



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 320**

51 Int. Cl.:
A61K 38/18 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04019831 .9**
86 Fecha de presentación : **09.05.1996**
87 Número de publicación de la solicitud: **1479394**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **24.11.2004**

54 Título: **Uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) para aumentar la ganancia de peso en un animal.**

30 Prioridad: **10.05.1995 US 438901**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2007

73 Titular/es:
University Technologies International Inc.
Suite 130, 3553 - 31 St. N.W.
Calgary, Alberta T2L 2K7, CA

72 Inventor/es: **Buret, Andre G.;**
Gall, D. Grant;
Hardin, James A. y
Olson, Merle E.

74 Agente: **Roeb Díaz-Álvarez, María**

ES 2 285 320 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) para aumentar la ganancia de peso en un animal.

5 **Campo de la invención**

La presente invención está relacionada con el uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) en el alimento o agua de bebida de animales.

10 **Antecedentes de la invención**

Algunos factores de crecimiento intestinal aceleran la maduración y renovación del epitelio. Uno de ellos es el factor de crecimiento epidérmico (EGF), un péptido gastrointestinal pequeño, estable en medio ácido, presente de forma natural en las secreciones salivales e intestinales y en otros líquidos corporales, producido en grandes cantidades en el calostro y en la leche. El EGF promueve a) la proliferación y diferenciación de las células intestinales durante las etapas tempranas de la vida, b) la maduración funcional del intestino previa al destete, y c) la proliferación epitelial en el tubo digestivo adulto (10, 11, 12, 13, 14). Además el EGF regula por aumento de forma aguda (en minutos) la absorción intestinal de electrolitos y nutrientes, un efecto que, según se ha demostrado, está relacionado con un alargamiento simultáneo de las microvellosidades apicales de los enterocitos (15). Los beneficios terapéuticos potenciales del EGF se han resaltado en estudios en los que el tratamiento tópico con EGF promovió la cicatrización de heridas (30) y, más recientemente, por la observación de que la administración de EGF potencia la absorción de nutrientes en el resto de intestino después de la resección masiva (16). El colon, en el que se observa la máxima carga bacteriana durante la infección por microorganismos como *Escherichia coli*, exhibe más receptores de EGF (17) que el intestino delgado. El EGF regula por aumento la función de todo el intestino, incluido el colon (12, 16).

El documento GB-2.198.351 describe una composición que comprende EGF y un material que proporciona hierro pero enseña que, cuando se dio como alimento, esta composición no tuvo efecto en el crecimiento de lechones. Zijlstra y colaboradores describen en *J. Ped. Gastroent. Nutr.* 19 (4):382-390(1994) que cerdos infectados con rotavirus tratados con EGF podían haber tenido un aumento mayor de peso corporal en los días 6 y 7 del estudio pero no se revela aumento de ganancia de peso en general. Imada y colaboradores informaron en *Am. J. Physiol.* 253 (3 parte 1): E251-E254 (1987) que la administración de EGF a ratones neonatales podía causar un aumento dependiente de la dosis en la ganancia de peso, pero que la ganancia de peso no era diferente durante el tratamiento con EGF.

Aunque se han descrito diversas funciones del EGF, no se había publicado anteriormente su función de prevenir la colonización intestinal por patógenos o de acelerar la ganancia de peso. Estas dos propiedades recientemente descubiertas lo convierten en un agente terapéutico extremadamente útil. La capacidad del EGF de prevenir la colonización o infección intestinal por patógenos puede tener importantes aplicaciones terapéuticas. Una de estas aplicaciones es el tratamiento de la colibacilosis entérica en animales de granja jóvenes.

La colibacilosis entérica es una infección bacteriana con considerables implicaciones para la economía de la industria agropecuaria. La colibacilosis entérica (también llamada disentería) es una de las enfermedades más frecuentes de los animales de granja recién nacidos o jóvenes (1-6). El microbio responsable es la bacteria patógena *Escherichia coli* (*E. coli*). La infección ocurre en cualquier lugar de cría de animales de granja y es una causa importante de pérdidas económicas en el oeste de Canadá y en otras partes del mundo. La enfermedad se caracteriza por diarrea, deshidratación y posiblemente la muerte. Por lo tanto, existe una necesidad real de desarrollar un procedimiento para evitar las pérdidas económicas causadas por la colibacilosis entérica.

