



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) PI 0713807-5 A2



(22) Data de Depósito: 29/06/2007  
(43) Data da Publicação: 06/11/2012  
(RPI 2183)

(51) Int.Cl.:  
A61K 38/17  
A61P 17/00  
A61P 25/28

(54) Título: MEDICAMENTOS

(30) Prioridade Unionista: 30/06/2006 GB 06 13031.4

(73) Titular(es): Renovo Limited

(72) Inventor(es): Hugh Gerard Laverty, Kerry Nield, Mark William James Ferguson, Nicholas Goldspink, Nicholas Occleston, Sharon O'Kane

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT GB2007002445 de  
29/06/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/001113de  
03/01/2008

(57) Resumo: MEDICAMENTOS. A presente invenção refere-se ao uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, que é fornecido na preparação de um medicamento para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes. Também, é fornecido o uso de WNT5A, ou fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para uso na prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico. Outros aspectos refere-se aos métodos pelos quais a cicatriz pode ser prevenida, redução ou inibida, e pelos quais os distúrbios fibróticos podem ser prevenidos e /ou tratados. Quantidades terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, que podem ser usados nos medicamentos ou métodos da invenção também são fornecidos.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "MEDICAMENTOS".

A presente invenção refere-se a medicamentos para a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes. A invenção também refere-se a medicamentos para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos. Além disso, a invenção fornece métodos para a prevenção, redução ou inibição da cicatrizes, bem como métodos para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos.

A resposta ao ferimento é comum em todos os mamíferos adultos. A resposta é conservada entre a maioria dos tipos de tecidos e, em cada caso, conduz ao mesmo resultado, formação de uma cicatriz. Muitos processos diferentes estão em operação durante a resposta de cura, e muita pesquisa foi conduzida em descobrir o que media estes processos, e como eles interagem uns com os outros para produzir o resultado final.

A resposta de cicatrização ocorre como a solução evolutiva para o imperativo biológico para prevenir a morte de um animal ferido. Assim, para superar o risco de mortalidade devido a infecção ou hemorragia, o corpo reage rapidamente para reparar a área danificada, ao invés da tentativa de regenerar o tecido danificado.

Uma cicatriz pode ser definida como a estrutura produzida como um resultado da resposta reparadora. Visto que a lesão não é regenerada para atingir a mesma arquitetura de tecido presente antes do ferimento, uma cicatriz pode ser identificada em virtude da sua morfologia anormal em comparação com tecido não ferido. As cicatrizes são compostas de tecido conjuntivo depositado durante o processo de cura. Uma cicatriz pode compreender tecido conjuntivo que tem uma organização anormal (como visto nas cicatrizes da pele) e/ou de tecido conjuntivo que está presente em uma quantidade anormalmente aumentada (como visto em cicatrizes do sistema nervoso central). A maioria das cicatrizes consiste em tecido conjuntivo tanto anormalmente organizado quanto em excesso.

A estrutura anormal das cicatrizes pode ser observada com referência tanto a sua estrutura interna (que pode ser determinada por meio da

análise microscópica) quanto a sua aparência externa (que pode ser avaliada macroscopicamente).

As moléculas da matriz extracelular (ECM) compreendem o componente estrutural principal da pele tanto não ferida quanto marcada com cicatriz. Na pele não ferida estas moléculas formam fibras que possuem uma disposição aleatória característica que é normalmente referida como uma "tecelagem de cesta". Em geral, as fibras observadas dentro da pele não ferida são de diâmetro maior do que aquelas observadas nas cicatrizes. As fibras nas cicatrizes também apresentam um grau marcante de alinhamento umas com as outras, quando comparadas com a disposição aleatória de fibras na pele não ferida. Tanto o tamanho quanto a disposição da ECM podem contribuir com as propriedades mecânicas alteradas das cicatrizes, mais notavelmente a rigidez aumentada, quando comparadas com a pele não ferida normal.

Vistas macroscopicamente, as cicatrizes podem ser empurradas para baixo da superfície do tecido circundante, ou elevadas acima da superfície da pele intacta. As cicatrizes podem ser relativamente de cor mais escura do que o tecido não ferido (hiperpigmentação), ou podem ter uma cor mais clara (hipopigmentação) que os seus arredores. As cicatrizes hiperpigmentada ou hipopigmentadas constituem um defeito cosmético facilmente perceptível. Igualmente, as cicatrizes podem ser mais vermelhas do que a pele circundante, levando-as a serem notadas e cosmeticamente inaceitáveis. Foi demonstrado que a aparência cosmética de uma cicatriz é um dos principais fatores que contribuem para o impacto psicológico das feridas e cicatrizes sobre o sofredor, e que esses efeitos podem permanecer muito tempo depois que o ferimento em si tenha cicatrizado.

As cicatrizes físicas também podem ter efeitos deletérios sobre o sofredor. Estes efeitos tipicamente surgem como um resultado das diferenças mecânicas entre as cicatrizes e pele não ferida. A estrutura e a composição anormais das cicatrizes significam que elas são tipicamente menos flexível do que a pele normal. Como um resultado as cicatrizes podem ser responsáveis pelo comprometimento da função normal (tal como no caso

das cicatrizes que abrangem as ligações que podem restringir a possível faixa de movimentos) e podem retardar o crescimento normal se presentes a partir de uma idade precoce.

A cicatrização pode também ocorrer em muitos outros locais do corpo, e os efeitos da cicatrização nesses locais também podem ser nocivos para o sofredor. Por exemplo, a cicatriz no olho (quer como resultado de lesões accidentais ou intervenção cirúrgica) pode prejudicar a visão e até mesmo levar à cegueira. A cicatrização dos órgãos internos pode levar à formação de estreitamentos e aderências que prejudicam significativa ou totalmente a função do órgão em questão. A cicatrização dos tendões e ligamentos pode causar danos duradouros para estes órgãos, e desse modo reduzir a motilidade ou função das articulações associadas. A cicatrização associada com vasos sanguíneos e, particularmente as válvulas do coração, pode ocorrer após lesão ou cirurgia. A cicatrização pode levar a restenose, o que provoca um estreitamento dos vasos sanguíneos e, assim, reduz o fluxo de sangue através da área cicatrizada. A cicatrização do sistema nervoso central ou periférico pode impedir a transmissão ao longo do nervo e pode impedir ou reduzir a reconexão do tecido nervoso danificado.

Os efeitos acima descritos podem totalmente surgir como um resultado da progressão normal da resposta de cura da ferida. Existem, no entanto, muitas maneiras em que esta resposta pode ser anormalmente alterada; e estas são frequentemente associadas com resultados ainda mais prejudiciais.

Uma maneira em que a resposta de cura pode ser alterada é através da produção de cicatrizes excessivas anormais. As cicatrizes hipertróficas representam uma forma grave de cicatrização, e possuem efeitos adversos marcantes sobre o sofredor. As cicatrizes hipertróficas são elevadas acima da superfície normal da pele e contêm colágeno excessivo disposto em um padrão anormal. Como resultado tais cicatrizes são muitas vezes associadas com uma perda acentuada da função mecânica normal. Isto pode ser exacerbado pela tendência de cicatrizes hipertróficas de submeter-se a contração após a sua formação, uma atividade normalmente atribuída à

sua expressão anormal de proteínas relacionadas com o músculo (particularmente actina do músculo liso). As crianças sofrem de uma probabilidade aumentada de formação de cicatriz hipertrófica, particularmente como um resultado de lesões por queimadura.

5           Quelóides são uma outra forma comum de cicatrização patológica. As cicatrizes quelóides não são apenas elevadas acima da superfície da pele, mas também se estendem para além das fronteiras da lesão inicial. Os quelóides contêm excesso de tecido conjuntivo que é organizado de uma forma anormal, normalmente manifestada como verticilos de tecido colágeno. As causas da formação de quelóide estão abertas a conjectura, mas é geralmente reconhecido que alguns indivíduos possuem uma predisposição genética para a sua formação. Tanto as cicatrizes hipertróficas quanto os quelóides são particularmente comuns nas raças afro-caribenhos e mongolóides.

10           Uma outra forma comum de cicatrização patológica é o pterígio em que um desenvolvimento fibrótico em forma de cunha do tecido subconjuntival pode crescer até à fronteira da córnea ou mais adiante. O pterígio é mais frequente entre aqueles frequentemente expostos às condições fortes de luz solar ou empoeiradas.

15           Embora a cicatrização possa ser definida como a produção da estrutura que permanece na cura de uma ferida, distúrbios similares da matriz extracelular também estão associados com várias condições médicas conhecidas como distúrbios fibróticos. Nestes distúrbios a fibrose excessiva leva ao desarranjo patológico e mau funcionamento do tecido. Os distúrbios fibróticos são caracterizados pelo acúmulo de tecido fibroso (predominantemente colágenos, como encontrado em cicatrizes) em uma forma anormal dentro do tecido danificado. O acúmulo de tais tecidos fibrosos pode resultar de uma variedade de processos doentios, os quais levam a um mesmo resultado final.

20           Os distúrbios fibróticos são geralmente crônicos. Exemplos de distúrbios fibróticos incluem cirrose do fígado, fibrose hepática, glomerulonefrite, fibrose pulmonar, doença pulmonar obstrutiva crônica, esclerodermia,

fibrose miocárdica, fibrose após infarto do miocárdio, fibrose do sistema nervoso central seguinte a um acidente vascular cerebral, distúrbios neurodegenerativos (por exemplo, a doença de Alzheimer, esclerose múltipla), vitreorretinopatia proliferativa (PVR), artrite, aderências, por exemplo, no trato digestivo, abdome, pelve, coluna vertebral.

Se não forem tratados, os efeitos patológicos dos distúrbios fibróticos podem levar à falência orgânica e, finalmente, à morte.

As pessoas versadas observarão que muitos dos mecanismos subjacentes à resposta fibrótica observados nos distúrbios fibróticos são partilhados com a resposta de cura de feridas que leva a formação de cicatrizes. Pode ser esperado que os métodos e medicamentos que podem ser utilizados para evitar ou reduzir a fibrose em uma condição também podem ser de utilidade na outra.

Embora grande parte do presente relatório descritivo se concentra principalmente sobre os efeitos da cicatrização de feridas ou distúrbios fibróticos no homem, será observado que muitos aspectos da cicatrização de feridas e da resposta são conservados entre a maioria das espécies de animais. Assim, os problemas delineados acima também são aplicáveis em animais não humanos, e particularmente animais veterinários ou domésticos (por exemplo, cavalos, bovinos, cães, gatos, etc.). Por meio de exemplo, é bem conhecido que as aderências resultantes da cicatrização inadequada de feridas abdominais constituem um importante motivo para a destruição veterinária de cavalos (particularmente cavalos de corrida). Do mesmo modo, os tendões e ligamentos de animais domésticos ou veterinários também são frequentemente sujeitos a lesões, e a cura destas lesões também pode levar à cicatrização associada com o aumento da mortalidade dos animais.

Embora os efeitos nocivos da cicatrização de ferida normal e aberrante e de distúrbios fibróticos sejam bem-conhecidos, permanece uma falta de terapias eficazes capazes de reduzir os seus efeitos. À luz desta ausência, deve ser reconhecido que existe uma necessidade fortemente sentida em fornecer tratamentos e medicamentos que sejam capazes de prevenir, reduzir ou inibir a formação de cicatrizes, e de prevenir e/ou tratar

distúrbios fibróticos.

A família de genes WNT (família do local de integração MMTV tipo alada) codifica várias proteínas que funcionam como moléculas de sinalização da célula pleiotrópica. Estas proteínas, designadas WNTs, compartilham uma série de resíduos conservados, incluindo um padrão característico

5 de cisteína. Estes são os aspectos estruturais, em vez da função compartilhada, que definem as proteínas WNT, uma vez que os efeitos de vários membros da família WNT podem diferir significativamente dependendo da resposta das células.

10 Acredita-se de uma forma geral que as moléculas Frizzled (Fz) constituem o principal grupo de receptores para os membros da família WNT. Os receptores Frizzled compreendem sete partes de abrangência da membrana, assim como uma longa região amino terminal designada o domínio rico em cisteína (CRD). O CDR parece constituir a parte de ligação a

15 WNT dos receptores Fz. A sinalização de WNT eficaz exige não apenas a presença de WNT e um receptor de Fz, mas também a presença de uma proteína da classe de LRP (proteína relacionada com o receptor de LDL).

A WNT5A é um membro da família WNT de moléculas de sinalização. A WNT5A Humana é um polipeptídeo de 381 aminoácidos, a sequênciados quais é mostrada na Sequência ID No. 1. As formas humanas e de murinos da WNT5A compartilham 97 % da identidade de aminoácido. A sequência do gene que codifica a WNT5A humana (também designada WNT5A) é exposta na sequência ID No. 2.

É um objetivo de certos aspectos da presente invenção fornecer medicamentos adequados para a prevenção e/ou a redução e/ou inibição de cicatrizes. É um objetivo de outros aspectos da presente invenção fornecer métodos de tratamento adequados para utilização na prevenção e/ou redução, e/ou inibição de cicatrizes. É um objetivo de certas modalidades da invenção fornecer medicamentos adequados para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos. É um objetivo de outras modalidades da invenção fornecer métodos de tratamento adequados para uso na prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos. Os medicamentos e/ou métodos da inven-

ção podem constituir alternativas àquelas fornecidas pela técnica anterior, porém, é preferível que os medicamentos e/ou métodos de tratamento fornecidos pela invenção possam constituir melhorias sobre a técnica anterior.

De acordo com um primeiro aspecto da presente invenção é fornecido o uso de WNT5A, ou um fragmento terapeuticamente eficaz ou derivado, na preparação de um medicamento para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes.

Em um segundo aspecto da invenção é fornecido um método de prevenção, redução ou inibição da cicatrizes, o método compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento terapeuticamente eficaz ou seu derivado, a um paciente com necessidade de tal prevenção, a redução ou inibição.

A presente invenção se baseia na nova e surpreendente descoberta dos inventores de que a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, podem ser utilizados na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes. Esta prevenção, redução ou inibição de cicatrizes pode ser efetuada em qualquer local do corpo e em qualquer tecido ou órgão.

As descobertas dos inventores são particularmente surpreendentes à luz dos relatórios da técnica anterior que sugerem que a indução da expressão de WNT5A pela infecção utilizando retrovírus geneticamente planejado não tem qualquer efeito sobre a cicatrização, uma vez que não afeta a quantidade ou a orientação das moléculas matrizes extracelulares depositadas na derme durante a cura de feridas. Em vez disso, os relatórios anteriores sugeriram que a expressão de WNT5A apenas influencia a epiderme e apêndices epidérmicos. A pesquisa anterior revelou que a estrutura da epiderme significativamente não influencia o aparecimento de cicatrizes como avaliadas clinicamente (Beausang et al., 1998).

A WNT5A, ou seu fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz, pode ser preferivelmente administrada em uma ferida do paciente que de outra maneira seria provável de dar origem a uma cicatriz.

Exemplos de contextos específicos em que a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes que pode ser alcançada usando os medicamen-

tos e métodos da invenção podem ser de benefício incluem, mas não são limitados a aqueles selecionados do grupo que consiste em: uso na pele; utilização no olho (incluindo a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes resultantes da cirurgia ocular tal como a cirurgia LASIK ou PRK); utilização 5 nos vasos sanguíneos, utilização no sistema nervoso periférico ou central (onde prevenção, redução ou inibição da cicatriz pode melhorar reconexão neuronal); utilização em tendões, ligamentos ou músculos; uso na cavidade oral, incluindo os lábios e palato (tal como na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes resultantes do tratamento de fenda labial ou palatina); utilização 10 nos órgãos internos tais como o fígado, coração, cérebro, tecidos digestivos e tecidos reprodutivos; e utilização nas cavidades corporais, tais como a cavidade abdominal, cavidade pélvica e cavidade torácica (onde a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes pode reduzir o número de casos de formação de aderência e/ou do tamanho das aderências formadas). Os medicamentos e métodos da invenção podem ser usados para prevenir, reduzir ou 15 inibir as aderências, tais como aquelas que ocorrem no abdômen, pelve e coluna vertebral. É particularmente preferível que os medicamentos e métodos da invenção sejam usados para prevenir, reduzir ou inibir a cicatrização da pele (cicatrização dérmica).

20 A WNT5A, ou seus fragmentos ou seus derivados terapeuticamente eficazes, também podem ser utilizados na prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticas. Assim, de acordo com um terceiro aspecto da presente invenção, é fornecido o uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para uso 25 na prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico.

Em um quarto aspecto da invenção é fornecido um método de prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico, o método compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, a um 30 paciente com necessidade de tal prevenção e/ou tratamento.

Os distúrbios fibróticos preferidos que podem ser prevenidos e/ou tratados com medicamentos ou métodos da invenção podem ser sele-

cionados a partir do grupo constituído de: fibrose da pele; esclerodermia; fibrose sistêmica progressiva; fibrose pulmonar; fibrose muscular; fibrose renal; glomerulosclerose; glomerulonefrite; fibrose uterina; fibrose renal; cirrose do fígado; fibrose hepática; doença pulmonar obstrutiva crônica; fibrose 5 após infarto do miocárdio; fibrose do sistema nervoso central, tal como a fibrose após acidente vascular cerebral; fibrose associada com os distúrbios neuro-degenerativos tais como a doença de Alzheimer ou a esclerose múltipla, fibrose associada com vitreorretinopatia proliferativa (PVR); restenose; endometriose, doença isquêmica e fibrose por radiação.

10 Exceto onde o contexto exigir de outra forma, referências aos "medicamentos da invenção" devem ser tomadas como referência aos medicamentos preparados de acordo com o primeiro, terceiro, quinto, sexto e sétimo aspectos da invenção. Os medicamentos da invenção compreendem um excipiente, diluente ou portador farmaceuticamente aceitável além da 15 WNT5A, fragmento ou derivado. Os medicamentos da invenção podem estar preferivelmente na forma de uma solução injetável compreendendo WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta. Soluções adequadas para injeção localizada (tal como a injeção intradérmica) constituem formas particularmente preferidas dos medicamentos da invenção.

20 Para os propósitos da presente invenção, um "fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz" de WNT5A é considerado ser qualquer fragmento ou derivado do WNT5A que seja capaz de:  
i) prevenir, reduzir ou inibir a formação de cicatrizes; e/ou  
ii) prevenir e/ou tratar um distúrbio fibrótico.

25 Preferivelmente um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz de WNT5A pode ser aquele que é capaz de prevenir, reduzir ou inibir a formação de cicatrizes que ocorrem em uma ferida na qual o fragmento ou derivado do WNT5A é adicionado; ou capaz de impedir o desenvolvimento de um distúrbio fibrótico em um local onde o fragmento ou derivado é adicionado; ou capazes de tratar um distúrbio fibrótico em um local ao qual o 30 fragmento ou derivado é adicionado.

As proteínas WNT são geralmente submetidas a palmitoíla em

um resíduo de cisteína. Estudos em que a palmitoilação das WNTs tem sido separada pela acil proteína tioesterase indicam que a presença de palmitato é essencial para que as WNTs exerçam sua atividade biológica.

Os inventores acreditam que a WNT5A é submetida a palmitoila no resíduo de cisteína localizado na posição 105 na sequência de aminoácidos mostrada na Sequência ID No. 1. Consequentemente, a pessoa versada observará que é preferível que os fragmentos de WNT5A para utilização de acordo com a invenção devam ser fragmentos compreendendo o resíduo de cisteína localizado na posição 105 da Sequência ID No. 1 (a pessoa versada facilmente observará que a posição numerada deste resíduo de cisteína dentro de um determinado fragmento pode mudar dependendo do comprimento do fragmento em questão). Os fragmentos preferidos de WNT5A podem ser fragmentos submetidos a palmitoila, e particularmente aquelas submetidas a palmitoila na cisteína 105.

Os fragmentos terapeuticamente eficazes de WNT5A adequados para utilização em conformidade com a presente invenção podem compreender até 10 resíduos de aminoácido contíguos da Sequência ID No. 1, preferivelmente até 100 resíduos de aminoácido contíguos, mais preferivelmente até 200 resíduos de aminoácido contíguos, e ainda mais preferivelmente até 300 resíduos de aminoácido contíguos. Os fragmentos adequados para uso nos medicamentos e métodos da presente invenção incluem aqueles compreendendo até 380 resíduos de aminoácido da Sequência ID No. 1. Os fragmentos preferidos compreenderão pelo menos 10 resíduos de aminoácido contíguos da Sequência ID No. 1.

Os fragmentos preferidos podem incluir resíduos de aminoácido envolvidos na ligação da WNT5A aos seus receptores celulares. Relatos anteriores indicam que a WNT5A é capaz de sinalizar através vários receptores, ou complexos de receptor. Por exemplo, foi sugerido que a Fz5 atua como um receptor de WNT5A, e também que a WNT5A é capaz de induzir a sinalização através de um complexo Fz4/LRP5, ou um receptor da tirosina cinase órfão, Ror2 (He, et al. 1997; e Mikels and Nusse 2006).

Será observado que é a estrutura tridimensional da WNT5A que

é importante em consideração à ligação do receptor, e que consequentemente os fragmentos adequados podem ser selecionados com base em sua capacidade de assumir o requisito necessário de conformação tridimensional para a ligação do receptor.

