



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

(21) **PI0611390-7 A2**

(22) Data de Depósito: 22/05/2006
(43) Data da Publicação: 08/09/2010
(RPI 2070)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 39/00

(54) Título: **COMPOSIÇÕES DE VACINA E USO DE COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO VACINA ANTI-LHRH NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR INCONTINÊNCIA URINÁRIA**

(30) Prioridade Unionista: 01/06/2005 US 60/686.789

(73) Titular(es): PFIZER PRODUCTS INC.

(72) Inventor(es): BRADLEY JOHN NETTLETON, JOHN WALKER, SYED ZIAUDDIN HASHMI

(74) Procurador(es): Nellie Anne Daniel Shores

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006001398 de 22/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/129162 de 07/12/2006

(57) Resumo: A invenção atual refere-se ao uso de composições compreendendo uma vacina anti-LHRH para o controle ou tratamento de incontinência urinária. A invenção atual se refere ainda a usos de composições compreendendo vacina anti-LHRH na preparação de um medicamento para tratamento ou controle de incontinência urinária em mamíferos, e especialmente, naqueles que foram cirurgicamente capados, como por exemplo, cadelas castradas.

"COMPOSIÇÕES DE VACINA E MÉTODOS PARA O TRATAMENTO
DE INCONTINÊNCIA URINÁRIA"

Campo da invenção

A invenção atual refere-se ao uso de composições
5 compostas de uma vacina anti-LHRH para o controle ou o tra-
tamento de incontinência urinária. A invenção atual refere-
se ainda a métodos para o tratamento ou controle de inconti-
nência urinária em mamíferos, e especialmente, naqueles que
foram cirurgicamente capados, como por exemplo, cadelas cas-
10 tradas.

Antecedentes da invenção

A incontinência urinária é a perda involuntária ou
a passagem de urina conseqüente para a bexiga, ou disfunção
do esfíncter uretral. Durante a estocagem normal de urina,
15 quando a bexiga fica cheia, o esfíncter uretral é firmemente
fechado para evitar a o vazamento. Então, quando a urina de-
ve ser descarregada, o esfíncter uretral relaxa e permite
que a urina passe através da uretra. A incontinência uriná-
ria, com freqüência, é o resultado da perda de tônus do es-
20 fíncter uretral, que diminui a habilidade de manter-se fe-
chado. Em tais casos, ocorre a incontinência urinária de uma
forma não controlada sempre que a pressão dentro da bexiga
excede a pressão requerida para fechar a uretra. Este pro-
blema, com freqüência, é mais notado quando o mamífero está
25 relaxado, como durante o sono profundo ou quando a pressão
sobre bexiga momentaneamente é aumentada, como quando o ma-
mífero tosse ou espirra.

Aqueles familiarizados com a condição, verificarão

que a incontinência urinária prevalece entre mulheres adultas. Por causa do estigma social associado com a incontinência urinária, muitos que sofrem do mal nem mesmo relatam o problema a um profissional de saúde. Como resultado, este
5 problema médico é muito pouco diagnosticado e muito pouco relatado.

A incontinência urinária é também muito comum em cachorros. Usualmente, ela ocorre em cadelas, e muito frequentemente nas cadelas castradas. Os cachorros machos são
10 tendentes também a esta condição, mas menos comumente do que a contraparte feminina. Anteriormente, foi explicado que o mecanismo que causa a incontinência em cachorros capados ou castrados é relacionado com concentrações pós-cirúrgicas de estrogênio ou testosterona após a remoção dos ovários ou
15 testículos. No caso de cadelas, acredita-se que o hormônio estrogênio seja responsável para produzir o tônus para o músculo do esfíncter uretral. Após a castração, o hormônio estrogênio é produzido em quantidades significativamente menores do que era antes da remoção dos ovários. Embora as
20 glândulas adrenais produzam pequenas quantidades de hormônio estrogênio, acreditava-se que os níveis produzidos são insuficientes para produzir o tônus do esfíncter. Em tais casos, pode ocorrer a incontinência, e algum tipo de tratamento é então requerido para manter o tônus do esfíncter. Da mesma
25 forma, os cachorros machos podem desenvolver incontinência urinária após serem capados, porque os testículos, a fonte principal de testosterona, são removidos.

O tratamento de incontinência urinária, tradicio-

nalmente, tem sido direcionado para melhorar a pressão de fechamento uretral. A este respeito, tem sido prescritas substâncias que aumentam a resistência da uretra ou do colo do útero da bexiga. Especialmente, estes medicamentos incluem substâncias alfa-adrenérgicas, tais como a efedrina e ou a fenilpropanolamina ("PPA"). O tratamento com o acima tipicamente envolve o uso a longo prazo dos medicamentos e mostrou causar severos efeitos colaterais eletro-fisiológicos cardíacos em seres humanos. Os efeitos colaterais adversos podem incluir, mas não são limitados a, fibrilação ventricular e arritmias cardíacas. Tais efeitos colaterais cardíacos potencialmente letais levaram a retirada de várias medicações para seres humanos do mercado, incluindo PPA, que recentemente foi proibido pela "U.S. Food and Drug Administration" ("FDA"). As substâncias alfa-adrenérgicas são também contra-indicadas em casos de glaucoma e neuropatia progressiva.

Como uma terapia alternativa, formas de terapia de substituição de estrogênio ou oestradiol, como por exemplo, dietilestilbestrol (ou testosterona no caso de cachorros machos) poderão ser usadas, que melhoram a resposta dos receptores de catecolamina da uretra. No entanto, a terapia de estrogênio é largamente considerada menos segura do que o uso de substâncias alfa-adrenérgicas porque ela pode levar a supressão da medula do osso em cachorros machos, o que pode ser fatal.

Mais recentemente, foi feita a hipótese de que o aumento das concentrações de soro do hormônio estimulante de

folículo de gonadotropina ("FSH") e o hormônio Luteinising ("LH"), em vez de ter baixos níveis de estrogênio por si próprios, são a causa da incontinência urinária em mulheres adultas e em cadelas castradas. Reichier, I.M. et al., The effect of GnRH Analogs on Urinary incontinence after Ablation of the Ovaries in Dogs, Theriogenology, 50: pp, 1207 - 1216 (2003); a publicação da solicitação de patente americana de número US 2005/0043342 (coletivamente, daqui por diante, referida como "Reichier et al"). Conforme é informado, a glândula pituitária libera LH e FSH no sistema em resposta a produção do hormônio de liberação Luteinizing ("LHRH" também comumente referido como o hormônio de liberação de gonadotropina, ou "GnRH" ou fator de liberação de gonadotropina "GnRF"). O LHRH é liberado do hipotálamo na corrente sanguínea de uma forma pulsativa, em resposta a uma faixa de fatores, e o seu controle geralmente é considerado complexo. A sua liberação é influenciada positivamente pela atividade neuronal do hipotálamo e negativamente controlada pelos baixos níveis de estrogênio e outros esteróides e hormônios gonadais, tais como inhibin A e B. O LHRH viaja através do sangue para a pituitária. As células receptoras na glândula pituitária anterior, respondem à elevação de LHRH através da liberação de gonadotropinas, FSH e LH. Os níveis relativos de FSH e LH que variam durante o ciclo, por seu lado, estimulam a produção de estrogênio pelos ovários. Nas cadelas castradas, após a remoção dos ovários (i.e., a fonte principal de estrogênio), o estrogênio é mensurável somente em concentrações de soro muito baixas. Outros hormônios que u-

sualmente se formam nas gônadas, tais como os inhibins que são secretados no ovário pelas células granulosas, inibem seletivamente a secreção de FSH da pituitária. Em consequência, como não existe mais um mecanismo de resposta, o FSH e o LH são secretados sem obstrução, resultando em concentrações aumentadas das duas gonadotropinas. Reichier et al. argumenta que tanto em mulheres após a menopausa como nas ca-
delas castradas que sofrem de incontinência urinária, os níveis de FSH e de LH são elevados acima dos níveis normais. Assim sendo, Reicher et al propuseram o uso de análogos de LHRH, como agonistas, antagonistas, ou anticorpos em medicamentos para o controle ou o tratamento de incontinência urinária.