Además de tratar la colibacilosis entérica en animales jóvenes de granja, el EGF se puede emplear también para tratar o prevenir cualquier dolencia que se produce como consecuencia de la colonización intestinal por un patógeno, es decir, un virus (por ejemplo, coronavirus, parvovirus, rotavirus), una bacteria (por ejemplo, *Salmonella sp.* y *Shigella sp.*) o un parásito (por ejemplo, *Cryptosporidium sp.* y *Eimeria sp.*) y la diarrea del viajero. Otro uso importante del EGF consiste en la prevención de la colonización bacteriana en lugares de úlcera gástrica. En la actualidad, está perfectamente probado que la infección por la bacteria *Helicobacter pylori* es un factor de riesgo importante de recidiva de la úlcera péptica. Se ha demostrado que ocurre colonización bacteriana en el lugar de la úlcera y que contribuye a la cronicidad de la misma. Por lo tanto, el EGF puede ser útil para prevenir la colonización por la bacteria *Helicobacter pylori* y, por lo tanto, puede resultar útil para acelerar la cicatrización de las úlceras gástricas.

Resumen de la invención

La presente invención está relacionada, por lo tanto, con el uso del factor de crecimiento epidérmico (EGF) para preparación de un agente para aumentar la ganancia de peso en un animal.

Otro aspecto de la invención es el uso de factor de crecimiento epidérmico para la preparación de un aditivo para agua de bebida o alimento para aumentar la ganancia de peso en un animal. Un aspecto más está relacionado con el uso de factor de crecimiento epidérmico para la fabricación de un medicamento para promover la ganancia de peso en un animal y, en particular, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de personas mal nutridas y pacientes que sufren anorexia nerviosa.

Según la presente invención, el factor de crecimiento epidérmico se añade al alimento o al agua de bebida del animal. El factor de crecimiento epidérmico se administra preferentemente por vía oral, más preferentemente en una cantidad de 10 a 10.000 $\mu\text{g/kg}$ al día al animal y más preferentemente una cantidad de 10 a 100 $\mu\text{g/kg}$ y preferentemente durante un periodo de al menos diez días. El animal puede seleccionarse entre animal adulto, animal recién nacido, animal joven, animal juvenil, animal de granja, animal para producción de alimentos, o un animal que padezca una infección. El animal puede ser también un ser humano.

Además de demostrar que la administración de EGF puede prevenir la colonización intestinal por patógenos, los inventores han demostrado también que el EGF puede potenciar la ganancia de peso en animales. Este último efecto es inesperado porque ciertas publicaciones han indicado que el EGF carece de efecto sobre la ganancia de peso (21,25). Otros estudios que investigaron los efectos del EGF en cerdos (28,29) fueron incapaces de demostrar una aceleración de la velocidad de crecimiento, a pesar de detectar aumentos simultáneos de los niveles de disacaridasas intestinales.

El uso de EGF para acelerar la ganancia de peso también tiene numerosas aplicaciones terapéuticas importantes. Esta propiedad es útil al tratar la infección intestinal, especialmente cuando la infección va acompañada de pérdida de peso por diarrea y deshidratación. Esta propiedad también resulta útil para aumentar la producción en la industria animal, como por ejemplo en la industria vacuna, porcina, avícola y piscícola. Esta última industria gana importancia a medida que se incrementa la producción de pescado por acuicultura. En la industria animal, el EGF puede administrarse fácilmente como aditivo alimentario o en el agua de bebida de los animales de granja. El empleo de EGF para promover la ganancia de peso se puede utilizar también en el tratamiento de personas mal nutridas o pacientes con anorexia nerviosa.

