

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 168**

51 Int. Cl.:

A61K 38/25	(2006.01) A61P 25/22	(2006.01)
A61P 1/16	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
A61P 3/00	(2006.01) A61P 37/02	(2006.01)
A61P 3/12	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61P 7/00	(2006.01) C07K 14/60	(2006.01)
A61P 7/06	(2006.01)	
A61P 11/00	(2006.01)	
A61P 13/12	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
A61P 25/20	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2011 PCT/JP2011/050579**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.07.2011 WO11087102**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2011 E 11732972 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.09.2016 EP 2524697**

54 Título: **Grelina para promover la recuperación de un animal en tratamiento médico**

30 Prioridad:

15.01.2010 JP 2010006557

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

31.01.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MIYAZAKI (33.0%)
1-1, Gakuen Kibana-dai Nishi Miyazaki-shi
Miyazaki 889-2192, JP;
NATIONAL CEREBRAL AND CARDIOVASCULAR
CENTER (33.0%) y
DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (33.0%)**

72 Inventor/es:

**MURAKAMI, NOBORU;
NAKAHARA, KEIKO;
KANGAWA, KENJI y
HAYASHI, YUJIRO**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 599 168 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

Grelina para promover la recuperación de un animal en tratamiento médico

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un agente terapéutico para su uso en la aceleración de la recuperación para mejorar un estado físico de un animal que no goza de buena salud y así restablecer pronto al animal, que contiene grelina o un derivado de la misma como principio activo, como se define en las reivindicaciones.

10

Técnica anterior

La mejora de las condiciones de los animales que no gozan de buena salud, que requieren tratamiento médico y permitir así que sus dueños recuperen a sus animales, es importante para ambos, así como para los veterinarios y hospitales veterinarios. En particular se desea una recuperación temprana para los animales que están hospitalizados para recibir tratamiento médico, tal como cirugía. Se espera que las evoluciones favorables y las afecciones patológicas estabilizadas, que aceleran la recuperación de los animales hospitalizados, contribuyan a la mejora de la calidad de vida (CDV) de los animales y sus dueños y a la reducción de las cargas a los veterinarios y hospitales veterinarios.

15

20

La grelina es una hormona descubierta en el estómago en 1999 y tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 28 restos con una estructura química muy rara en la que el aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de la secuencia está acilado con un ácido graso (Bibliografía no de patente 1 y Bibliografía de patente 1). La grelina es una hormona cerebrointestinal endógena que actúa sobre el receptor 1a de secretagogos de la hormona del crecimiento (GHS-R1a, *growth hormone secretagogue-receptor 1a*) (Bibliografía no de patente 2) y aumenta la secreción de hormona del crecimiento (GH, *growth hormone*) de la glándula pituitaria.

25

30

La grelina se aisló por primera vez de ratas y se purificó como un ligando de GHS-R endógeno para GHS-R1a. Después, las grelinas que tenían una estructura primaria similar, se aislaron de vertebrados distintos de ratas, tales como seres humanos, ratones, porcinos, pollos, bovinos, equinos, ovinos, caninos y felinos, y se conocen secuencias de aminoácidos de las mismas (Bibliografía de patentes 1). A continuación se enumeran ejemplos de grelinas procedentes de animales.

35

Canina	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 1)
	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 2)
Felina	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKVRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 3)
Rata	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 4)
	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKAQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 5)
Ratón	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 6)
40 Porcina	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKVVQRKESKKPAALKPR (SEQ ID NO: 7)
Bovina	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQRKEAKKPSGRLKPR (SEQ ID NO: 8)
Ovina	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQRKEPKKPSGRLKPR (SEQ ID NO: 9)
Equina	:GSS (n-butanoil) FLSPEHHKVQHRKESKKPPAKLKPR (SEQ ID NO: 10)
Pollo	:GSS (n-octanoil) FLSPTYKNIQQQKTRKPTAR (SEQ ID NO: 11)
45	:GSS (n-octanoil) FLSPTYKNIQQQKTRKPTAR (SEQ ID NO: 12)
	:GSS (n-octanoil) FLSPTYKNIQQQKTRKPTARLH (SEQ ID NO: 13)
Humana	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQRVQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 14)
	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQRVQ-RKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 15)
Mono	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQRAQQRKESKKPPAKLQPR (SEQ ID NO: 16)
50 Reno	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR (SEQ ID NO: 17)
	:GSS (n-octanoil) FLSPDHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR (SEQ ID NO: 18)
Cabra	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKLQ-RKEPKKPSGRLKPR (SEQ ID NO: 19)
Conejo	:GSS (n-octanoil) FLSPEHQKVVQRKESKKPAALKPR (SEQ ID NO: 20)
Pavo salvaje	:GSS (n-octanoil) FLSPAYKNIQQQKTRKPTARLHPR (SEQ ID NO: 21)
55 Ganso	:GSS (n-octanoil) FLSPEFKKIQQQNDPTKTTAKIHPR (SEQ ID NO: 22)
Codorniz japonesa	:GSS (n-octanoil) FLSPAYKNIQQQKTRKPAARLHRR (SEQ ID NO: 23)

(En la lista anterior, los restos de aminoácidos se expresan con el código de una sola letra)

60

Los péptidos enumerados anteriormente son péptidos que tienen una estructura específica en la que un grupo hidroxilo de cadena lateral del resto de serina (S) en la 3ª posición está acilado con un ácido graso, tal como ácido butanoico, ácido octanoico o ácido decanoico. Aparte de la grelina, ningún péptido bioactivo que tenga una estructura de modificación hidrófoba tal ha sido aislado de organismos vivos.

65

Además de los compuestos peptídicos enumerados anteriormente, los ejemplos de sustancias que actúan sobre GHS-R1a incluyen GHRP-2, que es un compuesto peptídico, y MK-0677, que es un compuesto de bajo peso

molecular (Bibliografía no de patente 4).

Estudios recientes han revelado que la grelina aumenta el apetito, que la administración subcutánea de la grelina aumenta el peso y la grasa corporal (Bibliografías no de patente 3 a 6), y que la grelina tiene efectos de mejora de la función cardíaca y similar (Bibliografías no de patente 7 a 9). Además, la grelina tiene una acción de secretagogo de GH y una acción de aumento del apetito. Mediante el aumento del apetito, se espera, por tanto, que la grelina presente además, de manera eficaz, una acción quemagrasa y convertora de la grasa en energía, mediante una acción de GH y un efecto de formación de músculo mediante una acción anabólica expresada de GH (Bibliografía no de patente 9).

Se requiere un agente terapéutico más eficaz para acelerar la recuperación para tratar animales que no gozan de buena salud que requieren tratamiento médico, particularmente para restablecer pronto animales hospitalizados para una cirugía o similar.

Lista de referencias

[Bibliografía de patentes]

Bibliografía de patentes 1: Publicación internacional N.º WO 01/07475

[Bibliografía no de patente]

Bibliografía no de patente 1: Kojima et al.: Nature, 402, pp. 656-660 (1999)

Bibliografía no de patente 2: Howard et al. : Science, 273, pp. 974-977 (1996)

Bibliografía no de patente 3: Wren et al.: Endocrinology, 141, pp. 4325-4328 (2000)

Bibliografía no de patente 4: Nakazato et al.: Nature, 409, pp. 194-198 (2001)

Bibliografía no de patente 5: Shintani et al.: Diabetes, 50, pp. 227-232 (2001)

Bibliografía no de patente 6: Tshop et al. : Nature, 407, pp. 908-913 (2000)

Bibliografía no de patente 7: Lely et al.: Endocr. Rev., 25, pp. 656-660 (2004)

Bibliografía no de patente 8: Korbonits et al.: Front. Neuroendocrinol., 25, pp. 27-68 (2004)

Bibliografía no de patente 9: Kangawa et al.: J. Pharmacol. Sci., 100, pp. 398-410 (2006)

El documento WO 2008/136511 A1 describe el uso de grelina para tratar neuropatía diabética.

El documento WO 2004/014412 A1 describe agentes protectores de células miocárdicas. NAGAYA et al. (2004) Circulation, Vol. 110, páginas 3674-3679 investiga los efectos de la administración de grelina sobre la función ventricular izquierda, capacidad de ejercicio y debilitamiento muscular en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica.

El documento JP 2005 507949 A se refiere al tratamiento de insuficiencia cardíaca congestiva. Los documentos JP 2007 537276 A y WO 2005/110463 A1 describen métodos de inhibición de la expresión de citocinas pro-inflamatorias usando grelina.

El documento WO 2009/119792 A1 describe el uso de grelina para tratar infecciones crónicas de las vías respiratorias.

NAGAYA et al. (2005) Chest, Vol. 128, páginas 1187-1193 describe el tratamiento de caquexia con grelina en pacientes con EPOC.

El documento WO 02/060472 A1 se refiere al uso de grelina para tratar enfermedades con estado de hiponutrición tales como inapetencia, caquexia o enfermedades malignas y prostración producidas por pérdida de peso en asociación con infección o inflamación.

Los documentos JP 2007 523048 A y WO 2005/014032 A2 describen el uso de grelina para estimular el apetito y tratar caquexia por cáncer.

NEARY et al. (2004) The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, Vol. 89, páginas 2832-2836 investiga el efecto de la grelina sobre el aporte de energía en pacientes con cáncer con apetito alterado.

TAKEDA et al. (2006) Journal of the American Society of Nephrology, Vol. 17, páginas 113-121 encontraron que la grelina mejora la función renal en ratones con insuficiencia renal isquémica aguda.

DEBOER et al. (2008) Endocrinology, Vol. 149, páginas 827-835 describe que la grelina, en el tratamiento de enfermedades renales crónicas, aumenta la masa corporal magra, disminuye las citocinas pro-inflamatorias y aumenta los niveles en sangre de hormona del crecimiento y IGF-1.

GARCIA et al. (2007) Nephrology Dialysis Transplantation, Vol. 22, páginas 1309-1313 encontraron que la administración de grelina a ratas urémicas jóvenes aumentó el consumo de alimentos transitoriamente, estimuló la secreción de hormona del crecimiento, y no mejoró el crecimiento longitudinal.

5 El documento JP 2008 127377 A describe el uso de grelina para tratar síndrome metabólico.

El documento JP 2006 241098 A describe el uso de grelina para tratar una enfermedad caracterizada por pérdida de hueso.

10 LUTTER et al. (2008) Nature Neuroscience, Vol. 11, No. 7, páginas 752-753 describe que la grelina disminuye los síntomas depresivos del estrés crónico y tiene efectos ansiolíticos en varios modelos de ratón de depresión/estrés.

SHAH et al. (2009) Molecular Medicine, Vol. 15(11-12), páginas 407-414 encontraron que la grelina humana mejora la lesión de órganos y mejora la supervivencia después de lesión por radiación combinada con septicemia grave.

15 YUKAWA et al. (2008) Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., Vol. 294: R1453-R1460 encontraron que el tratamiento periférico con grelina estabiliza pesos corporales de ratas Brown Norway macho senescentes en el nivel inicial y después de cirugía.

20 AKAMIZU et al. (2008) Journal of the American Geriatrics Society, Vol. 56, No. 12, páginas 2363 - 2365 describe que la grelina aumenta la masa corporal magra y disminuye el debilitamiento muscular en pacientes después de terapia de artroplastia de cadera.

Sumario de la invención

25 **Problema técnico**

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un agente terapéutico para acelerar la recuperación para acelerar un retorno de estados físicos a normales en un animal que no goza de buena salud y que está en

30 tratamiento médico, administrando el agente al animal, un método de tratamiento y similar.

Solución al problema

35 Los inventores de la presente invención descubrieron que la administración de grelina a animales que no gozan de buena salud debido a diversas afecciones patológicas, particularmente a animales hospitalizados para recibir tratamiento, mejoró diversos parámetros que indican afecciones del animal (por ejemplo, uno o más de actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos, temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad y la frecuencia respiratoria), y que la administración de grelina podría acelerar la recuperación temprana de animales en tratamiento médico. Además, los inventores de la presente invención descubrieron que los

40 estados físicos de los animales que no podían moverse debido a afecciones patológicas empeoradas, también mejoraron después de la administración de grelina en términos de estos parámetros.

Específicamente, la presente invención se refiere a un agente terapéutico para su uso para acelerar la mejora de afecciones físicas o psicológicas en un canino o felino en tratamiento médico, que contiene grelina o un derivado de

45 la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como principio activo, como se define en las reivindicaciones.

A partir de lo anterior, la presente invención se refiere específicamente a lo siguiente.