5 Embora os peptídeos compreendendo toda ou parte da WNT5A (como definido pela sequência ID No. 1) representem os agentes preferidos para uso de acordo com a presente invenção, será reconhecido que existem contextos em que a sensibilidade dos peptídeos para degradação pode ser desvantajosa. Existem muitas técnicas conhecidas pelas quais os derivados  
10 de peptídeo podem ser produzidos os quais possuem maior resistência à degradação do que os peptídeos originais dos quais são derivados.

Os derivados peptídicos podem ser esperados de terem maior resistência à degradação do que os agentes de peptídeo da invenção, enquanto retêm a mesma capacidade de inibir a cicatrização e/ou impedir os  
15 distúrbios fibróticos. Os derivados de peptídeo adequados podem ser facilmente designados a partir do conhecimento da sequência e estrutura de WNT5A. Software comercialmente disponível pode ser utilizado para desenvolver os derivados de peptídeo adequados de acordo com protocolos bem estabelecidos. Será observado que a eficácia terapêutica de peptídeo e outros derivados pode ser investigada usando as mesmas técnicas que permitem a avaliação da eficácia terapêutica dos fragmentos de peptídeo.  
20

Os retropeptídicos baseados em WNT5A ou seus fragmentos terapeuticamente eficazes (mas em que todos os aminoácidos são substituídos por resíduos de peptídeo em ordem invertida) também são capazes de  
25 inibir a cicatrização e/ou prevenir os distúrbios fibróticos. Um retropeptídeo pode ser esperado de se ligar na direção oposta na estria de ligação ao ligan-  
do, em comparação com um peptídeo ou peptídeo-peptídeo híbrido que contém um resíduo de peptídeo. Como um resultado, as cadeias laterais dos resíduos de peptídeo são capazes de apontar na mesma direção como as  
30 cadeias laterais no peptídeo original.

As formas de D-aminoácido da WNT5A ou seus fragmentos terapeuticamente eficaz também conferem a capacidade necessária de inibir a

cicatrização e/ou evitar distúrbios fibróticos. No caso de formas de D-aminoácido, a ordem dos resíduos de aminoácido compreendendo o derivativo é invertida em comparação com aquela do peptídeo original. A preparação de derivados usando D-aminoácidos, em vez de L-aminoácidos grandemente diminui qualquer repartição indesejada de um tal agente por processos metabólicos normais, diminuindo as quantidades de agente que necessitam ser administrados, juntamente com a frequência da sua administração.

Será observado que os derivados adequados para uso nos medicamentos e métodos da invenção claramente incluem tanto aqueles derivados do comprimento total da WNT5A quanto aqueles derivados de fragmentos terapeuticamente eficazes de WNT5A.

Como mencionado acima, a WNT5A humana (tal como definida na Sequência ID No. 1) representa uma WNT5A preferida que podem ser utilizada nos medicamentos ou métodos da invenção. Os fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes de WNT5A humana representam os fragmentos ou derivados preferidos para uso de acordo com a invenção. A WNT5A, ou um fragmento ou derivados terapeuticamente eficazes desta, para uso nos medicamentos ou métodos da invenção pode ser fabricada de qualquer maneira conhecida ao artífice versado. Em particular, pode ser preferível que a WNT5A recombinante, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, tais como WNT5A humana recombinante, ou um fragmento ou derivados terapeuticamente eficaz desta, possam ser utilizados em medicamentos ou métodos da invenção. As proteínas humanas recombinantes podem vantajosamente ser produzidas em células hospedeiras procarióticas. Tal produção possui a vantagem de que grandes quantidades da proteína podem ser produzidas, em que a proteína pode ser facilmente purificada, e que a proteína pode ser produzida em condições que reduzem o risco de contaminação com agentes potencialmente deletérios que podem proibir a utilização terapêutica da proteína (tal contaminação sendo um problema notável com proteínas produzidas a partir de células eucarióticas ou culturas de células).

Para os propósitos da presente invenção uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, é considerada ser uma quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, que é capaz de efetuar o solicitado:

- 5           i) prevenção, redução ou inibição de cicatrizes; ou  
             ii) prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A (ou um fragmento ou derivados desta) pode ser uma quantidade que é eficaz para reduzir a cicatriz de uma ferida tratada em pelo menos 10 % em comparação com cicatriz produzida na cicatrização de uma ferida não tratada comparável. Preferivelmente uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser capaz de atingir pelo menos uma redução de 20 % na cicatrização, mais preferivelmente pelo menos 50 %, ainda mais preferivelmente pelo menos 75 % e o mais preferível pelo menos uma redução de 90 % na cicatriz comparado com a cicatriz produzida na cicatrização de uma ferida não tratada.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, pode preferivelmente ser uma quantidade capaz de terapeuticamente alterar a abundância e/ou orientação dos componentes de ECM (tal como o colágeno) em uma cicatriz tratada.

20           Um medicamento da invenção deve fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta. Preferivelmente um medicamento da invenção pode ser fornecido na forma de uma unidade de dose, a unidade de dose compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta.

25           A pessoa versada observará que um fragmento ou derivado de WNT5A que possui pouca atividade terapêutica inerente ainda será terapeuticamente eficaz se administrado em uma quantidade que forneça uma quantidade terapeuticamente eficaz.

Os inventores têm surpreendentemente observado que quando administrado em uma quantidade muito grande de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, serve para agravar a cicatriz. Será observado que uma quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou

derivado terapeuticamente eficaz desta, que não melhora as cicatrizes, ou serve para piorar as cicatrizes, não constituirá uma quantidade terapeuticamente eficaz para os propósitos da presente invenção.

Em geral, uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A 5 (ou um fragmento ou derivado desta) a ser aplicada a uma ferida, cicatriz, ou um local de um distúrbio fibrótico de modo a prevenir, reduzir ou inibir as cicatrizes pode ser determinada por um médico com referência aos fatores incluindo o tamanho de uma ferida, quantidade de fibrose, e a presença ou ausência de fatores que contribuem com a cicatriz pronunciada ou patológica. Tais fatores são considerados em mais detalhes no resto do relatório 10 descriptivo.

Os parágrafos seguintes fornecem orientações adicionais quanto à seleção de uma quantidade terapeuticamente eficaz adequada de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, para uso nos medicamentos ou métodos da invenção. 15

Geralmente, pode ser preferível que um centímetro de ferida, ou cm<sup>2</sup> de ferida ou distúrbio fibrótico, receberá uma quantidade de WNT5A (ou um fragmento ou derivados desta) menor do que 2000 ng (ou aproximadamente 44 picomols) por 24 horas durante um "curso" de tratamento (um curso de tratamento compreendendo uma ou mais administrações da WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, por um medicamento ou método da invenção) para prevenir, reduzir ou inibir as cicatrizes.

Dentro de um curso de tratamento para prevenir, reduzir ou inibir 25 as cicatrizes, a WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, pode ser fornecida em uma ou mais administrações per 24 horas. Assim, no caso em que uma única administração deve ser utilizada, uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, a ser administrada em um centímetro da ferida (ou cm<sup>2</sup> de ferimento ou fibrose) deve ser menor do que 2000 ng (ou aproximadamente 44 picomols) por administração. No caso em que múltiplas administrações devem ser utilizadas, a 30 quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, a ser administrada em um centímetro da ferida (ou cm<sup>2</sup> de ferimento ou fibrose) durante o

período total de 24 horas deve ser menor do que 2000 ng (ou aproximadamente 44 picomols).

Será observado que, em alguns casos, um curso de tratamento não pode durar mais do que 24 horas (por exemplo, no caso de um doente 5 ter alta do hospital ou outra supervisão médica dentro um período de 24 horas), e em tais casos, a quantidade terapêutica total de WNT5A (ou um fragmento ou derivado desta) administrada por centímetro de ferida, ou cm<sup>2</sup> de ferida ou fibrose, pode ser inferior a 2000 ng (ou aproximadamente 44 picomols).

10 Em outros casos, por exemplo, no caso de ferimento ou cicatrizes extensas, ou cicatrizes ou distúrbios fibróticos que demonstram uma resistência ao tratamento, pode ser preferível que um curso de tratamento se estenda por um período prolongado de tempo, e que a quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, administrada a um dado 15 centímetro de ferida (ou cm<sup>2</sup> de ferimento ou fibrose), durante um ciclo de tratamento pode ser consideravelmente maior do que 2000 ng (na verdade, a quantidade total administrada pode ser muitas vezes maior). No entanto, de modo a alcançar uma prevenção, redução ou inibição eficaz da cicatriz, pode ser preferível que a quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado 20 desta, a ser administrada em um centímetro da ferida, ou cm<sup>2</sup> de ferida ou fibrose, por 24 horas deste tratamento prolongado deva ser inferior a 2000 ng (ou aproximadamente 44 picomols).

A título de exemplo adicional, os inventores têm estabelecido que uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento 25 ou derivado desta, deve ser inferior a 44 picomols (pmoles) por centímetro linear (ou cm<sup>2</sup>) de uma ferida cuja cicatriz se pretende inibir, ou por cm<sup>2</sup> de um distúrbio fibrótico que se pretende tratar (se administrada em uma única incidência, ou em várias incidências durante um período de 24 horas). Em contrapartida, o fornecimento de uma quantidade de WNT5A até cerca de 33 30 pmoles por cm linear (ou cm<sup>2</sup>) de uma ferida ou distúrbio fibrótico constituirá uma quantidade terapeuticamente eficaz.

Por meio de outra ilustração, a provisão entre 1 ng e 1500 ng de

WNT5A por centímetro linear de ferida, ou  $\text{cm}^2$  de uma ferida ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas, irá constituir uma quantidade terapeuticamente eficaz preferida. Uma tal quantidade terapeuticamente eficaz pode preferivelmente ser fornecida por dois ou mais casos de tratamento dentro do período de 24 horas.

Os inventores têm observado que, uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A deve ser menor do que 2000 ng por cm linear de ferida, ou  $\text{cm}^2$  de uma ferida ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas, e pode preferivelmente ser inferior a 1600 ng.

Geralmente, uma quantidade terapêutica de WNT5A a ser administrada por cm linear da ferida, ou  $\text{cm}^2$  de uma ferida ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas deve compreender mais do que 0,2 ng.

As quantidades terapeuticamente eficazes preferidas de WNT5A, seus fragmentos ou derivados, podem ser investigadas usando modelos in vitro e in vivo, e avaliações adequadas da eficácia produzida com referência aos vários parâmetros para a medição da cicatriz, como descrito no resto do relatório descriptivo.

A invenção provê a utilização de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, na preparação de um medicamento para administração em uma quantidade para fornecer por  $\text{cm}^2$  da área administrada um nível de atividade de WNT5A equivalente àquela oferecida em até 2000 ng de WNT5A, para prevenir, reduzir ou inibir cicatrizes.

A invenção também provê a utilização de WNT5A, um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, na preparação de um medicamento para administração entre 0,01 e 35 picomols de WNT5A, ou o seu fragmento ou derivado, por cm linear ou  $\text{cm}^2$  de uma ferida. Um tal medicamento pode prevenir, reduzir ou inibir as cicatrizes. Um medicamento de acordo com este aspecto da invenção pode preferivelmente fornecer entre 0,02 picomols e 35 picomols, por exemplo, 0,04 picomols, 0,44 picomols, 4,4 picomols, 22 picomols ou 33 picomols da WNT5A, fragmento ou derivado.

Em um outro aspecto a invenção fornece a utilização de WNT5A, um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, na prepa-

ração de um medicamento para administração entre 0,01 e 35 picomols de WNT5A, ou o seu fragmento ou derivado, por cm<sup>2</sup> de fibrose associada com um distúrbio fibrótico. Um tal medicamento pode prevenir e/ou tratar o distúrbio fibrótico. Um medicamento de acordo com este aspecto da invenção 5 pode preferivelmente fornecer entre 0,02 picomols e 35 picomols, por exemplo, 0,04 picomols, 0,44 picomols, 4,4 picomols, 22 picomols ou 33 picomols da WNT5A, fragmento ou derivado.

Em mais um outro aspecto, a invenção fornece o uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, na 10 preparação de um medicamento para a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes, em que o padrão de administração para administrar o medicamento compreende a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, antes da formação de uma ferida, e a administração de uma outra quantidade terapeuticamente 15 eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, após a formação da ferida.

A administração da outra quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, pode preferencialmente ocorrer aproximadamente 24 horas após a formação da ferida.

20 Será observado que as expressões "por 24 horas" ou "em um período de 24 horas", como utilizado no presente pedido são destinadas a fornecer orientações quanto à quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, que possa ser administrada a um determinado local durante um período de tratamento, enquanto continua a proporcionar um efeito terapêutico. Os inventores acreditam que as quantidades especificadas nestas 25 expressões podem geralmente ser fornecidas durante dois dias consecutivos de tratamento, enquanto continua a fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz (embora administrada durante um período que pode ser um pouco mais do que 24 horas).

30 Em geral, os usos aqui descritos podem compreender ainda a repetição da administração de quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta, durante o tempo necessário

para atingir prevenção, redução ou inibição de cicatrizes.

Provê-se que a maioria dos fragmentos ou derivados de WNT5A, que compartilham a atividade biológica da WNT5A, também apresentarão atividade terapêutica que irá torná-los adequados para uso nos métodos e medicamentos da invenção.

"Atividade biológica" no contexto da presente invenção pode ser avaliada *in vitro* ou *in vivo*, mas é preferencialmente avaliada *in vivo*. Consequentemente, será reconhecido que com relação à WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, a serem considerados biologicamente ativos de acordo com a presente invenção, não é necessário para a WNT5A, fragmento ou derivado apresentar atividade biológica mensurável por meio tanto *in vitro* quanto *in vivo*, mas apenas que a WNT5A, fragmento ou derivativo seja capaz de apresentar atividade biológica que possa ser medida *in vitro* ou *in vivo*, e preferivelmente atividade que possa ser medida *in vivo*.

Adequadamente, a atividade biológica de WNT5A, seus fragmentos ou derivados, pode ser medida com referência à capacidade da WNT5A, ou fragmento ou derivados desta, para prevenir, reduzir ou inibir as cicatrizes.

Em consideração a concisão, as referências no presente relatório descritivo à "inibição" da cicatriz devem ser tomadas, exceto onde o contexto exija de outra forma, para englobar também a prevenção ou redução da cicatriz. Similarmente, referências ao "tratamento" de um distúrbio fibrótico, ou distúrbios, devem, exceto quando o contexto exija de outra maneira, ser tomadas a fim de abranger também a prevenção de distúrbios fibróticos.

A medida de inibição de cicatrizes ou tratamento de um distúrbio fibrótico, que pode ser necessária para atingir um efeito terapêutico será evidente, e pode ser facilmente determinada, por um clínico responsável pelo cuidado do paciente. O clínico pode determinar uma avaliação adequada do grau de inibição da cicatriz, ou o tratamento de um distúrbio fibrótico, conseguido através da WNT5A ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes. Uma tal avaliação, por exemplo, pode ser feita com referência aos métodos sugeridos de medição aqui descritos.

A medida em que a inibição de cicatrizes ou o tratamento de distúrbios fibróticos é alcançado pode ser avaliado com referência aos efeitos que surgem em pacientes humanos tratados com os métodos ou medicamentos da invenção. Alternativamente, a inibição da cicatriz, ou tratamento de distúrbios fibróticos, pode ser avaliada com referência às investigações experimentais utilizando modelos adequados *in vitro* ou *in vivo*. O uso de modelos experimentais para investigar a inibição de cicatrizes ou tratamento de distúrbios fibróticos pode ser particularmente preferível na avaliação da eficácia terapêutica de fragmentos ou derivados de WNT5A, ou no estabelecimento de quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A, seus fragmentos ou derivados.

Modelos animais de cicatrizes ou distúrbios fibróticos representam modelos experimentais preferíveis para a avaliação *in vivo* da extensão da inibição de cicatrizes ou do tratamento de distúrbios fibróticos que pode ser atingido. Modelos adequados serão conhecidos por aqueles versados na técnica. Exemplos de tais modelos são descritos abaixo para fins ilustrativos.

Os fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes de WNT5A, e quantidades terapeuticamente eficazes da WNT5A, seus fragmentos ou derivados, podem ser selecionados com referência a qualquer uma ou todas as considerações descritas no presente relatório descriptivo.

O tratamento de feridas com WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, pode resultar na inibição de cicatrizes que pode ser de outra maneira esperado de ocorrer na cicatrização de feridas não tratadas. Os inventores acreditam que o tratamento desta forma pode ter um impacto na aparência tanto macroscópica quanto microscópica das cicatrizes formadas a partir das feridas tratadas; macroscopicamente as cicatrizes podem ser menos perceptíveis e se misturar com a pele circundante, microscopicamente as cicatrizes podem apresentar uma estrutura interna mais próximo da estrutura de pele normal. Em particular, microscopicamente uma cicatriz tratada pode apresentar uma abundância e orientação de moléculas ECM tais como o colágeno que é mais similar àquela encontrada na pele não ferida do que àquela encontrada em cicatrizes não trata-

das.

Para os presentes propósitos uma "ferida não tratada" deve ser considerada ser qualquer ferida que não tenha sido exposta a uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta. Uma "ferida tratada com controle" será uma ferida não tratada em que uma substância de controle foi administrada.

Em contraste, uma "ferida tratada" pode ser considerada como uma ferida exposta a uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta. Assim, uma ferida tratada pode ser uma ferida que tenha sido suprida de um medicamento da invenção, ou que tenha recebido tratamento de acordo com os métodos da invenção.

A inibição de cicatrizes, utilizando os medicamentos e métodos da invenção, pode ser efetuada em qualquer local do corpo e em qualquer tecido ou órgão até agora investigado. Para fins ilustrativos a atividade anti-cicatrizes dos medicamentos e métodos da invenção serão principalmente descritas com referência à inibição de cicatrizes que podem ser realizadas na pele (o maior órgão do corpo). No entanto, a pessoa versada imediatamente observará que muitos dos fatores que podem ser relevantes quando se considera a inibição da cicatriz na pele também será relevante para a inibição da cicatriz em outros órgãos ou tecidos.

Na pele, o tratamento pode melhorar a aparência macroscópica e microscópica das cicatrizes; macroscopicamente as cicatrizes podem ser menos visíveis e se misturar com a pele circundante, microscopicamente as fibras de colágeno dentro da cicatriz podem ter morfologia e organização que é mais semelhante àquelas na pele circundante. A prevenção, redução ou inibição de cicatrizes no contexto do presente invenção deve ser entendida de englobar qualquer grau de prevenção, redução ou inibição na cicatrização quando comparado com o nível da cicatriz que ocorre em uma ferida tratada com controle ou não tratada (conforme definido acima). Em todo o relatório descritivo referências a "prevenção", "redução" ou "inibição" de cicatrizes devem ser de uma forma geral tomadas, exceto se o contexto exija

de outra maneira, para serem mecanismos equivalentes que são totalmente manifestados na atividade anticicatriz.

A inibição de cicatrizes obtida utilizando métodos e medicamentos da invenção pode ser avaliada e/ou medida com referência a aparência microscópica ou macroscópica de uma cicatriz tratada quando comparada com a aparência de uma cicatriz não tratada. A inibição da cicatriz também pode ser adequadamente avaliada com referência a aparência tanto macroscópica quanto microscópica de uma cicatriz tratada. Pode geralmente ser preferível que a inibição da cicatriz seja avaliada com referência à estrutura microscópica das cicatrizes.

Para os presentes propósitos uma "cicatriz tratada" pode ser definida como uma cicatriz formada na cicatrização de uma ferida tratada, enquanto que uma "cicatriz não tratada" pode ser definida como a cicatriz formada na cicatrização de uma ferida não tratada, ou um ferimento tratado com placebo ou cuidados padrão (exemplos de feridas tratadas com controle). A comparação adequada de cicatrizes pode preferivelmente ser comparada com a cicatriz tratada com referência à idade, local, tamanho e paciente da cicatriz.

Em consideração ao aspecto macroscópico de uma cicatriz resultante de uma ferida tratada, o grau de cicatrização, e consequentemente a magnitude de qualquer inibição da cicatriz alcançada, pode ser avaliado com referência a qualquer um de vários parâmetros.

Os parâmetros adequados para a avaliação macroscópica das cicatrizes podem incluir:

- 25      i)      Cor da cicatriz. As cicatrizes podem ser tipicamente hipopigmentadas ou hiperpigmentadas no que refere-se à pele circundante. A inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a pigmentação de uma cicatriz tratada mais estritamente se aproxima da pela sem cicatriz do que da pigmentação de uma cicatriz não tratada. Similarmente, as cicatrizes podem ser  
30      mais avermelhadas do que a pele circundante. Neste caso, a inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando o rubor de uma cicatriz tratada desaparece mais cedo, ou mais completamente, ou se assemelha mais estritamente

com a aparência da pele circundante, em comparação com uma cicatriz não tratada.