Además de prevenir la colonización por patógenos y aumentar la ganancia de peso, también se ha demostrado que el EGF aumenta la absorción intestinal de nutrientes. Esta propiedad posee también múltiples aplicaciones terapéuticas. Por ejemplo, esta propiedad hace que el EGF resulte más útil en el tratamiento de infecciones intestinales o en promover la ganancia de peso aumentando la absorción de nutrientes que pueden ser necesarios en esas circunstancias. Además, regulando por aumento la absorción gastrointestinal, el EGF puede incrementar también la captación de inmunoglobulina en el recién nacido.

La principal fuente de inmunoglobulina en el recién nacido es el calostro y la leche materna, y la falta de absorción apropiada de inmunoglobulina materna está relacionada con una elevada morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas (31). La velocidad de absorción de inmunoglobulina es máxima durante los primeros días de vida, después de lo cual se produce una disminución de la captación de inmunoglobulina y el cierre del tubo digestivo. La administración de EGF puede a) promover la absorción de inmunoglobulina del calostro, la leche u otras fuentes (como los preparados orales de inmunoglobulina) y b) retrasar el cierre intestinal, lo que puede facilitar también la captación de inmunoglobulina.

Como se ha tratado anteriormente, el EGF causa un aumento de la absorción intestinal de nutrientes. En consecuencia, la inhibición de la cascada de señalización del EGF disminuye la absorción intestinal de nutrientes. Nunca se han estudiado los beneficios clínicos de inhibir la cascada de señalización del EGF en la regulación de la absorción gastrointestinal de nutrientes. Se predice que es posible utilizar antagonistas del receptor de EGF o de la cascada de señalización del EGF como agentes terapéuticos gastrointestinales en las situaciones en las que puede estar justificada una disminución de la absorción gastrointestinal, como, por ejemplo, en el tratamiento de la obesidad, o para disminuir la captación intestinal de sustancias tóxicas o nocivas.

El término “animal”, tal y como se usa en la presente memoria descriptiva, incluye todos los miembros del reino animal, como los peces y los mamíferos (incluidos los animales de granja e incluso los seres humanos).

El término “patógeno”, tal y como se usa en la presente memoria descriptiva, incluye cualquier organismo capaz de causar enfermedades, como las bacterias, los virus y los parásitos. Ejemplos de patógenos bacterianos que pueden invadir el tubo digestivo son *E. coli* y *Salmonella typhimurium*.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de EGF para incrementar la ganancia de peso en un animal. Esto es útil para aumentar la producción en la industria animal, como en la industria agropecuaria y la acuicultura, donde se demandan aditivos alimentarios no farmacológicos para potenciar la producción.

El EGF se administra preferiblemente por vía oral, por ejemplo, en el alimento del animal. Además, se ha demostrado que el EGF liofilizado añadido al agua de bebida es estable y, por lo tanto, puede ser administrado de esta forma.

En un aspecto secundario el uso de EGF como se describe anteriormente trata y previene también infecciones entéricas (virales, bacterianas o parasitarias) en un animal.

En otro aspecto secundario, el uso de EGF como se describe anteriormente es eficaz en el tratamiento o prevención de colibacilosis entéricas (diarrea blanca) en un animal.

En otro aspecto secundario, el uso de EGF como se describe anteriormente es eficaz para prevenir úlcera gástrica o acelerar la curación de úlceras gástricas asociadas a *Helicobacter pylori*.

En un aspecto secundario más, el uso de EGF como se describe anteriormente aumenta la absorción de inmunoglobulina en el intestino de un animal, especialmente un animal recién nacido.

Todavía en un aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un agente que inhibe la actividad de EGF al disminuir la absorción intestinal de nutrientes. Esto puede ser útil en situaciones en las que se desee disminuir la absorción intestinal tales como en el tratamiento de la obesidad o en la disminución de la absorción intestinal de toxinas.

En el ámbito de la presente invención también se incluye el uso de EGF para preparar un medicamento para tratar o prevenir cualquiera de dichas dolencias mencionadas anteriormente.

Descripción del dibujo

La Figura 1 es una gráfica que muestra el efecto del EGF sobre la ganancia de peso en conejos.