50 (1) Grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso para acelerar la mejora del estado físico de un canino o felino en tratamiento médico que tiene una actividad reducida (vigor) y está agotado, que mejora un parámetro de evaluación, en la que el motivo para el tratamiento médico es;

55 (i) insuficiencia renal, retención urinaria o cistolitiasis, y el parámetro de evaluación que va a mejorarse es la actividad (vigor) o

(ii) piometra o extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, y el parámetro de evaluación que va a mejorarse es la actividad (vigor).

60 (2) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de un péptido que tiene una cualquiera de secuencias de SEQ ID NOS: 1 a 23 está acilado con un ácido graso.

65 (3) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto

de aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de un péptido que tiene una cualquiera de secuencias de SEQ ID NOS: 1 a 23 está acilado con un grupo n-octanoilo.

(4) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso o un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.

(5) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.

(6) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un grupo n-octanoilo.

(7) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.

(8) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un grupo n-octanoilo.

(9) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra a un animal adulto a una dosis de 0,001 a 100 mg.

(10) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra a un animal adulto a una dosis de 0,01 a 10 mg.

(11) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según (1) anterior, en la que la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra a un animal adulto a una dosis de 0,001 a 100 mg, y una vez a varias veces durante un día a una semana.

(12) La grelina o derivado de la misma o sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según the anteriormente 1, en la que la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra a un animal adulto a una dosis de 0,01 a 10 mg, y una vez a varias veces durante un día a una semana.

La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma usada en la presente invención puede ser un péptido que contiene las secuencias de aminoácidos anteriormente mencionadas. Específicamente, pueden añadirse otros aminoácidos al extremo N.

El parámetro de evaluación la actividad (vigor) puede usarse únicamente, o pueden usarse en combinación dos o más parámetros de evaluación. Ejemplos preferidos de la combinación incluyen vigor y valores de análisis bioquímicos, vigor y valores de análisis de glóbulos sanguíneos, y vigor, valores de análisis bioquímicos y valores de análisis de glóbulos sanguíneos.

Una unidad de dosis se refiere a una dosis por una administración. La administración puede realizarse una vez a varias veces al día.

Efectos ventajosos de la invención

La presente invención ha revelado que la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma tienen una acción de acelerar un retorno a estados físicos normales, en animales con diversas afecciones patológicas. Basándose en este efecto, un retorno a estados físicos normales puede ser acelerado

administrando grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma a animales con estados físicos malos resultantes de una afección patológica o una cirugía. Debido a este efecto, la presente invención puede proporcionar un agente terapéutico para su uso en la aceleración de la recuperación, que es eficaz para el tratamiento de un animal que no goza de buena salud, que requiere tratamiento médico, particularmente para la recuperación temprana de un animal que se ha sometido a una cirugía.

Descripción de realizaciones

Animales objetivo del agente de la presente invención son caninos y felinos que han perdido el vigor debido a una enfermedad o una cirugía y están en una afección físicamente o psicológicamente difícil tal como, por ejemplo, que están postrados en la cama o son incapaces de levantarse o caminar.

La presente invención se implementa a la ventaja de animales después de cirugía. Ejemplos de la cirugía incluyen contracepción, castración, extirpación quirúrgica de una lesión supurativa, y cirugía para una enfermedad genital (piometra, etc.). Por ejemplo, cuando el agente terapéutico de la presente invención se usa en un animal después de cirugía, se presenta un efecto sorprendentemente notable. Además, el agente terapéutico de la presente invención tiene un marcado efecto sobre animales con estados físicos malos debidos a una enfermedad (disfunción renal, tal como insuficiencia renal crónica, etc.) que no se someten a una cirugía.

El animal objetivo del agente terapéutico de la presente invención es "un animal en tratamiento médico que tiene una actividad reducida (vigor) y está agotado". La expresión "animal en tratamiento médico que tiene una actividad reducida (vigor) y está agotado" significa, por ejemplo, un animal que ha perdido la fuerza y vigor y está agotado debido a una enfermedad crónica, tal como insuficiencia renal, un tumor, una infección, un accidente, una cirugía, o similares. Ejemplos específicos de un estado de actividad (vigor) son: 1. muerto (el animal es incapaz de moverse y está agotado), 2. ligeramente sensible a un estímulo externo (el animal es ligeramente sensible al movimiento de un profesional sanitario, le sigue con los ojos, levanta la cabeza e intenta levantarse), 3. capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo (el animal es capaz de levantarse y moverse en la jaula, aunque lentamente), 4. como siempre con movimiento normal, 5. más activo de lo normal, 6. considerablemente más activo de lo normal, y 7. mucho más activo de lo normal. Ejemplos preferidos del animal objetivo incluyen animales después de cirugía para el tratamiento de una enfermedad genital. Además, ejemplos preferidos del animal objetivo también incluyen animales en tratamiento médico para una enfermedad seleccionada de retención urinaria, insuficiencia renal crónica y cistolitiasis. El agente terapéutico de la presente invención es para su uso para acelerar la mejora de estados físicos en animales en tal tratamiento médico. Además, el agente terapéutico de la presente invención puede usarse en combinación con un agente terapéutico de una enfermedad específica. En la presente invención, el término "estados físicos" puede incluir una "afección psicológica" específica (por ejemplo, que está tranquilo o inquieto) y pueden denominarse "afecciones físicas o psicológicas".

Se administró grelina a animales que no gozaban de buena salud, que requerían tratamiento médico debido a diversas afecciones patológicas (en particular, animales que se sometieron a una cirugía para el tratamiento), y después se analizaron diversos parámetros que indicaban estados físicos en los animales. Como se ha descrito específicamente más adelante en los ejemplos, se encontró que los parámetros específicos (actividad [vigor], los parámetros de hematología [valores de análisis de glóbulos sanguíneos], los parámetros de la bioquímica del suero [valores de análisis bioquímicos], la temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad y la frecuencia respiratoria) mejoraron. Por tanto, la administración de la sustancia, a animales que requieren tratamiento médico, puede mejorar pronto los estados físicos de los mismos y acelerar su recuperación. La grelina es muy útil, particularmente debido a que puede mejorar los estados físicos y acelerar la recuperación de caninos y felinos, que frecuentemente se llevan a hospitales veterinarios como animales que requieren tratamiento médico. El término "mejora" significa preferentemente que los valores de los parámetros de evaluación alcanzan el intervalo entre la mejora de aproximadamente el 20 % o más de los estados físicos antes de la administración del agente de la presente invención como un límite inferior y la mejora del 100 %, es decir, que vuelven a los valores normales, como un límite superior.

Además, la mejora en la actividad (vigor) y el grado de cólera o ansiedad significa que las puntuaciones o similares correspondientes a los criterios de evaluación descritos más adelante o similares mejoran después de la administración de grelina (por ejemplo, aumenta una puntuación o similares para vigor, y disminuye una puntuación o similares para el grado de cólera o ansiedad).

Una acción tal como acelerar la mejora de los estados físicos en los animales que requieren tratamiento médico, puede presentarse mediante un receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento. Específicamente, cuando los animales que requieren tratamiento médico debido a diversas afecciones patológicas o accidentes pierden vigor y tienen valores de análisis de glóbulos sanguíneos o valores de análisis bioquímicos anormales, alta temperatura corporal, o similares, la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que es una sustancia según la presente invención que actúa sobre un receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento, puede usarse como principio activo de un agente terapéutico para acelerar la recuperación para mejorar pronto los estados físicos en los animales y acelerar la recuperación durante el tratamiento. Además, la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma pueden usarse durante el tratamiento

para mejorar estados físicos en animales que requieren tratamiento médico y restaurar pronto los animales. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma también pueden usarse para producir un agente terapéutico para acelerar la recuperación para mejorar estados físicos en animales que requieren tratamiento médico y restaurar pronto los animales. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede usarse para acelerar la mejora de estados físicos en animales en tratamiento médico mejorando uno o más de parámetros de evaluación que consisten en actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos, temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad, y frecuencia respiratoria en animales en tratamiento médico.

Los parámetros anteriormente mencionados pueden investigarse por técnicas conocidas. Por ejemplo, como se describe después en los ejemplos, una sustancia de prueba se inyecta por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía intramuscular o por vía intraperitoneal en un animal, y entonces pueden medirse los valores de análisis de glóbulos sanguíneos y valores de análisis bioquímicos en sangre, suero u orina recogidos del animal, actividad (vigor), temperatura corporal, frecuencia respiratoria, y similares.

El término "actividad (vigor)" se refiere a un aspecto de un animal que requiere tratamiento médico, y un estado de actividad del animal que es directamente observado y determinado por un observador (por ejemplo, una persona que trata al animal). Por ejemplo, el nivel de "actividad" es bajo en la mayoría de los animales que requieren tratamiento médico. En particular, los animales que necesitan tener una cirugía para el tratamiento tienen un estado de actividad (vigor) tal como incapaces de moverse, agotados, tumbados de lado, o tumbados sobre su estómago desde antes de la cirugía debido a una enfermedad o similares. Cuando la "actividad (vigor)" mejora administrando la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma de la presente invención al animal para el tratamiento, el estado anteriormente mencionado mejora en comparación con el estado antes del tratamiento. Ejemplos de cambios observados incluyen levantar la cabeza en respuesta al observador, ponerse en guardia, levantarse, reaccionar a la comida y quejarse. La actividad (vigor) se evaluó específicamente con las siguientes puntuaciones: 1. estar muerto (el animal es incapaz de moverse y está agotado), 2. estar ligeramente sensible a un estímulo externo (el animal es ligeramente sensible al movimiento de un profesional sanitario, le sigue con los ojos, levanta la cabeza, e intenta levantarse), 3. capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo (el animal es capaz de levantarse y moverse en la jaula aunque lentamente), 4. como siempre con movimiento normal, 5. más activo de lo normal, 6. considerablemente más activo de lo normal, y 7. muy activo (se remite a D.M. Broom: J. Animal Sci., 69: 4167-75 [1991]). La expresión "mejora la actividad (vigor)" significa que la puntuación anteriormente mencionada aumenta después de la administración de grelina.

En la presente divulgación, la mejora de los estados físicos en un animal basándose en parámetros de valores de análisis de glóbulos sanguíneos y valores de análisis bioquímicos se describe específicamente más adelante (se remite a Lon J Rich, Interpretation of Biochemical Profiles [AAHA's 45th Annual Meeting Proceeding's, 1978]).

1. Valores de análisis de glóbulos sanguíneos

Glóbulos blancos: Se sabe que los glóbulos blancos aumentan por excitación, estrés, inflamación, cáncer, esclerosis sistémica, leucocitosis, trastorno de la médula ósea, alergia, o similares. Los glóbulos blancos participan en la defensa biológica fagocitando células o similares, transmitiendo información inmunitaria, y expresando además competencia inmunitaria. El número de leucocitos aumenta generalmente por infección bacteriana y, por el contrario, puede disminuir ocasionalmente por infección viral. Después de la administración de grelina, el número de leucocitos disminuyó, junto con la mejora de afecciones patológicas en animales que habían tenido un elevado número de leucocitos debido a estrés, inflamación de tejido, o similares, antes de la administración de grelina.

Plaqueta: Se sabe que la plaqueta aumenta después de hemorragia aguda o por traumatismo óseo o estrés y disminuye por púrpura o trastorno de la médula ósea. La plaqueta desempeña una función importante en detener la hemorragia fácilmente. Cuando este valor disminuye extremadamente, es probable que se produzca hemorragia. La plaqueta que ha disminuido por afecciones patológicas antes de la administración de grelina aumentó después de la administración de grelina. El mecanismo o similares de este efecto es desconocido.

Hemoglobina: Se sabe que la hemoglobina disminuye por anemia hemolítica, hemólisis (fármacos, tumor medular renal, cebolla, etc.), producción inadecuada de glóbulos rojos (RBC), mielosupresión (antibióticos etc.), o similares. La hemoglobina es un pigmento en un glóbulo rojo que se une a oxígeno. Cuando un nivel de hemoglobina es bajo, se produce anemia, y el oxígeno no puede distribuirse a todo el cuerpo. Después de la administración de grelina, el valor de hemoglobina aumentó en animales que habían tenido hemoglobina reducida.