- ii) Altura da cicatriz. As cicatrizes podem tipicamente ser elevadas ou empurradas para baixo quando comparadas com a pele circundante. A inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a altura de uma cicatriz tratada mais estritamente se aproxima da pele sem cicatriz (isto é, não é nem elevada nem empurrada para baixo) do que a altura de uma cicatriz não tratada.
- iii) Textura superficial da cicatriz. As cicatrizes podem ter superfícies que são relativamente mais lisas do que a pele circundante (dando origem a uma cicatriz com uma aparência "brilhante") ou que são mais ásperas do que a pele circundante. A inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a textura superficial de uma cicatriz tratada mais estritamente se aproxima da pele sem cicatriz do que a textura superficial de uma cicatriz não tratada.
- iv) Rigidez da cicatriz. A composição e estrutura anormais das cicatrizes significam que são normalmente mais espessas do que a pele intacta em torno da cicatriz. Neste caso, a inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a rigidez de uma cicatriz tratada mais estritamente se aproxima da pele sem cicatriz do que a rigidez de uma cicatriz não tratada.

Uma cicatriz não tratada preferivelmente apresentará inibição da formação de cicatriz como avaliada com referência a pelo menos um dos parâmetros para a avaliação macroscópica acima demonstrada. Mais preferivelmente uma cicatriz tratada pode demonstrar formação de cicatrizes inibida com referência a pelo menos dois dos parâmetros, ainda mais preferivelmente pelo menos três dos parâmetros, e o mais preferível todos os quatro destes parâmetros. Uma avaliação global da formação de cicatrizes pode ser feita utilizando, por exemplo, uma Escala Analógica Visual ou uma escala de avaliação digital.

Os parâmetros apropriados para a avaliação microscópica das cicatrizes podem incluir:

- i) Espessura das fibras da matriz extracelular (ECM). As cicatrizes tipicamente contêm fibras da ECM mais finas do que as encontradas na pele

circundante. Esta propriedade é ainda mais pronunciada no caso de quelóide e cicatrizes hipertróficas. A inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a espessura das fibras da ECM em uma cicatriz tratada mais se aproxima da espessura das fibras da ECM encontradas na pele sem cicatriz

5 do que a espessura das fibras encontradas em uma cicatriz não tratada.

ii) Orientação das fibras da ECM. As fibras da ECM observadas em cicatrizes tendem a apresentar um maior grau de alinhamento umas com as outras do que aquelas observadas na pele sem cicatriz (as quais possuem uma orientação aleatória e frequentemente referidas como "tecelagem de cesta"). A ECM das cicatrizes patológicas tais como quelóides e cicatrizes hipertróficas pode apresentar orientações ainda mais anômalas, muitas vezes formando grandes "redemoinhos" ou "cápsulas" de moléculas da ECM. Consequentemente, a inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a orientação das fibras da ECM em uma cicatriz tratada mais se aproxima da orientação das fibras da ECM observadas na pele sem cicatriz do que a orientação de tais fibras encontradas em uma cicatriz não tratada.

iii) Composição da ECM da cicatriz. A composição de moléculas da ECM presentes nas cicatrizes mostra as diferenças entre o que se encontra na pele normal, com uma redução na quantidade de elastina presente na ECM das cicatrizes. Assim, a inibição de cicatrizes pode ser demonstrada quando a composição das fibras da ECM na derme de uma cicatriz tratada mais se aproxima da composição de tais fibras encontradas na pele sem cicatriz do que a composição encontrada em uma cicatriz não tratada.

iv) Celularidade da cicatriz. As cicatrizes tendem a conter relativamente menos células do que a pele se cicatriz. Será, portanto, observado que a inibição da cicatriz pode ser demonstrada quando a celularidade de uma cicatriz tratada mais se aproxima da celularidade da pele sem cicatriz do que a celularidade de uma cicatriz não tratada.

É curioso observar que a aparência geral das cicatrizes é pouco influenciada pela cobertura epidérmica da cicatriz, mesmo embora esta seja a parte da cicatriz que é vista pelo observador. Em vez disso, os inventores acham que as propriedades da neoderme produzida na resolução da respon-

ta de cicatrização de ferida têm muito maior impacto sobre a percepção do grau de cicatrização, bem como sobre a função do tecido cicatrizado. Consequentemente as avaliações de critérios associados com a derme, ao invés da epiderme, comprovam ser o mais útil para determinar a inibição da cicatriz.

5

A espessura das fibras da ECM e a orientação das fibras da ECM podem ser parâmetros favorecidos, para avaliar a inibição da cicatriz. Uma cicatriz tratada pode preferivelmente ter orientação da ECM melhorada (isto é, orientação que é mais semelhante à pele não ferida do que é a orientação em uma cicatriz não tratada).

10

Uma cicatriz tratada preferivelmente demonstrará a inibição da cicatriz como avaliada com referência a pelo menos um dos parâmetros para avaliação microscópica acima demonstrada. Mais preferivelmente uma cicatriz tratada pode demonstrar a inibição da cicatriz com referência a pelo menos dois dos parâmetros, ainda mais preferivelmente pelo menos três dos parâmetros, e o mais preferível todos os quatro destes parâmetros.

A inibição da cicatriz que ocorre em uma ferida tratada pode ainda ser avaliada com referência aos parâmetros adequados utilizados na:

i) avaliação clínica macroscópica das cicatrizes, particularmente a avaliação

20

de cicatrizes após um motivo;

ii) avaliação das imagens fotográficas de cicatrizes;

iii) avaliação dos moldes de silicone ou moldes de gesso positivos produzidos de moldes de silicone das cicatrizes, e

iv) avaliação microscópica das cicatrizes, por exemplo, por análise histológica da estrutura microscópica das cicatrizes.

Será observado que a inibição da cicatriz de uma ferida tratada pode ser indicada mediante a melhora de um ou mais de tais parâmetros adequados, e que no caso de inibição como avaliada com referência a vários parâmetros estes parâmetros podem ser combinados a partir de diferentes esquemas de avaliação (por exemplo, inibição como avaliada com referência a pelo menos um parâmetro usado na avaliação macroscópica e pelo menos um parâmetro usado na avaliação microscópica).

30

A inibição da cicatriz pode ser demonstrada através de uma melhora em um ou mais parâmetros que indicam que uma cicatriz tratada mais se aproxima da pele sem cicatriz com referência ao(s) parâmetro(s) selecionado(s) do que faz uma cicatriz não tratada ou de controle.

5 Os parâmetros adequados para a medição crônica e avaliação de cicatrizes podem ser selecionados com base em uma variedade de medições ou avaliações incluindo aquelas descritas por Beausang et al (1998) e van Zuijlen et al (2002).

Tipicamente, os parâmetros adequados podem incluir:

10 1. Avaliação no que refere-se à contagem de cicatriz da Escala Visual Analógica (VAS).

A prevenção, redução ou inibição de cicatriz pode ser demonstrada por uma redução na pontuação da VAS de uma cicatriz tratada quando comparada a uma cicatriz de controle. Uma VAS adequada para utilização 15 na avaliação de cicatrizes pode ser baseada no método descrito por Beausang et al. (1998).

2. Avaliação no que refere-se a uma escala categórica.

A prevenção, redução ou inibição de cicatriz pode ser determinada pela atribuição das cicatrizes em diferentes categorias, por exemplo 20 pouco perceptível, combina bem com a pele normal, distinto da pele normal, etc; ou através da comparação de uma cicatriz tratada ou não tratadas e atribuição de eventuais diferenças entre os mesmos com as categorias, por exemplo, leve, moderada, grave etc. Esta avaliação pode ser feita pelo paciente, pelo investigador, por um painel independente, quer sobre o paciente 25 ou sobre fotografias/moldes.

3. Altura da cicatriz, largura da cicatriz, perímetro da cicatriz, área da cicatriz ou volume da cicatriz.

A altura e a largura das cicatrizes podem ser medidas diretamente sobre o paciente, por exemplo, através da utilização de dispositivos 30 de medição manual tais como compassos de calibre. A largura, perímetro e a área da cicatriz pode ser medida diretamente sobre o paciente, mediante a análise de imagem de fotografias da cicatriz, ou em moldes de gesso de im-

pressões da cicatriz. A pessoa versada também estará mais consciente de outros métodos não invasivos e dispositivos que podem ser usados para investigar os parâmetros adequados, incluindo moldagem de silicôna, ultrassom, profilometria tridimensional ótica e Formação de Imagem por Resonância Magnética de alta resolução.

A inibição da cicatriz pode ser demonstrada por uma redução na altura, largura, área, perímetro e volume, ou qualquer combinação destas, de uma cicatriz tratada em comparação com uma cicatriz não tratada.

4. Aparência e/ou cor da cicatriz comparada com a pele sem cicatriz circundante.

A aparência ou cor de uma cicatriz tratada pode ser comparada com aquela da pele sem cicatriz circundante, e as diferenças (se houver) comparadas com a diferença entre a aparência e cor das cicatrizes não tratadas e pele sem cicatrizes. Uma tal comparação pode ser feita com base em uma avaliação visual das respectivas cicatrizes e pele sem cicatriz. O aparecimento de uma cicatriz pode ser comparado com a pele sem cicatriz com referência à questão de saber se a cicatriz é mais clara ou mais escura, ou mais avermelhada, do que a pele sem cicatrizes. As respectivas cores das cicatrizes e pele podem ser perfeitamente acompanhadas de uma outra, ligeiramente mal combinada, obviamente incompatível ou grosseiramente inadequada.

Alternativa ou adicionalmente à avaliação visual, existem vários dispositivos de análise colorimétrica não invasivos que são capazes de fornecer dados com relação à pigmentação de cicatrizes e pele sem cicatrizes, bem como vermelhidão da pele (que pode ser um indicador do grau de vascularidade presente na cicatriz ou pele). Exemplos de tais dispositivos incluem o espectrofotômetro X-rite SP-62, Minolta Chronometer CR-200/300; Labscan 600; Dr. Lange Micro Colour; Derma Spectrometer; medidor de fluxo laser-Doppler e escopo da Análise Intracutânea Espectrofotométrica (SI-A).

A inibição da cicatriz pode ser demonstrada por uma menor magnitude da diferença entre a aparência ou cor das cicatrizes tratadas e

pele sem cicatriz do que entre as cicatrizes não tratadas e pele sem cicatriz.

#### 5. Distorção e desempenho mecânico da cicatriz

A distorção de cicatriz pode ser avaliada pela comparação visual de uma cicatriz e pele sem cicatriz. Uma comparação adequada pode classificar uma cicatriz selecionada como não causando nenhuma distorção, distorção leve, distorção moderada ou distorção grave.

O desempenho mecânico de cicatrizes pode ser avaliado utilizando vários métodos não invasivos e dispositivos baseados em sucção, pressão, torção, tensão e acústica. Exemplos adequados de dispositivos conhecidos capazes de utilizar na avaliação do desempenho mecânico de cicatrizes incluem Indentometer, Cutometer, Reviscometer, análise da pele visco-elástica, Dermaflex, Durometer, Dermal Torque Meter, Elastometer.

A inibição da cicatriz poderá ser demonstrada através de uma redução na distorção provocada pelas cicatrizes tratadas em comparação com a que é causada pelas cicatrizes não tratadas. Também será observado que a inibição da cicatriz pode ser demonstrada pelo desempenho mecânico da pele sem cicatriz sendo mais semelhante a aquele de cicatrizes tratadas que das cicatrizes não tratadas.

#### 6. Contorno da cicatriz e textura da cicatriz

O contorno da cicatriz pode ser investigado por meio de avaliação visual. Os parâmetros adequados a considerar em uma tal avaliação incluem, quer sim quer não, uma cicatriz que é igualada com a pele circundante, levemente suntuosa, ligeiramente denteada, hipertrófica ou quelóide. A textura de um cicatriz pode ser avaliada com referência ao aspecto da cicatriz, e isto também pode ser realizada por uma avaliação visual para determinar se a cicatriz é, por exemplo, mate ou brilhante ou possui uma aparência áspera ou lisa quando comparada com a pele sem cicatriz.

A textura da cicatriz pode adicionalmente ser avaliada com referência à questão de saber se a cicatriz tem a mesma textura como a pele sem cicatriz (textura normal), se é apenas palpável, firme ou dura em comparação com pele sem cicatriz. A textura das cicatrizes também pode ser avaliada com referência à escala de Hamilton (descrita em Crowe et al,

1998).

- Além das técnicas demonstradas acima, há muitos dispositivos de profilometria não invasivos que utilizam métodos óticos ou mecânicos para a avaliação do contorno e/ou textura da cicatriz. Tais avaliações podem 5 ser realizadas sobre o corpo do paciente, ou, por exemplo, sobre as impressões de molde de silicone das cicatrizes, ou em moldes positivos produzidos a partir de tais impressões.

A inibição da cicatriz pode ser demonstrada, no caso das cicatrizes tratadas terem perfis e texturas de cicatriz mais comparáveis à pele sem 10 cicatriz do que as cicatrizes não tratadas.

#### Avaliações Fotográficas

##### Painel Leigo Independente

A avaliação fotográfica das cicatrizes tratadas e não tratadas pode ser executada por um painel leigo independente de avaliadores usando 15 fotografias padronizadas e calibradas das cicatrizes. As cicatrizes podem ser avaliadas por um painel leigo independente para fornecer dados categóricos de classificação (por exemplo, para que uma determinada cicatriz tratada seja "melhor", "pior" ou "indiferente" quando comparado com uma cicatriz não tratada) e dados quantitativos utilizando uma Escala Analógica Visual 20 (VAS) com base no método descrito por Beausang et al. (1998). A captura destes dados pode fazer uso de softwares adequados e/ou sistemas eletrônicos como descrito no pedido de patente copendente do requerente.

##### Painel de Peritos

A avaliação fotográfica das cicatrizes tratadas e não tratadas 25 pode alternativa ou adicionalmente ser executada por um painel de avaliadores peritos utilizando fotografias padronizadas e calibradas das cicatrizes a serem avaliadas. O painel de peritos pode preferivelmente consistir de indivíduos versados na técnica, exemplos adequados dos quais incluem cirurgiões plásticos e cientistas tendo formações técnicas pertinentes.

30 Tal avaliação pode fornecer dados categóricos, como descrito acima, ou no que refere-se à comparação de um tempo longo de imagens de cicatrizes selecionadas tratadas e não tratadas.

As avaliações adequadas que podem ser úteis na avaliação da inibição da cicatriz incluem:

Identificação da melhor cicatriz dentro de uma série de cicatrizes. Para os propósitos da presente invenção a melhor cicatriz pode ser considerada ser aquela que mais se assemelhe à pele circundante. Uma vez que a melhor cicatriz foi identificada a magnitude da diferença entre as cicatrizes pode ser considerada, por exemplo, se a diferença entre as cicatrizes for discreta ou evidente. Outros parâmetros que podem ser considerados incluem o tempo mais inicial após a formação da cicatriz em que uma diferença entre as cicatrizes pode ser detectada, o tempo pós-formação no qual a diferença entre as cicatrizes é mais evidente (ou alternativamente a conclusão de que a diferença continua após o último ponto do tempo avaliado), assim como a consideração se ou não a melhor cicatriz permanece consistentemente melhor.

Consideração também pode ser dada se ou não uma cicatriz é consistentemente mais vermelha do que a outra, e se a vermelhidão desaparece ao longo dos pontos de tempo considerados (ou continua após o último ponto de tempo) e sendo assim em que momento após a formação da cicatriz. Um painel de peritos também pode considerar em que momento após a formação em qualquer diferença na vermelhidão torna-se detectável, assim como o tempo pós-formação no qual a diferença na vermelhidão é mais óbvia.

Um painel de peritos também pode considerar se ou não parte de uma cicatriz tratada ou não tratada é consistentemente mais clara do que a outra, ou mais clara do que a pele sem cicatriz. No caso em que uma diferença na palidez é detectável, consideração pode ser dada ao período após a formação de cicatriz em que a diferença pode ser detectada, o momento em que a diferença é mais evidente, e o momento em que a diferença desaparece.

Um outro parâmetro que pode ser avaliado por um painel de peritos é a textura das cicatrizes tratadas e não tratadas. Na comparação de cicatrizes tratadas e não tratadas o painel de peritos pode considerar que as

cicatrizes possuem a textura mais semelhante àquela da pele sem cicatriz, o tempo mais no início após a formação de cicatriz em que qualquer diferença de textura pode ser detectada, o tempo pós-formação em que qualquer diferença é mais evidente, e o tempo em que qualquer diferença desaparece.

5 A comparação das cicatrizes tratadas e não tratadas pode ainda avaliar qual das cicatrizes é mais estreita, e qual das cicatrizes é mais curta. Consideração também pode ser dada para a forma da cicatriz e para a proporção da margem da cicatriz que é distinguível da pele circundante. Tal como com as avaliações visuais e avaliações de cor descritas anteriormente, 10 a presença, grau e localização da hiperpigmentação também pode ser considerada.

#### Avaliação clínica

Um clínico, investigador ou não, ou um painel independente de clínicos, pode avaliar a(s) cicatriz(es) em um paciente usando qualquer um 15 dos parâmetros anteriores, por exemplo, VAS, cor, escalas categóricas etc.

#### Avaliação do Paciente

O paciente pode avaliar as suas próprias cicatrizes e/ou comparar as cicatrizes por meio de um questionário estruturado. Este questionário pode medir a sua satisfação com a cicatriz, bem como a combinação da cicatriz com a pele circundante, assim como o efeito da cicatriz na sua vida quotidiana, por exemplo, se ele a esconde com roupas, evita expô-la; assim como os sintomas da cicatriz, por exemplo, coceira, dor, parestesia. A inibição da cicatriz pode ser determinada pela cicatriz tratada sendo avaliada melhor, causando menos problemas ao paciente, causando menos e menores sintomas de cicatriz, e com um aumento na satisfação do paciente em comparação com uma cicatriz não tratada.

#### Análise Macroscópica

Como observado acima, uma das maneiras em que a qualidade das cicatrizes tratadas e não tratadas pode ser comparada é pela avaliação 30 microscópica. A avaliação microscópica da qualidade de cicatriz pode tipicamente ser realizada utilizando cortes histológicos das cicatrizes. O processo de microscopicamente avaliar e medir as cicatrizes pode levar em

consideração os dados categóricos baseados nos seguintes parâmetros adequados:

1. Organização do colágeno. Na avaliação de organização do colágeno referência pode ser feita à orientação das fibras de colágeno presentes na cicatriz, à densidade de tais fibras e espessura da fibra de colágeno na derme papilar e reticular. Uma inibição da cicatriz pode ser indicada quando uma cicatriz tratada contiver organização de colágeno que mais se aproxima daquela observada na pele não ferida do que a organização nas cicatrizes não tratadas ou tratadas com controle.
- 5 10 15 20 25 30 1. Abundância de componentes da ECM. As cicatrizes tipicamente contêm uma quantidade aumentada de componentes da ECM tal como colágeno, quando comparadas com a pele não ferida. Uma inibição de cicatriz pode ser indicada quando uma cicatriz tratada contiver abundância reduzida de componentes da ECM, quando comparada com as cicatrizes não tratadas ou tratadas com controle.
3. Avaliação de escala analógica visual (VAS) da organização e abundância de colágeno na derme papilar e na derme reticular também pode fornecer um índice útil de qualidade de cicatriz.
4. Angiogênese e Inflamação. Consideração pode ser dada ao número de vasos sanguíneos presentes, ao tamanho dos vasos sanguíneos presentes a evidência de inflamação, incluindo uma avaliação de qualquer nível de inflamação presente. Uma inibição de cicatrizes pode ser indicada quando uma cicatriz tratada contiver vasos sanguíneos e células inflamatórias em quantidades e disposições que se aproximam daquelas observadas na pele não ferida do que daquelas observadas nas cicatrizes não tratadas ou tratadas com controle.

Outros aspectos que podem ser levados em conta na avaliação da qualidade microscópica das cicatrizes incluem elevação ou depressão da cicatriz em relação à pele sem cicatriz circundante, e a proeminência ou visibilidade da cicatriz na interface dérmica normal.

Será visto que as avaliações acima descritas permitem a geração de dados de classificação da cicatriz que é capaz de fornecer uma indi-

cação quanto ao fato de uma cicatriz tratada é melhor, pior ou indiferente em comparação com uma cicatriz de controle, não tratada ou outro comparador adequado.

Além dos dados categóricos, dados quantitativos (de preferência em relação aos parâmetros acima) podem ser gerados usando análise de imagem em combinação com técnicas adequadas de visualização. Exemplos de técnicas de visualização adequadas que podem ser empregados na avaliação da qualidade da cicatriz são manchas histológicas específicas ou imuno-rotulagem, onde o grau de coloração ou rotulagem presente pode ser quantitativamente determinado pela análise de imagem.

Os dados quantitativos podem ser úteis e facilmente produzidos em relação aos seguintes parâmetros:

1. Largura, altura, elevação, volume e área da cicatriz.
2. Quantidade, tamanho, área (isto é, seção transversal) e localização de vasos sanguíneos.
3. Grau de inflamação, quantidade, localização e populações/tipos de células inflamatórias presentes.
4. Organização de colágeno, espessura da fibra de colágeno, densidade da fibra de colágeno.
5. Número e orientação dos fibroblastos.
6. Quantidade e orientação de outras moléculas da ECM, por exemplo, elastina, fibronectina.

