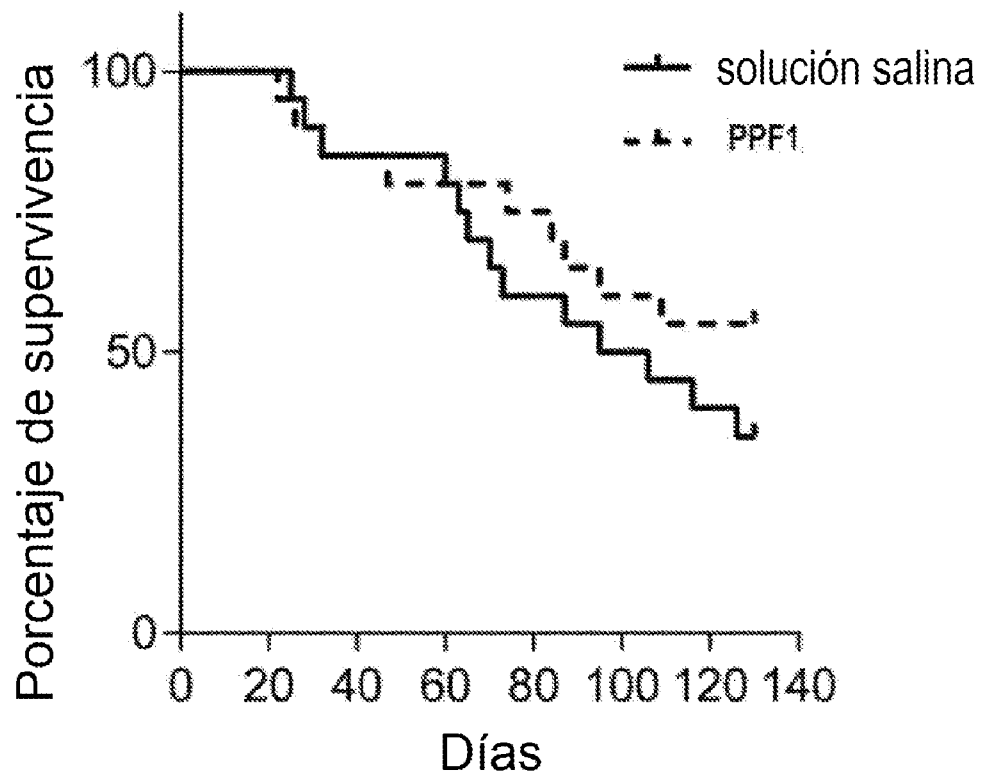


Figura 6

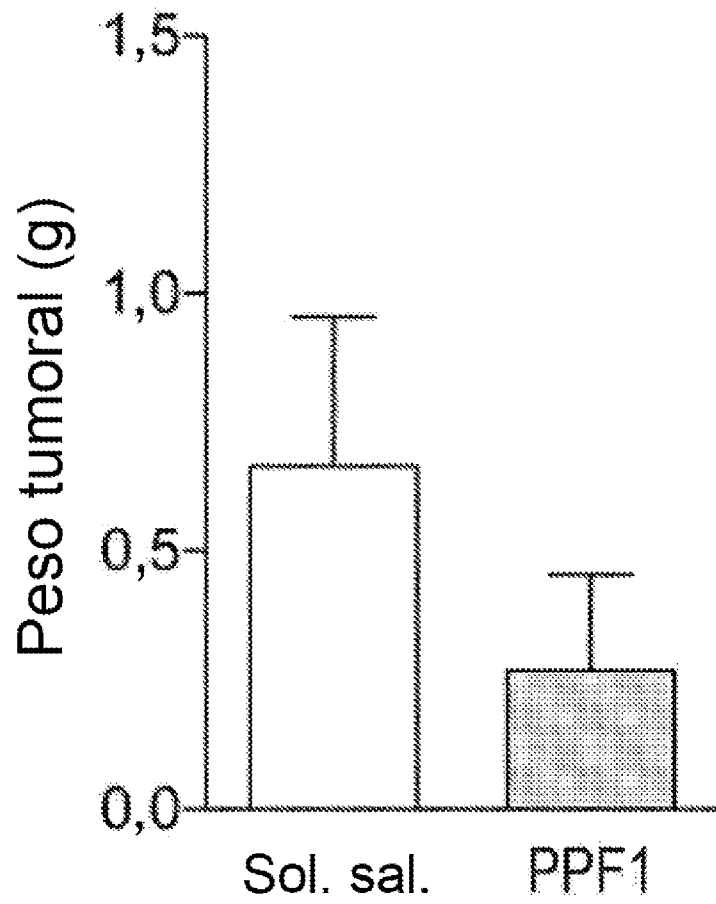