Existem, no entanto, desvantagens distintas associadas com esta abordagem. Especialmente, tipicamente doses elevadas de antagonistas ou agonistas de LHRH são requeridos para se conseguir os efeitos anti-gonadotrópicos desejados. Além disso, embora os efeitos da utilização de tais análogos sejam imediatos, eles são de curta duração e portanto, requerem uma administração freqüente. Além disso, em alguns casos, grandes quantidades destes análogos poderão provocar efeitos colaterais adversos ou indesejáveis. Eles também são muito dispendiosos porque o seu uso, e portanto a sua disponibilidade, usualmente é limitada ao tratamento de tumores dependentes de hormônios. Da mesma forma, os anticorpos de LHRH, além de serem muito dispendiosos, tem a desvantagem de ter meias vidas bastante curtas, o que resultam em períodos curtos do tratamento e o requisito potencial de doses múlti-

plas. Assim sendo, a administração necessária freqüente e contínua de anticorpos de LHRH utilizando esta abordagem seria tanto dispendiosa como inconveniente para os donos de cachorros. Assim sendo, os análogos de LHRH não são de uso
5 prático para aplicações veterinárias como tal.

Assim sendo, apesar dos relatos de alguns tratamentos de incontinência urinária que são disponíveis atualmente, com freqüência, respostas completas a estes tratamentos não são observadas, apresentam sérios efeitos colaterais, não apresentam um efeito de longo prazo, ou são muito
10 dispendiosos ou inconvenientes para manutenção. O desenvolvimento de novos regimes terapêuticos, especialmente aqueles capazes de controle e tratamento de incontinência urinária a longo prazo de uma forma efetiva em custo, ao mesmo tempo
15 reduzindo os efeitos colaterais potencialmente letais das terapêuticas atuais (tais como arritmias cardíacas ou supressão da medula do osso) permanecem sendo necessários. A invenção atual atende a estas necessidades.

Resumo da invenção

20 Uma alternativa e/ou uma abordagem adicional para a terapia de incontinência urinária anteriormente não reconhecida é ser direcionada para o sistema imunológico através do uso de composições de vacinas. Um benefício potencial da imuno-terapia ativa é fornecer uma eficácia melhorada através da melhoria da resposta de imunização do próprio indivíduo ao controle efetivo e de longa duração da produção e
25 liberação irrestrita de gonadotropinas, FSH e LH.

Assim sendo, a invenção atual refere-se a vacinas

anti-LHRH e ao uso da mesma para o tratamento ou controle de incontinência urinária em mamíferos. Especialmente, a invenção atual apresenta um método para o tratamento de incontinência urinária em um mamífero necessitando de tal tratamento, onde o método é composto da administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente efetiva de uma vacina anti-LHRH. Em um aspecto da invenção, o mamífero necessitando do tratamento para incontinência urinária é do sexo feminino; de preferência, do sexo feminino, tendo concentrações elevadas de soro do hormônio luteinizante ou do hormônio de estimulação de folículo. Em outro aspecto, o mamífero necessitando do tratamento para incontinência urinária é uma cadela. Em uma realização preferida, o mamífero é aquele que foi cirurgicamente castrado, como por exemplo, uma cadela castrada.

Em um aspecto da invenção atual, a vacina anti-LHRH é composta de um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH. De preferência, o veículo é composto de uma proteína escolhida das grandes faixas de proteínas de veículo conhecidas, incluindo mas não limitadas a toxoides bacterianos. Mais de preferência, o veículo é composto de toxoide de difteria. Em outro aspecto, o veículo poderá ser um peptídeo sintético composto de um epítipo auxiliar de célula T. Em outro aspecto, uma forma efetiva do peptídeo LHRH é unida ao veículo, através de conjugação, ou durante a síntese de um peptídeo contíguo ao LHRH-auxiliar-T. Em outro aspecto da invenção, a vacina anti-LHRH é ainda composta de um auxiliar. De preferência, o auxiliar é composto de um polissacarí-

deo iônico; mais de preferência, dietil aminoetil dextrano ("DEAE dextrano"). Em uma realização especialmente preferida, o auxiliar é um dextrano DEAE em combinação com um complexo imuno-estimulante que é composto de uma saponina e colesterol.

Ainda em outro aspecto, a invenção se refere a um método para o tratamento ou controle de incontinência urinária em um mamífero, composta da administração ao mamífero de uma composição que é composta de uma quantidade terapeuticamente efetiva de um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH. Para uma vacina baseada em um conjugado de peptídeo LHRH-proteína, a quantidade efetiva está na faixa de cerca de 100 a cerca de 300 ug, e para a vacina baseada em peptídeo LHRH-auxiliar-T está na faixa de cerca de 20 a cerca de 200 ng.

Descrição detalhada da invenção

A invenção refere-se a composições e vacinas imunogênicas que são adequadas para provocarem uma resposta imunológica contra o hormônio de liberação de hormônio Luteinizante ("LHRH", o hormônio de liberação de gonadotropina, ou "GnRH"). A invenção se refere ainda ao uso de tal vacina anti-LHRH ou de composição psico-quimicamente estável em um método de imunização de um mamífero contra LHRH para controlar ou tratar a incontinência urinária.

O termo "vacina anti-LHRH" inclui qualquer vacina, composição, ou preparação farmacêutica que seja capaz de provocar uma resposta imune ao LHRH em um hospedeiro. Mais especificamente, as vacinas anti-LHRH da invenção atual são

compostas, pelo menos, de um antígeno ou imunogene de LHRH em um veículo farmacêuticamente aceitável e útil para a indução de uma resposta imune do referido hospedeiro. Para fins de exemplo somente, as vacinas anti-LHRH que podem ser usadas em conexão com a invenção atual, e os métodos de produção das mesmas, incluem, mas não são limitados, àquelas que são descritas na solicitação internacional de número PCT /AU 99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180, solicitação internacional número PCT /AU 98/00532, publicada em 20 de julho de 2000 como WO 99/41.720, e a patente americana de número 6.685.947, que são incorporadas aqui como referência.

O termo "LHRH" deve ser lido como incluindo referência a todas as formas de LHRH e derivados da mesma, incluindo, mas não limitado a, todos os peptídeos tendo imunogenicidade a LHRH. O termo "derivados" inclui fragmentos, partes, porções, equivalentes químicos, mutantes, homólogos e análogos de fontes naturais, sintéticas ou recombinantes, incluindo proteínas de fusão. O LHRH pode ser obtido de qualquer fonte adequada e os métodos para a produção, isolamento, e purificação do LHRH nativo e sintético são bem conhecidos na arte. Em uma realização preferida, o LHRH é composto de um fragmento de terminal C de LHRH com pelo menos cinco aminoácidos.

Como o LHRH, ele próprio, é muito pequeno para ser imunogênico, o LHRH usado no contexto da invenção atual deve ser colocado em uma forma imunogênica. É bem conhecido por aqueles com conhecimento normal na arte que existem métodos

diferentes de produção de uma forma imunogênica de uma substância que é, ela própria, não imunogênica. Um método adequado é unir o LHRH a um veículo imunogênico. Assim sendo, no contexto da invenção atual, o LHRH pode ser administrado após a conjugação com um veículo imunogênico em um mamífero e um antígeno para induzir a formação de anticorpos hospedeiros do LHRH. O veículo funciona para estimular as células auxiliares T que são requeridas para uma resposta efetiva de anticorpos. Assim sendo, o veículo poderá ser composto de pequenos peptídeos com pelo menos nove aminoácidos de comprimento que formam um epitopo auxiliar de célula T. tais epitopos de auxiliar T poderão ser derivados de vírus Distemper Canine (CDV), que são especialmente adequados para a utilização em cachorros, porque a maioria dos cachorros já são vacinados contra CPV. Os anticorpos induzidos por tais vacinas posteriormente irão agir contra o próprio LHRH do corpo, dessa forma produzindo um efeito anti-gonadotrópico a longo prazo. Em uma realização preferida, o LHRH é administrado através de vacina após a conjugação com um veículo imunogênico em um mamífero para estimular o sistema imunológico para produzir anticorpos anti-LHRH que reajam com o LHRH para reduzirem efetivamente a sua concentração no corpo. Os efeitos causados pela presença de LHRH, incluindo concentrações elevadas de soro de FSH e LH, que acredita-se que provocam a incontinência urinária, são assim reduzidos ou eliminados.