Descripción detallada de la invención

Ejemplo 1

Efecto del EGF sobre la infección intestinal

Se realizaron experimentos con el fin de determinar los efectos del EGF sobre la infección intestinal por *E. coli*. Los resultados de los experimentos se han combinado y se resumen a continuación.

Se estudiaron en 3 grupos 28 conejos New Zealand White (de 6 semanas de edad) en 3 grupos: 1) Controles (Con, n=9), 2) infectados con 1×10^7 RDEC-*E. coli* (I, n=10), y 3) infectados tratados con 60 μg diarios de EGF por vía oral durante 10 días, empezando 3 días antes de la infección (I-EGF, n=9). Diariamente se evaluaron en los animales la ganancia de peso, la eliminación rectal de *E. coli* y la presencia de diarrea. Siete días después de la infección, se sacrificaron los animales y se obtuvo mucosa del yeyuno (JEJ), el íleon (ILE) y el colon proximal (PROX) para efectuar la cuantificación de *E. coli*, y del yeyuno para realizar el análisis de enzimas en la mucosa.

En la tabla 1 se muestran los resultados de los experimentos. Los coprocultivos de los conejos infectados (I) y de los infectados y tratados con EGF (I-EGF) fueron positivos para *E. coli*, pero no los de los conejos de control. En el grupo I, 4 animales tenían diarrea en comparación con ningún caso en los animales I-EGF y en los de control. La infección tuvo como consecuencia una disminución de la ganancia de peso que se evita con el EGF (véase Tabla 1). El tratamiento con EGF también redujo la colonización del yeyuno, el íleon y el colon proximal por *E. coli* en más del 85% en comparación con I, e impidió la disminución de la actividad yeyunal de maltasa y sacarasa.

Los resultados precedentes demuestran que la administración de EGF posee algunos beneficios clínicos en conejos infectados por *E. coli*, como se ilustra por la potenciación de la ganancia de peso y la ausencia de diarrea en comparación con los animales infectados no tratados. El tratamiento con EGF se asocia a un aumento de las actividades de disacaridasas y con una disminución de la colonización bacteriana en la mucosa intestinal.

Ejemplo 2

Efecto del EGF sobre la infección intestinal y la traslocación bacteriana

Se realizó un experimento para evaluar *in vitro* los efectos del EGF exógeno sobre la traslocación bacteriana a través del epitelio y para determinar si los efectos del EGF son específicos para cada bacteria.

Se añadieron 2×10^8 *Salmonella typhimurium* o *E. coli* patógenas a la superficie apical de monocapas de CaCo2 humanas confluentes cultivadas en membranas Transwell (3,0 μm de porosidad). Sobre las monocapas se depositó EGF apical (100 μM) o solución salina con tampón de fosfato (PBS) 15 minutos antes de la infección. Cada hora después de la infección (0-7 h) se sustituyó el medio situado bajo la membrana, calculando la velocidad de migración bacteriana transepitelial (UFC/h)

Los resultados demuestran que, *in vitro*, el EGF retrasaba la traslocación inicial de *E. coli* 1 hora y después inhibía la tasa de invasión más del 95%. La traslocación de *S. typhimurium* se eliminó por completo en las monocapas tratadas con EGF.

Los resultados anteriores demuestran que el EGF ejerce sus efectos clínicos, al menos en parte, interfiriendo en la traslocación bacteriana. El EGF puede ejercer también sus efectos controlando la colonización bacteriana interfiriendo en la multiplicación bacteriana y/o en la adherencia de las bacterias a la superficie intestinal. La microscopia electrónica de barrido en los estudios de membranas Transwell corroboraba este efecto. De hecho, estas observaciones revelaron cantidades significativamente más elevadas de microorganismos adheridos a las monocapas no tratadas en comparación con las que habían sido expuestas a EGF. Los hallazgos apoyan aún más el que la terapia con EGF puede ser útil para tratar o prevenir infecciones entéricas.