2. Valores de análisis bioquímicos

Transaminasa glutámico-oxaloacética (GOT): Se sabe que la GOT aumenta por hepatitis aguda, hepatitis crónica, cáncer de hígado, miositis, lesión cardíaca o necrosis. La GOT es una enzima que es abundante en células de diversos órganos del cuerpo y produce aminoácidos. Cuando se rompen las células somáticas, la GOT es liberada de las células, permitiendo que una cantidad constante de GOT circule en la sangre. Por tanto, la GOT en sangre aumenta por daño a órgano. Así, los animales en los ejemplos habían tenido daños a órganos antes de la

administración de grelina, y cualquier daño de estos órganos mejoró después de la administración de grelina.

Transaminasa glutámico-pirúvica (transferasa) (GPT): La GPT es una enzima abundante en hepatocitos. El valor de GPT en sangre está, por tanto, anormalmente elevado cuando los hepatocitos son lesionados (destruidos). Como la GPT está presente en músculo cardíaco y músculo esquelético, además de hepatocitos como con GOT, la GPT se usa como indicador de una enfermedad en estos órganos. Sin embargo, la GPT es inferior a la GOT en cantidad, y el grado del aumento es, por tanto, suave.

Así, los animales en los ejemplos habían tenido lesiones en el hígado, músculo cardíaco o músculo esquelético antes de la administración de grelina, y cualquier lesión en estos órganos mejoró después de la administración de grelina.

Colesterol total (T-CHO): Se sabe que el T-CHO aumenta por hemólisis, glicosuria, nefrosis grave, dieta rica en grasas, obstrucción biliar, hipotiroidismo, o similares. En los animales en los ejemplos, el valor de proteína total no cambió, y el valor de BUN fue alto. Se consideró que estos animales tenían una función renal reducida.

Después de la administración de grelina, el valor de T-CHO disminuyó (mejoró) en los animales en los ejemplos. El valor de T-CHO puede haber mejorado junto con un retorno de la función renal a normal.

Fosfatasa alcalina (ALP): La ALP es una de las enzimas que participa en el metabolismo de la energía y está presente en prácticamente todos los órganos y tejidos. La ALP es particularmente abundante en células biliares. Cuando estas células están lesionadas, la ALP se fuga de las células, y, por tanto, aumenta el valor de ALP en sangre. Así, los animales en los ejemplos habían tenido un alto valor de ALP con lesiones en los órganos que incluyen el sistema biliar, y el valor de ALP disminuyó después de la administración de grelina.

Nitrógeno ureico en sangre (BUN): El BUN es una medida del nitrógeno contenido en la urea. La urea en sangre es transportada a los riñones, filtrada por el glomérulo y eliminada en la orina. Si se reduce la función de eliminación de los riñones, el nitrógeno ureico no se elimina bien en la orina, y aumenta el nitrógeno ureico en sangre.

En los ejemplos, los animales que habían tenido un valor de BUN elevado antes de la administración de grelina tenían disfunción renal. Después de la administración de grelina, mejoró la función renal.

Creatinina (Cre) (CRE): La CRE se produce a partir de una sustancia llamada creatina en músculos, aparece en la sangre, se filtra por el glomérulo en los riñones y se elimina en la orina. Así, cuando la función renal es disminuida, la concentración de creatinina en sangre es elevada. Como el valor de CRE está muy afectado fuera de los riñones, se considera que el valor de CRE refleja una función renal alterada con exactitud. Los animales en los ejemplos habían tenido una reducción de la función renal antes de la administración de grelina. La función renal mejoró después de la administración de grelina.

Amoniaco en sangre (NH₃): Se sabe que el NH₃ en sangre aumenta por hepatopatía, síndrome de derivación portocava, o similares. Como el amoniaco es una sustancia perjudicial y produce perturbación de la consciencia, el amoniaco en sangre se mide para determinar afecciones patológicas durante el coma hepático o similar. Los animales en los ejemplos habían tenido un alto valor de amoniaco en sangre antes de la administración de grelina. El amoniaco en sangre disminuyó después de la administración de grelina. El mecanismo de este efecto es desconocido.

Bilirrubina total (T-bil): Se sabe que la T-bil aumenta por daño hepatocelular, obstrucción biliar o ictericia. La bilirrubina es un pigmento producido a partir de la hemoglobina. Cuando los glóbulos rojos llegan al final de su vida de aproximadamente 120 días, la hemoglobina se degrada, y se produce bilirrubina indirecta. La bilirrubina indirecta se convierte en bilirrubina directa por las acciones de enzimas en el hígado. La bilirrubina directa es eliminada en las vías biliares como un componente de la bilis y finalmente en las heces. La suma de bilirrubina indirecta y bilirrubina directa se denomina bilirrubina total. La ictericia amarillea el cuerpo debido al aumento de este pigmento de bilirrubina. El valor de T-bil puede haber aumentado en los animales en los ejemplos antes de la administración de grelina debido a que se dañaron los glóbulos rojos. Después de la administración de grelina, las afecciones patológicas mejoraron, y disminuyó el valor de T-bil.

Creatinina fosfocinasa (CPK): La CPK es una enzima que es abundante en los músculos y desempeña una función importante en el metabolismo de la energía de células de músculo. Si el músculo se daña, aumenta el valor de creatina cinasa en sangre. Los animales en los ejemplos habían tenido una lesión en el músculo antes de la administración de grelina. La lesión del músculo mejoró después de la administración de grelina.

Proteína C reactiva (CRP): Si una enfermedad inflamatoria está presente, el valor de CRP aumenta a medida que se vuelve más grave la inflamación o destrucción de tejido, y disminuye rápidamente a medida que se reduce la inflamación o destrucción. Por tanto, el examen de CRP es esencial para determinar la actividad o cambio, gravedad y pronóstico de la afección patológica. Los animales en los ejemplos habían tenido inflamación grave antes de la administración de grelina. La inflamación mejoró algún grado después de la administración de grelina.

Potasio en suero (K): El potasio es uno de los electrolitos que son importantes para el mantenimiento y la regulación de la actividad vital y ayuda a la excitación nerviosa o músculo cardíaco (músculo del corazón). El valor de potasio en sangre cambia por la liberación de potasio del líquido intracelular, filtración y reabsorción de potasio en los riñones, o similares. El 90 % del potasio en el cuerpo es eliminado en la orina. Por tanto, si la función renal está disminuida debido, a insuficiencia renal o similar, disminuye el volumen urinario, y aumenta el valor de potasio en sangre. Además, cuando se produce diarrea grave o vómitos, el valor de potasio en sangre se reduce debido a que el potasio se elimina fuera del cuerpo con los vómitos o heces. En los animales en los ejemplos, los estados físicos malos habían persistido durante un periodo relativamente largo, y el valor de potasio en suero era reducido. El valor de potasio en suero mejoró después de la administración de grelina. El mecanismo de este efecto es desconocido.

En la presente divulgación, la temperatura corporal como parámetro de evaluación mejora preferentemente de hipertermia o hipotermia, más preferentemente mejora de hipertermia como se describe más adelante. La hipertermia (pirexia) se produce por una infección, deshidratación, una enfermedad inflamatoria crónica, hipermetabolismo, anemia, embarazo, esclerosis sistémica, meningitis, endocarditis infecciosa, septicemia, colangitis purulenta aguda, síndrome maligno, gripe, neumonía bacteriana, neumonía por Mycoplasma, sitacosis, amigdalitis aguda, meningitis bacteriana, hepatitis aguda, absceso hepático, colelitiasis, colecistitis, colangitis, apendicitis, anexitis uterina, pielonefritis aguda, prostatitis aguda, leucemia aguda, resfriado común, faringitis aguda, tuberculosis pulmonar, neumonía por Chlamydia pneumoniae, cáncer renal, tumor maligno, enfermedad de Crohn, endometritis, eritematoso sistémico, polimiositis, dermatomiositis, brucelosis, malaria, enfermedad de Hodgkin, atresia biliar, polineuritis, trastorno de la médula espinal, síndrome de Felty (enfermedad de Felty), artritis reumatoide, esplenomegalia, o similares. Además, también se produce hipertermia por accidente cerebrovascular térmico, rabdomiólisis, o alergia a fármacos. La hipertermia también se produce por parto de un feto muerto, distocia, piometra y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor. En los animales en los ejemplos que habían tenido hipertermia antes de la administración de grelina, la temperatura corporal disminuyó después de la administración de grelina. Se consideró que la temperatura corporal disminuía por la mejora de un factor específico tal como una infección (Merck Manual of Medical Information: Home Edition [2004]). Además, se sabe que el felino tiene infecciones frecuentes con virus o similares y experimenta pirexia producida por las siguientes afecciones: una infección viral de las vías respiratorias superiores, una enfermedad infecciosa de las vías respiratorias superiores, rinotraqueitis viral, infección por calicivirus, panleucopenia (parvovirus), infección por el virus de la leucemia, linfosarcoma en el intestino delgado, leucemia de fase blástica linfoide aguda, SIDA, infección por coronavirus, peritonitis infecciosa, infección intestinal por coronavirus, infección por el virus del herpes, infección por reovirus, infección por rotavirus, infección por poxvirus, infección por el virus formador de células gigantes, enfermedad de Aujeszky, infección por astrovirus, infección por bornavirus, infección por el virus del Nilo occidental, infección por coronavirus SARS, encefalosis esponjosa, infección por Bordetella bronchiseptica, infección coliforme, infección por Salmonella, infección por campylobacter, infección de pasteurella, leptospira, envenenamiento por Clostridium botulinum, actinomycosis, infección estreptocócica del grupo G, peste, infección por Helicobacter pylori, tularemia, infección micobacteriana, tuberculosis, lepra, micobacteriosis atípica, conjuntivitis por Mycoplasma, fiebre Q (coxielosis), bartonellosis, ehrlichiosis, infección por Chlamydia psittaci, toxoplasmosis, infección por cryptosporidium, coccidiosis, tricomoniasis y giardiasis ("The cat: diseases and clinical management", traducción supervisada por Kato G y Oshima S. Buneido Publishing Co., Ltd. [1997]).

En la presente divulgación, la frecuencia respiratoria como parámetro de evaluación mejora preferentemente de una frecuencia respiratoria más alta o más baja de una frecuencia respiratoria usual, más preferentemente mejora de una frecuencia respiratoria más alta a una frecuencia respiratoria usual. Una frecuencia respiratoria alta significa respirar rápidamente. La respiración rápida generalmente sugiere que se ha producido disnea. Ejemplos de la enfermedad que causan la disnea incluyen enfermedades pulmonares tales como neumonía y edema pulmonar, enfermedades de las vías respiratorias superiores tales como colapso traqueal y velo del paladar anormal, enfermedades cardíacas tales como corazón pulmonar y filarías, y traumatismo tal como hernia diafrágica y hemorragia pulmonar debida a un accidente de tráfico o una caída desde una altura. Una alta frecuencia respiratoria también se produce por accidente cerebrovascular térmico. Cuando se examina un animal tal, un veterinario tiene cuidado para no suprimir la respiración, y tiene que identificar la causa tan pronto como sea posible realizando diversas pruebas tales como exploración radiológica para tomar medidas apropiadas (Veterinary Internal Medicine (animales pequeños), Buneido Publishing Co., Ltd., editado por Japanese College of Veterinary Internal Medicine, 2005, 1st ed., p. 104). En los animales en los ejemplos que habían tenido disnea con edema pulmonar simultáneo, la afección respiratoria mejoró después de la administración de grelina.

El "grado de cólera o ansiedad" es un parámetro de evaluación que indica el grado de cólera y el grado de ansiedad de un animal determinados por un observador que observa directamente cómo el animal en tratamiento médico responde a un profesional sanitario (un veterinario, etc.). Los criterios usados durante el tratamiento médico fueron, por ejemplo, los siguientes: el animal está tranquilo; puede ser tocado, pero no está acostumbrado a un profesional sanitario; da vueltas o se esconde en la caseta con ansiedad; apenas es capaz de ser tocado; o demasiado violento para ser tocado y tiende a morder. El cólera y la ansiedad pueden no ser claramente diferenciables entre sí particularmente en un canino o un felino, debido a que un profesional sanitario no puede tocar al canino o al felino cuando el canino o el felino está asustado o está enfadado debido al dolor. Por tanto, el grado de cólera o ansiedad se estableció como parámetro de evaluación. En la presente divulgación, el parámetro de evaluación del grado de cólera o ansiedad se evaluó con las siguientes puntuaciones: 1. tranquilo y acostumbrado a un profesional sanitario,

2. se puede tocar pero no está acostumbrado a un profesional sanitario y está inquieto, 3. da vueltas o se esconde en la caseta con ansiedad, 4. apenas se puede tocar, 5. demasiado violento para que un profesional sanitario pueda tocarlo y tiende a morder. La mejora del grado de cólera o ansiedad significa que esta puntuación de evaluación disminuye después de la administración de grelina. Por ejemplo, una puntuación de 5 (demasiado violento para ser tocado y tiende a morder) antes de la administración mejora a una puntuación de 2 (se puede tocar pero no está acostumbrado a un profesional sanitario) o similares después de la administración de grelina.