A prevenção, redução ou inibição de cicatrizes pode ser demonstrada por uma alteração em qualquer um dos parâmetros considerados acima, tal que uma cicatriz tratada mais estritamente se pareça com a pele sem cicatriz mais do que uma cicatriz de controle ou não tratada (ou outro comparador adequado).

As avaliações e parâmetros debatidos acima são adequados para avaliação dos efeitos de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, quando comparados com o tratamento médico de controle, placebo ou padrão em animais ou seres humanos. Testes estatísticos apropriados podem ser usados para analisar os conjuntos de dados gerados a partir de diferen-

tes tratamentos a fim de investigar o significado dos resultados.

Preferivelmente a inibição da cicatrizes pode ser demonstrada com referência a mais do que um parâmetro. Mais preferivelmente a inibição da cicatriz pode ser demonstrada com referência tanto a um parâmetro clínico (isto é, observada sobre o paciente) quanto a um parâmetro fotográfico. Ainda mais preferivelmente a inibição de cicatrizes pode ser demonstrada com referência a um parâmetro clínico, um parâmetro fotográfico, e também a um parâmetro de avaliação microscópica (por exemplo, um parâmetro histológico). O mais preferível a inibição de cicatrizes pode ser demonstrada com referência a uma pontuação de VAS clínica, pontuação e classificação de VAS de painel leigo externo (a partir de imagens fotográficas) e pontuação de VAS microscópica da derme reticular.

A inibição de cicatrizes que pode ser alcançada utilizando quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, pode ser de benefício em quase todas as circunstâncias onde a cicatriz não ferida ocorre de outra maneira.

Os parágrafos que seguem não são de modo algum destinados a limitar o uso ao qual os métodos e medicamentos da invenção podem ser colocados, mas podem fornecer orientações úteis quanto aos contextos nos quais eles podem ser desejados para inibir a formação de cicatriz através da utilização de quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente ativos.

A utilização de métodos e de medicamentos da invenção para inibir cicatrizes pode efetuar uma notável melhora na aparência cosmético de uma área lesada assim tratada. As considerações cosméticas são importantes em vários contextos clínicos, particularmente quando as feridas são formadas nos locais proeminentes do corpo tal como o rosto, pescoço e mãos. Consequentemente, é uma outra modalidade preferida que os medicamentos e métodos da invenção sejam usados para inibir cicatrizes em locais onde é desejável melhorar a aparência cosmética de uma cicatriz formada. De fato, é uma modalidade preferida que os medicamentos e métodos da invenção sejam usados para inibir as cicatrizes associadas com a

cirurgia estética. Visto que a grande maioria das cirurgias estéticas consistem em procedimentos cirúrgicos eletivos, é facilmente possível administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, antes da cirurgia, e/ou imediatamente 5 após ao fechamento da ferida, por exemplo, com suturas, e este uso representa uma modalidade particularmente preferida da invenção. No caso de procedimentos cirúrgicos eletivos uma via preferida pela qual a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, pode ser administrada é através da injeção intradérmica. Tais injeções podem formar bolhas 10 levantadas, que depois podem ser cortadas como parte do procedimento cirúrgico, ou alternativamente a bolha pode ser levantada mediante a injeção das margens da ferida após o ferimento ter sido fechado, por exemplo, por suturas.

O resultado estético dos procedimentos cirúrgicos também é 15 uma consideração importante na cirurgia plástica, bem como a utilização de métodos ou medicamentos da invenção para inibir as cicatrizes associadas com a cirurgia plástica constitui uma outra modalidade preferida da invenção.

Além do seu impacto cosmético, a cicatriz da pele é responsável 20 por vários efeitos deletérios que atinge aqueles que sofrem de tais cicatrizes. Por exemplo, a cicatriz da pele pode estar associada com a redução da função física e mecânica, particularmente no caso de cicatrizes contráteis (tais como cicatrizes hipertróficas) e/ou situações em que as cicatrizes são formadas em todas as articulações. Nestes casos, as propriedades mecânicas 25 alteradas da pele com cicatrizes, em oposição a pele sem cicatrizes, e os efeitos da contração da cicatriz podem levar a um movimento dramaticamente restrito de uma junta (articulação) assim afetada. Consequentemente, é uma modalidade preferida que os medicamentos e métodos adequados da invenção sejam usados para inibir cicatrizes de feridas que abrangem as 30 articulações do corpo. Em uma outra modalidade preferida, os medicamentos e métodos adequados da invenção podem ser usados para inibir cicatrizes de feridas com risco aumentado de formar uma cicatriz contrátil.

É reconhecido que as feridas resultantes de lesões de queimaduras (que para os propósitos da presente invenção podem ser tomadas a fim de abranger lesões de queimadura envolvendo líquidos ou gases quentes) podem se prolongar sobre grandes áreas de um indivíduo assim afligido.

- 5 Consequentemente, as queimaduras podem dar origem a formação de cicatrizes abrangendo uma grande proporção de um corpo do paciente. Esta grande extensão de cobertura aumenta o risco de que a cicatriz formada cobrirá áreas de importância estética elevada (tal como a face, pescoço, braços ou mãos) ou de importância mecânica (particularmente as regiões  
10 que abrangem ou circundam as articulações). As lesões de queimaduras causadas por líquidos quentes são frequentemente sofridas por crianças (por exemplo, como um resultado de tomar panelas, chaleiras ou seme-  
lhantes) e, devido ao tamanho corporal relativamente menor das crianças, são particularmente susceptíveis de causar extensos danos sobre uma pro-  
15 porção elevada da área corporal. Além disso, as lesões por queimaduras, e particularmente àquelas sofridas pelas crianças, possuem um risco elevado de produção de cicatrizes hipertróficas patológicas do tipo descrito abaixo. Tais cicatrizes hipertróficas podem aumentar os efeitos maléficos tanto cos-  
méticos quanto mecânicos associados com as cicatrizes após queimaduras.

- 20 É uma modalidade preferível que os medicamentos e métodos da invenção sejam usados para inibir as cicatrizes resultantes de lesões por queimaduras.

- A medida de formação da cicatriz, e consequentemente a exten-  
25 são do comprometimento cosmético ou outro que pode ser causada pela cicatriz, também pode ser influenciada por fatores tais como a tensão do lo-  
cal em que a ferida é formada. Por exemplo, sabe-se que a pele sob tensão relativamente elevada (tal como aquela que se prolonga sobre o tórax, ou associada com as linhas de tensão) pode ser propensa à formação de cica-  
30 trizes mais graves do que em outros locais do corpo. Assim, em uma moda-  
lidade preferida, os medicamentos e métodos adequados da invenção po-  
dem ser usados para inibir as cicatrizes de feridas localizadas em locais de alta tensão da pele. Existem muitos procedimentos cirúrgicos que podem ser

utilizados na revisão da cicatriz para permitir o realinhamento das feridas e cicatrizes de tal que elas são sujeitas à tensão reduzida. Provavelmente, o mais conhecido destes é "plastia Z" em que dois retalhos em forma de V da pele são transpostas para permitir a rotação de uma linha de tensão. Em 5 uma modalidade mais preferida tais medicamentos e métodos da invenção são usados para inibir as cicatrizes de feridas durante a revisão cirúrgica das cicatrizes desfigurantes.

As cicatrizes patológicas podem ter efeitos deletérios mais pronunciados do que as que surgem mesmo como um resultado de cicatrizes 10 normais relativamente graves. Exemplos comuns de cicatrizes patológicas incluem quelóides, cicatrizes hipertróficas e pterígio.

As cicatrizes quelóides (ou quelóides) constituem um exemplo notável de cicatrizes patológicas, e são cicatrizes levantadas que se espalham para além das margens da ferida original e invadem a pele normal circundante. Os quelóides continuam a crescer ao longo do tempo, não regredem espontaneamente, e muitas vezes ocorrem seguinte a excisão cirúrgica. As cicatrizes quelóide ocorrem com igual frequência em homens e mulheres, principalmente a partir de idades de 10 a 30, e podem resultar de piercing, cirurgia, vacinação, tatuagens, mordidas, trauma de contusão e 20 queimaduras. Vários estudos têm sugerido que existe uma predisposição genética subjacente para a formação de quelóide visto que as cicatrizes quelóides são mais prevalentes nas raças de pele escura.

Os quelóides aparecem como cicatrizes elevadas que podem ser tipicamente hiperpigmentadas ou hipopigmentadas em relação ao tecido 25 circundante. Os quelóides podem ser caracterizados na base de sua tendência de crescer para além dos limites iniciais de uma ferida. Em um nível microscópico, os quelóides podem ser caracterizados pela presença de grandes verticilos de colágeno, e pela natureza predominantemente acelulares do interior da lesão.

30 As cicatrizes hipertróficas são cicatrizes levantadas que podem ter uma aparência muito semelhante às lesões quelóides. Ao contrário dos quelóides, as cicatrizes hipertróficas não se expandem para além dos limites

da lesão original e não são propícias à recorrência após excisão. As cicatrizes hipertróficas podem frequentemente sofrer contração, e acredita-se que a natureza contrátil das cicatrizes hipertróficas pode estar associada com os números elevados de miofibroblastos que são frequentemente relatados no âmbito destes tipos de cicatrizes. As cicatrizes hipertróficas podem comumente surgir como um resultado de queimaduras ou ferimentos de escaldadura, e são particularmente comuns entre as crianças.

Pterígio é um crescimento hipertrofiado do tecido subconjuntivo na borda da córnea ou fora dela. O crescimento é tipicamente triangular na forma, com o vértice apontando para a pupila. O pterígio pode interferir com a visão, e pode requerer cirurgia para remover o tecido hipertrofiado. Além disso, o tecido pode, muitas vezes voltar a crescer após a excisão, da mesma forma como as cicatrizes quelóides, exigindo assim múltiplas rodadas de cirurgia.

Reconhece-se que certos tipos de feridas, ou certos indivíduos podem ser predispostos à formação de cicatriz patológica. Por exemplo, indivíduos afro-caribenhos, japonês ou herança mongolóide, ou aqueles tendo uma história familiar de cicatrizes patológicas, podem ser considerados de estar com risco aumentado de cicatriz hipertrófica ou formação de quelóide. Feridas de crianças, e particularmente ferimentos por queimadura de crianças, também estão associadas com a formação aumentada de cicatrizes hipertróficas. Incidências de pterígio podem ser aumentadas entre aqueles nos quais o olho é frequentemente exposto à luz solar intensa ou poeira. Consequentemente é uma modalidade preferida da invenção que os medicamentos e métodos adequados sejam utilizados para inibir as cicatrizes de feridas em que há um risco aumentado de formação de cicatrizes patológicas.

Embora os indivíduos já sujeitos a cicatrizes patológicas sofram de uma predisposição para uma maior formação excessiva de cicatrizes, é muitas vezes clinicamente necessário rever cirurgicamente as cicatrizes hipertróficas ou quelóides, com um risco concomitante de formação de cicatrizes patológicas consequentes. Assim, é uma outra modalidade preferida da

invenção que os medicamentos ou métodos aqui descritos sejam utilizados para inibir a cicatrização de feridas produzidas pela revisão cirúrgica das cicatrizes patológicas.

A capacidade de WNT5A, e seus fragmentos e derivados terapêuticamente eficazes, de inibir a cicatriz é de grande utilidade no tratamento de feridas associadas com procedimentos de enxertia. O tratamento utilizando tais métodos e medicamentos da invenção é de benefício tanto em um sítio doador de enxerto quanto sítios recebedores de enxerto. Os efeitos anticitrizes do tratamento são capazes de inibir a cicatriz que pode de outro modo ocorrer em locais onde o tecido para enxertia é removido, ou que pode estar associado com a cicatrização e a integração do tecidos enxertado. Os inventores acreditam que os métodos e medicamentos da invenção conferem vantagens nos contextos de enxertos utilizando pele, pele artificial ou substitutos de pele.

15 A maioria das utilizações consideradas acima refere-se à prevenção da cicatriz que ocorre como um resultado de ferimentos penetrantes. No entanto, o dano da fibrose também pode ocorrer em muitos tecidos como um resultado de outras lesões. Em particular, a resposta de cicatrização das lesões por esmagamento infligidas nos tendões ou ligamentos pode dar origem à fibrose semelhante a cicatriz, e a invenção deve ser tomada a fim de abranger a prevenção, redução ou inibição de tal fibrose usando os métodos ou medicamentos da invenção.

20 A cicatrização das feridas que envolvem o peritônio (o epitélio que cobre os órgãos internos, e/ou o interior da cavidade do corpo) pode, muitas vezes, dar origem a aderências. Tais aderências são um *sequitur* comum de cirurgia que envolve os tecidos ginecológicos ou intestinais, e as incidências de formação de aderência podem ser aumentadas nas feridas que são sujeitas à infecção (tais como infecções bacterianas) ou exposição a radiação. Os inventores acreditam que a capacidade dos métodos e medicamentos da invenção para inibir as cicatrizes associadas com a cura de tais feridas pode reduzir a ocorrência de aderências. Consequentemente, a utilização de métodos e medicamentos da invenção para impedir a formação de

aderências intestinais ou ginecológicas representa uma modalidade preferida da invenção. Os métodos e medicamentos da invenção também podem ser úteis na inibição da cicatriz, incluindo a formação de aderências, que podem ocorrer na cicatrização de feridas infectadas ou feridas expostas à radiação. De fato, a pessoa versada observará que a utilização dos métodos ou medicamentos da invenção na cicatrização de quaisquer feridas envolvendo o peritônio é uma modalidade preferida. Os medicamentos para este propósito podem ser administrados por lavagem interna, ou em um gel/instilado parenteral ou localmente, por exemplo, a partir de películas ou portadores inseridos no momento da cirurgia.

Cicatriz no olho pode ser inibida por medicamentos da invenção. No caso de cicatrizes na córnea, por exemplo, lesões completamente penetrantes, LASIK ou PRK, a aplicação do medicamento pode ser local, por exemplo, colírios locais, esponja etc. As cicatrizes podem adicionalmente ser avaliadas através da medição da opacidade, ou das propriedades de transmissão/refração, da córnea, por exemplo, utilizando microscopia confocal *in vivo*. As cicatrizes mais profundas no olho, por exemplo, na retina (tal como nos locais de bolhas de alívio da pressão formadas na cirurgia de glaucoma), também podem ser inibidas pelos medicamentos da presente invenção liberados localmente ou em dispositivos ou por injeção.

As cicatrizes no tecido nervoso (periférico ou central) podem ser inibidas pelos medicamentos da invenção. Tais cicatrizes podem surgir como um resultado de cirurgia ou trauma e podem adicionalmente ser avaliadas pelos futuros ensaios de função nervosa, por exemplo, testes sensoriais ou motores. Os inibidores da cicatriz devem melhorar tais resultados futuros.

As cicatrizes nos vasos sanguíneos, por exemplo, seguinte a cirurgia anastomótica, podem levar à hiperplasia mioíntima e redução do volume do lúmen dos vasos sanguíneos. Isto pode ser medido diretamente, por exemplo, utilizando ultra-som, ou indiretamente através do fluxo sanguíneo. A inibição da cicatriz provocada por medicamentos da invenção levaria a uma redução no estreitamento do lúmen dos vasos sanguíneos (restense) e um fluxo sanguíneo mais normal. Agentes da invenção podem ser libe-

rados nos vasos sanguíneos mediante a injeção direta nas paredes do vaso sanguíneo antes da sutura, mediante banho do sítio anastomótico no agente ou por dispositivos locais, por exemplo, sondas.

A cicatriz nos tendões e ligamentos, por exemplo, após a cirurgia 5 ou trauma, pode ser inibida por medicamentos da invenção. A inibição da cicatriz pode ser medida nestes termos pelo restabelecimento da função, por exemplo, capacidade de suportar peso, alongamento, flexibilidade etc.

As vias de administração preferidas pelas quais quantidades terapêuticamente eficazes de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, são 10 administradas, são debatidas mais detalhadamente em outro lugar no relatório descritivo, mas pode ser de uma forma geral preferível que estas moléculas terapêuticas sejam fornecidas pela administração local na ferida cuja cicatriz deve ser inibida. Métodos adequados pelos quais tal administração local pode ser alcançada dependerão da identidade do tecido em questão. 15 As vias de administração preferidas podem incluir injeção local (por exemplo, injeção intradérmica no caso em que se pretende inibir a cicatriz dérmica). Outros meios adequados de administração incluem o uso de medicamentos tópicos, tais como pulverizações; pós; gotas (por exemplo, para o ouvido ou olho); pomadas ou cremes, ou liberação de dispositivos locais, por exemplo, 20 sondas, implantes, polímeros.

Os medicamentos da invenção para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos podem ser formulados e fabricados em qualquer forma que leve em conta a composição a ser administrada a um paciente. Os distúrbios fibróticos frequentemente ocorrerão nos tecidos e órgãos relativamente inacessíveis, e pode ser preferível que a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, sejam administrados sistemicamente. As vias de administração adequadas incluem, sem limitação, oral, transdérmica, inalação, parenteral, sublingual, retal, vaginal e intranasal. Por meio de exemplo, as formulações orais sólidas (tais como comprimidos ou cápsulas) podem ser utilizadas para a prevenção e/ou tratamento de 25 fibrose renal ou cirrose do fígado. As formulações aerossóis para inalação podem ser preferidas para a prevenção e/ou tratamento da doença pulmonar 30

obstrutiva crônica ou outros distúrbios fibróticos dos pulmões e das vias aéreas.

Será observado que muitas das vias de administração descritas acima também podem ser adequadas para a administração tópica a um tecido em que se pretendia prevenir e/ou tratar um distúrbio fibrótico (por exemplo, inalação ou intranasal para a prevenção e/ou tratamento de fibrose associada com o sistema respiratório).

As composições que serão administradas ao paciente podem preferencialmente assumir a forma de uma ou mais unidades de dosagem fornecendo uma quantidade terapeuticamente eficaz, ou uma fração conhecida desta. Métodos de preparação de tais formas de dosagem serão bem-conhecidos da pessoa versada; por exemplo, ver Remington's Pharmaceutical Sciences 18<sup>th</sup> ed. (1990).

Uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, adequada para uso nos métodos ou medicamentos da invenção para prevenir e/ou tratar um distúrbio fibrótico é uma quantidade que é capaz de reduzir a fibrose (conforme avaliada em relação a pelo menos um dos parâmetros debatidos abaixo) associada com o distúrbio fibrótico.

Uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A (ou um fragmento ou derivado desta) pode ser uma quantidade que é eficaz para alcançar uma redução de pelo menos 10 % em comparação com o nível de fibrose que ocorre em um tecido não tratado sujeito ao distúrbio fibrótico. Preferivelmente uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser capaz de atingir pelo menos uma redução de 20 % na fibrose, mais preferivelmente pelo menos 50 %, ainda mais preferivelmente pelo menos 75 % e o mais preferível pelo menos uma redução de 90 % na fibrose em comparação com um tecido fibrótico não tratado.

Os parâmetros adequados que podem ser avaliados na quantificação da fibrose associada com os distúrbios fibróticos serão evidentes para a pessoa versada. Os exemplos que seguem são fornecidas apenas a título de ilustração.

A fibrose associada com os distúrbios fibróticos pode classicamente ser avaliada com referência a o manchamento de tricromo (por exemplo, tricromo de Masson ou tricromo de Mallory) das amostras de biópsia colhidas de um tecido sujeito ao distúrbio fibrótico. Estas amostras podem 5 ser comparadas com os tecidos não fibróticos e com os tecidos de referência representativos das manchas em uma variedade de tecidos sujeitos a fibrose. Os protocolos para o manchamento de tricromo são bem-conhecidos da pessoa versada, e os kits que podem ser utilizados para conduzir o manchamento de tricromo são disponíveis comercialmente.

10 Será observado que em muitos casos pode ser preferível evitar os procedimentos invasivos tais como a coleta de biópsias. Em reconhecimento deste fato vários procedimentos não invasivos foram definidos os quais permitem avaliação da fibrose sem a necessidade de amostras de biópsia. Exemplos de tais procedimentos incluem Fibrotest (FT) e Actitest 15 (AT).

Estes ensaios disponíveis comercialmente utilizam cinco ou seis marcadores bioquímicos de fibrose para uso como uma alternativa não invasiva à biópsia hepática em pacientes com hepatite crônica C ou B, doença hepática alcoólica e esteatose metabólica (por exemplo, o sobrepeso, pacientes com diabetes ou dislipidemia). Através da utilização de tais marcadores bioquímicos, e análise utilizando algoritmos selecionados, estes procedimentos são capazes de determinar os níveis de fibrose no fígado e atividade necroinflamatória. O uso de tais testes é cada vez mais clinicamente aceito como uma alternativa para a biópsia, e os testes são disponíveis 20 25 comercialmente de fornecedores tais como BioPredictive.

Os métodos ou medicamentos da invenção podem ser usados profilaticamente, isto é, antes do ferimento que, de outra forma, levaria à formação de cicatrizes, ou antes do início de um distúrbio fibrótico.