Figura 7

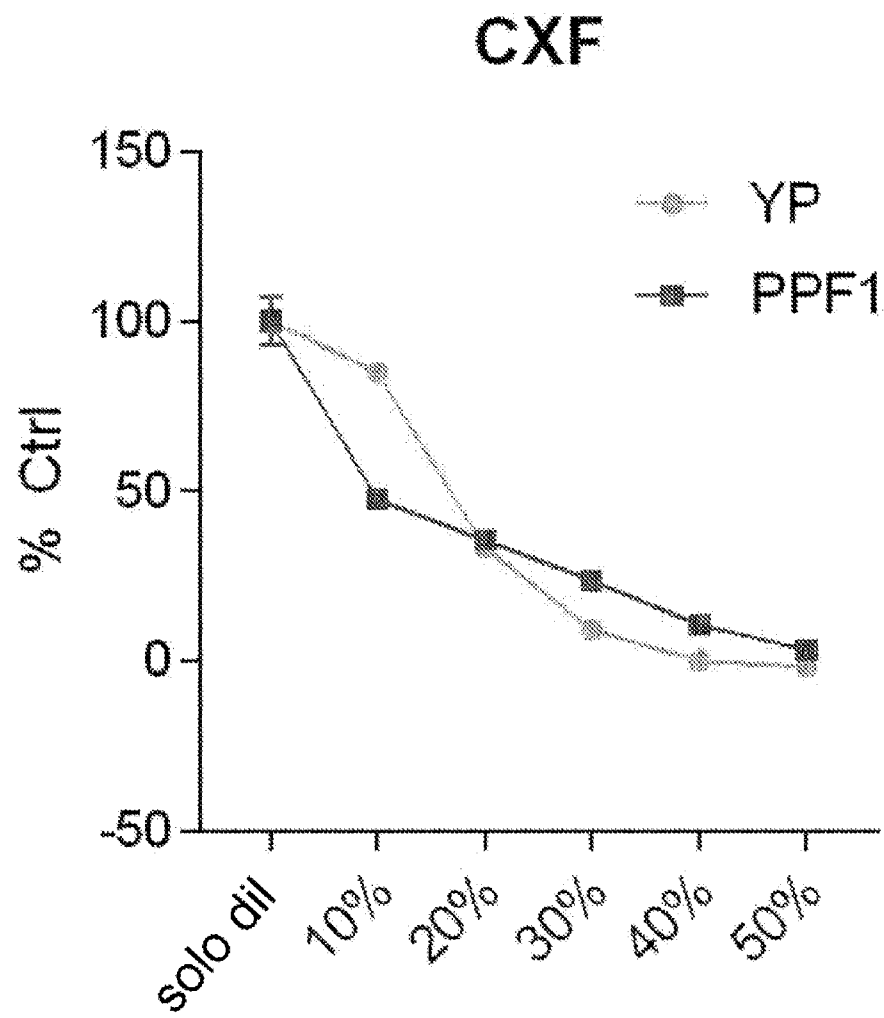