Los parámetros que indican la mejora de los estados físicos en un animal que requiere tratamiento médico según la presente invención se describirán a continuación en relación con los principales efectos de la grelina, es decir, un efecto de aumento del apetito y un efecto de secretagogos de la hormona del crecimiento. De entre las pruebas generales (parámetros de evaluación) tales como el análisis de glóbulos sanguíneos y los análisis bioquímicos, se conocen las pruebas que están afectadas por la comida. Ejemplos de parámetros que aumentan después de la comida incluyen glucosa y triglicérido (TG) en sangre, y estos valores son conocidos por estar directamente afectados por la comida (Veterinary Internal Medicine (edición de animales pequeños), Buneido Publishing Co., Ltd., editado por Japanese College of Veterinary Internal Medicine, 2005, 1st ed., p. 13). También se sabe que el colesterol total (T-CHO) aumenta por la ingestión de comida. Por otra parte, se sabe que los parámetros asociados a las funciones del hígado y cardíacas, tales como GOT (aspartato aminotransferasa [AST]), GPT (alanina aminotransferasa [ALT]), LDH, ALP, γ -GTP, CHE, CK y bilirrubina, no son afectados por la comida (Veterinary Internal Medicine Diagnostics, Buneido Publishing Co., Ltd., editores supervisores, Hasegawa A y Maede Y, 1997).

BUN y CRE son parámetros comúnmente usados que indican funciones renales. La creatinina está difícilmente afectada por la comida en comparación con el nitrógeno ureico y pareció ser un indicador fiable de funciones renales (CKD Practice Guide 2009, editado por Japanese Society of Nephrology (ISBN 978-4-88563-185-6)).

Por tanto, se considera que los valores de análisis bioquímicos (GPT, ALP, CPK, CRE y similares) que mejoraron en los ejemplos son parámetros que no están afectados por la comida. El valor de BUN, que se sabe que aumenta por la ingestión de comida, disminuyó después de la administración de grelina en la prueba según la presente divulgación. No parece que este efecto sea una influencia del aumento en la cantidad de comida.

En la presente divulgación, la temperatura corporal alta disminuyó después de la administración de grelina. Como se sabe que la temperatura corporal aumenta por la comida (Jensen M. et al.: Am. J. Physiol., 268: E433-E488), este efecto no parece ser una influencia de la ingestión de comida.

Además, se sabe que muchos valores de los análisis de sangre son difícilmente afectados por la comida (Laboratory Test Guide 2003-2004, editado por Medical Practice Editorial Committee, Bunkodo Co., Ltd., 2003.; Kohashi R, All about tests for easy understanding of diseases and tests for diseases, Shufunotomo Co., Ltd., 2003; Nishizaki O, BOOKS of special course for nurses: Manual for reading test values, Digit Brain, Inc., 2002; y Ando Y, Manual for understanding tests at hospital, 3rd revision, Shogakkan Inc., 1999). Por ejemplo, el número de leucocitos puede aumentar transitoriamente por la ingestión de comida (se remite a Hematology in laboratory animals, Seki et al. ed., Soft Science Inc. [1981] p.364), y la disminución en un alto número de leucocitos después de la administración de grelina no parece ser una influencia de la elevada ingestión de comida.

Por tanto, como la administración de grelina a animales en tratamiento médico normalizó el número de leucocitos, el recuento de plaquetas, la temperatura corporal y los valores de análisis bioquímicos (GOT, GPT, ALP, CPK, CRP, T-Cho, T-bil, BUN, Cre, K y amoniaco), la administración de grelina puede aplicarse al tratamiento de afecciones patológicas asociadas a valores altos o bajos (plaqueta [PLT] y K) de esas pruebas. Ejemplos de las afecciones patológicas tratadas por el agente terapéutico de la presente invención incluyen síntomas después de cirugía para el tratamiento de una enfermedad tal como una enfermedad genital. El agente terapéutico de la presente invención también es eficaz para el tratamiento de síntomas de enfermedades tales como retención urinaria, insuficiencia renal crónica y cistolitiasis.

Además, en la prueba según la presente divulgación, el número de leucocitos disminuyó. Sin embargo, la grelina es conocida por tener un efecto de secretagogos de la hormona del crecimiento (Bibliografía no de patente 1), y se sabe que la hormona del crecimiento afecta el número de leucocitos. Específicamente, el aumento en el número de leucocitos se ha informado como una reacción adversa del fármaco de administración de hormona del crecimiento (Precautions of Genotropin [trade name] revision No. 08-17). Este efecto es opuesto de los resultados de la prueba según la presente divulgación, y el efecto en la presente invención no parece ser una acción de la hormona del crecimiento.

Además, como uno o más de la actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos y temperatura corporal mejoraron en muchos de los animales cuyo apetito no aumentó en la presente invención, se demostró un efecto de mejora de la administración de grelina, no una influencia de la ingestión de comida.

A partir de lo anterior, la mejora en los parámetros mostrada en las pruebas según la presente invención no parece haber resultado de la elevada cantidad de comida causada por el efecto de aumento del apetito y el efecto de

secretagogos de la hormona del crecimiento, que son los principales efectos de la grelina, o del aumento de secreción de la hormona del crecimiento.

En la presente invención, las combinaciones de un motivo de tratamiento médico y un parámetro de evaluación son las siguientes combinaciones:

- 1) el motivo para el tratamiento médico es piometra o extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, y el parámetro de evaluación es la actividad (vigor);
- 2) el motivo para el tratamiento médico es retención urinaria, cistolitiasis o insuficiencia renal, y el parámetro de evaluación es y actividad (vigor).

Ejemplos de una sustancia que puede usarse en la presente invención incluyen sustancias que tienen una actividad de aumentar una concentración de ión calcio intracelular que actúa sobre un receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento (GHS-R).

El receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento es un receptor al que se une un secretagogo de la hormona del crecimiento (GHS), y se sabe que existen subtipos tales como GHS-R 1a y GHS-R 1b. De estos subtipos, solo GHS-R1a es conocido por activar un receptor que participa en la transducción de señales relacionada con fosfolipasa C y así aumentar el calcio intracelular. En la presente memoria descriptiva, el término "receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento (GHS-R)" se refiere a GHS-R 1a, a menos que se especifique de otro modo.

Si una sustancia "tiene una actividad de aumento de una concentración de ión calcio intracelular" que actúa sobre GHS-R puede determinarse fácilmente midiendo una concentración de ión calcio intracelular convenientemente con una técnica conocida. Por ejemplo, puede usarse un lector de placas de obtención de imágenes fluorométricas (FLIPR, Molecular Devices) usando cambios en la intensidad de fluorescencia de Fluo-4 AM (Molecular Probes) producida por cambios en la concentración de ión calcio. Además, si un péptido que tiene una actividad de aumento de la concentración de calcio intracelular tiene una actividad de secretagogo de la hormona del crecimiento puede determinarse *in vitro* o *in vivo* con una técnica conocida. Por ejemplo, se añade una sustancia a las células que se ha confirmado que secretan hormona del crecimiento y expresan el GHS-R (por ejemplo, células de la glándula pituitaria cerebral), y entonces la hormona del crecimiento secretada en el caldo de cultivo celular puede medirse *in vitro* por radioinmunoensayo usando un anticuerpo anti-hormona del crecimiento. Para determinar una actividad de secretagogo de la hormona del crecimiento *in vivo*, un péptido que tiene una actividad de aumento de concentración de calcio intracelular se inyecta en una vena periférica de un animal, y entonces puede medirse la concentración de hormona del crecimiento en suero. Puede usarse cualquier sustancia en tanto que se confirme que la sustancia aumenta una concentración de calcio por cualquiera de los métodos anteriormente mencionados.

Ejemplos particularmente preferidos de la sustancia que puede usarse en la presente invención incluyen grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. Ejemplos de grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un método para la producción de la misma se describen en la Bibliografía de patentes 1 y otros.

En la presente memoria descriptiva, "grelina" es grelina derivada de diversos animales útiles, tales como, por ejemplo, canino, felino, rata, ratón, porcino, bovino, equino, pollo, reno y humano, y, en particular, se refiere a un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de un péptido que tiene una cualquiera de secuencias de SEQ ID NOS : 1 a 23 está acilado con un ácido graso. El número de átomos de carbono en el ácido graso es preferentemente 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 o 18. El número de átomos de carbono es particularmente preferentemente 8 (un grupo octanoílo). El ácido graso puede ser lineal o ramificado y puede estar saturado o insaturado.

En la presente memoria descriptiva, el "derivado de grelina" es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos que incluye delección, sustitución y/o adición de un aminoácido en una secuencia de aminoácidos según la grelina anteriormente mencionada y tiene una actividad de aumento de una concentración de ión calcio intracelular que actúa sobre la GHS-R. Un derivado de grelina es preferentemente un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos que incluye delección, sustitución y/o adición de uno a varios aminoácidos entre el resto de aminoácido en la 5ª posición desde el extremo amino y el resto de aminoácido desde el extremo carboxi en una secuencia de aminoácidos según la grelina anteriormente mencionada (por ejemplo, entre el resto de aminoácido en la 5ª posición y el resto de aminoácido en la 28ª posición desde el extremo amino de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 20, 21, 22 o 23, entre el resto de aminoácido en la 5ª posición y el resto de aminoácido en la 27ª posición desde el extremo amino de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 3, 5, 8, 9, 15, 17, 18 o 19, entre el resto de aminoácido en la 5ª posición y el resto de aminoácido en la 26ª posición desde el extremo amino de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y entre el resto de aminoácido en la 5ª posición y el resto de aminoácido en la 24ª posición desde el extremo amino de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 o 12), y tiene una actividad de aumento de una concentración de ión calcio intracelular que actúa sobre un receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento (GHS-R). Además, el número de aminoácidos deleccionados o similares en la "secuencia de aminoácidos que incluye delección, sustitución

y/o adición de uno a varios aminoácidos" no está particularmente limitado, en tanto que un compuesto peptídico que tiene la secuencia de aminoácidos tenga una función deseada, y ejemplos del número de aminoácidos delecionados o similares incluyen uno a nueve, preferentemente aproximadamente uno a cuatro. Se considera que la sustitución de muchos aminoácidos con un aminoácido que tiene una propiedad similar (carga eléctrica y/o polaridad) o similares no produce la pérdida de una función deseada. Además, la secuencia de aminoácidos de un derivado de grelina tiene preferentemente una homología del 70 %, preferentemente del 80 %, más preferentemente del 90 %, particularmente preferentemente del 95 %, lo más preferentemente del 97 % en comparación con una secuencia de aminoácidos que existe de forma natural. Las grelinas procedentes de otros animales (SEQ ID NOS: 2 a 23) tienen características similares.

Otros derivados de grelina pueden diseñarse fácilmente, por ejemplo, usando descripciones en la Bibliografía de patentes 1 anteriormente mencionada como referencia.

En cada animal (individual) que requiere tratamiento médico, se usa preferentemente la grelina derivada de la misma especie que el animal. Por ejemplo, preferentemente se usa una grelina derivada de canino en un canino. La grelina derivada de canino es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso (un grupo n-octanoílo). Sin embargo, como en la presente invención también puede usarse un derivado de grelina, puede usarse grelina que no se deriva de la misma especie que el animal que va a tratarse. Por ejemplo, puede usarse una grelina derivada de canino en un felino. Una grelina derivada de felino es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso (un grupo n-octanoílo). Por tanto, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 es diferente de la grelina derivada de canino de SEQ ID NO: 1 en términos de dos aminoácidos y de la grelina derivada de canino de SEQ ID NO: 2 en términos de un aminoácido. Sin embargo, estas grelinas procedentes de canino pueden usarse en felinos. Esto es aplicable a otros animales.