Os veículos imunogênicos usados na preparação dos conjugados LHRH descritos acima, incluem quaisquer substân-

cias que sejam capazes de aumentarem a imunogenicidade de LHRH. Os veículos imunogênicos usados nos conjugados da invenção atual podem ser naturais ou sintéticos. Em um aspecto, o veículo imunogênico é uma proteína. Qualquer uma de
5 uma variedade de proteínas de veículo imunogênico que são bem conhecidas por aqueles com conhecimento normal na arte poderá ser utilizada na vacina de conjugado da invenção atual. As classes adequadas de proteínas incluem pílulas, proteínas de membrana externa e toxinas excretadas de bactérias
10 patogênicas, formas não tóxicas ou "toxoides" de tais toxinas excretadas, proteínas não tóxicas anti-genicamente semelhantes a toxinas bacterianas e outras proteínas. Exemplos não limitantes de toxoides bacterianos considerados para uso na invenção atual incluem toxina/toxoide de tétano, toxina/toxoide de difteria, toxina A P aeruginosa detoxificada,
15 toxina/toxoide de cólera, toxina/toxoide partusais e toxinas/toxoide de clostridium perfringens. As formas toxoides destas toxinas bacterianas são preferidas. Mais de preferência, o veículo imunogênico usado nos conjugados LHRH da invenção atual são toxoides de difteria. A referência a toxoide de difteria deve ser entendido como incluindo todas as formas de toxoide de difteria e derivados das mesmas. O termo "derivados" tem o mesmo significado definido aqui anteriormente. Os derivados poderão incluir, por exemplo, moléculas compostas do toxoide T de difteria e epitopos de células
20 T ou epitopos de células T em isolamento.

Em outro aspecto da invenção atual, o veículo poderá ser um peptídeo sintético composto pelo menos de um e-

pitopo auxiliar de célula T. Os epitopos poderão ser isolados ou serem ligados em conjunto para formar um só polipeptídeo. Ficará entendido que onde os epitopos são ligados em conjunto em um só polipeptídeo, os epitopos poderão ser contíguos ou separados através de aminoácidos adicionais que não são, eles próprios, parte dos epitopos de célula auxiliar T. Em uma realização, o epitopo auxiliar de célula T está contido dentro de uma sequência de peptídeos que são escolhidos entre aqueles descritos na patente americana de número 6.685.947, que é incorporada aqui como referência. Em uma realização preferida, a vacina de peptídeos sintéticos é ainda composta pelo menos de um epitopo de células B e/ou pelo menos um epitopo CTL. Em uma realização mais preferida, a vacina de peptídeo sintético é composta de cerca de 3 a cerca de 10 epitopos auxiliares de célula T, cada um deles em sequência linear com 4 - 10 formas de LHRH, com o teor total de peptídeos sendo em torno de 120 µg de peptídeo/dose em combinação com cerca de 80 µg de um auxiliar. De preferência, o auxiliar é composto de um complexo imunestimulante.

Métodos adequados de união de LHRH a um veículo imunogênico são bem conhecidos por aqueles com conhecimento normal na arte. Sem pretendemos limitar a invenção a qualquer método, o LHRH poderá, por exemplo, ser ligado a um veículo da forma descrita em Ladd et al., American J. Reproductive immunology 22:55 - 63 (1990) ou em Bonneau et al., J. Animal Science 72:14 - 20 (1994). O conjugado resultante pode ser processado para remover qualquer peptídeo remanes-

cente não ligado ou outros subprodutos de conjugação. Tal processamento poderá ser obtido através de diálise convencional ou através de ultrafiltração.

As vacinas da invenção atual poderão ser combinadas ou poderão ainda incluir um auxiliar. Os auxiliares são incluídos ou adicionados nas vacinas e outras formulações imunogênicas para aumentar e em alguns casos direcionar a resposta imunológica. Aqueles com conhecimento normal na arte verificarão que qualquer auxiliar standard bem conhecido poderá ser utilizado na invenção atual. Auxiliares adequados para uso nas vacinas da invenção atual incluem, mas não são limitados a, sais insolúveis de alumínio, especialmente as formas de hidróxido e fosfato (coletivamente, "alumem"), murabutide, auxiliar incompleto de Freund, auxiliar completo de Freund, polissacarídeos iônicos, tais como um grupo dietil-aminoetil ("DEAE"), saponinos, complexos imunoestimulantes, e combinações dos mesmos. Em uma realização preferida, são utilizados auxiliares que não provocam ou provocam somente reações colaterais suaves. Outros auxiliares adequados que podem ser usados com relação a invenção atual incluem, mas não são limitados, àqueles que são descritos na solicitação internacional de número PCT/AU99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180, e a solicitação internacional de número PCT/AU 98/00532, publicada em 20 de julho de 2000, como WO 99/41.720, que são incorporadas aqui como referência.

Em uma realização preferida, o auxiliar é um dextrano DEAE. Em uma realização mais preferida, o auxiliar é

um dextrano DEAE em combinação com um complexo imunoestimulante composto de uma saponina e colesterol.

Sem limitarmos a invenção atual a qualquer teoria ou modo de ação, a administração de uma quantidade efetiva de uma vacina anti-LHRH da invenção atual induz uma resposta imunológica ao LHRH, e portanto evita a liberação dos hormônios LH e FSH da glândula pituitária anterior. De preferência, a quantidade da referida vacina anti-LHRH é efetiva para melhorar os efeitos colaterais associados com a ovariectomia ou sintomas associados com a senescência reprodutiva, especialmente, incontinência urinária, através da redução da concentração de soro do FSH e/ou LH circulante em um mamífero fêmea, a qual a vacina foi administrada. Deve ser entendido que a eficácia é uma medida funcional e não é definida por referência a um anticorpo do anti-LHRH sozinho porque a presença do anticorpo circulante sozinho não necessariamente é indicativa da capacidade do referido anticorpo circulante controlar a incontinência urinária. Assim sendo, assim como com todas as composições imunogênicas para provocarem anticorpos, as quantidades imunologicamente efetivas de vacinas da invenção atual devem ser determinadas empiricamente. Os fatores a serem considerados incluem a escolha de um auxiliar, a molécula imunogênica na qual é ligado o LHRH, a rota de administração e a quantidade de doses a serem administradas. Tais fatores são conhecidos na arte de vacina, e uma pessoa com conhecimento normal na arte seria capaz de fazer tais determinações sem experiências indevidas.

Assim sendo, através dos métodos da invenção atu-

al, os efeitos colaterais ds ovariectomia ou sintomas associados com a senescence reprodutiva, especialmente da incontinência urinária, em mamíferos femininos, tais como cadelas castradas, podem ser tratados ou controlados. Em uma realização preferida, a invenção atual refere-se a um método para o tratamento ou controle da incontinência urinária em um mamífero, o referido método sendo composto da administração ao referido mamífero de uma quantidade efetiva de uma vacina anti-LHRH. De preferência, a vacina anti-LHRH está na forma de um conjugado de veículo imunogênico LHRH. Em uma realização mais preferida, o conjugado é composto de um conjugado toxoide de difteria-LHRH. Em uma realização alternativa, a vacina anti-LHRH está na forma de um peptídeo sintético que é composto de um epitopo auxiliar de célula T. De preferência, a vacina de peptídeo sintético é composta de cerca de 3 a cerca de 10 epitopos auxiliares de célula T, cada um deles em seqüência linear com 4 - 10 formas de LHRH, com o teor total de peptídeos sendo em torno de 120 µg de peptídeos/dose em combinação com cerca de 80 µg de um complexo imunoestimulante. O mamífero preferido a ser tratado de acordo com a vacina da invenção atual é do sexo feminino; mais de preferência, uma fêmea tendo níveis elevados de sorro de PSH ou LH ou ambos. Em uma realização mais preferida, o mamífero é uma cadela, e especialmente, uma cadela que foi cirurgicamente capada ou castrada. Em outra realização, a invenção apresenta um método para evitar o início da incontinência urinária em um cachorro castrado, através da administração ao cachorro de uma quantidade efetiva de uma vaci-

na anti -LHRH após a castração.