Figura 8

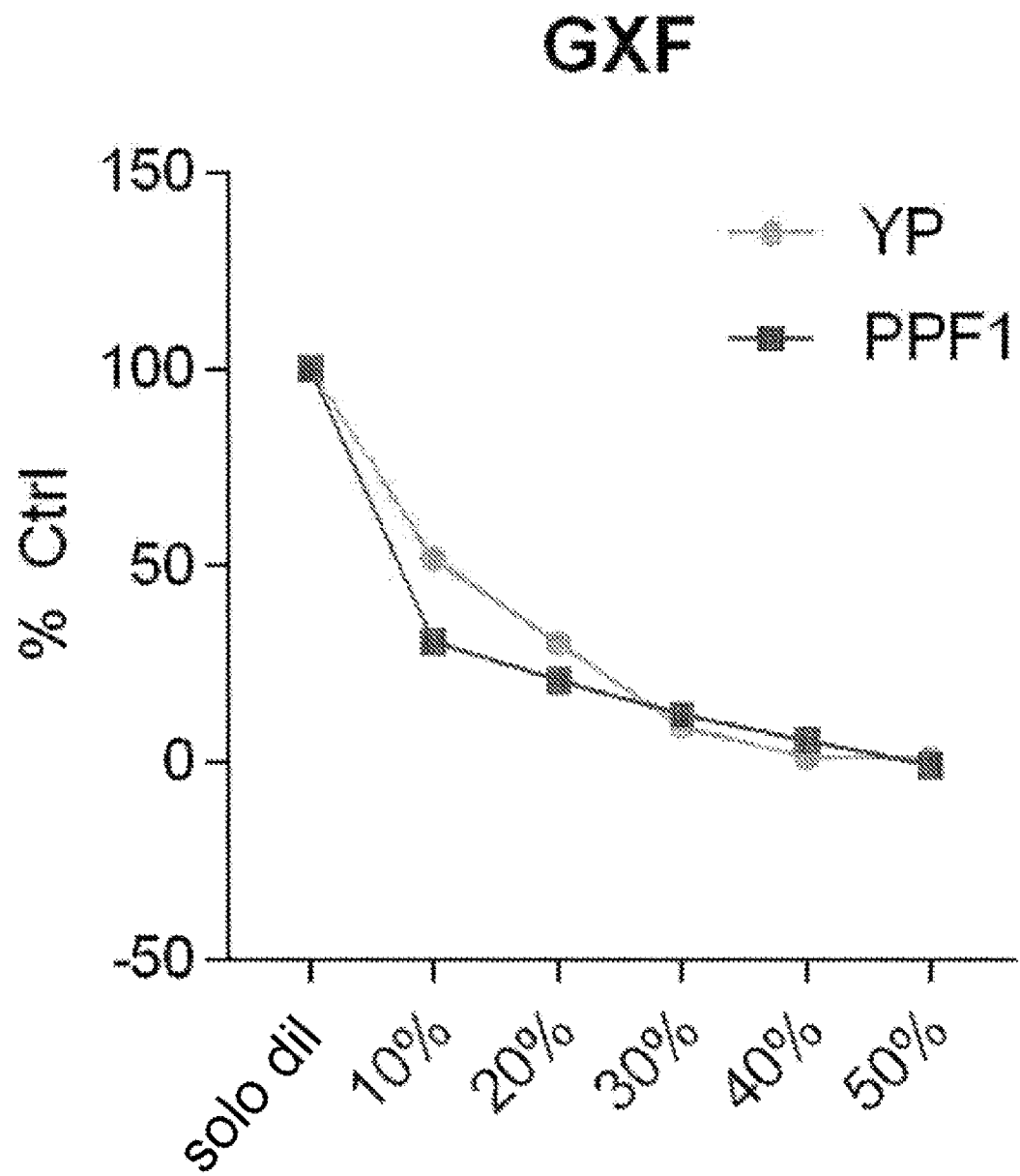


Figura 9