La grelina y un derivado de la misma según la presente invención pueden obtenerse por un método usual (por ejemplo, se remite a J. Med. Chem., 43, pp. 4370-4376, 2000; Bibliografía de patentes 1). La grelina y un derivado de la misma según la presente invención pueden aislarse de un material de partida natural o pueden producirse por tecnología de ADN recombinante y/o síntesis química. Además, si un compuesto peptídico tal como grelina y un derivado de la misma requieren modificación (acilación) de un resto de aminoácido, el compuesto peptídico puede someterse a una reacción de modificación por medios conocidos. Por ejemplo, en un método de producción que usa tecnología de ADN recombinante, el compuesto peptídico de la presente invención puede obtenerse cultivando una célula huésped transformada con un vector de expresión que tiene un ADN que codifica el compuesto peptídico según la presente invención y recogiendo un compuesto peptídico diana del cultivo. Seleccionando una célula huésped apropiada, puede obtenerse un compuesto peptídico diana modificado (acilado) en la célula.

Además, si el péptido no está modificado (acilado), puede realizarse una reacción de modificación, tal como acilación, según medios conocidos según se requiera.

Ejemplos del vector que incorpora un gen incluyen vectores de Escherichia coli (pBR322, pUC18, pUC19, etc.), vectores de Bacillus subtilis (pUB110, pTP5, pC194, etc.), vectores de levadura (tipos YEp, YRp y YIp) y vectores de célula de animal (retrovirus, virus de la variolovacuna, etc.). Puede usarse cualquier otro vector, en tanto que el vector pueda alojar establemente un gen diana en la célula huésped. El vector se introduce en una célula huésped adecuada. Ejemplos de un método de incorporación de un gen diana en un plásmido y un método de introducción del plásmido en una célula huésped incluyen métodos descritos en Molecular Cloning (Sambrook et al., 1989).

Para la expresión de un gen de péptido diana en el plásmido anteriormente mencionado, un promotor está enlazado en la dirección 5' del gen de manera que funcione el promotor.

Puede usarse cualquier promotor en la presente invención, en tanto que un promotor sea adecuado para una célula huésped usada para expresar un gen diana. Por ejemplo, cuando una célula huésped que va a transformarse pertenece al género Escherichia, puede usarse el promotor lac, el promotor trp, el promotor lpp, el promotor λ PL, el promotor recA, y similares. Cuando la célula huésped pertenece al género Bacillus, puede usarse el promotor SPO1, el promotor SPO2, y similares. Cuando la célula huésped es una levadura, puede usarse el promotor GAP, el promotor PHO5, el promotor ADH, y similares. Cuando la célula huésped es una célula de animal, puede usarse el promotor derivado del SV40, el promotor derivado de retrovirus, y similares.

Una célula huésped se transforma con un vector que tiene un gen diana obtenido como se ha descrito anteriormente. Ejemplos de la célula huésped incluyen bacterias (por ejemplo, bacterias que pertenecen al género Escherichia o Bacillus), levaduras (levaduras que pertenecen a los géneros Saccharomyces, Pichia, Candida, etc.), y células de animales (células CHO, células COS, etc.). Un medio líquido es apropiado para cultivo. El medio particularmente preferentemente contiene fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, y similares, requeridas para hacer crecer células transformadas cultivadas en el medio. Pueden añadirse vitaminas, factores promotores del crecimiento, suero, y similares, según se requiera.

- 5 Para producir directamente un péptido modificado (acilado) con un ácido graso, es preferible usar una célula que tiene un actividad de proteasa de procesamiento que puede escindir un polipéptido precursor del péptido en una posición apropiada y una actividad de acilación de un resto de serina en el péptido. Una célula huésped que tiene una actividad de proteasa de procesamiento y una actividad de acilación de serina tales puede seleccionarse transformando una célula huésped con un vector de expresión que tiene ADNc que codifica el polipéptido precursor y confirmando que la célula transformada produce un péptido modificado por ácido graso que tiene una actividad de aumento de calcio o una actividad de secretagogo de la hormona del crecimiento.
- 10 Después del cultivo, el péptido según la presente invención se aísla del cultivo y se purifica por un método usual. Por ejemplo, para extraer una sustancia diana de una célula bacteriana cultivada o una célula, células bacterianas o células se recogen después del cultivo, se suspenden en un tampón que contiene un desnaturalizante de proteínas (clorhidrato de guanidina, etc.), y se machacan por ultrasonificación o similares, y entonces la suspensión se centrifuga. Entonces, una sustancia diana del sobrenadante puede purificarse usando adecuadamente una
- 15 combinación de métodos de aislamiento y de purificación, tales como filtración en gel, ultrafiltración, diálisis, SDS-PAGE, y diversas técnicas de cromatografía, teniendo en cuenta el peso molecular, solubilidad, carga (punto isoeléctrico), afinidad, y similares, de la sustancia diana.
- 20 La grelina y un derivado de la misma según la presente invención pueden sintetizarse químicamente por un método usual. Por ejemplo, la grelina y un derivado de la misma según la presente invención se obtienen condensando un aminoácido que contiene un grupo protector por una técnica en fase líquida y/o una técnica en fase sólida para alargar una cadena de péptido, eliminar todos los grupos protectores con un ácido, y purificar el producto en bruto obtenido por los métodos de purificación anteriormente mencionados. Una cadena lateral de un aminoácido en una posición selectivamente elegida como diana también puede ser acilada con una enzima acilante o una transferasa
- 25 de grupo acilo.
- Además, se conocen diversos métodos convencionales para producir un péptido. El péptido según la presente invención también puede producirse fácilmente por un método conocido, tal como, por ejemplo, un método de síntesis de péptidos clásico o un método en fase sólida.
- 30 Además, puede usarse un método de producción que emplea tecnología de ADN recombinante y una síntesis química en combinación. El péptido según la presente invención puede producirse por un método que comprende producir un fragmento que contiene un resto de aminoácido modificado por síntesis química, producir otros fragmentos que no contienen el resto de aminoácido modificado por tecnología de ADN recombinante, y entonces fusionar estos fragmentos (se remite a la Bibliografía de patentes 1).
- 35 Sales de grelina o un derivado de la misma, que son sustancias que actúan sobre GHS-R1a que pueden usarse en la presente invención, son preferentemente sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de las sales incluyen sales con una base inorgánica, sales con una base orgánica, sales con un ácido inorgánico, sales con un ácido orgánico, y sales con un aminoácido básico o ácido.
- 40 Ejemplos preferidos de sales con una base inorgánica incluyen sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y sales de potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y sales de magnesio; sales de aluminio, y sales de amonio.
- 45 Ejemplos preferidos de sales con una base orgánica incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, N,N'-dibenciletildiamina, o similares.
- 50 Ejemplos preferidos de sales con un ácido inorgánico incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, o similares.
- 55 Ejemplos preferidos de sales con un ácido orgánico incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, o similares.
- 60 Ejemplos preferidos de sales con un aminoácido básico incluyen sales con arginina, lisina, ornitina, o similares. Ejemplos preferidos de sales con un aminoácido ácido incluyen sales con ácido aspártico, ácido glutámico, o similares.
- De las sales anteriores, las más preferidas son las sales de sodio y las sales de potasio.
- 65 El agente según la presente invención, que contiene grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como principio activo, puede usarse en un animal (por ejemplo, canino, felino, ratón, rata, conejo, bovino, equino, porcino o mono) como una mezcla con un vehículo, diluyente, sustancia de relleno farmacéuticamente aceptable, y similares.

- 5 Una dosis predeterminada del agente de la presente invención se administra preferentemente a un animal en tratamiento médico por vía parenteral, por ejemplo, por intravenosa, subcutánea, intramuscular, o inyección intraperitoneal como una dosis única o dosis divididas. Cuando el animal es un animal de compañía y particularmente se trata en casa, se prefieren administración transnasal, administración pulmonar, administración de supositorio, e instilación, además de la inyección subcutánea o intramuscular.
- 10 En la presente invención, la dosis del agente no está particularmente limitada y puede seleccionarse adecuadamente dependiendo del uso previsto; la edad, peso corporal, tipo, síntomas, o afecciones de un animal objetivo; un agente simultáneo; y similares. Cuando una dosis única o varias dosis se administran a un animal adulto, la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como principio activo se administra preferentemente a una dosis de 0,001 a 100 mg, más preferentemente 0,01 a 10 mg.
- 15 La dosis anteriormente mencionada se administra preferentemente una vez a varias veces al día durante aproximadamente un día a una o dos semanas, más preferentemente durante aproximadamente dos días a una semana.
- 20 Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen diversas sustancias de vehículo orgánico o inorgánico comúnmente usadas como materiales de preparación, y una sustancia tal se añade como diluyente, un lubricante, un aglutinante, o un agente disgregante en una preparación sólida; o un disolvente, un adyuvante de disolución, un agente de suspensión, un agente isotonzante, un tampón, o un agente relajante en una preparación líquida, o similares.
- 25 Además, también pueden usarse excipientes para una preparación tal como un conservante, un antioxidante, un material colorante y un edulcorante, según se requiera.
- 30 Ejemplos preferidos del diluyente incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina y ácido silícico anhidro ligero.
- Ejemplos preferidos del lubricante incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco y sílice coloidal.
- 35 Ejemplos preferidos del aglutinante incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona.
- Ejemplos preferidos del agente disgregante incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, y carboximetilalmidón sódico.
- 40 Ejemplos preferidos del disolvente incluyen agua para inyección, alcoholes, propilenglicol, macrogol, aceite de sésamo y aceite de maíz.
- Ejemplos preferidos del adyuvante de disolución incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, Tris-aminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico y citrato de sodio.
- 45 Ejemplos preferidos del agente de suspensión incluyen tensioactivos tales como esteariltrietanolamina, laurilsulfato de sodio, laurilaminopropionato, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monoestearato de glicerina; y polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa.
- Ejemplos preferidos del agente isotonzante incluyen cloruro sódico, glicerina y D-manitol.
- 50 Ejemplos preferidos del tampón incluyen tampones tales como fosfatos, acetatos, carbonatos y citratos.
- Ejemplos preferidos del agente relajante incluyen alcohol bencílico.
- 55 Ejemplos preferidos del conservante incluyen ésteres de paraoxibenzoato, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido dehidroacético y ácido sórbico.
- Ejemplos preferidos de antioxidantes incluyen sulfitos y ácido ascórbico.
- 60 Las formas de dosificación del agente medicinal o terapéutico de la presente invención son preferentemente formas de dosificación adecuadas para administración por vía oral. Ejemplos de formas de dosificación adecuadas para administración por vía oral incluyen jarabe, comprimido y cápsula.
- 65 Las formas de dosificación del agente medicinal o terapéutico de la presente invención son preferentemente formas de dosificación adecuadas para administración parenteral. Ejemplos de formas de dosificación adecuadas para administración parenteral incluyen una inyección para administración intravenosa, administración intracutánea, administración subcutánea, administración intramuscular, o similares, una infusión por goteo, un supositorio, un

colirio, un absorbente percutáneo, un absorbente transmucoso y un inhalante. Las inyecciones anteriormente mencionadas se prefieren como una forma de dosificación. Particularmente cuando el animal es un canino adulto y se trata en casa, también se prefieren formas de dosificación tales como absorbente transmucoso, inhalante, supositorio y colirio. Diversos agentes de estas formas de dosificación son conocidas para aquellos expertos en la materia, y aquellos expertos en la materia seleccionan adecuadamente una forma de dosificación adecuada para una vía de administración requerida. Puede producirse una composición medicinal o un agente terapéutico usando uno o más excipientes para una preparación que puede usarse en el campo, según se requiera.

Por ejemplo, puede proporcionarse un agente medicinal o terapéutico en forma de inyección, infusión por goteo o colirio disolviendo grelina, que es una sustancia que actúa sobre GHS-R1a, como principio activo en agua destilada para inyección junto con uno o más excipientes para una preparación tal como un tampón apropiado, una solución de azúcar, un agente isotonzante, un modificador del pH, un agente relajante y un conservante, esterilizando la mezcla por filtración (con un filtro), y luego envasando la solución en una ampolla o un vial, o liofilizando la solución esterilizada por filtración para preparar una preparación liofilizada. Ejemplos de excipientes que pueden usarse incluyen sacáridos tales como glucosa, manitol, xilitol y lactosa; polímeros hidrófilos tales como polietilenglicol; alcoholes tales como glicerol; aminoácidos tales como glicina; proteínas tales como albúmina de suero; sales tales como NaCl y citrato de sodio; ácidos tales como ácido acético, ácido tartárico y ácido ascórbico; tensioactivos tales como Tween 80; y agentes reductores tales como sulfito de sodio. Tales preparaciones pueden usarse como una inyección o un agente de infusión por goteo después de disolverse en agua destilada para inyección o añadirse solución salina fisiológica a la misma. Además, también son adecuados agentes nasales tales como una gota nasal o un spray nasal (administración intranasal) y similares para administración transmucosa. Un inhalante también es adecuado para administración pulmonar.