No caso da inibição da cicatriz, isto pode implicar a administração 30 de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, em locais onde nenhuma ferida no momento exista, mas onde uma ferida que, de outra forma, dá origem

a uma cicatriz deve ser formada. Por meio de exemplo, os medicamentos de acordo com a invenção podem ser administrados em locais que devem sofrer feridas como um resultado de procedimentos eletivos (tais como cirurgia), ou em locais que são considerados serem de alto risco de ferimento.

5 Pode ser preferível que os medicamentos da invenção sejam administrados no local por volta da hora do ferimento, ou imediatamente antes da formação de uma ferida (por exemplo, no período de até seis horas antes do ferimento) ou que os medicamentos possam ser administrados em pouco tempo antes do ferimento (por exemplo, até 48 horas antes que uma  
10 ferida seja formada). A pessoa versada observará que os momentos mais preferidos de administração antes da formação de uma ferida serão determinados com referência a vários fatores, incluindo a formulação e via de administração do medicamento selecionado, a dosagem do medicamento a ser administrado, a dimensão e a natureza da ferida a ser formada, e a condição  
15 biológica do paciente (que pode ser determinada com referência aos fatores tais como a idade do paciente, saúde e predisposição às complicações com cicatriz ou cicatrizes adversas). O uso profilático de métodos e medicamentos de acordo com a invenção é uma modalidade preferida da invenção, e é particularmente preferido na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes no  
20 contexto de feridas cirúrgicas.

No caso do tratamento de distúrbios fibróticos, os medicamentos da invenção podem ser administrados em um local de risco elevado de desenvolver um distúrbio fibrótico antes da formação de dito distúrbio. Os locais adequados podem ser aqueles que são observados de serem de risco  
25 elevado para o desenvolvimento de distúrbios fibróticos. Um risco elevado de desenvolvimento de distúrbios fibróticos pode surgir como um resultado de doença, ou como um resultado de fatores ambientais (incluindo a exposição aos agentes fibróticos), ou como um resultado de predisposição genética.

30 Da mesma forma como para a inibição de cicatrizes debatida acima, os medicamentos da invenção podem ser administrados imediatamente antes do início de um distúrbio fibrótico, ou em um momento mais

cedo. A pessoa versada será capaz de estabelecer o momento ideal para a administração de medicamentos da invenção usados para tratar distúrbios fibróticos utilizando técnicas padrão, da mesma forma que para a inibição da cicatriz.

5 Os métodos e medicamentos da invenção também são capazes de inibir cicatrizes se administrados após uma ferida já ter sido formada. É preferível que tal administração deva ocorrer o mais cedo possível após a formação da ferida, mas os agentes da invenção são capazes de inibir as cicatrizes em qualquer momento, até que o processo de cicatrização tenha  
10 sido concluído (isto é, mesmo no caso em que uma ferida já tenha parcialmente se cicatrizado, os métodos e medicamentos da invenção podem ser usados para inibir as cicatrizes em relação à parte não cicatrizada remanescente). Será observado que a "janela" em que os métodos e medicamentos da invenção podem ser usados para inibir a cicatriz é dependente da natureza da ferida em questão (incluindo o grau de dano que tenha ocorrido, e o tamanho da área ferida). Assim, no caso de uma grande ferida, os métodos e medicamentos da invenção podem ser administrados relativamente fora da resposta de cicatrização e ainda assim ser capaz de inibir as cicatrizes, como uma consequência do tempo relativamente prolongado em que grandes  
15 feridas requerem a cura.  
20

Os métodos e medicamentos da invenção podem, por exemplo, preferivelmente ser administrados dentro das primeiras 24 horas após uma ferida ser formada, mas ainda podem inibir a cicatriz se administrados até dez, ou mais, dias após a lesão.

25 Semelhantemente, os métodos e medicamentos da invenção podem ser administrados a um local em que um distúrbio fibrótico já está em desenvolvimento, a fim de evitar que outra fibrose ocorra. Este uso será obviamente vantajoso em situações em que o grau de fibrose que ocorreu antes da administração de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapêutica-  
30 mente eficaz desta, é suficientemente baixo em que o tecido fibrótico ainda é capaz de funcionar.

Os medicamentos da invenção preferivelmente podem ser admi-

nistrados dentro de 24 horas após o aparecimento de fibrose, mas ainda podem ser eficazes quando administrados consideravelmente mais tarde no processo fibrótico. Por exemplo, os medicamentos podem ser administrados dentro de um mês a partir do início da fibrose (ou do diagnóstico de que a fibrose está ocorrendo), ou dentro do sexto mês, ou mesmo um ou mais anos, dependendo do grau de fibrose que já tenha ocorrido, a proporção do tecido efetuado pelo distúrbio fibrótico, bem como a taxa em que o distúrbio fibrótica está progredindo.

Os métodos e medicamentos da invenção podem ser administrados em uma ou mais vezes (quando necessário) de modo a inibir as cicatrizes, e/ou prevenir e/ou tratar um distúrbio fibrótico.

Por exemplo, no caso de inibição de cicatriz, quantidades terapêuticamente eficazes dos medicamentos podem ser administrados a uma ferida tantas vezes quantas forem necessárias até que o processo de cicatrização fosse concluído. Por meio de exemplo, os medicamentos da invenção podem ser administrados diariamente ou duas vezes por dia em uma ferida durante pelo menos os primeiros três dias após a formação da ferida. Os inventores descobriram que regimes envolvendo duas administrações de medicamentos da invenção, a primeira antes da formação de uma ferida e a segunda após a lesão, são particularmente benéficos na inibição da formação de cicatriz. Preferencialmente, tais regimes podem envolver uma primeira administração imediatamente antes da formação de uma ferida e uma segunda administração 24 horas após o ferimento.

Mais preferivelmente os métodos ou medicamentos da invenção podem ser administrados antes e depois da formação de uma ferida. Os inventores descobriram que a administração dos medicamentos da invenção imediatamente antes da formação de uma ferida, seguida pela administração diária de tais agentes durante um ou mais dias após o ferimento, é particularmente eficaz na inibição da cicatriz e/ou tratamento de distúrbios fibróticos.

No caso onde a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficaz, são usados para prevenir e/ou tratar distúrbios fibróticos.

cos, uma quantidade terapeuticamente eficaz suficiente para prevenir o aparecimento ou progressão de um distúrbio fibrótico pode ser fornecida por meio de várias administrações. Os regimes adequados podem envolver a administração mensal, semanal, diária ou duas vezes por dia.

5 Os inventores acreditam que a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, também podem ser utilizados para reduzir as cicatrizes existentes. Consequentemente, o uso de métodos e medicamentos da invenção na redução de cicatrizes existentes constitui uma utilização preferida de acordo com a invenção. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, seus fragmentos ou derivados, pode ser fornecida por meio de qualquer número de administrações adequadas. Os regimes adequados para estas administrações podem ser facilmente elaborados pela pessoa versada usando técnicas (incluindo estudos *in vitro*, estudos animais e humanos) bem conhecidas e estabelecida dentro da indústria farmacêutica.

10

15

A WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, também podem ser utilizados no tratamento dos distúrbios fibróticos existentes de modo a provocar uma redução no grau de fibrose associado com o transtorno. Quantidades terapeuticamente eficazes e regimes de administração preferidos, para uso desta forma, podem ser determinados conforme descrito no resto do relatório descritivo.

Para os propósitos do presente relatório descritivo, por "agente" ou "agente da invenção" significa WNT5A, ou um fragmento terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um derivado terapeuticamente eficaz de WNT5A.

25

20

25

30

Será observado que todos tais agentes podem ser incluídos nos medicamentos de acordo com a invenção, e todos podem ser utilizados nos métodos ou utilizações da invenção. Os medicamentos da invenção representam as composições preferidas pelas quais a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, podem ser administrados de modo a colocar os métodos da invenção em prática.

Será observado que a quantidade de um medicamento da invenção que deve ser fornecido a uma ferida ou distúrbio fibrótico, de modo

que uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, seus fragmentos ou derivados possa ser administrada, depende de vários fatores. Estes incluem a atividade biológica e biodisponibilidade do agente presente no medicamento, que por sua vez depende, entre outros fatores, da natureza do agente e do modo de administração do medicamento. Outros fatores na determinação de uma quantidade terapêutica adequada de um medicamento podem incluir:

- 5 A) A meia-vida do agente no indivíduo sendo tratado.
- B) A condição específica a ser tratada (por exemplo, ferimento agudo ou
- 10 distúrbios fibróticos crônicos).
- C) A idade do indivíduo.
- D) O tamanho do local a ser tratado.

A frequência de administração será igualmente influenciada pelos fatores acima mencionados e particularmente a sua meia-vida do agente escolhido dentro do indivíduo sendo tratado.

Geralmente, quando os medicamentos de acordo com a invenção forem usados para tratar feridas existentes ou distúrbios fibróticos, o medicamento deve ser administrado assim que a ferida ocorre ou o distúrbio fibrótico comece. Em caso de ferimentos ou distúrbios fibróticos que não são imediatamente aparentes, tais como aqueles nos locais internos do organismo, os medicamentos podem ser administrados logo que a ferida ou o distúrbio seja diagnosticado. A terapia com os métodos ou medicamentos de acordo com a invenção deve continuar até que a cicatriz tenha sido inibida, ou o distúrbio fibrótico prevenido ou tratado, com uma satisfação do médico.

25 A frequência de administração dependerá da meia-vida biológica do agente utilizado. Tipicamente, um creme ou pomada contendo um agente da invenção deve ser administrada a um tecido alvo tal que a concentração do agente em um ferimento ou local da fibrose seja mantida em um nível adequado para ter um efeito terapêutico. Isso pode exigir administração diária ou mesmo várias vezes ao dia. Os inventores observaram que a administração de um agente da invenção imediatamente antes do ferimento, com uma outra administração um dia após a lesão, é particularmente eficaz para

a inibição da cicatriz.

Os medicamentos da invenção podem ser administrados por qualquer via apropriada capaz de alcançar o efeito desejado de inibir a cicatriz ou tratar a fibrose, mas é preferível que os medicamentos sejam administrados localmente em uma local da ferida ou um local de um distúrbio fibrótico.

Os inventores observaram que a inibição de cicatrizes pode ser efetuada pela administração de um agente da invenção por injeção em um local da ferida ou local de um distúrbio fibrótico. Por exemplo, no caso de ferimentos dérmicos ou fibrose dérmica, os agentes da invenção podem ser administrados por meio de injeção intradérmica. Assim, um medicamento preferido de acordo com a invenção compreende uma solução injetável de um agente da invenção (por exemplo, para injeção em torno das margens de uma ferida, ou um local provável de ser ferido). As formulações adequadas para uso nesta modalidade da invenção são consideradas abaixo.

Alternativamente, ou adicionalmente, os medicamentos da invenção também podem ser administrados em uma forma tópica para inibir as cicatrizes ou tratar um distúrbio fibrótico. No caso de inibição da cicatriz, tal administração pode ser efetuada como parte do cuidado inicial e/ou frequente da área ferida.

Os inventores observaram que a inibição da cicatriz ou tratamento da fibrose pode ser muito beneficamente efetuada pela aplicação tópica de um agente da invenção a uma ferida ou distúrbio fibrótico (ou, no caso de aplicação profilática, a um tecido ou um sítio onde uma ferida ou distúrbio fibrótico ocorrerá).

As composições ou medicamentos contendo agentes da invenção podem tomar várias formas diferentes dependendo, em particular, sobre a maneira em que elas devem ser utilizadas. Assim, por exemplo, elas podem estar na forma de um líquido, pomada, creme, gel, hidrogel, pó ou em aerossol. Todas tais composições são adequadas para aplicação tópica em uma ferida ou distúrbio fibrótico, que é um meio preferido de administração de agentes da invenção a um indivíduo (pessoa ou animal) com necessidade

de tratamento.

Os agentes da invenção podem ser fornecido em um curativo ou emplastro estéril, que pode ser utilizado para cobrir uma ferida ou sítio fibrótico a ser tratado.

5 Os agentes da invenção podem ser liberados a partir de um dispositivo ou implante, ou podem ser utilizados para revestir um tal dispositivo, por exemplo, sonda.

10 Será observado que o veículo de uma composição compreendendo agentes da invenção deve ser aquele que é bem tolerado pelo paciente e permite a liberação do agente na ferida ou sítio fibrótico. Um tal veículo é preferivelmente biodegradável, biodesintegrável, biorreabsorvível e/ou não-inflamatório.

15 Os medicamentos e as composições compreendendo agentes da invenção podem ser utilizados de várias maneiras. Assim, por exemplo, uma composição pode ser aplicada em uma ferida e/ou ao redor dela ou um distúrbio fibrótico de modo a inibir a cicatriz ou tratar a fibrose. Se a composição for aplicada em uma ferida existente ou sítio fibrótico, então o veículo farmaceuticamente aceitável será aquele que é relativamente "suave", isto é, um veículo que é biocompatível, biodegradável, biodesintegrável e não-inflamatório.

20 Um agente da invenção, ou um ácido nucléico que codifica um tal agente (como considerado mais abaixo), pode ser incorporado dentro de um dispositivo de liberação lenta ou retardada. Tais dispositivos, por exemplo, podem ser colocados sobre ou inseridos sob a pele e o agente ou ácido nucléico pode ser liberado durante dias, semanas ou mesmo meses.

25 Os dispositivos de liberação retardada podem ser particularmente úteis para os pacientes, tais como aqueles que sofrem de cicatrizes extensas ou patológicas ou de distúrbios fibróticos de longa duração, que requerem administração a longo prazo de quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A, seus fragmentos ou derivados. Tais dispositivos podem ser particularmente vantajosos quando utilizados para a administração de um agente ou ácido nucleico que, de outra forma, normalmente requereria fre-

quente administração (por exemplo, pelo menos administração diária por outras vias).

As doses diárias de um agente da invenção podem ser fornecidas como uma única administração (por exemplo, uma aplicação diária de 5 uma formulação tópica ou uma injeção diária). Alternativamente, o agente da invenção podem requerer administração duas ou mais vezes durante um dia. Em uma outra alternativa, um dispositivo de liberação lenta pode ser utilizado para fornecer doses ideais de um agente da invenção a um paciente sem a necessidade de administrar doses repetidas.

Uma dose de uma composição compreendendo agentes da invenção pode preferivelmente ser suficiente para fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, seus fragmentos ou derivados, em uma administração única. No entanto, será observado que cada dose em si mesma não necessita fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de 10 um agente da invenção, mas que uma quantidade terapeuticamente eficaz pode, em vez disso, ser criada através da administração repetida de doses adequadas.

Diversas formas adequadas são conhecidas para as composições compreendendo agentes da invenção. Em uma modalidade, um veículo 20 farmacêutico para administração de um agente da invenção pode ser um líquido e uma composição farmacêutica adequada estaria na forma de uma solução. Em outra modalidade, o veículo farmaceuticamente aceitável é um sólido e uma composição adequada está na forma de um pó ou comprimido. Em uma outra modalidade, o agente da invenção podem ser formulado co- 25 mo uma parte de um emplastro transdérmico farmaceuticamente aceitável.

Um veículo sólido pode incluir uma ou mais substâncias que também podem atuar como agentes flavorizantes, lubrificantes, solubilizantes, agentes de suspensão, cargas, deslizantes, auxiliares de compressão, aglutinantes ou agentes desintegrantes de comprimidos; também pode ser 30 um material encapsulante. Em pós, o veículo é um sólido finamente dividido que está em mistura com o agente finamente dividido da invenção. Em comprimidos, o agente da invenção é misturado com um veículo tendo as neces-

sárias propriedades de compressão em proporções adequadas e compactado nas forma e dimensão desejadas. Os pós e comprimidos preferivelmente contêm até 99 % do agente da invenção. Os veículos sólidos adequados incluem, por exemplo, fosfato de cálcio, estearato de magnésio, talco, açúcar, lactose, dextrina, amido, gelatina, celulose, polivinilpirrolidina, ceras de baixa fusão e resinas de troca iônica.

Os veículos líquidos podem ser usados na preparação de soluções, suspensões, emulsões, xaropes, elixires e composições pressurizadas. O agente da invenção pode ser dissolvido ou colocado em suspensão em um veículo líquido farmaceuticamente aceitável tal como água, um solvente orgânico, uma mistura de ambos ou óleos ou gorduras farmaceuticamente aceitáveis. O veículo líquido pode conter outros aditivos farmacêuticos adequados tais como solubilizantes, emulsificantes, tampões, conservantes, adoçantes, agentes flavorizantes, agentes de suspensão, agentes espessantes, corantes, reguladores da viscosidade, estabilizantes ou osmoreguladores. Exemplos adequados de veículos líquidos para administração oral e parenteral incluem água (parcialmente contendo aditivos como acima, por exemplo, derivados de celulose, preferivelmente solução de carboximetil celulose de sódio), álcoois (incluindo álcoois monoídricos e álcoois polídricos, por exemplo, glicóis) e seus derivados, e óleos (por exemplo, óleo de coco e óleo de amendoim fracionados). Para a administração parenteral, o veículo pode ser também um éster oleoso tal como oleato de etila e miristato de isopropila. Os veículos líquidos estéreis são úteis nas composições de forma líquida estéril para a administração parenteral. O veículo líquido para composições pressurizadas pode ser hidrocarboneto halogenado ou outros propulsores farmaceuticamente aceitáveis.

As composições farmacêuticas líquidas que são soluções estéreis ou suspensões podem ser utilizadas, por exemplo, por injeção via intramuscular, intratecal, epidural, intraperitoneal, intradérmica, intraestromal (córnea), intraadventicial (vasos sanguíneos) ou subcutânea. As soluções estéreis também podem ser administradas por via intravenosa. O agente da invenção pode ser preparado como uma composição sólida estéril que pode

ser dissolvida ou colocada em suspensão no momento da administração utilizando água estéril, soro fisiológico, ou outro meio injetável estéril apropriado. Os veículos destinam-se a incluir aglutinantes necessários e inertes, agentes de suspensão, lubrificantes e conservantes.

5 Na situação em que é desejável administrar um agente da invenção por meio de ingestão oral, será observado que o agente selecionado preferivelmente será um agente tendo um grau elevado de resistência à degradação. Por exemplo, o agente da invenção pode ser protegido (por exemplo, usando as técnicas descritas acima), de modo que a sua taxa de  
10 degradação no trato digestivo seja reduzido.

As composições de agentes da invenção são adequadas para serem utilizadas para inibir cicatrizes ou tratar a fibrose na córnea. As feridas da córnea podem resultar de trauma no olho que surge como um resultado de lesões acidentais ou como um resultado de operações cirúrgicas (por exemplo, cirurgia com laser sobre a córnea). No caso da administração de agentes da invenção nas superfícies externas do olho, tais como a córnea, um medicamento preferido da invenção pode estar na forma de um colírio.  
15

A fibrose no olho pode estar associada com as condições tais como vitreorretinopatia proliferativa. No caso em que se pretende prevenir a  
20 fibrose associada com aa vitreorretinopatia, tal como a vitreorretinopatia proliferativa, pode ser preferível administrar a WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, por meio de injeção intravitreal ou dispositivo de liberação localizada (por exemplo, intraocular). Tais injeções podem preferivelmente seguir a cirurgia ou procedimentos de implantação intravitreal.  
25

Os agentes da invenção podem ser usados em uma faixa de feridas "internas" ou distúrbios fibróticos (isto é, feridas ou distúrbios fibrótico que ocorrem dentro do corpo, em vez de uma superfície externa). Exemplos de feridas internas incluem feridas penetrativas que passam através da pele para dentro dos tecidos subjacentes, e feridas associadas com procedimentos cirúrgicos conduzidos no interior do corpo. A faixa de distúrbios fibróticos que afetam os sítios internos é extensa, e inclui fibrose pulmonar, fibrose  
30

hepática, fibrose renal e fibrose muscular.

Em um exemplo preferido, os medicamentos de acordo com a invenção para uso no tratamento de feridas ou distúrbios fibróticos decorrentes nos pulmões ou outros tecidos respiratórios podem ser formulados para inalação.

Em um exemplo preferido, os medicamentos de acordo com a invenção para uso no tratamento de feridas ou distúrbios fibróticos decorrentes nas cavidades corporais, por exemplo, abdome e pelve, podem ser formulados como uma lavagem, gel ou instilado.

Os procedimentos conhecidos, tais como aqueles convencionalmente empregados pela indústria farmacêutica (por exemplo, experimentação *in vivo*, ensaios clínicos, etc), podem ser utilizados para estabelecer formulações específicas de composições compreendendo agentes da invenção e regimes terapêuticos precisos para a administração de tais composições (tais como as doses diárias do agente ativo e a frequência de administração).

Uma dose adequada de um agente de acordo com a invenção capaz de inibir as cicatrizes ou tratar um distúrbio fibrótico, pode depender de uma série de fatores incluindo (mas não limitado a eles) a natureza do tecido a ser tratado, a área e/ou profundidade da ferida ou fibrose a ser tratada, a gravidade do ferimento ou fibrose, e a presença ou ausência de fatores predisponentes para a formação de cicatriz patológica.