As vacinas da invenção atual poderão ser administradas por qualquer método adequado conhecido na arte, incluindo, mas não limitados a, administração oral ou por injeção. As formas farmacêuticas adequadas para uso injetável incluem soluções aquosas estéreis (solúveis em água) ou dispersões de pós estéreis para uma preparação extemporânea de soluções ou dispersões injetáveis estéreis. Elas poderão ser estáveis, tanto fisicamente como quimicamente, nas condições de produção e estocagem e devem ser conservadas contra a ação de contaminação de microorganismos, tais como bactérias e fungos. O veículo pode ser um solvente ou um meio de dispersão contendo, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol e propileno glicol líquido, e semelhantes), misturas adequadas dos mesmos, e óleos vegetais. A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, através do uso de um revestimento como lecitina, através da manutenção do tamanho requerido de partícula, no caso de dispersão, e através do uso de tensoativos. A prevenção da ação de microorganismos pode ser avaliada por vários agentes anti-bacterianos e anti-fungos, como por exemplo, parabens, cloro butanol, fenol, ácido sórbico, timerosal e semelhantes; em vários casos, será preferível incluir-se agentes isotônicos, como por exemplo, açúcares ou cloreto de sódio. A absorção prolongada ou a liberação retardada das composições injetáveis pode ser avaliada pelo uso das composições de agentes de retardo de absorção, como por exemplo, mono-estearato de alumínio e gelatina.

As soluções injetáveis estéreis são preparadas incorporando-se os compostos ativos na quantidade requerida do solvente apropriado com vários dos outros ingredientes enumerados acima, conforme requerido, seguido pela esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando-se os vários ingredientes ativos esterilizados em um veículo estéril que contém o meio de dispersão básico e os outros ingredientes requeridos daqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são secagem a vácuo, a técnica de secagem por congelamento e a técnica de secagem por aspersão, que produz um pó de ingredientes ativos, mais qualquer ingrediente adicional a partir de solução previamente filtrada e estéril do mesmo.

Quando os ingredientes ativos são adequadamente protegidos eles poderão ser administrados oralmente, por exemplo, com um diluente inerte ou com um veículo comestível assimilável, ou eles poderão estar enclausurados em uma cápsula de gelatina de casca dura ou macia, ou comprimidos em tablettes, ou incorporados diretamente no alimento da dieta. Para a administração oral, o composto ativo poderá ser incorporado com excipientes e usado na forma de tablettes digeríveis, tablettes bucais, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, bolachas, e semelhantes. Tais composições de preparações, devem conter pelo menos 1% em peso do composto ativo. A percentagem das composições e preparações poderá, é claro, ser variada, e poderá convenientemente ser entre cerca de 5 a cerca de 80% do peso da unidade. A quan-

tidade de composto ativo em tais composições úteis é tal que será obtida uma dosagem adequada. As composições ou preparações preferidas de acordo com a invenção atual são preparadas de forma que uma forma de unidade de dosagem oral conte-
5 nha entre cerca de 0,5 µge 2000 µg de composto ativo.

Os tabletes, pastilhas, pílulas, cápsulas e semelhantes, poderão também conter os componentes conforme listado aqui posteriormente: um aglutinante como uma goma, acácia, amido ou gelatina de milho; excipientes, tais como
10 fosfato di-cálcico; um agente desintegrante como amido de milho, amido de batata, ácido algínico e semelhantes; e um lubrificante, como estearato de magnésio. Quando a forma da unidade de dosagem é uma cápsula, ela poderá conter, além dos materiais do tipo acima, um veículo líquido. Vários ou-
15 tros materiais poderão estar presentes como revestimentos ou para modificarem de outra forma forma física da unidade de dosagem. Um xarope ou elixir poderá conter o composto ativo, metil e propil parabens como conservante, e um corante. É claro, qualquer material utilizado na preparação de qualquer
20 forma de unidade de dosagem deve ser veterinariamente puro e substancialmente não tóxico nas quantidades utilizadas. Além disso, o composto ativo poderá ser incorporado nas preparações e formulações de liberação prolongada.

Veículos farmacêuticamente aceitáveis e/ou diluentes
25 tes incluem qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes anti-bacterianos e anti-fungos, agentes isotônicos e de retardo de absorção e semelhantes. O uso de tais meios e agentes para substâncias veterinaria-

mente ativas é bem conhecido na arte. Na medida em que qualquer meio ou agente convencional é incompatível com o ingrediente ativo, é considerado o uso do mesmo nas composições terapêuticas. Os ingredientes ativos suplementares também
5 podem ser incorporados nas composições.

É especialmente vantajoso formular-se composições parenterais na forma de unidades de dosagem para a administração fácil e para a uniformidade da dosagem. Para a administração em criação de animais, é especialmente vantajoso
10 utilizar-se um recipiente de doses múltiplas ligado a uma pistola de vacinação de repetição. A forma unitária de dosagem, conforme usado aqui, refere-se a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contendo uma quantidade
15 predeterminada de material ativo é calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico requerido. A especificação para as formas novas de unidades de dosagem da invenção é ditada e é dependente diretamente (a) das características únicas do material ativo e
20 do efeito terapêutico específico a ser obtido, e (b) das limitações inerentes na arte de composição de tal material ativo para o tratamento de doença em indivíduos vivos tendo uma condição de doença na qual a saúde do corpo é prejudicada, conforme apresentado aqui em detalhes.

25 O ingrediente ativo principal é composto, para a administração conveniente e efetiva, de quantidades efetivas com um veículo adequado farmacêuticamente aceitável na forma de unidade de dosagem conforme apresentado aqui anteriormen-

te. Uma forma de dosagem unitária pode, por exemplo, conter o composto ativo principal em quantidades variando de cerca de 0,5 µg até 2000 µg. Expresso em proporções, o composto ativo geralmente está presente em torno de 0,5 µg a cerca de 2000 µg/ml de veículo. As quantidades relativas do ingrediente ativo, do veículo farmacêuticamente aceitável, e quaisquer ingredientes adicionais em uma composição farmacêutica da invenção variará, dependendo da identidade, tamanho, e condição do indivíduo tratado e dependendo ainda da rota pela qual a composição deve ser administrada.

A invenção é adicionalmente descrita em detalhes por referência aos seguintes exemplos de experiências. Estes exemplos são apresentados somente para fins de ilustração, e não se destinam a ser limitantes, a não ser que seja especificado de outra forma. Assim sendo, a invenção, de forma alguma, deve ser considerada como sendo limitada aos exemplos seguintes, mas ao contrário, deve ser considerada como englobando qualquer e todas as variações que ficarão evidentes como resultado dos ensinamentos apresentados aqui.

Embora a invenção tenha sido apresentada com referência a realizações específicas, fica aparente que outras realizações e variações desta invenção poderão ser previstas por outros adestrados na arte, sem se afastarem do espírito e do escopo verdadeiro da invenção. As reivindicações anexas se destinam a ser consideradas como incluindo todas essas realizações e variações equivalentes.

Exemplo 1

Escopo do estudo clínico

Cadelas que foram capadas ou castradas cirurgicamente, com frequência, sofrem de incontinência urinária. A incidência da doença tem sido relatada como sendo tão elevada quanto 20%. Os tratamentos atuais são baseados na administração diária de fármacos, tais como oestrogenos sintéticos, durante períodos prolongados, que são tanto dispendiosos como inconvenientes. O uso de uma vacina de ação prolongada seria uma melhoria significativa no tratamento desta condição comum de cadelas castradas.

10 Considerações

Uma formulação para o tratamento de incontinência urinária em cachorros inclui qualquer vacina efetivas anti-LHRH. Várias de tais de vacinas foram descritas na arte anterior, apesar da maioria destas falharem em produzir uma
15 eficácia e segurança suficientemente elevadas para serem comercialmente viáveis. Tem havidos muito pouco exemplos de vacinas efetivas descritas na literatura para cachorros. Existem vários exemplos de vacinas LHRH atualmente disponíveis comercialmente, especialmente na Austrália e na Nova
20 Zelândia. Estas incluem IMPROVAC® para o controle de manchas em porcos machos, EQUITY® para o controle de comportamento relacionado com oestrus em éguas e potros, ambos os produtos obteníveis comercialmente da Pfizer Animal Health. Estas formulações são para aplicação em grandes animais, e assim
25 sendo, é esperado que sejam inseguras em animais menores, tais como cachorros, e seria esperado requerer-se uma modificação para o uso seguro e efetivo em cães e outros animais domésticos. Uma outra formulação foi registrada condicional-

mente na USDA nos USA para tratamento de hiperplasia prostática benigna em cachorros adultos machos intactos. Esta vacina demonstrou ser tanto segura como efetiva em cachorros adultos machos e é considerada para uso na invenção atual,
5 para controlar a incontinência urinária canina (CUI), como se segue:

Foi feito um estudo como um estudo duplo cego, com dois grupos recebendo a vacina CUI ou placebo, o placebo consistindo somente de auxiliares. Nem os donos, nem os veterinários clínicos, tinham conhecimento do tratamento
10 estava sendo administrado.