Ejemplo 3

Efecto del EGF sobre la ganancia de peso

5 Se examinaron los beneficios potenciales del EGF sobre la ganancia de peso. Un grupo de conejos New Zealand White (de 6 semanas de edad, 500-700 g) recibió dosis orales diarias de EGF humano recombinante (100 μ g/kg de peso corporal) y a los animales de control se les administró exclusivamente suero fisiológico. A los 9 días, los animales tratados con EGF tenían una ganancia de peso media acumulativa de 422 ± 27 g (n=10) mientras que los controles sólo ganaron 394 ± 16 g (n=11). Remitiéndonos a la Figura 1, la pendiente de la curva de regresión lineal de la ganancia de peso en animales tratados con EGF fue significativamente mayor (P 0,002) que la de los controles no tratados. Dado el aspecto lineal de ambas curvas, el proseguir la alimentación con EGF probablemente dé lugar un efecto creciente mantenido sobre la ganancia de peso.

15 Estos resultados indican que el EGF puede promover la aceleración de la ganancia de peso en animales sanos.

Ejemplo 4

Efecto del EGF y de un inhibidor del receptor de EGF sobre la absorción de nutrientes

20 Estos experimentos se realizaron para determinar los efectos del EGF y de un inhibidor del receptor de EGF sobre la absorción de nutrientes y la ultraestructura del borde en cepillo.

Los experimentos iniciales demostraron que el EGF luminal aumentaba la absorción de glucosa en tejido intacto. Experimentos posteriores examinaron los efectos del EGF y de un inhibidor del receptor de EGF (tirfostina 51) sobre la absorción de nutrientes por la membrana del borde en cepillo intestinal. La tirfostina 51 es un inhibidor específico de la tirosina quinasa, que constituye un elemento crucial en la cascada de señalización intracelular del EGF. Los estudios se realizaron en conejos New Zealand White (700-1000 g; aproximadamente 8 semanas de edad). Se ligaron 10 asas ciegas de yeyuno de 10 cm separadas por 1 cm empezando en una localización 5 cm distal al ligamento de Treitz. En experimentos separados se administraron EGF (60 mg/ml), EGF + tirfostina (10 μ M), o tirfostina sólo (10 μ M) en un excipiente de 1,5 ml de suero fisiológico a una de las asas. La otra asa sólo recibió excipiente y actuaba como control emparejado. Al cabo de una hora, se extirparon las asas y se realizó un raspado de la mucosa para preparar vesículas de membrana del borde en cepillo. Se determinó, mediante técnicas establecidas, la captación de nutrientes (D-glucosa y L-prolina) al interior de las vesículas de la membrana del borde en cepillo. El EGF en la luz estimulaba un aumento significativo con respecto a los controles (p<0,001) en el transporte de glucosa (EGF $16,1 \pm 1,0$ frente a CONTROL $11,5 \pm 0,9$ nmol/min/mg de proteína; n=5) y de prolina (EGF $3,8 \pm 0,5$ frente al CONTROL $2,6 \pm 0,3$ nmol/min/mg de proteína; n=5) del borde en cepillo. El transporte de glucosa y de prolina se potenció en un grado similar, lo que sugiere que el EGF estimula un aumento generalizado en el transporte de nutrientes. La administración simultánea de tirfostina (TYR) bloqueó por completo el aumento de la captación de glucosa inducido por EGF y provocó una reducción significativa (p<0,001) en la captación de nutrientes en comparación con los controles (EGF + TYR $5,9 \pm 0,3$ frente a CONTROL $10,7 \pm 0,6$ nmol/min/mg de proteína; n=4). Posteriormente, una serie adicional de experimentos estudió el efecto de la tirfostina sola sobre el transporte de glucosa del borde en cepillo. La tirfostina sola redujo significativamente la captación de glucosa (p<0,001) en comparación con los controles (TYR $8,0 \pm 0,8$ frente a CONTROL $10,7 \pm 1,0$ nmol/min/mg de proteína; n=4). Los inventores habían demostrado previamente que la absorción intestinal de nutrientes está relacionada con la ganancia de peso en diversos modelos diferentes. Por lo tanto, el tratamiento con EGF aumenta la absorción de nutrientes y promueve la ganancia de peso. A la inversa, el tratamiento con tirfostina puede promover una disminución de la ganancia de peso o la pérdida de peso, y, por lo tanto, puede resultar útil en el tratamiento de la obesidad. El tratamiento con tirfostina puede disminuir también la captación intestinal de sustancias tóxicas o adversas.