El contenido de grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en cada preparación es preferentemente 0,001 a 100 mg, más preferentemente 0,01 a 10 mg. El agente de la presente invención contiene preferentemente 0,001 a 100 mg, más preferentemente 0,01 a 10 mg por unidad de dosis de grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como principio activo. La preparación se administra preferentemente una vez a varias veces al día.

30 Ejemplos

A partir de aquí, la presente invención se describirá específicamente con referencia a los siguientes ejemplos.

En estos ejemplos, se usó como grelina una grelina procedente de canino (un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino está acilado con un grupo n-octanoilo en SEQ ID NO: 1). La grelina procedente de canino se sintetizó químicamente y después se liofilizó, y se preparó una grelina procedente de canino para administración que contenía 0,1, 0,3, 0,5 o 1 mg por vial de una grelina procedente de canino.

Para administrar la grelina a los animales, la grelina procedente de canino se disolvió a una concentración de 1 mg/2 ml en solución salina fisiológica y se inyectó por vía intravenosa, por vía subcutánea o por vía intramuscular después de ajustar la dosis dependiendo del peso corporal.

De los animales que tenían una actividad reducida (vigor), estaban agotados y requirieron tratamiento médico, se usaron animales para los que se reconoció la necesidad de mejorar estados físicos de los mismos. Se usaron animales hospitalizados en hospitales veterinarios, particularmente caninos y felinos, para el tratamiento. Estos animales pueden o pueden no haberse sometido a una cirugía para el tratamiento. Las cirugías realizadas en los animales fueron cirugía para piometra, extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, extirpación quirúrgica de tumor de la glándula mamaria, cirugía para quiste ovárico, cirugía para tumor de célula del hígado, cirugía para hernia discal, cirugía para hernia diafragmática, cirugía de fractura, cirugía del tracto gastrointestinal y uretroplastia.

Se examinaron estados físicos en animales con diversas afecciones patológicas midiendo parámetros que incluyen actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos, análisis de orina, pruebas de electrolitos, peso corporal, temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad, frecuencia respiratoria, y similares, para evaluar el efecto de mejorar los estados físicos en los animales. El efecto se evaluó comparando diversos parámetros de evaluación antes y después de la administración.

Los parámetros de evaluación usados fueron actividad (vigor), temperatura corporal, parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos), parámetros de la bioquímica del suero (valores de análisis bioquímicos), el grado de cólera o ansiedad y la frecuencia respiratoria. Para evaluar la actividad (vigor), se evaluaron los estados físicos observados visualmente por un observador usando las siguientes puntuaciones y criterios: 1. muerto (el animal ha perdido el vigor) (el animal es incapaz de moverse y está agotado), 2. ligeramente sensible a un estímulo externo (el animal es ligeramente sensible al movimiento de un profesional sanitario, le sigue con los ojos, levanta la cabeza, o intenta levantarse), 3. capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo (el animal es capaz de levantarse y moverse en la jaula aunque lentamente), 4. como siempre con movimiento normal, 5. más activo de lo normal, 6. considerablemente más activo de lo normal y 7. muy activo. También se evaluó el

grado de cólera o ansiedad de un animal observado visualmente por un observador usando los siguientes criterios: 1. tranquilo y acostumbrado a un profesional sanitario, 2. capaz de ser tocado, pero no está acostumbrado a un profesional sanitario e inquieto, 3. da vueltas o se esconde en la caseta con ansiedad, 4. capaz de ser apenas tocado, y 5. demasiado violento para ser tocado por un profesional sanitario y tiende a morder.

5 (Ejemplo 1)
Efecto terapéutico de la grelina (dosis única) en animales hospitalizados con diversas afecciones patológicas después de cirugía

10 Se administraron 13,2 a 80 µg/kg de una grelina procedente de canino (químicamente sintetizada) por una inyección intravenosa, una inyección subcutánea o una inyección intramuscular (solución para una inyección: solución salina fisiológica o similares) a 32 animales (caninos y felinos) después de cirugía que estaban hospitalizados en hospitales veterinarios. Los 32 casos de los animales fueron los siguientes.

15 Cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de órgano reproductor, 18 animales; cirugía de tumor de la glándula mamaria, tres animales (incluyendo un animal que también tiene piometra); cirugía para hernia discal, dos animales; cirugía para una fractura o una lesión por accidente de tráfico, tres animales; uretroplastia, tres animales; cirugía del tracto gastrointestinal, dos animales; y cirugía del neumotórax, un animal.

20 La mejora de los estados físicos de estos animales se evaluó en términos de actividad (vigor), temperatura corporal, parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos) y parámetros de la bioquímica del suero (valores de análisis bioquímicos).

25 Los resultados se muestran en la Tabla 1.
 Se observó el efecto de acelerar la mejora de los estados físicos en animales en los animales que se habían sometido a las cirugías mostradas a continuación. Las cifras entre paréntesis con los parámetros de evaluación representan el número de animales que mostraron un efecto de mejora/número de animales evaluados (tasa de respuesta).

30 La tasa de respuesta para mejora en la actividad (vigor) fue del 91,7 % (11/12). La tasa de respuesta por cirugía fue del 85,7 % (6/7) en animales después de cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, 100 % (2/2) en animales después de extirpación quirúrgica de tumor de la glándula mamaria, 100 % (3/3) en animales después de cirugía para una fractura y una lesión de un accidente de tráfico y 100 % (1/1) en animales después de uretroplastia. En particular, la recuperación de los animales que no pudieron levantarse antes de la administración de grelina fue impredeciblemente favorable y sorprendente.

40 La tasa de respuesta para la mejora de la hipertermia fue del 62,5 % (5/8). La tasa de respuesta por cirugía fue del 75 % (3/4) en animales después de una cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, 100 % (1/1) en un animal después de una cirugía de tumor de la glándula mamaria, 100 % (1/1) en un animal después de cirugía para hernia discal y 100 % (1/1) en un animal después de una cirugía del tracto gastrointestinal.

45 La tasa de respuesta para la mejora de parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos) fue del 66,7 % (4/6). La tasa de respuesta por cirugía fue del 75 % (3/4) en animales después de una cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, 100 % (1/1) en un animal después de una cirugía de tumor de la glándula mamaria y 50 % (1/2) en animales después de uretroplastia. Por ejemplo, el alto número de leucocitos disminuyó ($44,1 \times 10^3/\mu\text{l} \rightarrow 17,7 \times 10^3/\mu\text{l}$), el bajo número de eritrocitos aumentó ($214 \times 10^4/\mu\text{l} \rightarrow 304 \times 10^4/\mu\text{l}$), el bajo recuento de plaquetas aumentó ($13,9 \times 10^4/\mu\text{l} \rightarrow 58,5 \times 10^4/\mu\text{l}$) y el bajo nivel de hemoglobina aumentó (5,1 mg/dl \rightarrow 7,7 mg/dl).

50 La tasa de respuesta para la mejora de parámetros de la bioquímica del suero (valores de análisis bioquímicos) fue del 85,7 % (6/7). La tasa de respuesta por cirugía fue del 100 % (3/3) en animales después de una cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, 100 % (1/1) en un animal después de una cirugía de tumor de la glándula mamaria, 50 % (1/2) en animales después de uretroplastia y 100 % (1/1) en un animal después de una cirugía del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, el alto valor de transaminasa glutámico-pirúvica (GPT) disminuyó (180 UI/l \rightarrow 85 UI/l), el alto valor de colesterol total (T-CHO) disminuyó (405 mg/dl \rightarrow 260 mg/dl), el alto valor de fosfatasa alcalina (ALP) disminuyó (345 UI/l \rightarrow 286 UI/l), el alto valor de nitrógeno ureico en sangre (BUN) disminuyó (44,2 mg/dl \rightarrow 29,3 mg/dl), el alto valor de creatinina en suero (Cre) disminuyó (6,0 mg/dl \rightarrow 1,1 mg/dl), el alto valor de creatinina fosfoquinasa (CPK) disminuyó (1429 UI/l \rightarrow 955 UI/l) y el valor de proteína C reactiva (CRP) disminuyó (\geq límite superior de medición \rightarrow 7,3 mg/dl).

[Tabla 1]

Evaluación de parámetros que indican mejora de los estados físicos en animales después de la administración de grelina después de cirugía				
	Actividad (vigor)	Temperatura corporal	Pruebas de hematología	Pruebas bioquímicas
Cirugía para piometra y extirpación quirúrgica de órgano reproductor: 18 animales	6/7 (85,7 %)	3/4 (75,0 %)	3/4 (75,0 %)	3/3 (100 %)
Extirpación quirúrgica de tumor de la glándula mamaria: 3 animales*	2/2 (100 %)	1/1 (100 %)	1/1 (100 %)	1/1 (100 %)
Cirugía para fractura o lesión por accidente de tráfico: 3 animales	3/3 (100 %)	-	-	-
Uretroplastia: 3 animales	1/1 (100 %)	0/1 (0 %)	1/2 (50,0 %)	1/2 (50,0 %)
Cirugía para hernia discal: 2 animales	-	1/1 (100 %)	-	-
Cirugía del tracto gastrointestinal: 2 animales	-	1/1 (100 %)	-	1/1 (100 %)
Cirugía del neumotórax: 1 animal	-	0/1 (0 %)	-	-
Total: 32 animales	11/12 (91,7 %)	5/8 (62,5 %)	4/6 (66,7 %)	5/6 (83,3 %)

*: Como se incluye un animal que tenía piometra simultáneamente en los animales con tumor de la glándula mamaria, el número total no coincide con la suma de todas las columnas.

De los resultados anteriores, cuando la grelina se administró a animales después de cirugía para el tratamiento de enfermedades que muestran los síntomas anteriores o de síntomas anteriores, mejoraron los parámetros que indican estados físicos en animales con enfermedades o síntomas específicos, y se aceleró un retorno de estos estados físicos de actividad reducida (vigor) y agotamiento a normales en animales en tratamiento médico.

(Ejemplo 2)

10 Efecto terapéutico de la grelina (dosis única) en animales en tratamiento médico que tenían estados físicos empeorados debido a diversas enfermedades

Desde que la administración de grelina mejoró la actividad (vigor), hipertermia, parámetros de hematología (glóbulos blancos y plaquetas) y parámetros bioquímicos (GPT, BUN, etc.) en animales después de cirugía, se esperó que la mejora de estos parámetros después de la administración de grelina se asociara a una aceleración de un retorno a estados físicos normales de animales con otras enfermedades.

Por consiguiente, se administraron 12,9 a 67,9 µg/kg de grelina por una inyección intravenosa, una inyección subcutánea o una inyección intramuscular a animales que tenían una actividad reducida (vigor) y estaban agotados, por ejemplo, 18 animales en tratamiento médico para afecciones patológicas distintas de una cirugía para evaluar la mejora de los estados físicos en animales empeorados por afecciones patológicas distintas de la cirugía en términos de actividad (vigor), parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos), parámetros de bioquímica (valores de análisis bioquímicos), temperatura corporal, y similares.

25 Diez animales tuvieron dos o más enfermedades simultáneamente. Las enfermedades que incluyen enfermedades simultáneas fueron las siguientes: síndrome urológico inferior, retención urinaria, síndrome respiratorio infeccioso, insuficiencia renal crónica, osteoartritis, hepatitis crónica, cistolitiasis, desnutrición, debilidad, ictericia, insuficiencia circulatoria, insuficiencia multiorgánica, edema pulmonar, anemia, tabes, diarrea, vómitos, sibilancias, pirexia, VIF, infección por FELV, infección por CPV, FVR, una enfermedad del hígado, filarisis, hemobartonelosis, babesiosis, picadura de habu, anafilaxia, un accidente por caída, fractura de costillas y quemadura.

35 De los animales con estas enfermedades, los parámetros de evaluación registrados en las historias clínicas fueron los siguientes: actividad (vigor) en 16 animales, parámetros de bioquímica (valores de análisis bioquímicos) en 11 animales, parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos) en tres animales, y temperatura corporal en un animal.