Animais:

Cadelas (até um número de 35) que são mantidas como animais de estimação domésticos por membros da comunidade, são escolhidas de um registro clínico sem limitação, como por exemplo, o registro na universidade / clínica veterinária de Melbourne. Somente as cadelas castradas com mais
15 de dois anos de idade, tendo uma condição clínica a longo prazo de incontinência urinária, e tendo sido tratadas anteriormente para esta condição (com outros tratamentos conhecidos, como estilbestrol, uma forma sintética de estrogênio), ou com um estimulador alfa-adrenérgico como PPA, são
20 escolhidas para o estudo.

Vacinas

25 Em uma realização, a vacina é composta daquela que foi licenciada provisoriamente pela USDA para Pfizer Animal Health para o tratamento de hiperplasia prostática benigna, que contém 200 µg/dose de conjugado de 2 - 10 formas de pep-

tídeo LHRH conjugado com toxoide de difteria como veículo, com um sistema auxiliar combinado de 10 mg de dextrano DEAE e 80 mg de um complexo imuno-estimulante, conforme descrito na solicitação internacional de número PCT/AU 99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180. Em outra realização, a vacina é composta de uma vacina de peptídeo sintético composto de cerca de 3 a cerca de 10 epitopos auxiliares de célula T, cada um deles em sequência linear com 4 - 10 formas de LHRH, o teor total de peptídeos sendo de 120 µg de peptídeo/dose em combinação com 80 µg de complexo imuno-estimulante.

A vacina é administrada para cada cachorro no estudo em pelo menos duas ocasiões, com um intervalo de 28 dias.

Os seguintes parâmetros são medidos diretamente após cada vacinação: temperatura do corpo, conduta, incluindo a letargia, dor no local da injeção, e o inchaço no local da injeção. Além disso, foram tomadas amostras do soro para medir os níveis de LH e de respostas do anticorpo ao LHRH. A avaliação da incontinência urinária em cada cadela é feita pelos donos individuais, de acordo com um sistema de avaliação comum, começando duas semanas antes da primeira vacinação. Desta forma, cada cachorro individual tem o seu próprio controle em relação a alterações após o tratamento.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para o tratamento de incontinência urinária em um mamífero necessitando de tal tratamento, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido método ser composto da
5 administração ao referido animal de uma quantidade terapêuticamente efetiva de uma vacina anti-LHRH.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma fêmea.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1,
10 **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma fêmea tendo concentrações elevadas de soro e de uma gonadotropina.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato da referida gonadotropina ser escolhida do grupo consistindo de hormônio de luteinizante e o
15 hormônio estimulante de folículos.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser castrado cirurgicamente.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5,
20 **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma cadela castrada.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato da vacina anti-LHRH ser composta de um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH.

25 8. Método, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de o referido veículo ser composto de uma proteína.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8,

CARACTERIZADO pelo fato da referida proteína ser composta de um toxoide bacteriano.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9,
CARACTERIZADO pelo fato do toxoide bacteriano ser um toxoide
5 de difteria.

11. Método, de acordo com a reivindicação 7,
CARACTERIZADO pelo fato do referido veículo ser composto de um peptídeo sintético composto pelo menos de um epitopo auxiliar de célula T.

10 12. Método, de acordo com a reivindicação 1,
CARACTERIZADO pelo fato da referida vacina incluir ainda um auxiliar.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12,
CARACTERIZADO pelo fato do referido auxiliar ser composto de
15 um dextrano DEAE.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13,
CARACTERIZADO pelo fato do referido auxiliar ser ainda composto de um complexo imuno-estimulante, onde o referido complexo imunoestimulante é composto de uma saponina e um com-
20 ponente de colesterol.

15. Método, de acordo com a reivindicação 7,
CARACTERIZADO pelo fato do conjugado imunogênico ser composto de um conjugado toxoide de difteria-LHRH.

16. Método, para o tratamento ou controle de in-
25 continência urinária em um mamífero, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser composto de: administração ao referido mamífero, de uma composição que é composta de uma quantidade terapêuticamente efetiva de um conjugado imunogênico entre um veículo e

LHRH.

17. Método, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo ser composto de uma proteína.

5 18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo ser composto de um toxoide de difteria.

19. Método, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo ser composto de
10 um epitopo de célula T.

20. Método, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato da referida composição incluir ainda um auxiliar.

21. Vacina para o tratamento ou para controle de
15 incontinência urinária, em um mamífero fêmea, a referida vacina sendo **CARACTERIZADA** pelo fato de ser composta de uma quantidade terapeuticamente efetiva de LHRH.

22. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato de ser ainda composta de um auxili-
20 ar.

23. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato do LHRH ser conjugado com um veículo imunogênico.

24. Vacina, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido veículo imunogênico ser
25 composto de uma proteína.

25. Vacina, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido veículo imunogênico ser

composto de um epitopo auxiliar de célula T.

26. Vacina, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADA** pelo fato da referida proteína ser composta de toxoide de difteria.

5 27. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido mamífero fêmea ser composto de um cachorro cirurgicamente capado.

28. Método de aumento da resposta imunológica de um mamífero sofrendo de incontinência urinária devido a produção e liberação irrestrita de gonadotropina, o referido
10 método, sendo **CARACTERIZADO** pelo fato de ser composto da administração ao referido mamífero de uma quantidade terapêuticamente efetiva de LHRH.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28,
15 **CARACTERIZADO** pelo fato do referido LHRH ser administrado na forma de um antígeno.

30. Método, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido LHRH ser administrado na forma de uma vacina.

20 31. Método, para o tratamento de incontinência urinária em um cachorro capado ou castrado cirurgicamente, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser composto da administração ao cachorro de uma quantidade terapêuticamente efetiva de uma vacina anti-LHRH.

25 32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **CARACTERIZADO** pelo fato do cachorro ser uma fêmea.

33. Método de prevenção do início de incontinência urinária em uma cadela castrada, o referido método sendo

CARACTERIZADO pelo fato de ser composto da administração à referida cadela castrada de uma quantidade efetiva de uma vacina anti-LHRH após a castração.

RESUMO

"COMPOSIÇÕES DE VACINA E USO DE COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO VACINA ANTI-LHRH NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR INCONTINÊNCIA URINÁRIA"

5 A invenção atual refere-se ao uso de composições compreendendo uma vacina anti-LHRH para o controle ou tratamento de incontinência urinária. A invenção atual se refere ainda a usos de composições compreendendo vacina anti-LHRH na preparação de um medicamento para tratamento ou controle
10 de incontinência urinária em mamíferos, e especialmente, naqueles que foram cirurgicamente capados, como por exemplo, cadelas castradas.

"COMPOSIÇÕES DE VACINA E USO DE COMPOSIÇÕES
COMPREENDENDO VACINA ANTI-LHRH NA PREPARAÇÃO DE UM
MEDICAMENTO PARA TRATAR INCONTINÊNCIA URINÁRIA"

Campo da invenção

5 A invenção atual refere-se ao uso de composições
compostas de uma vacina anti-LHRH para o controle ou o tra-
tamento de incontinência urinária. A invenção atual refere-
se ainda a métodos para o tratamento ou controle de inconti-
nência urinária em mamíferos, e especialmente, naqueles que
10 foram cirurgicamente capados, como por exemplo, cadelas cas-
tradas.