Ejemplo 5

Efecto del EGF sobre la absorción de inmunoglobulina

55 En otra serie de experimentos, se estudió la capacidad del EGF de aumentar la captación de inmunoglobulina en el intestino de animales jóvenes.

Se asignaron de forma aleatoria ratas (Sprague-Dawley, de 14 días de edad) a uno de los 3 grupos siguientes. En el tiempo 0, se administró una de las 3 soluciones siguientes por lavado oral a cada uno de los grupos. El grupo 1 recibió sólo suero fisiológico (0,4 ml). El grupo 2 recibió suero fisiológico (0,2 ml) + IgG de oveja (0,2 ml, 5 mg/ml). El grupo 3 recibió EGF en suero fisiológico (0,1 μ g/ml) + IgG de oveja (0,2 ml, 5 mg/ml). A la hora, las 2 horas y las cuatro horas tras la inoculación se extrajo sangre de 4 animales de cada grupo por punción cardiaca (después de anestesia con metoxifluorano). Se separó el suero sanguíneo, y se determinaron los niveles de IgG de rata por inmunoabsorción ligada a enzima (ELISA). Los valores se expresan en forma de media $\pm$ error estándar de IgG de oveja en el suero sanguíneo (μ g/Uml)(Tabla 2).

ES 2 285 320 T3

Los resultados se muestran en la Tabla 2 e indican que la administración de EGF aumenta la captación de inmunoglobulina del intestino.

Lo anterior describe nuevas utilidades del EGF. En particular, se ha demostrado que el EGF previene la colonización gastrointestinal por patógenos y promueve la ganancia de peso en animales. Además, puede aumentar la absorción de inmunoglobulina en animales jóvenes. En consecuencia, el EGF es un agente muy útil que se puede emplear para aumentar la producción en la industria animal, como por ejemplo en la industria vacuna, porcina y avícola, así como en la acuicultura. Además el tratamiento con EGF puede resultar beneficioso en seres humanos (por ejemplo, durante la enfermedad de Crohn, la infección gastrointestinal, la diarrea del viajero, etc.) El EGF puede acelerar también la curación de las úlceras gastrointestinales evitando la colonización del lugar de la úlcera.

Los inhibidores del EGF pueden disminuir la absorción de nutrientes en el intestino y, como tales, pueden resultar útiles para tratar la obesidad o prevenir la absorción de toxinas.

Un experto en la técnica apreciará que la presente invención está relacionada con nuevas utilidades de EGF e inhibidores de EGF. Los ejemplos descritos se indican como modelos para ejemplificar la invención y no limitan la invención. La forma de administración, la formulación y la dosis de EGF o del inhibidor del EGF pueden modificarse dependiendo de la aplicación concreta. Por ejemplo, al tratar animales de granja jóvenes, el EGF se puede administrar por vía oral en el alimento o el agua de bebida del animal. Los límites de dosis pueden oscilar entre 10 y 10.000 $\mu\text{g/kg}$ al día.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 1

	Ganancia de peso acumulativa (gramos)	<i>E. coli</i> (Log ₁₀ UFC/cm)			MALT (u/g)	SAC (u/g)
		JEJ	ILE	PROX		
CONTROL	314 ± 23	0	0	0	301 ± 106	77 ± 17
INFECTADAS	237 ± 27	4,19 ± 0,3	6,16 ± 0,3	4,92 ± 0,3	151 ± 36	28 ± 3
INFECTADAS + EGF	316 ± 16*	3,10 ± 0,4*	4,88 ± 0,2*	4,09 ± 0,2*	436 ± 48*	89 ± 19*
% DE ELIMINACIÓN BACTERIANA EN EL GRUPO INFECTADO + EGF		92%	95%	85%		

Los valores son medias ± error estándar de la media de 5 animales por grupo a los 7 días de la inoculación.

*P<0,05 I-EGF frente a I.

TABLA 2

Concentración de IgG de oveja ($\mu\text{g/ml}$) en el suero sanguíneo de las ratas.