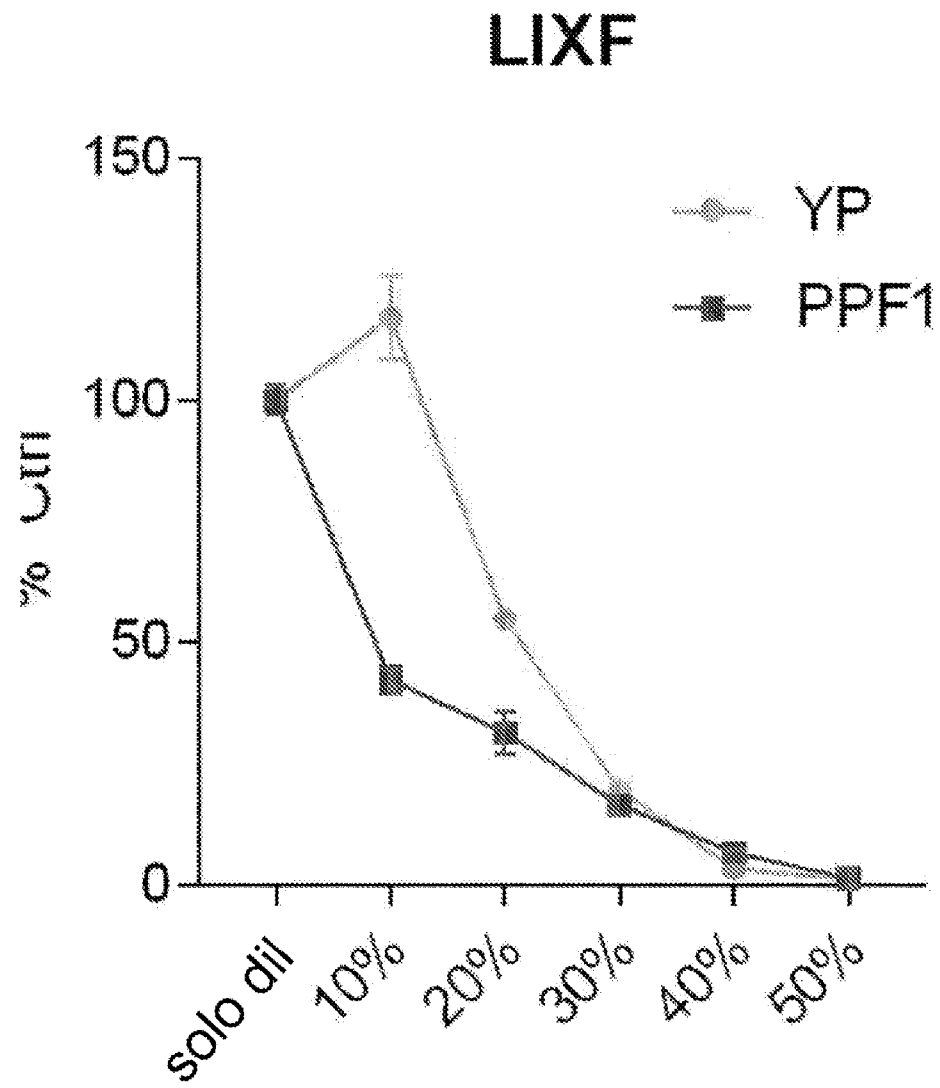


Figura 10

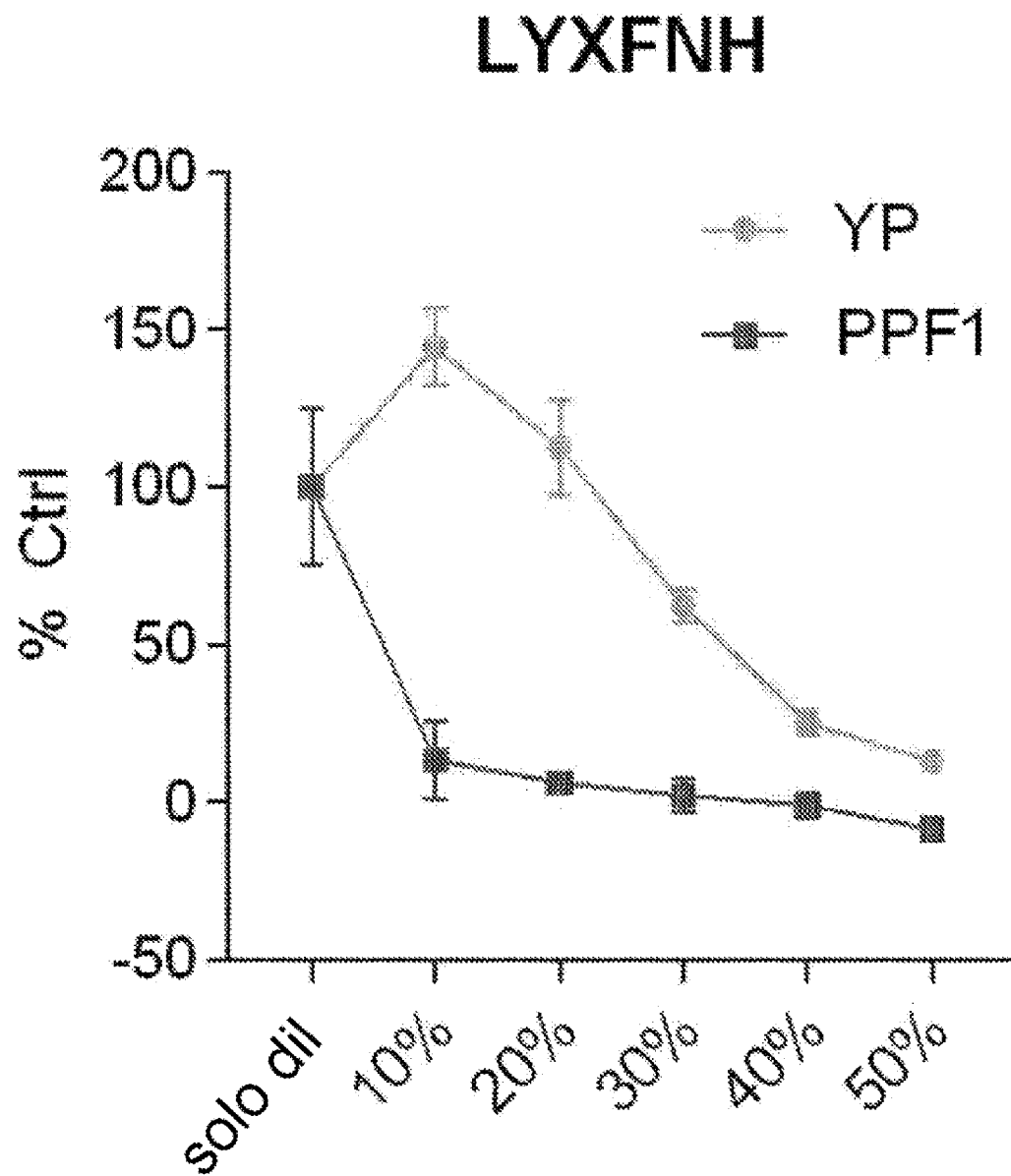