40 Después de la administración de grelina, la actividad (vigor) mejoró en 16/16 animales (por ejemplo, incapaz de moverse [una puntuación de 1] → capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo [una puntuación de 3]). La temperatura corporal mejoró en 1/1 animal (por ejemplo, 40,2 °C → 37,8 °C). Los parámetros de hematología (valores de análisis de glóbulos sanguíneos) (el número de leucocitos [por ejemplo, 278 × 10²/µl → 167 × 10²/µl] y el recuento de plaquetas [por ejemplo, 10 × 10⁵/µl → 26,9 × 10⁵/µl]) mejoraron en 3/3 animales. Los parámetros de bioquímica (valores de análisis bioquímicos) (GPT [por ejemplo, 670 UI/l → 260 UI/l], GOT [por ejemplo, > 1000 UI/l → 187 UI/l], CPK [por ejemplo, 1166 UI/l → 64 UI/l], ALP [por ejemplo, 643 UI/l → 291 UI/l], BUN [por ejemplo, 72,5 mg/dl → 15,4 mg/dl], Cre [por ejemplo, 3,2 mg/dl → 1,3 mg/dl], NH₃ [por ejemplo, 207 µg/dl → 302 µg/dl], T-bil [18,8 mg/dl → 4,9 mg/dl]) mejoraron en 11/11 animales. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Como se ha descrito anteriormente, la mejora de estos parámetros observada después de la administración de grelina en los animales con estados físicos malos después de la cirugía se observó similarmente en los animales con estados físicos malos distintos de afecciones patológicas empeoradas por una cirugía.

- 5 En otras palabras, se encontró que la administración de grelina era útil para acelerar la recuperación de animales que tenían una actividad reducida (vigor) y estaban agotados, por ejemplo, animales con estados físicos malos después de cirugía y animales con estados físicos malos debidos a las enfermedades.

[Tabla 2]

Evaluación de los parámetros que indica mejora de los estados físicos en animales en tratamiento médico para diversas enfermedades después de la administración de grelina				
	Actividad (vigor)	Temperatura corporal	Pruebas de hematología	Pruebas bioquímicas
Infección: 8 animales	6/6 (100 %)	-	1/1 (100 %)	6/6 (100 %)
Disfunción renal: 3 animales	3/3 (100 %)	-	2/2 (100 %)	1/1 (100 %)
Accidente, etc.: 3 animales	3/3 (100 %)	-	-	1/1 (100 %)
Enfermedad del hígado: 1 animal	1/1 (100 %)	1/1 (100 %)	-	-
Debilidad: 1 animal	1/1 (100 %)	-	-	1/1 (100 %)
Anafilaxia: 1 animal	1/1 (100 %)	-	-	1/1 (100 %)
Insuficiencia multiorgánica: 1 animal	1/1 (100 %)	-	-	-
Total: 18 animales	16/16 (100 %)	1/1 (100 %)	3/3 (100 %)	11/11 (100 %)

10

Los detalles de las afecciones patológicas enumeradas en la Tabla 2 son los siguientes.

- Infección (VIF, infección por FELV, infección por CPV, FVR, filarisis, hemobartonelosis y babesiosis)
- Disfunción renal (síndrome urológico inferior, retención urinaria, insuficiencia renal crónica y cistolitiasis)
- 15 Accidente, etc. (accidente por caída, fractura de costillas y quemadura)

(Ejemplo 3)

20 3-1. Mejora de los estados físicos en animales en tratamiento médico después de la administración de grelina en diversos grupos de enfermedad (dosis repetidas)

Como animales que tenían una actividad reducida (vigor) y estaban agotados se usaron los animales (un total de 48 caninos y felinos combinados) que estaban hospitalizados en hospitales veterinarios y tenían estados físicos malos debidos a una cirugía, una enfermedad crónica o aguda, o similares. A cada uno de los animales con mal estado físico, se le administró repetidamente, por vía intravenosa o por vía subcutánea, una grelina procedente de canino. La dosis de administración intravenosa fue de aproximadamente 5 µg/kg o 10 µg/kg, y la dosis de administración subcutánea fue de aproximadamente 100 µg/kg. El número medio de dosis en administración repetida fue de aproximadamente cuatro veces, y el máximo número de dosis fue de 11 veces. El periodo de administración fue de uno a seis días.

30

Los parámetros de evaluación, evaluados antes y después de la administración de grelina, fueron apetito, cantidad de comida, valores de análisis bioquímicos (GOT, GPT, BUN, CRE, CPK, CRP), valores de análisis de glóbulos sanguíneos (glóbulos blancos [WBC], plaqueta [PLT]), temperatura corporal, actividad (vigor), piel, pelaje, bienestar, el grado de cólera o ansiedad, frecuencia respiratoria, y otros. Estos parámetros se analizaron junto con los resultados de los animales que recibieron una dosis única (Ejemplos 1 y 2). Los resultados de los análisis se compilaron por enfermedad, tal como disfunción renal, tumor, fractura y accidente (véase la Tabla 3-1). El análisis estadístico de los valores antes y después de la administración se realizó usando una prueba de la t para datos emparejados. Si hubo dos o menos pares de valores correspondientes antes y después de la administración, y dos o más valores no tuvieron valores correspondientes, el análisis se realizó usando una prueba de la t para datos independientes.

40

Resultado 1. Disfunciones renales (10 animales)

Se administró grelina a animales hospitalizados en tratamiento médico que se confirmó que tenían una disfunción renal, tal como insuficiencia renal crónica, insuficiencia renal, retención urinaria, urolitiasis o cistolitiasis, y tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en el recuento de glóbulos blancos (WBC) (5/5 animales, $324 \times 10^2/\mu\text{l} \rightarrow 139 \times 10^2/\mu\text{l}$) y el recuento de plaquetas (PLT) (4/5 animales, $11,3 \times 10^5/\mu\text{l} \rightarrow 23,6 \times 10^5/\mu\text{l}$), que son parámetros de hematología, el valor de creatinina en suero (CRE) (3/3 animales, 3,2 mg/dl \rightarrow 1,3 mg/dl), que es un parámetro de bioquímica del suero, y la puntuación de actividad (vigor) (5/6 animales) (por ejemplo, una puntuación de 2 [ligemente sensible a un estímulo externo] \rightarrow una puntuación de 3 [capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo]). Se encontró que la administración de grelina a animales con una disfunción renal aceleraba un retorno de estados físicos malos a normales. Específicamente, la administración de grelina disminuyó el número de leucocitos aumentados mientras que se

50

produjo una inflamación, aumentó el recuento de plaquetas reducido, que indica un estado de la coagulación y sistema fibrinolítico, disminuyó la elevada creatinina, que es un indicador de función renal, y mejoró la actividad (vigor), que indica vitalidad de animales.

5 Resultado 2. Tumores (14 animales)

Se administró grelina a animales que se confirmó que tenían tumor de la glándula mamaria, tumor de la glándula salival, tumor de lengua, angiosarcoma de lengua, adenoma en la región perianal, o tumor (masa tumoral) tal como masa tumoral subcutánea, masa tumoral del hígado y masa testicular y tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en la actividad (vigor) (7/8 animales) (por ejemplo, una puntuación de 3 [capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo] → una puntuación de 6 [considerablemente más activo de lo normal]), temperatura corporal (6/6 animales, 39,8 °C → 38,6 °C) y el grado de cólera o ansiedad (4/6 animales) (por ejemplo, una puntuación de 5 [demasiado violento para poderse tocar y tiende a morder] → una puntuación de 2 [se puede tocar pero no está acostumbrado a un profesional sanitario]). La administración de grelina a animales con un tumor (masa tumoral) aceleró un retorno de estados físicos malos en animales a normales. Específicamente, la administración de grelina mejoró la actividad (vigor), disminuyó la temperatura corporal aumentada por una inflamación o similares, y disminuyó el grado de cólera o ansiedad, que son indicadores de excitación y ansiedad en animales.

20 Resultado 3. Fracturas, accidentes, etc. (nueve animales)

Se administró grelina a animales en tratamiento médico para una fractura resultante de un accidente de tráfico o un accidente por caída, traumatismo, luxación, hernia discal, o resorción ósea y tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en los parámetros de la bioquímica del suero, es decir, el valor de transaminasa glutámico-oxaloacética (GOT), que es un indicador de trastornos de los órganos tales como el hígado, el corazón, los riñones y los músculos (6/6 animales, 996 U/l → 22 U/l), el valor de transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), que es principalmente un indicador de hepatopatía (6/7 animales, 1000 U/l → 32 U/l), el valor de nitrógeno ureico en sangre (BUN), que es un indicador de disfunción renal (6/7 animales, 18,3 mg/dl → 10,6 mg/dl) y el valor de creatina fosfoquinasa (CPK), que es un indicador de lesión de un músculo cardíaco o músculo esquelético (2/2 animales, 42,4 U/l → 9,4 U/l), la actividad (vigor) (13/16 animales) {por ejemplo, una puntuación de 1 [incapaz de moverse [no puede levantarse]] → una puntuación de 3 [capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo [capaz de levantarse]]}, la temperatura corporal (5/7 animales, 39,2 °C → 38,0 °C), el grado de cólera o ansiedad (6/10 animales) (por ejemplo, una puntuación de 5 [demasiado violento para ser tocado y tiende a morder] → una puntuación de 1 [tranquilo]), y la elevada frecuencia respiratoria diagnosticada como frecuencia respiratoria alta, ventilación voluntaria, o similares (2/2 animales, 100/min → 50/min). Estos resultados demostraron que la administración de grelina a animales con estados físicos malos debidos a una fractura, un accidente, o similares, mejoró el valor de GOT, el valor de GPT, el valor de CPK, la actividad (vigor), la temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad, y la frecuencia respiratoria, y aceleró un retorno de estados físicos malos debido a una fractura, un accidente, o similares a normales.

40 Resultado 4. Enfermedades genitales (29 animales)

Se administró grelina a animales cuyo órgano reproductor se extirpó para piometra, contracepción o castración y que tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en el valor de BUN (3/3 animales, 31,5 mg/dl → 7,1 mg/dl) y el valor de CRP (5/5 animales, 100 mg/dl → 16 mg/dl), que son parámetros de la bioquímica del suero (valores de análisis bioquímicos), la actividad (vigor) (13/15 animales) {por ejemplo, una puntuación de 1 (muerto) → una puntuación de 3 [capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo [capaz de levantarse]]} y la temperatura corporal (11/11 animales, 40,1 °C → 38,1 °C). Estos resultados demostraron que la administración de grelina a animales con estados físicos malos debidos a extirpación quirúrgica de un órgano reproductor mejoró el valor de BUN, disminuyó el valor de CRP aumentado por una inflamación, mejoró la actividad (vigor), que indica vitalidad de animales, mejoró la temperatura corporal aumentada por una inflamación, y aceleró un retorno de estado físico malo debido a extirpación quirúrgica de un órgano reproductor a normal.

55 Resultado 5. Infecciones y parasitismo (15 animales)

Se administró grelina a animales que estaban en tratamiento médico para una infección o un parasitismo, tal como VIF, infección por FELV, infección por CPV, FVR, síndrome respiratorio infeccioso, babesiosis, hemobartonelosis y filariasis y tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en el valor de BUN (2/2 animales, 23,4 mg/dl → 16,4 mg/dl), que es un parámetro de bioquímica del suero (valor de prueba bioquímica) y la actividad (vigor) (10/11 animales) {por ejemplo, una puntuación de 1 (muerto) → una puntuación de 3 [capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo [capaz de levantarse]]}, y la frecuencia respiratoria (3/3 animales, 100/min → 70/min). Estos resultados demostraron que la administración de grelina a animales con estados físicos malos debido a una infección o un parasitismo mejoró el alto valor de BUN, mejoró la actividad (vigor), que indica vitalidad de los animales, mejoró la elevada frecuencia respiratoria debida a una disminución de la capacidad de intercambio de oxígeno y aceleró un retorno de estados físicos malos debidos a

una infección o un parasitismo a normales.

Resultado 6. Enfermedades inflamatorias (13 animales)

5 Se administró grelina a animales que estaban en tratamiento médico para dermatitis, insuficiencia multiorgánica, picadura, lesión de la fisura palatina, traumatismo en las nalgas, o similares, y tenían mal estado físico. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en el valor de GOT (3/4 animales, 149 UI/l → 25,0 UI/l), el valor de GPT (4/4 animales, 1000 UI/l → 282 UI/l) y el valor de BUN (4/4 animales, 18,6 mg/dl → 10,7 mg/dl), que son parámetros de la bioquímica del suero (valores de análisis bioquímicos), la actividad (vigor) (9/9 animales) {por ejemplo, una puntuación de 1 (agotado) → una puntuación de 3 (capaz de moverse en respuesta a un estímulo externo [capaz de levantarse])} y la temperatura corporal (5/6 animales, 39,8 °C → 38,7 °C). Estos resultados demostraron que la administración de grelina a animales con mal estado físico debido a diversas enfermedades inflamatorias mejoró el valor de GOT, el valor de GPT, el valor de BUN, la temperatura corporal y la actividad (vigor).