Tiempo (tras la inoculación)	Grupo 1 (Suero fisiológico)	Grupo 2 (Suero fisiológico + IgG)	Grupo 3 (EGF + IgG)
1 hora	0 ± 0	$1,2 \pm 0,8$	$4,7 \pm 1,9$
2 horas	ND	$4,4 \pm 1,5$	$9,8 \pm 3,9$
4 horas	0 ± 0	$5,8 \pm 2,2$	$12,2 \pm 3,8$

N/D = no disponible

Bibliografía

1. Radostits OM, Blood DC, Gay CC (editores) *Veterinary medicine*. Baillere Tindall 8ª edición, Londres. 1994, págs.703-730.
2. Acres SD. Enterotoxigenic *E. coli* infections in newborn calves: a review. *J. Dairy Sci.* 1985;68; 229-256.
3. Janke BH, Francis DH, Collins JE, y col. Attaching and effacing *E. coli* infection as a cause of diarrhea in young calves. *JAVMA* 1990; 196(6): 897-901.
4. Grimes SD, Waxler GL, Newman JP. Adhesion of K99-positive *E. coli* to intestinal brush borders of pigs. *AM J Vet Res.* 1986;47 (2): 385-388.
5. Bijlsma IGW, deNijs A, van der Meer C, y col. Different pig phenotypes affect adherence of *E. coli* to jejunal brush borders by K88ab, K88ac, K88ad antigen. *Infect Immun* 1982; 37: 891-894.
6. Mainil JG, Bex F, Jacguemin E, y col. Prevalence of four enterotoxin (STaP, STaH, STb and LT) and four adhesin subunit (K99, K88, 987P, and F41) genes among *E. coli* isolates from cattle. *Am J Vet Res.* 1990; 51(2) 187-190.
7. Schoonderwoerd M, Clarke RC, van Dreumal AA, y col. Colitis in calves: Natural and experimental infection with a verotoxin-producing strain of *E. coli* O111:NM. *Can J Vet Res.* 1988; 52:484-487.
8. Hadad JJ, Gyles CL. Scanning and transmission electron microscopic study of the small intestine of colostrum-fed calves infected with-selected strains of *E. coli*. *Am J Vet Res.* 1982; 43 (1) 41-49.
9. Elliott E, Li Z, Bell C y col., Modulation of host response to *E. coli* O157:H7 infection by antiCD18 antibody in rabbits. *Gastroenterology* 1994; 106:1554-1561.
10. Weaver LT, Gonella PA, Israel EJ, y col. Uptake and transport of Epidermal Growth Factor by the small intestinal epithelium of the fetal rat. *Gastroenterology* 1990; 98:828-837.
11. O'Loughlin EV, Chung M, Hollenberg M, y col. Effect of epidermal growth factor on ontogeny of the gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1985; 249:G674-G678.
12. Goode lad RA, Raja KB, Peters TJ, y col. Effects of urogastrone-epidermal growth factor on intestinal brush border enzymes and mitotic activity. *Gut* 1991; 994-998.
13. Walker-Smith JA, Phillips AD, Walford N, y col. Intravenous epidermal growth factor/urogastrone increases small intestinal cell proliferation in congenital microvillous atrophy. *Lancet* 1985; ii:1239-1240.
14. Hardin JA, Buret A, Meddings JB, y col. Effect of epidermal growth factor on enterocyte brush-border surface area. *Am J Physiol* 1993; 1264:G312- G318.
15. O'Loughlin EV, Winter M, Shun A, y col. Structural and functional adaptation following jejunal resection in rabbits: Effect of epidermal growth factor. *Gastroenterology* 1994; 107:87-93.
16. Pothier P, Menard D. Presence and characteristics of epidermal growth factor receptors in human fetal small intestine and colon. *FEBS lett.* 1988; 228(1) 113-117.
17. Brake AJ, Merryweather JP, Coit DG, y col. α -factor directed synthesis and secretion of mature foreign proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:4642-4646.
18. Brown GL, Curtsinger L, Brightwell JR, y col. Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor. *J Exp Med* 1986; 163:1319-1324.
19. Brown GL, Nanney LB, Griffen J, y col. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *New Engl J Med* 1989; 321:76-79.
20. Zijlstra RT, Odle J, Hall WF, y col. Effect of orally administered epidermal growth factor in Intestinal recovery of neonatal pigs infected with rotavirus. *J Ped Gastro Nutr* 1994; 19:382-390.
21. Bird AR, Croom WJ, Fan YK, y col. Jejunal glucose absorption is enhanced by epidermal growth factor in mice. *Nutr* 1994; 124:231-240.
22. Hardin JA, Gall DG. The effect of TGF α on intestinal solute transport. *Reg Pep* 1992; 39:169-176.