Antecedentes da invenção

A incontinência urinária é a perda involuntária ou
a passagem de urina conseqüente para a bexiga, ou disfunção
15 do esfíncter uretral. Durante a estocagem normal de urina,
quando a bexiga fica cheia, o esfíncter uretral é firmemente
fechado para evitar a o vazamento. Então, quando a urina de-
ve ser descarregada, o esfíncter uretral relaxa e permite
que a urina passe através da uretra. A incontinência uriná-
ria, com freqüência, é o resultado da perda de tônus do es-
fíncter uretral, que diminui a habilidade de manter-se fe-
chado. Em tais casos, ocorre a incontinência urinária de uma
forma não controlada sempre que a pressão dentro da bexiga
excede a pressão requerida para fechar a uretra. Este pro-
20 blema, com freqüência, é mais notado quando o mamífero está
relaxado, como durante o sono profundo ou quando a pressão
sobre bexiga momentaneamente é aumentada, como quando o ma-
mífero tosse ou espirra.

Aqueles familiarizados com a condição, verificarão que a incontinência urinária prevalece entre mulheres adultas. Por causa do estigma social associado com a incontinência urinária, muitos que sofrem do mal nem mesmo relatam o problema a um profissional de saúde. Como resultado, este problema médico é muito pouco diagnosticado e muito pouco relatado.

A incontinência urinária é também muito comum em cachorros. Usualmente, ela ocorre em cadelas, e muito frequentemente nas cadelas castradas. Os cachorros machos são tendentes também a esta condição, mas menos comumente do que a contraparte feminina. Anteriormente, foi explicado que o mecanismo que causa a incontinência em cachorros capados ou castrados é relacionado com concentrações pós-cirúrgicas de estrogênio ou testosterona após a remoção dos ovários ou testículos. No caso de cadelas, acredita-se que o hormônio estrogênio seja responsável para produzir o tônus para o músculo do esfíncter uretral. Após a castração, o hormônio estrogênio é produzido em quantidades significativamente menores do que era antes da remoção dos ovários. Embora as glândulas adrenais produzam pequenas quantidades de hormônio estrogênio, acreditava-se que os níveis produzidos são insuficientes para produzir o tônus do esfíncter. Em tais casos, pode ocorrer a incontinência, e algum tipo de tratamento é então requerido para manter o tônus do esfíncter. Da mesma forma, os cachorros machos podem desenvolver incontinência urinária após serem capados, porque os testículos, a fonte principal de testosterona, são removidos.

O tratamento de incontinência urinária, tradicionalmente, tem sido direcionado para melhorar a pressão de fechamento uretral. A este respeito, tem sido prescritas substâncias que aumentam a resistência da uretra ou do colo do útero da bexiga. Especialmente, estes medicamentos incluem substâncias alfa-adrenérgicas, tais como a efedrina e ou a fenilpropanolamina ("PPA"). O tratamento com o acima tipicamente envolve o uso a longo prazo dos medicamentos e mostrou causar severos efeitos colaterais eletro-fisiológicos cardíacos em seres humanos. Os efeitos colaterais adversos podem incluir, mas não são limitados a, fibrilação ventricular e arritmias cardíacas. Tais efeitos colaterais cardíacos potencialmente letais levaram a retirada de várias medicações para seres humanos do mercado, incluindo PPA, que recentemente foi proibido pela "U.S. Food and Drug Administration" ("FDA"). As substâncias alfa-adrenérgicas são também contra-indicadas em casos de glaucoma e neuropatia progressiva.

Como uma terapia alternativa, formas de terapia de substituição de estrogênio ou oestradiol, como por exemplo, dietilestilbestrol (ou testosterona no caso de cachorros machos) poderão ser usadas, que melhoram a resposta dos receptores de catecolamina da uretra. No entanto, a terapia de estrogênio é largamente considerada menos segura do que o uso de substâncias alfa-adrenérgicas porque ela pode levar a supressão da medula do osso em cachorros machos, o que pode ser fatal.

Mais recentemente, foi feita a hipótese de que o

aumento das concentrações de soro do hormônio folículo-estimulante de gonadotropina ("FSH") e o hormônio luteinizante ("LH"), em vez de ter baixos níveis de estrogênio por si próprios, são a causa da incontinência urinária em mulheres adultas e em cadelas castradas. Reichier, I.M. et al., The effect of GnRH Analogs on Urinary incontinence after Ablation of the Ovaries in Dogs, Theriogenology, 50: pp, 1207 - 1216 (2003); a publicação da solicitação de patente americana de número US 2005/0043342 (coletivamente, daqui por diante, referida como "Reichier et al"). Conforme é informado, a glândula pituitária libera LH e FSH no sistema em resposta a produção do hormônio de liberação luteinizante ("LHRH" também comumente referido como o hormônio de liberação de gonadotropina, ou "GnRH" ou fator de liberação de gonadotropina "GnRF"). O LHRH é liberado do hipotálamo na corrente sanguínea de uma forma pulsativa, em resposta a uma faixa de fatores, e o seu controle geralmente é considerado complexo. A sua liberação é influenciada positivamente pela atividade neuronal do hipotálamo e negativamente controlada pelos baixos níveis de estrogênio e outros esteróides e hormônios gonadais, tais como inhibin A e B. O LHRH viaja através do sangue para a pituitária. As células receptoras na glândula pituitária anterior, respondem à elevação de LHRH através da liberação de gonadotropinas, FSH e LH. Os níveis relativos de FSH e LH que variam durante o ciclo, por seu lado, estimulam a produção de estrogênio pelos ovários. Nas cadelas castradas, após a remoção dos ovários (i.e., a fonte principal de estrogênio), o estrogênio é mensurável somente em

concentrações de soro muito baixas. Outros hormônios que usualmente se formam nas gônadas, tais como os inibins que são secretados no ovário pelas células granulosas, inibem seletivamente a secreção de FSH da pituitária. Em consequência, como não existe mais um mecanismo de resposta, o FSH e o LH são secretados sem obstrução, resultando em concentrações aumentadas das duas gonadotropinas. Reichier et al. argumenta que tanto em mulheres após a menopausa como nas cadelas castradas que sofrem de incontinência urinária, os níveis de FSH e de LH são elevados acima dos níveis normais. Assim sendo, Reicher et al propuseram o uso de análogos de LHRH, como agonistas, antagonistas, ou anticorpos em medicamentos para o controle ou o tratamento de incontinência urinária.

Existem, no entanto, desvantagens distintas associadas com esta abordagem. Especialmente, tipicamente doses elevadas de antagonistas ou agonistas de LHRH são requeridos para se conseguir os efeitos anti-gonadotrópicos desejados. Além disso, embora os efeitos da utilização de tais análogos sejam imediatos, eles são de curta duração e portanto, requerem uma administração freqüente. Além disso, em alguns casos, grandes quantidades destes análogos poderão provocar efeitos colaterais adversos ou indesejáveis. Eles também são muito dispendiosos porque o seu uso, e portanto a sua disponibilidade, usualmente é limitada ao tratamento de tumores dependentes de hormônios. Da mesma forma, os anticorpos de LHRH, além de serem muito dispendiosos, tem a desvantagem de ter meias vidas bastante curtas, o que resultam em períodos

curtos do tratamento e o requisito potencial de doses múltiplas. Assim sendo, a administração necessária freqüente e contínua de anticorpos de LHRH utilizando esta abordagem seria tanto dispendiosa como inconveniente para os donos de cachorros. Assim sendo, os análogos de LHRH não são de uso
5 prático para aplicações veterinárias como tal.

Assim sendo, apesar dos relatos de alguns tratamentos de incontinência urinária que são disponíveis atualmente, com freqüência, respostas completas a estes tratamentos não são observadas, apresentam sérios efeitos colaterais, não apresentam um efeito de longo prazo, ou são muito dispendiosos ou inconvenientes para manutenção. O desenvolvimento de novos regimes terapêuticos, especialmente aqueles capazes de controle e tratamento de incontinência urinária a
10 longo prazo de uma forma efetiva em custo, ao mesmo tempo reduzindo os efeitos colaterais potencialmente letais das terapêuticas atuais (tais como arritmias cardíacas ou supressão da medula do osso) permanecem sendo necessários. A invenção atual atende a estas necessidades.