Os inventores acreditam que a quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, que pode ser administrada a uma ferida ou local da fibrose em uma incidência única de tratamento (por exemplo, mediante a administração tópica tal como a injeção intradérmica) pode estar preferivelmente acima de cerca de 2 fmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose, e abaixo de cerca de 22 pmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

Por meio de outro exemplo, a quantidade preferida de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, a ser administrada a uma ferida ou local da fibrose durante um período de aproximadamente 24 horas (por exemplo, pela administração tópica tal como a injeção

intradérmica), pode preferivelmente estar acima de 4 fmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose, e abaixo de cerca de 44 pmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

A pessoa versada observará que as sugestões acima são fornecidas para orientação. Em particular, será observado que a quantidade de 5 WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, a ser administrada via administração tópica pode ser alterada dependendo da permeabilidade do tecido ou órgão ao qual a composição tópica é administrada. Assim, no caso de tecidos ou órgãos relativamente impermeáveis pode ser preferível aumentar a quantidade de WNT5A, ou fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, administrada. Uma tal quantidade aumentada de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, pode ainda representar uma quantidade terapeuticamente eficaz, se a quantidade do agente absorvido dentro do tecido ou órgão a ser tratado for terapeuticamente eficaz (isto é, se uma quantidade terapeuticamente eficaz 10 permeia o tecido ou órgão a ser tratado, independente do fato de que uma maior, não terapêutica, quantidade do agente possa permanecer na superfície do tecido ou órgão a ser tratado e ser incapaz de penetrá-lo).

Os inventores acreditam que a quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, a ser administrada a 20 uma ferida ou sítio de fibrose em uma ocorrência única de tratamento, preferivelmente não excederá a 21 pmol/cm de ferida, ou cm<sup>2</sup> de fibrose. Mais preferivelmente a quantidade administrada em uma única incidência de tratamento será menor do que 21 pmol/cm de ferida, ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

Preferivelmente, a quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, a ser administrado em uma ferida ou local da fibrose durante um período de aproximadamente 24 horas não excederá a 44 pmol/cm de ferida, ou cm<sup>2</sup> de fibrose. Mais preferivelmente a quantidade a ser administrada durante um período de aproximadamente 24 horas, será menor do que 44 pmol/cm de ferida.

30 Preferivelmente a quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, administrada a um ferimento ou local da fibrose, não poderá exceder a 44 pmol/cm de ferida, ou cm<sup>2</sup> de fi-

brose.

A quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, que pode ser administrada por injeção local a um ferimento ou local de fibrose pode estar preferencialmente na região de 5 0,01 a 44 pmoles/centímetro de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

Preferivelmente a quantidade total de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, que pode ser administrada por injeção local a um ferimento ou local de fibrose pode estar preferivelmente na região de 0,022 a 0,44 pmoles/centímetro de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

10 No caso de aplicação tópica de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, nos ferimentos ou locais de fibrose, uma quantidade adequada a ser administrada pode estar na região de 0,01 a 44 pmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

15 Preferivelmente, para a aplicação tópica de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, nos ferimentos ou sítios de fibrose, uma quantidade adequada para ser administrada pode estar na região de 0,022 a 0,44 pmol/cm de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

20 A WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente ativo desta, pode preferivelmente ser fornecida sob a forma de uma solução injetável em uma concentração entre 0,22 nM e 50 nM. De preferência, aproximadamente 100 µL de uma tal solução administrada per centímetro de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose durante um período de 24 horas.

25 A WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente ativos, pode mais preferivelmente ser administrada como uma solução de 0,11 nM a 165 nM. 100 µL de uma tal solução podem ser administrados por centímetro de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose durante um período de 24 horas.

30 Mais preferivelmente a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente ativos, pode ser administrada como uma solução de 0,11 nM, 2,2 nM ou 165 nM com 100 µL de uma tal solução administrada por centímetro de ferimento ou cm<sup>2</sup> de fibrose durante um período de 24 horas.

A pessoa versada observará que quantidades terapêuticas eficazes de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, podem ser determina-

das com referência à concentração do agente que é atingido no órgão ou tecido para o qual elas são administradas. A informação com respeito às dosagens terapeuticamente eficazes aqui estabelecidas fornecerá orientação suficiente para permitir a pessoa qualificada calcular as concentrações locais de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, estabelecido pela injeção intradérmica, e, com base nestes valores, para determinar as quantidades adequadas de tais agentes que podem ser administrados por outras vias de modo a obter concentrações locais equivalentes.

Os inventores observaram que a WNT5A pode ser administrada por meio de uma solução injetável contendo entre 0,5 ng/100 µL e 750 ng/100 µL de um agente da invenção a fim de inibir cicatrizes ou tratar fibroses quando administrada como uma injeção intradérmica fornecendo 100 µL de solução por cm de margem de ferida ou cm<sup>2</sup> de fibrose.

Será observado que a orientação quanto a doses e as quantidades da WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, fornecidas acima, é aplicável tanto nos medicamentos da invenção quanto da mesma forma nos métodos da invenção.

No caso onde os parágrafos acima consideram a administração de uma quantidade específica de um medicamento por cm de uma ferida, será observado que esta pode ser administrada a qualquer uma ou ambas as margens de uma ferida a ser tratada.

A pessoa versada reconhecerá que a informação fornecida nos parágrafos anteriores quanto às quantidades ou volumes de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, que podem ser administradas nas feridas ou sítios de distúrbios fibróticos, pode ser variada pelo médico qualificado em resposta aos requisitos clínicos específicos de um paciente individual. Por exemplo, será observado que no caso de feridas particularmente profundas ou largas as quantidades fornecidas por meio da orientação acima podem ser variadas para cima, enquanto ainda fornece uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou fragmento ou derivados desta. As variações adequadas baseadas na orientação fornecida

acima serão facilmente evidentes para aqueles de habilidade na técnica.

Os agentes da invenção podem ser usados para inibir cicatrizes ou tratar fibroses como uma monoterapia (por exemplo, através da utilização de medicamentos da invenção isoladamente). Alternativamente os métodos 5 ou medicamentos da invenção podem ser utilizados em combinação com outros compostos ou tratamentos para a inibição de cicatriz ou tratamento de fibrose. Os compostos adequados que podem ser usados como partes de tais terapias de combinação serão bem-conhecidos daqueles versados na técnica.

A pessoa versada observará que quantidades terapeuticamente eficazes de agentes tais como a WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, podem ser administradas nos locais das feridas ou distúrbios fibróticos onde se pretende inibir as cicatrizes ou tratar a fibrose em virtude da expressão celular (comumente referido como terapia genética). Tal expressão celular 10 deve ser controlada de modo a evitar o acúmulo de quantidades não terapêuticas de tais agentes, ou mesmo quantidades que são capazes de exacerbar a cicatriz ou a fibrose. Consequentemente, a invenção fornece um método de inibição da formação de cicatriz, o método compreendendo induzir a expressão celular de uma quantidade terapeuticamente eficaz de 15 WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, em um local onde cicatriz deve ser inibida. A invenção ainda fornece um método de tratamento de um distúrbio fibrótico, o método compreendendo induzir a expressão celular de 20 uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado desta. Em ambos destes aspectos o conceito inventivo chave reside 25 de na regulação da expressão celular tal que uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, seja obtida.

Com base nos ensinos contidos no presente relatório descritivo, que definem pela primeira vez o fato chave de que apenas certas quantidades ou concentrações de WNT5A (ou seus fragmentos ou derivados) são 30 terapeuticamente eficazes, será uma questão de experimentação rotineira para uma pessoa versada na técnica conceber protocolos pelos quais as células podem ser induzidas a expressar quantidades terapeuticamente efi-

cazes de WNT5A (ou seus fragmentos ou derivados).

Por exemplo, a pessoa versada observará que tal expressão celular de quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A pode ser alcançada através da manipulação da expressão de ocorrência natural desta molécula por células na região da ferida ou do local de fibrose a ser tratada.

Alternativamente, e de preferência, as células na região da ferida ou local de fibrose que deve ser tratada podem ser induzidas a expressar WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados terapeuticamente eficazes, por meio da introdução de materiais que codificam tais agentes. Os materiais adequados podem tipicamente compreender ácidos nucléicos tais como DNA ou RNA, e estes podem ser concebidos com base nas sequências estabelecidas na Sequência ID Nos. 1 e 2.

Os ácidos nucléicos para uso nesta modalidade da invenção podem ser administrados "como estão", por exemplo, por meio de transfecção balística, ou como partes de um grande constructo, que pode ser capaz de incorporar de forma estável em células deste modo transfectadas. Os constructos adequados também podem conter elementos reguladores, pelos quais a expressão de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivados desta, pode ser alcançada.

A invenção agora será ainda descrita por meio de exemplo com referência aos seguintes protocolos e estudos experimentais, e a seção de Informação de Sequência acompanhante e Figuras em que:

A seção de Informação de Sequência mostra a sequência de aminoácido da WNT5A humana (mostrada como Sequência ID NO. 1), e a sequência de cDNA que codifica a WNT5A humana (mostrada como Sequência ID No. 2).

A Figura 1 compara as pontuações de VAS macroscópica de cicatrizes tratadas, cicatrizes não tratadas e cicatrizes tratadas com controle. Os resultados são apresentados na forma de um diagrama de barras mostrando as pontuações de VAS macroscópica das cicatrizes formadas 70 dias após a lesão. \*\*\* Indica  $p < 0,01$  versus controles naïve e diluente. \*\* Indica  $p < 0,05$  versus controle naïve e diluente. "X" indica  $p < 0,05$  versus controle diluente apenas (sem controle naïve).

A Figura 2 compara pontuações de VAS microscópica de cicatrizes tratadas, cicatrizes não tratadas e cicatrizes tratadas com controle. Os resultados são apresentados sob a forma de um diagrama de barras mostrando as pontuações de VAS microscópica para as cicatrizes formadas por 5 70 dias após a lesão. \*\*\* Indica  $p < 0,01$  versus controles naïve e diluente. \*\*\* Indica  $p < 0,01$  versus controle naïve apenas (sem controle diluente).

A Figura 3 mostra imagens macroscópicas ilustrativas de uma cicatriz tratada (Painel A) e uma cicatriz não tratada (Painel B). As fotografias mostram a aparência macroscópica das cicatrizes 70 dias após a incisão. 10 A cicatriz no painel A foi tratada com WNT5A em uma concentração de 10 ng/100  $\mu$ l, enquanto a ferida que produz a cicatriz mostrada no painel B foi tratada (ferida naïve).

A Figura 4 mostra imagens macroscópicas ilustrativas das cicatrizes tratadas (Painéis A, B e C) e uma cicatriz tratada com controle (Painel 15 D). As fotografias mostram aparência macroscópica das cicatrizes 70 dias após a incisão. As feridas foram tratadas com 1 ng/100  $\mu$ l de WNT5A, 10 ng/100  $\mu$ l de WNT5A ou 1000 ng/100  $\mu$ l de WNT5A, ou com diluente isoladamente, como mostrado nas legendas.

A Figura 5 mostra imagens microscópicas ilustrativas comparando 20 as cicatrizes produzidas na cicatrização de feridas tratadas com controle e ferimentos tratados com diferentes quantidades de WNT5A (incluindo tanto quantidades terapeuticamente eficazes quanto e quantidades não terapeuticamente eficazes). As imagens foram tiradas de cicatrizes cutâneas de ratos 70 dias pós-lesão e tratamento. As imagens foram tiradas, em ampliação x5, 25 das seções histológicas de cicatrizes manchadas com Tricromo de Masson. As setas indicam as bordas das cicatrizes resultantes seguinte ao ferimento de incisão de espessura total e tratamento. O 'S' indica a cicatriz, 'ND' indica a derme circundante normal.

Figura 6 compara as pontuações de VAS macroscópica de cicatrizes tratadas e cicatrizes tratadas com controle. Os resultados são apresentados sob a forma de um diagrama de barras mostrando as pontuações 30 de VAS macroscópica das cicatrizes formadas 70 dias após a lesão. \*\*\* In-

dica  $p < 0,01$  versus controles diluentes. \*\* Indica  $p < 0,05$  versus controle diluente.

A Figura 7 mostra imagens macroscópicas representativas que ilustram as cicatrizes produzidas na cicatrização de feridas tratadas com 5 controle e feridas tratadas com WNT5A (como mostrado nas legendas). As cicatrizes foram fotografadas 70 dias após as incisões experimentais terem sido formadas.

### Resultados Experimentais 1

Os inventores investigaram os efeitos da WNT5A sobre as cicatrizes utilizando em um modelo *in vivo* de formação de cicatriz e cicatrização.

#### 1.1 Modelo de cicatrização da ferida com incisão e tratamento com WNT5A

WNT5A de camundongo recombinante (Número de catálogo #645-WN/CF; Lote MCR074091) foi adquirida da R&D Systems.

A WNT5A foi diluída em solução salina tamponada de fosfato (PBS) para produzir três soluções tendo concentrações como se segue:

1. 1 ng/100  $\mu$ l (uma solução de 0,22 nM);
2. 10 ng/100  $\mu$ l (uma solução de 2,2 nM); e
3. 1000 ng/100  $\mu$ l (uma solução de 220 nM).

PBS isoladamente foi utilizada como um controle de diluente.

Ratos Sprague Dawley machos adultos pesando 225 a 250 g foram anestesiados com halotano, oxigênio e óxido nitroso. No dia 0, os locais da ferida foram marcados na pele dorsal e os locais da ferida foram injetados intradermicamente com 100  $\mu$ l da WNT5A ou soluções de PBS antes do ferimento. As injeções intradérmicas causaram a formação de uma bolha levantada, que foi depois incisada para formar feridas experimentais longas de 1 cm. Feridas neïve (também 1 centímetro de comprimento) não receberam nenhum tratamento.

As feridas tratadas e tratadas com controle foram re-tratados dia 1 pós-ferimento com o tratamento adequado através de injeção de 50  $\mu$ l em cada uma das duas margens da ferida.

Consequentemente, cada injeção da solução de 1 ng/100  $\mu$ l forneceu 0,022 pmol de WNT5A, enquanto cada injeção da solução de 10

ng/100 µl forneceu 0,22 pmoles de WNT5A, e cada injeção da solução de 1000 ng/100 µl forneceu 22 pmoles de WNT5A.

As feridas tratadas com controle de diluente receberam PBS isoladamente (administrada no mesmo volume e pela mesma via como as soluções de WNT5A nas feridas tratadas), e as feridas de controle neive não receberam nenhum tratamento.

### 1.2 Avaliação das cicatrizes

70 dias após o ferimento os ratos experimentais foram sacrificados, e as cicatrizes resultantes das feridas tratadas e feridas de controle avaliadas tanto macroscópica quanto microscopicamente.

As cicatrizes dos ratos experimentais foram fotografadas e avaliadas utilizando lâminas de avaliação macroscópica da cicatriz. A avaliação macroscópica da cicatriz foi realizada utilizando uma escala análoga visual (VAS) consistindo em uma linha de 0 a 10 cm que representa uma escala, da esquerda para a direita, de 0 (correspondendo a pele normal) a 10 (indicativo de uma má cicatrização). Uma marca foi feita por um avaliador sobre a linha de 10 cm baseada em uma avaliação global da cicatriz, levando em conta os parâmetros tais como a altura, largura, contorno e cor da cicatriz. As melhores cicatrizes (tipicamente de pequena largura com cor, altura e contorno como a pele normal) foram pontuadas com respeito a pele normal final da escala (no lado esquerdo da linha VAS) e cicatrizes imperfeitas (tipicamente de grande largura, levantadas com contornos irregulares e cor branca) foram pontuadas com respeito a cicatriz imperfeita final da escala (o lado direito da linha VAS). As marcas foram medidas a partir do lado esquerdo para fornecer o valor final para a avaliação da cicatriz em centímetros (em 1 casa decimal).

Para a avaliação microscópica as cicatrizes foram extirpadas dos ratos experimentais (incorporando uma pequena quantidade de tecido normal circundante) e a fixação das cicatrizes em 10 % (v/v) de solução salina tamponada formal. O tecido fixado foi depois processado com relação a histologia de cera. As lâminas histológicas foram manchadas usando tricromo de Masson, e as cicatrizes avaliadas utilizando uma escala análoga vi-

sual microscópica (VAS). Isto consistiu de uma linha de 0 a 10 cm que representa uma escala, da esquerda para a direita, de 0 (correspondendo a pele normal) a 10 (indicativo de uma má cicatrização). A marca foi feita na linha de 10 cm com base em uma avaliação global da cicatriz, levando em conta os parâmetros tais como o espaçamento, orientação e espessura da fibra de colágeno. As melhores cicatrizes (cicatrizes tipicamente estreitas com espessura e fibras de colágeno aleatoriamente organizadas que têm espaçamentos normais entre as fibras, semelhante à derme normal circundante) foram pontuadas com respeito a pele normal final da escala (o lado esquerdo da linha VAS) e cicatrizes imperfeitas (tipicamente cicatrizes grandes com fibras de colágeno paralelas, finas, densamente acondicionadas) foram pontuadas com respeito a cicatriz imperfeita final da escala (o lado direito da linha VAS). As marcas foram medidas a partir do lado esquerdo para fornecer o valor final para a avaliação de cicatriz em centímetros (em 1 casa decimal).

Uma comparação das pontuações de VAS macroscópica de cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas de controle é apresentada na Figura 2.

Uma comparação das pontuações de VAS microscópica de cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas de controle é apresentado na Figura 3.

Imagens representativas mostrando a aparência macroscópica das cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas de controle são mostradas nas Figuras 4 e 5.

Imagens representativas mostrando a aparência macroscópica de cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas de controle são mostradas na Figura 6.

### 1.3 Resultados

A análise tanto macroscópica quanto microscópica das cicatrizes formadas a partir de feridas de incisão (avaliadas em 70 dias pós-lesão) mostrou que a adição de WNT5A nas feridas foi capaz de inibir significativamente a cicatriz. Surpreendentemente, os resultados mostram que quando

a WNT5A é administrada em uma quantidade excessiva, o efeito de tal administração é para exacerbar as cicatrizes, em vez de inibir as cicatrizes.

A administração de WNT5A em concentrações de 1 ng/100 µl e 10 ng/100 µl significativamente inibiu a cicatriz, quando comparado com os 5 controles ( $p < 0,05$ ), quando avaliados usando uma VAS macroscópica ou microscópica. Estes resultados, que são mostradas nas figuras 2 e 3, surgem como um resultado das melhorias realizadas na abundância e orientação de componentes ECM na derme. Estas melhorias microscópicas significativamente melhoraram a aparência macroscópica das cicatrizes formadas.

10 Esta cicatriz que é efetivamente inibida por estas concentrações de WNT5A, é claramente ilustrada nas figuras 4, 5 e 6. As Figuras 4 e 5 mostram as imagens macroscópicas representativas de cicatrizes tratadas e tratadas de controle. As cicatrizes resultantes de feridas tratadas com quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A são consideravelmente mais 15 difíceis de se detectar do que as cicatrizes produzidas na cicatrização de feridas não tratadas e tratadas de controle. A figura 6 mostra imagens microscópicas representativas de lâminas histológicas de cicatrizes produzidas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e não tratadas. Estas mostram que a deposição de moléculas da matriz extracelular, tal como o colágeno, observada em cicatrizes tratadas com WNT5A mais se aproxima da 20 disposição na pele não ferida do que a matriz extracelular em cicatrizes não tratadas. Esta diferença (isto é, esta semelhança aumentada com a pele não ferida) fica evidente no que refere-se tanto da quantidade de colágeno presente quanto da orientação de dito colágeno.

25 Ao contrário, a administração de WNT5A em 1000 ng/100 µl significativamente aumentou a cicatriz quando comparado com os controles ( $p < 0,01$ ). Este efeito foi observado com referência à avaliação tanto macroscópica quanto microscópica, como mostrado nas figuras 2 e 3. A cicatriz aumentada produzida na administração de WNT5A em 1000 ng/100 µl pode 30 ser vista tanto macroscópica quanto microscopicamente na Figura 5 e na Figura 6.

## Resultados Experimentais 2

## 2.1 Molécula Alvo e Detalhes de Dose

WNT5A de camundongo recombinante foi adquirida da R&D Systems (Número de catálogo #645-WN/CF; Lote No: MCR136031. Massa molecular: 45kDa por SDS-PAGE (MW previsto é 38kDa)

5

Peso / Volume	Concentração Molar	Moles
0,01 ng/100 µL	2,2 pM	0,2 fMol
0,1 ng/100 µL	22 pM	2 fMoles
0,5 ng/100 µL	0,11 nM	0,01 pMol
1 ng/100 µL	0,22 nM	0,02 pMol
10 ng/100 µL	2,2 nM	0,22 pMol
100 ng/100 µL	22 nM	2,2 pMol
500 ng/100 µL	110 nM	11 pMoles
750 ng/100 µL	165 nM	16,5 pMoles
1000 ng/100 µL	222,2 nM	22,2 pMoles

## 2.2 Resultados experimentais:

A WNT5A foi diluída em solução salina tamponada de fosfato (PBS) para produzir nove soluções tendo concentrações como se segue:

1. 0,01 ng/100 µl (a 2.2 pM solution);
- 10 2. 0,1 ng/100 µl (uma solução de 22 pM);
3. 0,5 ng/100 µl (uma solução de 0,11 nM);
4. 1 ng/100 µl (uma solução de 0,22 nM);
5. 10 ng/100 µl (uma solução de 2,2 nM);
6. 100 ng/100 µl (uma solução de 22 nM);
- 15 7. 500 ng/100 µl (uma solução de 110 nM);
8. 750 ng/100 µl (uma solução de 165 nM); e
9. 1000 ng/100 µl (uma solução de 222 nM).