23. **Horwath K, Hill ID, Devarajan P**, y col. Short-term effect of epidermal growth factor on sodium and glucose cotransport of isolated jejunal epithelial cells. *Biochem Biophys Acta Mol Cell Res* 1994; 1222:215-222.

24. **Kitagawa T, Tanaka M, Akamatsu Y**. Regulation of glucose transport activity and expression of glucose transporttr mRNA by serum, growth factors, and phorbol ester in quiescent mouse fibroblasts. *Biochem Biophys Acta* 1989; 980:100-108.

25. **Opleta-Madsen K, Hardin JA, Gall DG**. Epidermal growth factor upregulates intestinal electrolyte and nutrient transport. *Am J Physiol* 1991; 260:G807-G814.

26. **Opleta-Madsen K, Meddings JB, Gall DG**. Epidermal growth factor and postnatal development of intestinal transport and membrane structure. *Pediatr Res* 1991; 30:342-350.

27. **Salloum RM, Stevens BR, Schultz GS**, y col. Regulation of small intestinal glutamine transport by epidermal growth factor. *Surgery* 1993; 113:552-559.

28. **James PS, Smith MW, Tivey DR**, y col. Dexamethasone selectively increases sodium-dependent alanine transport across neonatal piglet intestine. *J Physiol* 1987; 393:569-582.

29. **Jaeger LA, Lamar CH, Cline TR**, y col. Effect of orally administered epidermal growth factor on the jejunal mucosa of weaned pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 5(3): 471-474.

30. **Brown GL, Nanney LB, Griffin J**, y col. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *New Engl J Med.* 1989; 321(2):76-79.

31. **Aldridge B, Garry F, Adams R**. Role of colostral transfer in neonatal calf management: Failure of acquisition of passive immunity. Continuing education article #8. *Compend. N. Am. Ed*, 1992; 14(2):265-269.

32. **Donowitz M, Montgomery JLM, Walker MS**, y col. Brush border tyrosine phosphorylation stimulates ileal neutral NaCl absorption and brush border Na^+H^+ exchange. *Am J Physiol* 1994; 266:G647-G656.

REIVINDICACIONES

1. Un uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) para preparar una preparación de EGF para aumentar la ganancia de peso en un animal.

2. Un uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) para preparar un medicamento para promover la ganancia de peso en un animal.

3. Un uso según la reivindicación 2, en el que el medicamento es para tratar personas mal nutridas y pacientes con anorexia nerviosa.

4. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 3, en el que EGF está presente en el alimento o agua de bebida del animal.

5. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 4, en el que la preparación de EGF es para captación oral.

6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 5, en el que la preparación es para una captación de EGF oral por el animal de 10 a 10.000 $\mu\text{g/kg}$ al día.

7. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 6, en el que la preparación es para un animal seleccionado entre animal adulto, animal joven, animal sano, animal con una infección, animal de granja, animal para producir alimento, un ser humano.

8. El uso de factor de crecimiento epidérmico (EGF) para aumentar la producción animal en la industria agropecuaria o acuicultura.

9. El uso de la reivindicación 8, en el que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) se añade al alimento o agua de bebida del animal.

10. El uso de la reivindicación 9, en el que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) se administra durante al menos 10 días.

Figura 1: EFECTO DEL EGF EN LA GANANCIA DE PESO EN CONEJOS
(curvas de regresión lineal)