20 Resumo da invenção

Uma alternativa e/ou uma abordagem adicional para a terapia de incontinência urinária anteriormente não reconhecida é ser direcionada para o sistema imunológico através do uso de composições de vacinas. Um benefício potencial da imuno-terapia ativa é fornecer uma eficácia melhorada através da melhoria da resposta de imunização do próprio indivíduo ao controle efetivo e de longa duração da produção e liberação irrestrita de gonadotropinas, FSH e LH.
25

Assim sendo, a invenção atual refere-se a vacinas anti-LHRH e ao uso da mesma para o tratamento ou controle de incontinência urinária em mamíferos. Especialmente, a invenção atual apresenta um método para o tratamento de incontinência urinária em um mamífero necessitando de tal tratamento, onde o método é composto da administração ao mamífero de uma quantidade terapeuticamente efetiva de uma vacina anti-LHRH. Em um aspecto da invenção, o mamífero necessitando do tratamento para incontinência urinária é do sexo feminino; de preferência, do sexo feminino, tendo concentrações elevadas de soro do hormônio luteinizante ou do hormônio folículo-estimulação. Em outro aspecto, o mamífero necessitando do tratamento para incontinência urinária é uma cadela. Em uma realização preferida, o mamífero é aquele que foi cirurgicamente capado, como por exemplo, uma cadela castrada.

Em um aspecto da invenção atual, a vacina anti-LHRH é composta de um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH. De preferência, o veículo é composto de uma proteína escolhida das grande faixas de proteínas de veículo conhecidas, incluindo mas não limitadas a toxóides bacterianos. Mais de preferência, o veículo é composto de toxóide de difteria. Em outro aspecto, o veículo poderá ser um peptídeo sintético composto de um epítipo auxiliar de célula T. Em outro aspecto, uma forma efetiva do peptídeo LHRH é unida ao veículo, através de conjugação, ou durante a síntese de um peptídeo contíguo ao LHRH-auxiliar-T. Em outro aspecto da invenção, a vacina anti-LHRH é ainda composta de um auxiliar. De preferência, o auxiliar é composto de um polissacarí-

deo iônico; mais de preferência, dietil aminoetil dextrano ("DEAE dextrano"). Em uma realização especialmente preferida, o auxiliar é um dextrano DEAE em combinação com um complexo imuno-estimulante que é composto de uma saponina e
5 colesterol.

Ainda em outro aspecto, a invenção se refere a um método para o tratamento ou controle de incontinência urinária em um mamífero, composta da administração ao mamífero de uma composição que é composta de uma quantidade terapêtica-
10 mente efetiva de um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH. Para uma vacina baseada em um conjugado de peptídeo LHRH-proteína, a quantidade efetiva está na faixa de cerca de 100 a cerca de 300 ug, e para a vacina baseada em peptídeo LHRH-auxiliar-T está na faixa de cerca de 20 a cerca de
15 200 ng.

Descrição detalhada da invenção

A invenção refere-se a composições e vacinas imunogênicas que são adequadas para provocarem uma resposta imunológica contra o hormônio de liberação de hormônio luteinizante ("LHRH", o hormônio de liberação de gonadotropina, ou "GnRH"). A invenção se refere ainda ao uso de tal vacina
20 anti-LHRH ou de composição psico-quimicamente estável em um método de imunização de um mamífero contra LHRH para controlar ou tratar a incontinência urinária.

25 O termo "vacina anti-LHRH" inclui qualquer vacina, composição, ou preparação farmacêutica que seja capaz de provocar uma resposta imune ao LHRH em um hospedeiro. Mais especificamente, as vacinas anti-LHRH da invenção atual são

compostas, pelo menos, de um antígeno ou imunogene de LHRH em um veículo farmacêuticamente aceitável e útil para a indução de uma resposta imune do referido hospedeiro. Para fins de exemplo somente, as vacinas anti-LHRH que podem ser
5 usadas em conexão com a invenção atual, e os métodos de produção das mesmas, incluem, mas não são limitados, àquelas que são descritas na solicitação internacional de número PCT /AU 99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180, solicitação internacional número PCT /AU 98/00532,
10 publicada em 20 de julho de 2000 como WO 99/41.720, e a patente americana de número 6.685.947, que são incorporadas aqui como referência.

O termo "LHRH" deve ser lido como incluindo referência a todas as formas de LHRH e derivados da mesma, incluindo, mas não limitado a, todos os peptídeos tendo imunogenicidade a LHRH. O termo "derivados" inclui fragmentos, partes, porções, equivalentes químicos, mutantes, homólogos e análogos de fontes naturais, sintéticas ou recombinantes, incluindo proteínas de fusão. O LHRH pode ser obtido de
15 qualquer fonte adequada e os métodos para a produção, isolamento, e purificação do LHRH nativo e sintético são bem conhecidos na arte. Em uma realização preferida, o LHRH é composto de um fragmento de terminal C de LHRH com pelo menos cinco aminoácidos.

25 Como o LHRH, ele próprio, é muito pequeno para ser imunogênico, o LHRH usado no contexto da invenção atual deve ser colocado em uma forma imunogênica. É bem conhecido por aqueles com conhecimento normal na arte que existem métodos

diferentes de produção de uma forma imunogênica de uma substância que é, ela própria, não imunogênica. Um método adequado é unir o LHRH a um veículo imunogênico. Assim sendo, no contexto da invenção atual, o LHRH pode ser administrado após a conjugação com um veículo imunogênico em um mamífero e um antígeno para induzir a formação de anticorpos hospedeiros do LHRH. O veículo funciona para estimular as células auxiliares T que são requeridas para uma resposta efetiva de anticorpos. Assim sendo, o veículo poderá ser composto de pequenos peptídeos com pelo menos nove aminoácidos de comprimento que formam um epítopo auxiliar de célula T. tais epítopos de auxiliar T poderão ser derivados de vírus Distemper Canine (CDV), que são especialmente adequados para a utilização em cachorros, porque a maioria dos cachorros já são vacinados contra CPV. Os anticorpos induzidos por tais vacinas posteriormente irão agir contra o próprio LHRH do corpo, dessa forma produzindo um efeito anti-gonadotrópico a longo prazo. Em uma realização preferida, o LHRH é administrado através de vacina após a conjugação com um veículo imunogênico em um mamífero para estimular o sistema imunológico para produzir anticorpos anti-LHRH que reajam com o LHRH para reduzirem efetivamente a sua concentração no corpo. Os efeitos causados pela presença de LHRH, incluindo concentrações elevadas de soro de FSH e LH, que acredita-se que provocam a incontinência urinária, são assim reduzidos ou eliminados.

Os veículos imunogênicos usados na preparação dos conjugados LHRH descritos acima, incluem quaisquer substân-

cias que sejam capazes de aumentarem a imunogenicidade de LHRH. Os veículos imunogênicos usados nos conjugados da invenção atual podem ser naturais ou sintéticos. Em um aspecto, o veículo imunogênico é uma proteína. Qualquer uma de
5 uma variedade de proteínas de veículo imunogênico que são bem conhecidas por aqueles com conhecimento normal na arte poderá ser utilizada na vacina de conjugado da invenção atual. As classes adequadas de proteínas incluem pílulas, proteínas de membrana externa e toxinas excretadas de bactérias
10 patogênicas, formas não tóxicas ou " toxóides" de tais toxinas excretadas, proteínas não tóxicas anti-genicamente semelhantes a toxinas bacterianas e outras proteínas. Exemplos não limitantes de toxóides bacterianos considerados para uso na invenção atual incluem toxina/toxóide de tétano, toxina/toxóide de difteria, toxina A P aeruginosa detoxificada,
15 toxina/toxóide de cólera, toxina/toxóide partusais e toxinas/toxóide de clostridium perfringens. As formas toxóides destas toxinas bacterianas são preferidas. Mais de preferência, o veículo imunogênico usado nos conjugados LHRH da invenção atual são toxóides de difteria. A referência a toxóide de difteria deve ser entendido como incluindo todas as formas de toxóide de difteria e derivados das mesmas. O termo "derivados" tem o mesmo significado definido aqui anteriormente. Os derivados poderão incluir, por exemplo, moléculas compostas do toxóide T de difteria e epítomos de células
20 T ou epítomos de células T em isolamento.