PBS isoladamente foi utilizado como um controle de diluente.

- No dia 0, ratos Sprague Dawley machos adultos pesando de 225  
20 a 250 g foram anestesiados usando halotano, oxigênio e óxido nitroso. Analgesia profilática foi administrada como 10 µg/kg de Buprenorfina por via subcutânea. O dorso dos ratos foi raspado e os locais feridos marcados de a-

cordo com o modelo de ferimento com incisão de rato da Renovo (feridas de 2 x 1 cm em 5 cm a partir da base do crânio e 1 cm a partir da linha mediana em cada rato; posições de ferida A e B). Os locais feridos foram marcados na pele dorsal e os locais feridos foram injetados intradermicamente com 5 100 µl das soluções de WNT5A (ativa) ou PBS (controle de diluente) antes do ferimento. As injeções intradérmicas causaram a formação de uma bolha levantada, que foi depois incisada para formar feridas experimentais longas de 1 cm. Ambas as feridas foram dosados novamente 1 dia após a cirurgia, com WNT5a ou PBS (50 µl de tratamento/margem de ferida; total de 100 10 µl/local de ferida). Os animais foram alojados individualmente durante 7 dias pós-operatório e, posteriormente, alojados em pares e dado comida e água *ad libitum* até a colheita em 70 dias pós-ferimento.

Consequentemente, cada injeção da solução de 0,01 ng/100 µl forneceu 0,2 fmol de WNT5A; cada injeção da solução de 0,1 ng/100 µl forneceu 2 fmoles de WNT5A; cada injeção da solução de 0,5 ng/100 µl forneceu 0,01 pmol de WNT5A; cada injeção da solução de 1 ng/100 µl forneceu 0,02 pmol de WNT5A; cada injeção da solução de 10 ng/100 µl forneceu 0,22 pmol de WNT5A; cada injeção da solução de 100 ng/100 µl forneceu 2,2 pmoles de WNT5A; cada injeção da solução de 500 ng/100 µl forneceu 11 pmoles de WNT5A; cada injeção da solução de 750 ng/100 µl forneceu 16,5 pmoles de WNT5A; e cada injeção da solução de 1000 ng/100 µl forneceu 22 pmoles de WNT5A.

### 2.3 Avaliação das cicatrizes

70 dias após o ferimento, os ratos experimentais foram sacrificados, e as cicatrizes resultantes das feridas tratadas e feridas de controle avaliadas macroscopicamente.

As cicatrizes dos ratos experimentais foram fotografadas e avaliadas usando lâminas de avaliação macroscópica da cicatriz. A avaliação macroscópica da cicatriz foi realizada utilizando uma escala análoga visual (VAS) consistindo em uma linha de 0 a 10 cm que representa uma escala, da esquerda para a direita, de 0 (correspondendo a pele normal) a 10 (indicativo de uma má cicatrização). Uma marca foi feita por um avaliador sobre

a linha de 10 cm baseada em uma avaliação global da cicatriz, levando em conta os parâmetros tais como a altura, largura, contorno e cor da cicatriz. As melhores cicatrizes (tipicamente de pequena largura com cor, altura e contorno semelhante a pele normal) foram pontuadas com respeito a pele normal final da escala (o lado esquerdo da linha VAS) e cicatrizes imperfeitas (tipicamente de grande largura, levantadas com contornos irregulares e cor branca) foram pontuadas com respeito a cicatriz imperfeita final da escala (o lado direito da linha VAS). As marcas foram medidas a partir do lado esquerdo para fornecer o valor final para a avaliação da cicatriz em centímetros (em 1 casa decimal).

Uma comparação das pontuações de VAS macroscópica de cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas com controle diluente é apresentada na Figura 1.

Imagens representativas mostrando a aparência macroscópica das cicatrizes formadas na cicatrização de feridas tratadas com WNT5A e feridas tratadas com controle diluente são mostradas na Figura 2.

#### 2.4 Resultados

A análise macroscópica das cicatrizes formadas a partir de feridas de incisão (avaliadas em 70 dias pós-lesão) mostrou que a adição de WNT5A nas feridas foi capaz de inibir significativamente a cicatriz. Surpreendentemente, os resultados mostram que quando a WNT5A é administrada em uma quantidade excessiva, o efeito de tal administração é aumentar as cicatrizes, acima daquela das feridas de controle diluente, em vez de inibir as cicatrizes.

A administração de WNT5A em concentrações de 0,5 ng/100 µl, 1 ng/100 µl, 10 ng/100 µl, 100 ng/100 µl e 750 ng/100 µl significativamente inibiu a cicatriz, quando comparado com os controles diluentes ( $p < 0,05$ ), quando avaliados usando uma VAS macroscópica. Estes resultados, que são mostradas na figura 6, surgem como um resultado das melhorias realizadas na abundância e/ou orientação de componentes ECM na derme. Estas melhorias microscópicas significativamente melhoraram a aparência macroscópica das cicatrizes formadas, tal que as feridas tratadas se parecem

com a derme não ferida circundante.

Esta cicatriz que é efetivamente inibida por estas concentrações de WNT5A, é claramente ilustrada na figura 7 que mostra as imagens macroscópicas representativas de cicatrizes tratadas e tratadas de controle. As 5 cicatrizes resultantes de feridas tratadas com quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A são consideravelmente mais difíceis de se detectar do que as cicatrizes produzidas na cicatrização de feridas tratadas de controle.

Ao contrário, a administração de WNT5A em 1000 ng/100 µl significativamente aumentou a cicatriz quando comparado com os controles (p 10 < 0,01). Esta inibição da cicatriz, como observada com referência à avaliação macroscópica, é claramente mostrada nas Figuras 6 e 7. Estas Figuras respectivamente mostram as pontuações geradas na avaliação de VAS macroscópica das cicatrizes produzidas de feridas tratadas e de controle, e nas imagens macroscópicas representativas que ilustram as cicatrizes tratadas e 15 cicatrizes de controle.

Os resultados mostram que uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A é capaz de inibir a cicatriz. Estes resultados também fornecem orientação de como as quantidades terapeuticamente eficazes e não terapeuticamente eficazes de WNT5A podem ser determinadas.

### 20 3. Sumário dos Resultados

Os resultados relatados nos pontos 1.3 e 2.4 acima claramente ilustram que uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A é capaz de inibir as cicatrizes. Estes resultados também fornecem orientações de como quantidades terapeuticamente eficazes e não terapeuticamente eficazes de 25 WNT5A podem ser determinadas, assim como fornecem informações sobre a quantidade de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz desta, que pode constituir uma quantidade terapeuticamente eficaz capaz de inibir as cicatrizes se fornecida a um centímetro de ferida ou cicatriz.

Dadas as semelhanças entre os mecanismos biológicos envolvidos 30 nas cicatrizes e distúrbios fibróticos, os resultados relatados acima também claramente indicam que quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A são adequadas para a prevenção e/ou tratamento de distúrbios fibróticos.

### Listagem de Sequência

Sequência de aminoácido de WNT5A humana (Sequência ID No. 1)

1 plqksigils pgvalgmags amsskfflva laiffsfaqv vieanswwsl gmnnnpvqmse  
 61 vyiigaaplc sqlaglsqqq kklchlyqdh mqyigegakt gikecqyqfr hrrwncstvd  
**5** 121 ntsvfgrvmq igsretafty avsaagvvna msracregeL stcgcsraar pkdlprdwlw  
 181 ggcgdnidyg yrfakefvda rererihakg syesarilmn lhnneagrvt vynladvack  
 241 chgvsgscsl ktcwlqladL rkvgdalkek ydsaaamrln srgklvqvnL rfnspLttqdl  
 301 vyidpspdyc vrnestgsLg tqgrLcnkts egmdgcelmc cgrgydqfkt vqterchckf  
 361 hwccyvkckk cteivdqfvc k

**10** Derivado de cDNA da sequência de mRNA de WNT5A humana (Sequência ID No. 2)

1 agttgcctgc gcgcctcgc cggaccggcg gctccctagt tgcgccccga ccaggcccctg  
 61 cccttgcLgc cggctcgcgc gctccgcgc cccctccatt cctggcgca tcccagctct  
 121 gcccccaactc gggagtccag gcccggcgca cagtgcgc ttcagctccg gttcactgcg  
 181 cccgcggac ggcgcgcga ggactccgca gcctgtctc tgaccgtccc cccagggcta  
**15** 241 acccggtcgc tccgctcggL ttccctcggt gcgctcgctc gggtgtggcac ttccctccccg  
 301 cgccccctcc ccctcgccat gaagaagtcc attggaatat taagcccagg agttgcttg  
 361 gggatggctg gaagtgcLgt gtcttccaag ttcttcctag tggcttggc catattttc  
 421 tccttcgccc aggttgcLtat tgaagccaat tcttgggtgt cgctaggtat gaataaccct  
 481 gttcagatgt cagaagtata tattatagga gcacagcctc tctgcagcca actggcagga  
**20** 541 ctLttctcaag gacagaagaa actgtgccac ttgtatcagg accacatgca gtacatcgga  
 601 gaaggcgcga agacaggcat caaagaatgc cagtatcaat tccgacatcg aaggtggAAC  
 661 tgcagcactg tggataaacac ctctgtttt ggcagggtga tgcagatagg cagccgcgag  
 721 acggcctca catacgcggt gagcgcagca ggggtggta acgcccattcag ccggcgtgc  
 781 cgcgagggcg agctgtccac ctgcggctgc agccgcgcg cgcgccccaa ggacctgcgc  
**25** 841 cgggactggc tctggggcggt ctgcggcgac aacatcgact atggctaccg ctLttgccaag  
 901 gagttcgLgg acgcccgcga gcgggagcgc atccacgcLca agggtctcta cgagagtgc  
 961 cgcacLctca tgaacctgcLca caacaacgcag gccggccgcLca ggacgggtgtca caacctggct  
 1021 gatgtggcct gcaagtgcLca tgggggtgtcc ggctcatgtca gcctgaagac atgctggctg  
 1081 cagctggcag acttccgcLca ggtgggtgtat gcctgaagg agaagtacga cagcgcggcg  
**30** 1141 gccatgcggc tcaacagccg gggcaagttg gtacaggtca acagccgcLctt caactcgccc  
 1201 accacacaag acctggctca catcgacccc agccctgact actgcgtgcLca caatgagagc  
 1261 accggctcgc tggcacgcLca gggccgcctg tgcaacaaga cgtcggaggg catggatggc

1321 tgcgagctca tgtgctgcgg ccgtggctac gaccagttca agaccgtgca gacggagcgc  
 1381 tgccactgca agttccactg gtgctgctac gtcaagtgc aagaagtgcac ggagatcgta  
 1441 gaccagttt tgcgaaatgt gtcgggtgcca cccagcactc agccccgctc ccaggaccgg  
 1501 cttatttata gaaaatgtacag tgattctgg ttttggtttt tagaaatattt ttttattttt  
**5** 1561 ccccaagaat tgcaaccgga accatttttt ttccctgttac catctaagaa ctctgtggtt  
 1621 tattattaat attataat tttttggca ataatggggg tgggaaccaa gaaaaatattt  
 1681 tattttgtgg atcttgaaa aggtataaca agacttctt tgatagtata gaatgaaggg  
 1741 gaaataaacac ataccctaacc tttagctgtgt ggacatggta cacatccaga aggtaaagaa  
 1801 atacattttc ttttctcaa atatgccatc atatggatg gtaggttcc agttgaaaga  
**10** 1861 ggggtggtaga aatcttattca caattcagct tctatgacca aatgagttt taaattctct  
 1921 ggtgcaagat aaaaggtctt gggaaaacaa aacaaaacaa aacaaacccctc cttccccag  
 1981 cagggctgct agcttgctt ctgcattttc aaaatgataa tttacaatgg aaggacaaga  
 2041 atgtcatattt ctcaaggaaa aaaggtatat cacatgtctc attctcctca aatattccat  
 2101 ttgcagacag accgtcatat tctaatacgat catgaaattt gggcagcagg gagggaaagtc  
**15** 2161 cccagaaattt aaaaatttta aaactcttat gtcaagatgt tgatttgaag ctgttataag  
 2221 aattaggattt ccagattgtt aaaaatccc caaatgatttcc tggacactag attttttgtt  
 2281 ttggggaggt tggcttgaac ataaatgaaa atatcctgtt attttcttag ggataacttgg  
 2341 ttagtaaattt ataaatgtt aaataataca tgaatcccat tcacaggttc tcagcccaag  
 2401 caacaaggta attgcgtgcc attcagcact gcaccagagc agacaaccta tttgaggaaa  
**20** 2461 aacagtgaaa tccaccttcc tttcacact gaggcccttc tgattcctcc gtgttgtgat  
 2521 gtgatgctgg ccacggttcc aaacggcagc tccactgggt cccctttgggt tgtaggacag  
 2581 gaaatgaaac attaggagct ctgcttggaa aacagttcac tacttaggg tttttgttcc  
 2641 ctaaaaactttt tattttgagg agcagtagtt ttctatgttt taatgacaga acttggctaa  
 2701 tggaaattcac agaggtgtt cagcgtatca ctgttatgtat cctgtgttta gattatccac  
**25** 2761 tcacgttctt cttattgtac tgcaggtgtt cttttttttt gttccctgt tacttgaaca  
 2821 gttgcattta taagggggga aatgtggttt aatgggtgcct gatatctcaa agtcttttgtt  
 2881 acataacata tatatatata tacatatata taaaatataaa tataaatata tctcattgca  
 2941 gccagtgtt tagatttaca gtttactctg gggtttttcc tctgtctaga gcattgttgt  
 3001 ctttcactgc agtccagtttggattttcc aaaagttttt ttagtcttgc gttggctg  
**30** 3061 tggccctgct gtgatcatac cttgagcactc acgaagcaac cttgtttctg aggaagcttgc  
 3121 agttctgtact cactgaaatgt cgtgtgggt tgaagatatc tttttctt tctgcctcac  
 3181 ccctttgtctt ccaacctcca tttctgttca ctttgtggag agggcattac ttgttcgttca

3241 tagacatgga cgttaagaga tattcaaaac tcagaagcat cagcaatgtt tctctttct  
 3301 tagttcattc tgccagaatgg aaacccatgc ctattagaaa tgacagtact tattaattga  
 3361 gtccttaagg aatattcagc ccactacata gatacgaaaa ttttttttt ttttaataag  
 3421 gacacctctt tccaaacagt gccatcaa atgttctt ctcagactta cgttgttta  
**5** 3481 aaagtttgg aagatacaca tctttcatac cccccttagg caggttggtt ttcataatcac  
 3541 ctcagccaac tggctt aatttattgc ataatgatat tcacatcccc tcagttgcag  
 3601 tgaattgtga gcaaaagatc ttgaaagcaa aaagcactaa ttagttaaa atgtcacttt  
 3661 tttggttttt attatacaa aaccatgaag tactttttt atttgctaaa tcagattgtt  
 3721 ctttttagt gactcatgtt tatgaagaga gttgagttt acaatcctag cttttaaaag  
**10** 3781 aaactattta atgtaaaata ttctacatgt cattcagata ttatgtatat cttctagcct  
 3841 ttattctgtt ctttaatgt acatatttct gtcttgcgtt atttgtatat ttcaactgg  
 3901 taaaaaacaa acatcgaaag gcttatgcc aatggaagat agaatataaa ataaaacgtt  
 3961 acttgtatata tggttaagtgg tttcaatgtt ctttcagata attcatgtgg agattttgg  
 4021 agaaaccatg acggatagtt taggatgact acatgtcaa gtaataaaag agtggtaat  
**15** 4081 ttacaaaaa ccaagctatt tggaagcttc aaaaggtttca tataatgtat ggaacaaaag  
 4141 gggattctc tttccata tatgttcctt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aatcaagcag  
 4201 atggcttaaa gctggttata ggattgctca catttttgc gcattatgca tgtaacttaa  
 4261 ttgttttaga gcgtgttgc gttgtaacat cccagagaag aatgaaaagg cacatgctt  
 4321 tatccgtgac cagatttttgc gtccaaaaaa atgtatTTT ttgtgtgtt accactgca  
**20** 4381 ctattgcacc tctctatTTT aatttactgt ggaccatgtg tggtgtctt atgcccTTT  
 4441 aaagcagttt ttataaaaag aaagccccggg tctgcagaga atgaaaactg gttggaaact  
 4501 aaagggtcat tgggttaagt gcaattaata caagttatttgc tgctttcaaa aatgtacac  
 4561 ggaaatctgg acagtgcgtc acagatttgc acattagcct ttgcttttc tctttccgg  
 4621 taaccttgta acatattgaa accttttaag gatgccaa gatgcattttt ccacaaaaaa  
**25** 4681 acagcagacc aacatataaga gtgtttaaaa tagcatttttgc gggcaaattt aaactcttgc  
 4741 ggttcttaga ctcacatctg tttcagttt tcctcagtttgc tatattgacc agtggtttt  
 4801 attgcaaaaa catatacccg attttagcgtt gtcagcgtat tttttctt catcctggag  
 4861 cgtattcaag atcttccaa tacaagaaaa ttaataaaaa atttatataat aggccggc  
 4921 aaaagagcca tggtaaaaat agtcattatg ggctcaataa gaaagaagac ttttaagttt  
**30** 4981 taatccagtt tatctgttga gttctgttgc ctactgaccc cctgagactg gcactgttgc  
 5041 agtttttagtt gcctacccta gcttttttgc cgtacaattt tgccaaatacc aagttcaat  
 5101 ttgtttttac aaaacattat tcaagccact agaattatca aatatgacgc tatagcagag

5161 taaaatactct gaataagaga ccggtaactag ctaactccaa gagatcggtt gcagcatcag  
5221 tccacaaaaca cttagtgccc cacaatatat agagagatag aaaaggttgt tataacttga  
5281 agcatgtatt taatgcaaata aggcacgaag gcacaggctc aaaatactac attgtcactg  
5341 taagctatac tttaaaata tttatTTTT ttAAAGTATT ttctagtctt ttctctctc  
**5** 5401 gtggaaatggt gaaagagaga tgccgtgtt tgaaagtaag atgatgaaat gaattttaa  
5461 ttcaagaaac attcagaaac ataggaatta aaacttagag aaatgatcta attccctgt  
5521 tcacacaaaac tttacacttt aatctgatga ttggatattt tatttttagtg aaacatcatc  
5581 ttgttagcta actttaaaaa atggatgtat aatgattaaa gttggatgt atttttttt  
5641 aatgtatcag tttgaaccta gaatattgaa ttAAAATGCT gtctcagtat ttAAAAGCA  
**10** 5701 aaaaaggaat ggaggaaaat tgcatcttag accatTTTA tatgcagtgt acaatttgct  
5761 gggctagaaa tgagataaaag attatTTATT tttgttcata tcttgtaattt ttcttattaaa  
5821 atcatttat gaaatccaaa aaaaaaaaaa aaaaa

## REIVINDICAÇÕES

1. Uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes.
- 5           2. Uso de acordo com a reivindicação 1, em que o medicamento é para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes em um tecido selecionado do grupo consistindo na: pele; olhos; vasos sanguíneos; sistema nervoso periférico ou central; tendões, ligamentos ou músculo; cavidade oral, lábios e palato; fígado; coração; cérebro; tecidos digestivos; tecidos reprodutivos; cavidade abdominal; cavidade pélvica e cavidade torácica.
- 10          3. Uso de acordo com a reivindicação 2, em que o medicamento é para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes dérmicas.
4. Uso de acordo com a reivindicação 2, em que o medicamento é para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes nos olhos.
- 15          5. Uso de acordo com a reivindicação 1, para a prevenção, redução ou inibição de aderências, tais como aquelas que ocorrem no abdômen, pélvis ou espinha dorsal; ou tendões.
- 20          6. Uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para uso na prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico.
7. Uso de acordo com a reivindicação 6, em que o medicamento é para uso na prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico selecionado do grupo consistindo em: fibrose da pele; escleroderma; fibrose sistêmica progressiva; fibrose pulmonar; fibrose muscular; fibrose renal; glomeruloesclerose; glomerulonefrite; fibrose uterina; fibrose renal; cirrose do fígado; fibrose hepática; aderências, tais como aquelas que ocorrem no abdômen, pélvis ou espinha dorsal; doença pulmonar obstrutiva crônica; fibrose seguinte ao infarto do miocárdio; fibrose do sistema nervoso central, tal como fibrose seguinte ao acidente vascular cerebral; fibrose associada com distúrbios neurodegenerativos tais como doença de Alzheimer ou esclerose múltipla; fibrose associada com vitreorretinopatia proliferativa (PVR); restenose; endometriose; doença isquêmica e fibrose de radiação.

8. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o medicamento é uma solução injetável compreendendo WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste.

9. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o medicamento é um medicamento tópico que compreende WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste.

10. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o medicamento compreende WNT5A de Sequência ID no. 1.

11. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o medicamento compreende WNT5A recombinante.

12. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o fragmento terapeuticamente ativo de WNT5A compreende um fragmento submetido a palmitoíla de WNT5A.

13. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações, em que o derivado terapeuticamente ativo de WNT5A, ou um fragmento deste, é um derivado de peptóide.

14. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o WNT5A, ou fragmento ou derivado terapeuticamente ativo deste, é fornecido em uma quantidade terapeuticamente eficaz.

15. Uso de acordo com a reivindicação 10, em que o medicamento fornece menos do que 2000 ng de WNT5A per cm linear de ferimento, ou  $\text{cm}^2$  de um ferimento ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas.

16. Uso de acordo com a reivindicação 10, em que o medicamento fornece menos do que 1600 ng de WNT5A per cm linear de ferimento, ou  $\text{cm}^2$  de um ferimento ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas.

17. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o medicamento fornece menos do que 0,2 ng de WNT5A per cm linear de ferimento, ou  $\text{cm}^2$  de um ferimento ou distúrbio fibrótico, durante um período de 24 horas.

18. Uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeutica-

mente eficaz deste, na preparação de um medicamento para a administração entre 0,01 e 33 picomols de WNT5A, ou o fragmento ou derivado, per cm linear de um ferimento.

19. Uso de acordo com a reivindicação 18, em que o medicamento é para a administração entre 0,02 e 16,5 picomols de WNT5A, ou o fragmento ou derivado, per cm linear de um ferimento.

20. Uso de acordo com a reivindicação 18 ou reivindicação 19, em que o medicamento é para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes.

21. Uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para a administração entre 0,01 e 33 picomols de WNT5A, ou o fragmento ou derivado, per cm<sup>2</sup> de fibrose associada com um distúrbio fibrótico.

22. Uso de acordo com a reivindicação 21, em que o medicamento é para a administração entre 0,02 e 16,5 picomols de WNT5A, ou o fragmento ou derivado, per cm linear de um ferimento.

23. Uso de acordo com a reivindicação 21 ou reivindicação 22, em que o medicamento é para uso na prevenção e/ou tratamento do distúrbio fibrótico.

24. Uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para a prevenção, redução ou inibição de cicatrizes, em que o padrão de administração para o medicamento compreende a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado deste, antes da formação de um ferimento, e a administração de uma outra quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado deste, após a formação do ferimento.

25. Método de prevenção, redução ou inibição de cicatrizes, o método compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, em um paciente com necessidade de tal prevenção, redução ou inibição.

26. Método de prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico, o método compreendendo a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, a um paciente com necessidade de tal prevenção e/ou tratamento.

27. Método de acordo com a reivindicação 25 ou reivindicação 26, em que o WNT5A, ou fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, é administrado por meio de um medicamento fabricado como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 24.

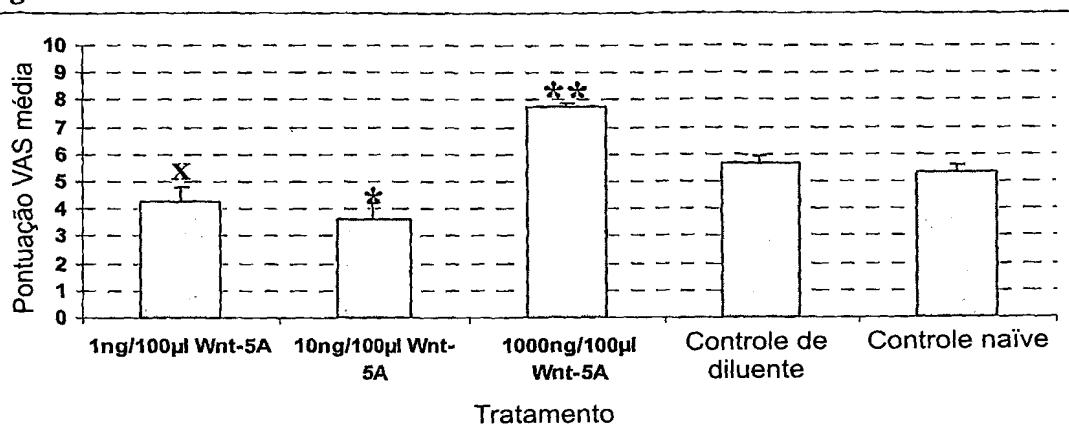
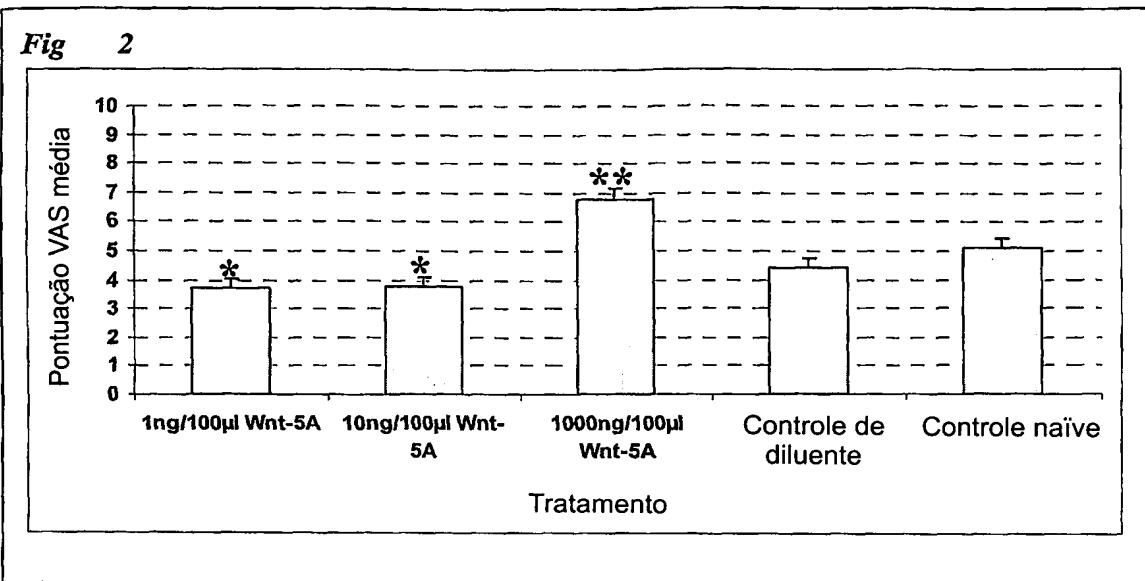
*Fig 1*

Fig 2



*Fig 3*

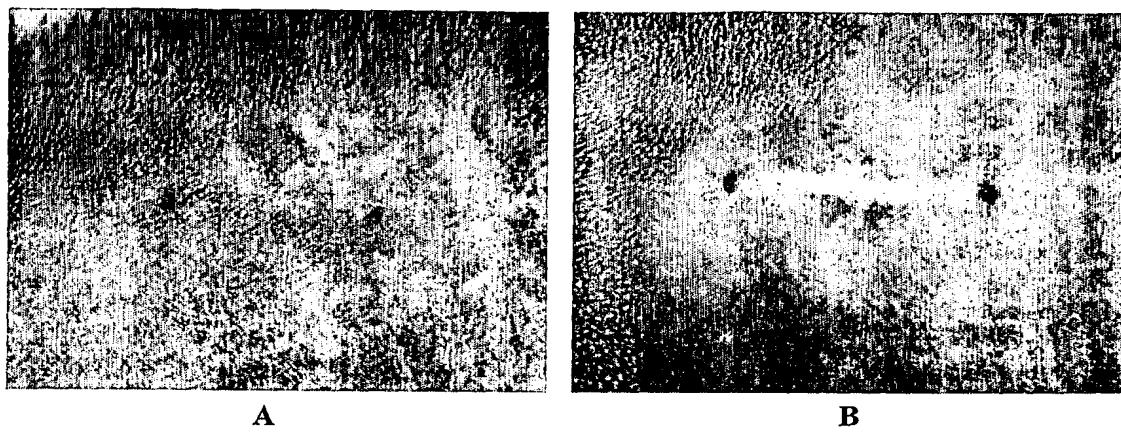
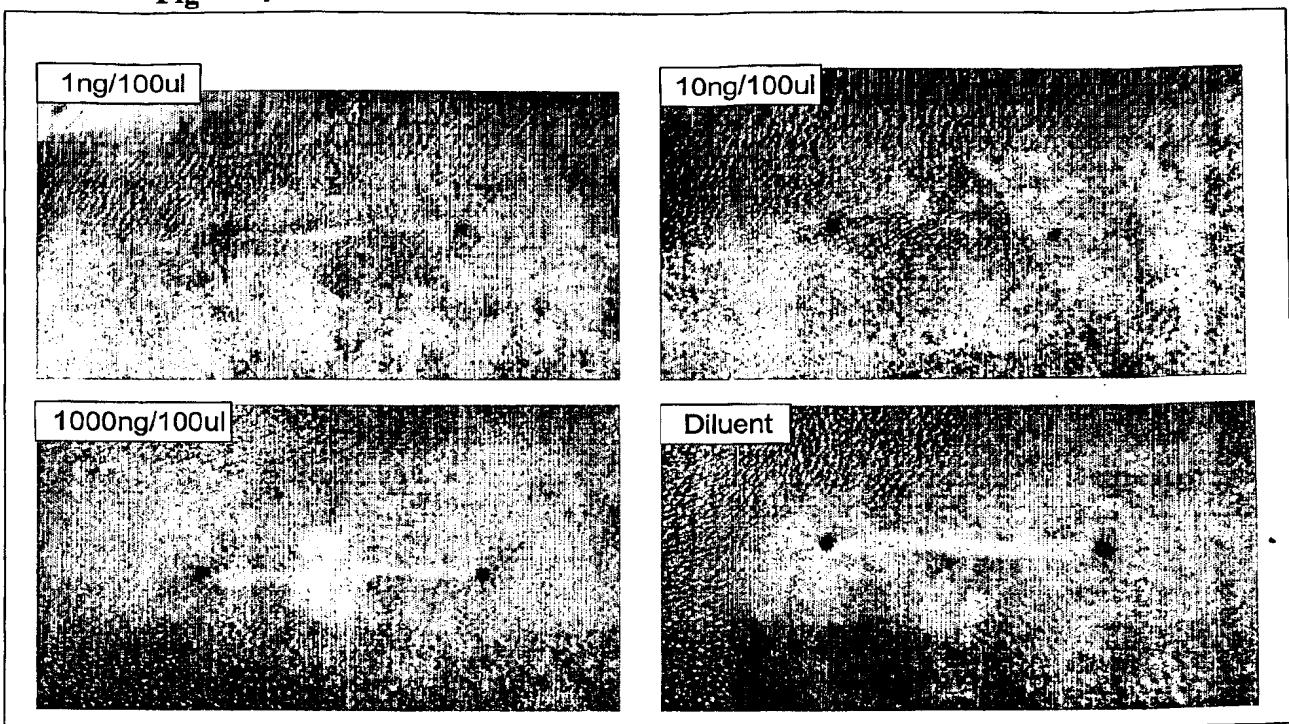


Fig 4



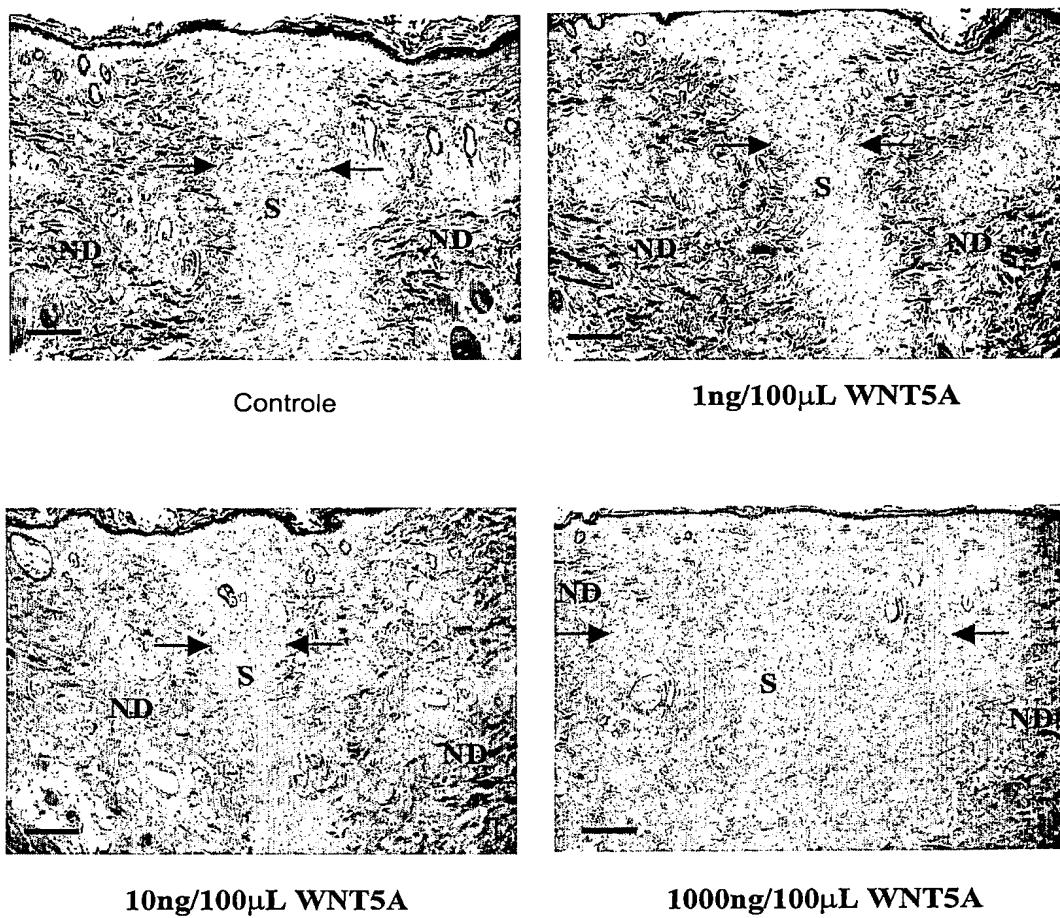
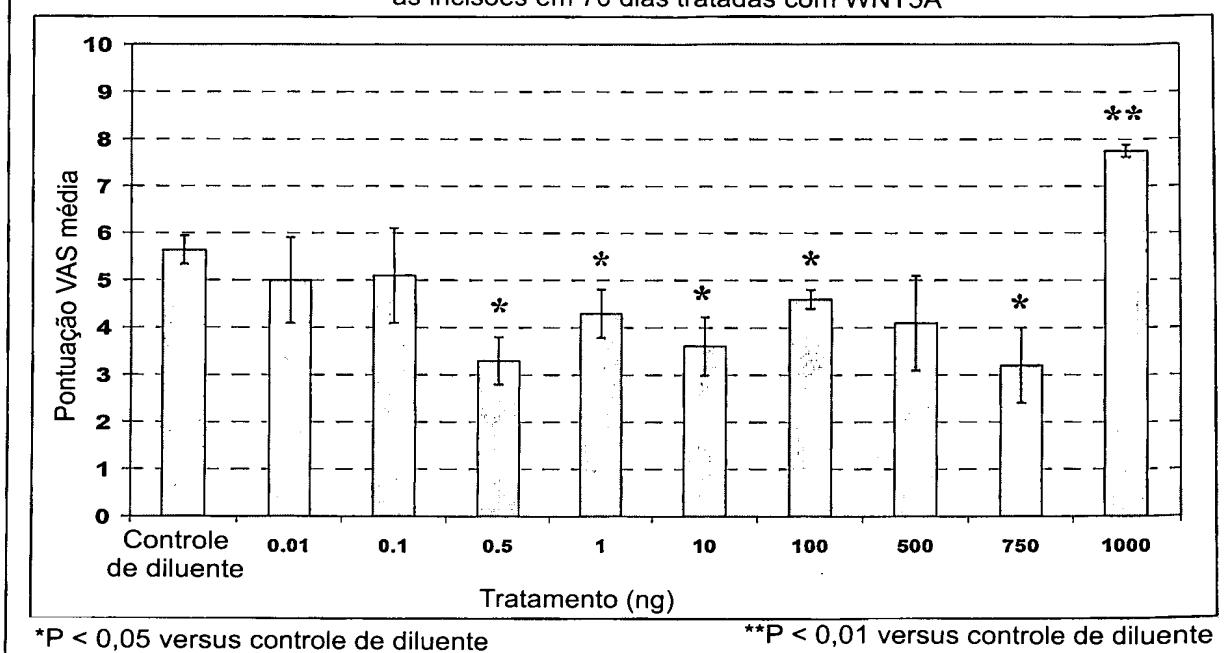


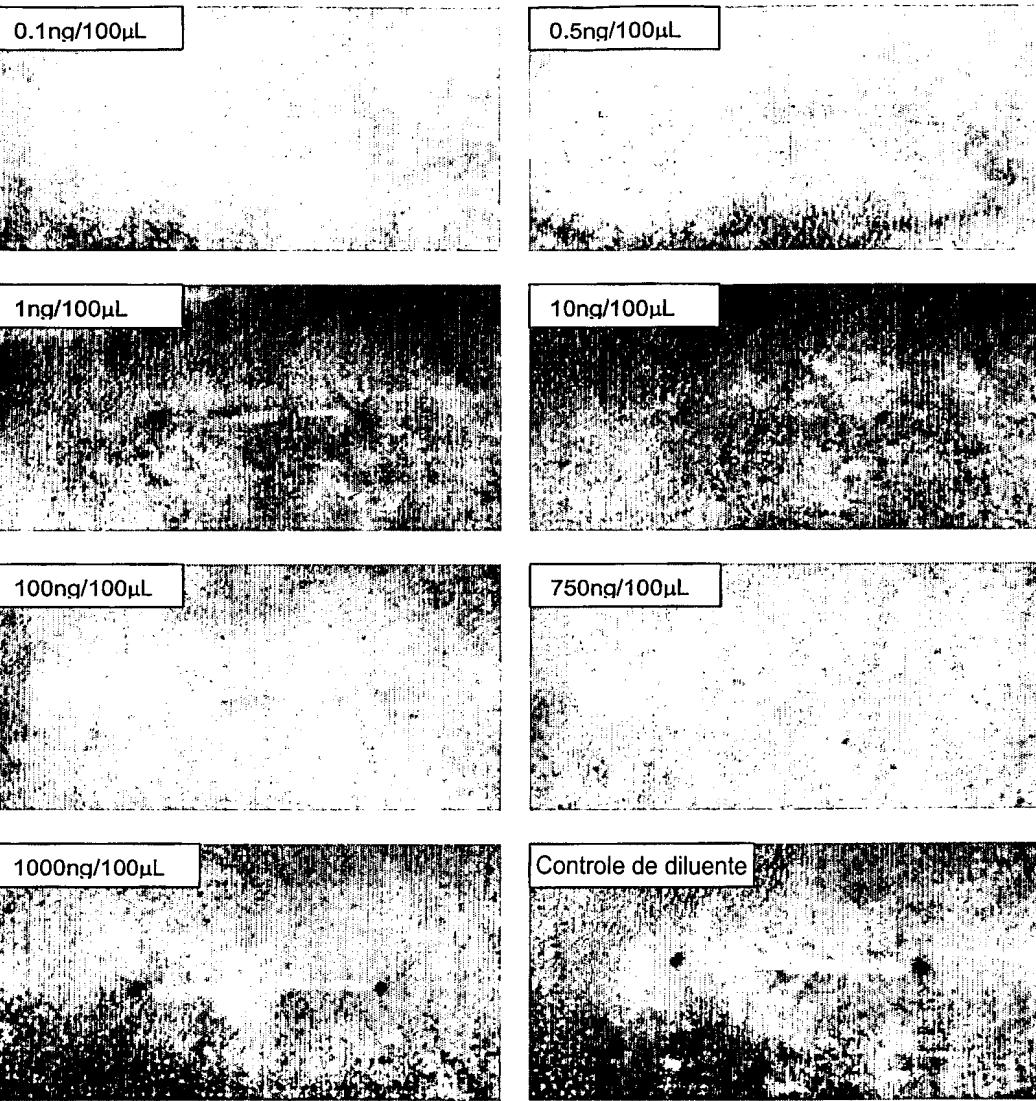
Fig 5

**Fig 6** Diagrama de barras mostrando as pontuações VAS macroscópica com relação as incisões em 70 dias tratadas com WNT5A



**Fig 7**

Imagens macroscópicas de cicatrizes tratadas com WNT5A e tratadas com controle de diluente



## RESUMO

Patente de Invenção: "**MEDICAMENTOS**".

A presente invenção refere-se ao uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, que é fornecido na preparação de um medicamento para uso na prevenção, redução ou inibição de cicatrizes. Também é fornecido o uso de WNT5A, ou um fragmento ou derivado terapeuticamente eficaz deste, na preparação de um medicamento para uso na prevenção e/ou tratamento de um distúrbio fibrótico. Outros aspectos refere-sem aos métodos pelos quais a cicatriz pode ser prevenida, reduzida ou inibida, e pelos quais os distúrbios fibróticos podem ser prevenidos e/ou tratados. Quantidades terapeuticamente eficazes de WNT5A, ou seus fragmentos ou derivados, que podem ser usados nos medicamentos ou métodos da invenção também são fornecidos.