Figura 11

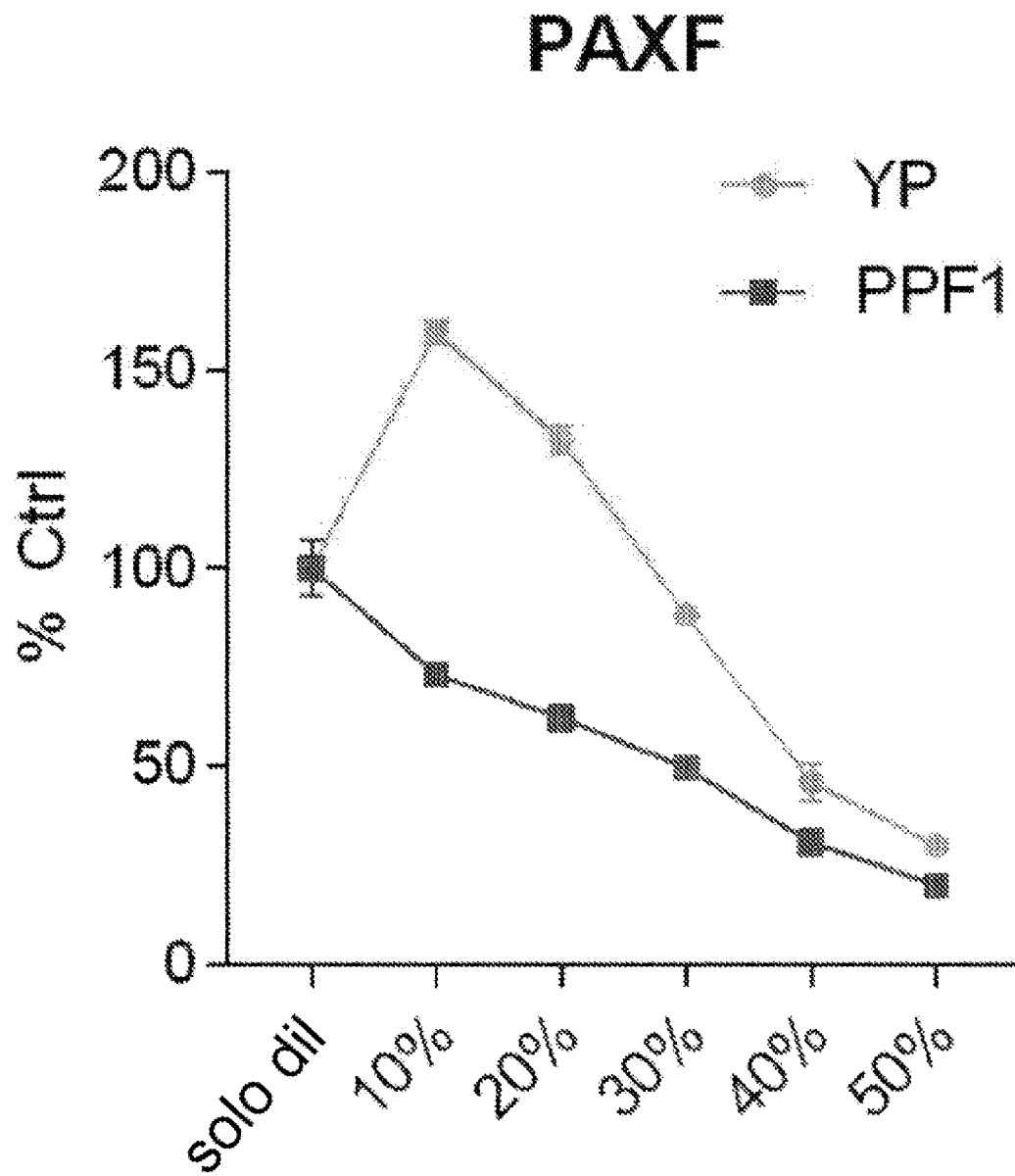


Figura 12