15

Resultado 7. Enfermedades del tracto gastrointestinal (7 animales)

20 Se administró grelina a animales que estaban en tratamiento médico para vómitos, diarrea, insuficiencia multiorgánica, invaginación intestinal, vólvulo gástrico, enteritis aguda, o similares, y tenían estados físicos malos. El análisis de parámetros antes y después de la administración de grelina mostró mejora en la actividad (vigor) (5/5 animales) {por ejemplo, una puntuación de 1 (incapaz de moverse [incapaz de caminar]) → una puntuación de 5 (más activo de lo normal)}. Estos resultados demostraron que la administración de grelina a animales con mal estado físico debido a diversas enfermedades del tracto gastrointestinal mejoró la actividad (vigor).

[Tabla 3-1]

Enfermedad	N.º de animales	WBC	PLT	GOT	GPT	BUN	CRE	CPK	CRP	Vigor	Temperatura corporal	I Grado de cólera	I Frecuencia respiratoria
Disfunción renal	10	5/5 Disminuyó*	4/5 Aumentó**	0/1	1/1	2/3	3/3 Disminuyó*	-	-	5/6 Mejoró**	2/2	1/3	1/1
Tumor	14	3/6	3/6	3/5	4/6	2/4	2/4	-	2/2	7/8 Mejoró*	6/6 Disminuyó*	4/6 Mejoró*	1/1
Fractura, accidente, etc.	19	3/7	4/8	6/6 Disminuyó*	6/7 Disminuyó*	6/7 Disminuyó*	2/3	2/2 Disminuyó*	-	13/16 Mejoró**	5/7 Disminuyó*	6/10 Mejoró*	2/2 #
Enfermedad genital	29	5/7	4/7	3/3	4/4	3/3 Disminuyó*	1/2	-	5/5 Disminuyó*	13/15 Mejoró**	11/11 Disminuyó**	2/8	1/1
Infección o parasitismo	15	1/4	3/4	1/2	3/4	2/2 Disminuyó*	1/1	1/1	-	10/11 Mejoró**	3/3	0/2	3/3 Mejoró*
Enfermedad del tubo gastrointestinal	7	2/2	0/1	3/3	3/3	1/1	-	2/2	-	5/5 Mejoró*	2/3	0/1	1/1
Enfermedad inflamatoria	13	3/4	2/4	3/4 Disminuyó*	4/4 Disminuyó*	4/4 Disminuyó*	0/2	1/1	1/2	9/9 Mejoró*	5/6 Disminuyó*	2/5	2/2 #

*: p<0,05
 **: p<0,01
 #: La frecuencia respiratoria se estabilizó en 2 de 2 animales.
 Nota: La prueba de la t no mostró una significación estadística en parámetros sin asteriscos, aunque se indique 3/3, etc.
 Abreviaturas: WBC, glóbulos blancos; PLT, plaqueta; GOT, transaminasa glutámico-oxaloacética; GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; BUN, nitrógeno ureico en sangre; CRE, creatinina; CPK, creatinina fosfoquinasa; CRP, proteína C reactiva.

3-2. Mejora de los estados físicos después de la administración de grelina en animales que se habían sometido a una cirugía o que no se habían sometido a una cirugía

5 Se administró grelina a animales con estados físicos malos después de cirugía para el tratamiento de diversas afecciones patológicas, y se analizaron diversos parámetros que indican estados físicos antes y después de la administración de grelina. La cirugía incluyó uretroplastia, cirugía para una fractura, luxación, hernia discal o hernia diafragmática, extirpación quirúrgica de un tumor y extirpación quirúrgica de un órgano reproductor debido a piometra. Los resultados mostraron mejora en la actividad (vigor), el recuento de plaquetas (PLT), que es un valor de prueba de hematología, el valor de GOT, el valor de GPT, el valor de BUN y el valor de CRE, que son valores de análisis bioquímicos, la temperatura corporal, el grado de cólera o ansiedad, y la frecuencia respiratoria (véase la Tabla 3-2).

15 Mientras tanto, se administró grelina a animales con estados físicos malos debidos a diversas afecciones patológicas que no se habían sometido a una cirugía, y se analizaron diversos parámetros que indican estados físicos antes y después de la administración de grelina. Las afecciones patológicas incluyeron filariasis, infestación de ácaros, babesiosis, hemobartonelosis, picadura y dermatitis. Los resultados mostraron mejora en la actividad (vigor), el recuento de glóbulos blancos (WBC), que es una valor de análisis de glóbulos sanguíneos, el valor de GPT y el valor de BUN, que son valores de análisis bioquímicos (véase la Tabla 3-2).

20 A partir de lo anterior, la administración de grelina a animales con estados físicos malos y en tratamiento médico, tanto si los animales se habían sometido a cirugía como si no, aceleró un retorno de estados físicos de los animales a normales. Además, se compararon los parámetros que muestran una diferencia significativa en los animales después de cirugía con parámetros que muestran una diferencia significativa en los animales que no se habían sometido a una cirugía. Los resultados mostraron que más parámetros proporcionaron una diferencia significativa en animales después de cirugía que en animales que no se habían sometido a una cirugía. Los resultados indican que la administración de una grelina procedente de canino, a animales que tienen una actividad reducida (vigor), están agotados y están en tratamiento médico, produce un efecto particularmente notable en los animales después de una cirugía.

30 [Tabla 3-2]

Tabla 3-2 Mejora de los estados físicos después de la administración de grelina derivada de grelina de canino a animales que se habían sometido a una cirugía o no se habían sometido a una cirugía

Tratamiento	N.º de animales	WBC	PLT	GOT	GPT	BUN	CRE	Vigor	Temperatura corporal	Grado de cólera	Frecuencia respiratoria
Cirugía	70	-	p<0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,05
Sin cirugía	24	p<0,05	-	-	p<0,05	-	-	p<0,01	-	-	-

(Ejemplo 4)

Mejora de los estados físicos en animales que no ingirieron comida después de la administración de grelina
 Enfermedades: Fractura de costillas, insuficiencia renal crónica, accidente por caída, síndrome respiratorio
 5 infeccioso, hemobartonelosis, VIF, infección por FELV, infección por CPV, picadura de habu, diarrea, vómitos, tumor de la glándula mamaria, accidente de tráfico, cirugía de fractura, retención urinaria, insuficiencia renal, uretroplastia, retención urinaria, traumatismo de la extremidad anterior

Número de animales:	15
Actividad mejorada:	11/13 (2, no evaluado; 2 sin cambio)
Valor de GPT mejorado:	3/3
Valor de GOT mejorado:	2/2
Valor de BUN mejorado:	2/2
Valor de CRE mejorado:	2/2
Valor de CPK mejorado:	1/1
Valor de ALP mejorado:	1/1
Valor de WBC mejorado:	1/1 (disminuyó)
Valor de PLT mejorado:	2/2
Temperatura corporal disminuida:	2/2

10 De los animales analizados en el Ejemplo 3, los animales que no ingirieron comida después de la administración de grelina se analizaron para la mejora en los parámetros de evaluación de actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos, el grado de cólera o ansiedad, temperatura corporal y frecuencia respiratoria.

15 Los resultados del Ejemplo 4 mostraron mejora en uno o más de la actividad (vigor), valores de análisis de glóbulos sanguíneos, valores de análisis bioquímicos y temperatura corporal en animales cuyo apetito no aumentó, es decir, que no ingirieron comida después de la administración de grelina. Esto indica que estos parámetros mejoraron no por la gestión de comida, sino por la grelina.

20 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención es útil en el campo médico y veterinario.

25 **Listado de secuencias**

<110> University of Miyazaki National Cerebral and Cardiovascular Center Daiichi Sankyo Co., Ltd.

<120> Un agente para promover la recuperación de animales en tratamiento

30 <130> D26F3697

<150> JP 2010-6557

<151> 15-01-2010

35 <160> 23

<170> PatentIn versión 3.1

40 <210> 1

<211> 28

<212> PRT

<213> *Canis familiaris*

45 <400> 1

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
 20 25

<210> 2

<211> 27

ES 2 599 168 T3

<212> PRT
<213> *Canis familiaris*

<400> 2

5

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

<210> 3
<211> 27
<212> PRT
<213> *Felis silvestris catus*

10

<400> 3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Arg Lys Glu
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

15

<210> 4
<211> 28
<212> PRT
<213> *Rattus norvegicus*

20

<400> 4

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Gln Arg Lys
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

25

<210> 5
<211> 27
<212> PRT
<213> *Rattus norvegicus*

30

<400> 5

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Arg Lys Glu
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

35

<210> 6
<211> 28
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

40

<400> 6

ES 2 599 168 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His His Lys Val Gln His Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Lys Pro Arg
 20 25

5 <210> 11
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> *Gallus domesticus*

<400> 11

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
 1 5 10 15

Gly Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg
 20

10 <210> 12
 <211> 24
 <212> PRT
 15 <213> *Gallus domesticus*

<400> 12

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg
 20

20 <210> 13
 <211> 26
 <212> PRT
 25 <213> *Gallus domesticus*

<400> 13

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His
 20 25

30 <210> 14
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 14

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
 20 25

ES 2 599 168 T3

<210> 15
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 15

 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Arg Lys Glu
 1 5 10 15

 Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
 20 25
 10
 <210> 16
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Macaca mulatta*
 15
 <400> 16

 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Ala Gln Gln Arg Lys
 1 5 10 15

 Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
 20 25
 20
 <210> 17
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> *Cervidae*
 25
 <400> 17

 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu
 1 5 10 15

 Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg
 20 25
 30
 <210> 18
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> *Cervidae*
 <400> 18

 Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Asp His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu
 1 5 10 15

 Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg
 20 25
 35
 <210> 19
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> *Capra aegagrus hircus*
 40
 <400> 19

ES 2 599 168 T3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg
 20 25

5
 <210> 20
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Oryctolagus cuniculus*
 <400> 20

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg
 20 25

10
 15
 <210> 21
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Meleagris gallopavo*
 <400> 21

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ala Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
 1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His Pro Arg
 20 25

20
 25
 <210> 22
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Anser sp.*
 <400> 22

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu Phe Lys Lys Ile Gln Gln Gln Asn
 1 5 10 15

Asp Pro Thr Lys Thr Thr Ala Lys Ile His Arg Arg
 20 25

30
 35
 <210> 23
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Coturnix japonica*
 <400> 23

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ala Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
 1 5 10 15

Asn Thr Arg Lys Pro Ala Ala Arg Leu His Arg Arg
 20 25

REIVINDICACIONES

1. Grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso para acelerar la mejora del estado físico de un canino o un felino en tratamiento médico que tienen una actividad reducida (vigor) y están agotados, que mejora un parámetro de evaluación, en donde el motivo para el tratamiento médico es;
- (1) insuficiencia renal, retención urinaria o cistolitiasis, y el parámetro de evaluación que hay que mejorar es la actividad (vigor) o
- (2) piometra o extirpación quirúrgica de un órgano reproductor, y el parámetro de evaluación que hay que mejorar es la actividad (vigor).
2. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de un péptido que tiene una cualquiera de las secuencias de SEQ ID NOS: 1 a 23 está acilado con un ácido graso.
3. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico en el que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de aminoácido en la 3ª posición desde el extremo N de un péptido que tiene una cualquiera de las secuencias de SEQ ID NOS: 1 a 23 está acilado con un grupo n-octanoílo.
4. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso o un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.
5. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.
6. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que consiste en 28 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un grupo n-octanoílo.
7. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un ácido graso.
8. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina es un compuesto peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que consiste en 27 aminoácidos en la que un grupo hidroxilo de la cadena lateral del resto de serina en la 3ª posición desde el extremo amino de la secuencia está acilado con un grupo n-octanoílo.
9. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administran a un animal adulto a una dosis de 0,001 a 100 mg.
10. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administran a un animal adulto a una dosis de 0,01 a 10 mg.
11. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administran a un animal adulto a una dosis de 0,001 a 100 mg, y de una a varias veces durante un día a una semana.
12. La grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso según la reivindicación 1, en donde la grelina o un derivado de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administran a un animal adulto a una dosis de 0,01 a 10 mg, y de una a varias veces durante un día a una semana.