Em outro aspecto da invenção atual, o veículo poderá ser um peptídeo sintético composto pelo menos de um e-

pítopo auxiliar de célula T. Os epítomos poderão ser isolados ou serem ligados em conjunto para formar um só polipeptídeo. Ficará entendido que onde os epítomos são ligados em conjunto em um só polipeptídeo, os epítomos poderão ser contíguos ou separados através de aminoácidos adicionais que não são, eles próprios, parte dos epítomos de célula auxiliar T. Em uma realização, o epítopo auxiliar de célula T está contido dentro de uma seqüência de peptídeos que são escolhidos entre aqueles descritos na patente americana de número 6.685.947, que é incorporada aqui como referência. Em uma realização preferida, a vacina de peptídeos sintéticos é ainda composta pelo menos de um epítopo de células B e/ou pelo menos um epítopo CTL. Em uma realização mais preferida, a vacina de peptídeo sintético é composta de cerca de 3 a cerca de 10 epítomos auxiliares de célula T, cada um deles em seqüência linear com 4 - 10 formas de LHRH, com o teor total de peptídeos sendo em torno de 120 µg de peptídeo/dose em combinação com cerca de 80 µg de um auxiliar. De preferência, o auxiliar é composto de um complexo imunestimulante.

Métodos adequados de união de LHRH a um veículo imunogênico são bem conhecidos por aqueles com conhecimento normal na arte. Sem pretendemos limitar a invenção a qualquer método, o LHRH poderá, por exemplo, ser ligado a um veículo da forma descrita em Ladd et al., American J. Reproductive immunology 22:55 - 63 (1990) ou em Bonneau et al., J. Animal Science 72:14 - 20 (1994). O conjugado resultante pode ser processado para remover qualquer peptídeo remanes-

cente não ligado ou outros subprodutos de conjugação. Tal processamento poderá ser obtido através de diálise convencional ou através de ultrafiltração.

As vacinas da invenção atual poderão ser combinadas ou poderão ainda incluir um auxiliar. Os auxiliares são incluídos ou adicionados nas vacinas e outras formulações imunogênicas para aumentar e em alguns casos direcionar a resposta imunológica. Aqueles com conhecimento normal na arte verificarão que qualquer auxiliar standard bem conhecido poderá ser utilizado na invenção atual. Auxiliares adequados para uso nas vacinas da invenção atual incluem, mas não são limitados a, sais insolúveis de alumínio, especialmente as formas de hidróxido e fosfato (coletivamente, "alumem"), murabutide, auxiliar incompleto de Freund, auxiliar completo de Freund, polissacarídeos iônicos, tais como um grupo dietil-aminoetil ("DEAE"), saponinos, complexos imunoestimulantes, e combinações dos mesmos. Em uma realização preferida, são utilizados auxiliares que não provocam ou provocam somente reações colaterais suaves. Outros auxiliares adequados que podem ser usados com relação a invenção atual incluem, mas não são limitados, àqueles que são descritos na solicitação internacional de número PCT/AU99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180, e a solicitação internacional de número PCT/AU 98/00532, publicada em 20 de julho de 2000, como WO 99/41.720, que são incorporadas aqui como referência.

Em uma realização preferida, o auxiliar é um dextrano DEAE. Em uma realização mais preferida, o auxiliar é

um dextrano DEAE em combinação com um complexo imunoestimulante composto de uma saponina e colesterol.

Sem limitarmos a invenção atual a qualquer teoria ou modo de ação, a administração de uma quantidade efetiva
5 de uma vacina anti-LHRH da invenção atual induz uma resposta imunológica ao LHRH, e portanto evita a liberação dos hormônios LH e FSH da glândula pituitária anterior. De preferência, a quantidade da referida vacina anti-LHRH é efetiva para melhorar os efeitos colaterais associados com a ovariectomia ou sintomas associados com a senescência reprodutiva, especialmente, incontinência urinária, através da redução da
10 concentração de soro do FSH e/ou LH circulante em um mamífero fêmea, a qual a vacina foi administrada. Deve ser entendido que a eficácia é uma medida funcional e não é definida por referência a um anticorpo do anti-LHRH sózinho porque a
15 presença do anticorpo circulante sozinho não necessariamente é indicativa da capacidade do referido anticorpo circulante controlar a incontinência urinária. Assim sendo, assim como com todas as composições imunogênicas para provocarem anticorpos, as quantidades imunologicamente efetivas de vacinas
20 da invenção atual devem ser determinadas empiricamente. Os fatores a serem considerados incluem a escolha de um auxiliar, a molécula imunogênica na qual é ligado o LHRH, a rota de administração e a quantidade de doses a serem administradas. Tais fatores são conhecidos na arte de vacina, e uma
25 pessoa com conhecimento normal na arte seria capaz de fazer tais determinações sem experiências indevidas.

Assim sendo, através dos métodos da invenção atu-

al, os efeitos colaterais ds ovariectomia ou sintomas associados com a senescence reprodutiva, especialmente da incontinência urinária, em mamíferos femininos, tais como cadelas castradas, podem ser tratados ou controlados. Em uma realização preferida, a invenção atual refere-se a um método para o tratamento ou controle da incontinência urinária em um mamífero, o referido método sendo composto da administração ao referido mamífero de uma quantidade efetiva de uma vacina anti-LHRH. De preferência, a vacina anti-LHRH está na forma de um conjugado de veículo imunogênico LHRH. Em uma realização mais preferida, o conjugado é composto de um conjugado toxóide de difteria-LHRH. Em uma realização alternativa, a vacina anti-LHRH está na forma de um peptídeo sintético que é composto de um epítopo auxiliar de célula T. De preferência, a vacina de peptídeo sintético é composta de cerca de 3 a cerca de 10 epítopos auxiliares de célula T, cada um deles em seqüência linear com 4 - 10 formas de LHRH, com o teor total de peptídeos sendo em torno de 120 µg de peptídios/dose em combinação com cerca de 80 µg de um complexo imunoestimulante. O mamífero preferido a ser tratado de acordo com a vacina da invenção atual é do sexo feminino; mais de preferência, uma fêmea tendo níveis elevados de sorro de PSH ou LH ou ambos. Em uma realização mais preferida, o mamífero é uma cadela, e especialmente, uma cadela que foi cirurgicamente capada ou castrada. Em outra realização, a invenção apresenta um método para evitar o início da incontinência urinária em um cachorro castrado, através da administração ao cachorro de uma quantidade efetiva de uma vaci-

na anti -LHRH após as castração.

As vacinas da invenção atual poderão ser administradas por qualquer método adequado conhecido na arte, incluindo, mas não limitados a, administração oral ou por injeção. As formas farmacêuticas adequadas para uso injetável incluem soluções aquosas estéreis (solúveis em água) ou dispersões de pós estéreis para uma preparação extemporânea de soluções ou dispersões injetáveis estéreis. Elas poderão ser estáveis, tanto fisicamente como quimicamente, nas condições de produção e estocagem e devem ser conservadas contra a ação de contaminação de microorganismos, tais como bactérias e fungos. O veículo pode ser um solvente ou um meio de dispersão contendo, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol e propileno glicol líquido, e semelhantes), misturas adequadas dos mesmos, e óleos vegetais. A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, através do uso de um revestimento como lecitina, através da manutenção do tamanho requerido de partícula, no caso de dispersão, e através do uso de tensoativos. A prevenção da ação de microorganismos pode ser avaliada por vários agentes anti-bacterianos e anti- fungos, como por exemplo, parabens, cloro butanol, fenol, ácido sórbico, timerosal e semelhantes; em vários casos, será preferível incluir-se agentes isotônicos, como por exemplo, açúcares ou cloreto de sódio. A absorção prolongada ou a liberação retardada das composições injetáveis pode ser avaliada pelo uso das composições de agentes de retardo de absorção, como por exemplo, mono-estearato de alumínio e gelatina.

As soluções injetáveis estéreis são preparadas incorporando-se os compostos ativos na quantidade requerida do solvente apropriado com vários dos outros ingredientes enumerados acima, conforme requerido, seguido pela esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando-se os vários ingredientes ativos esterilizados em um veículo estéril que contém o meio de dispersão básico e os outros ingredientes requeridos daqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos preferidos de preparação são secagem a vácuo, a técnica de secagem por congelamento e a técnica de secagem por aspersão, que produz um pó de ingredientes ativos, mais qualquer ingrediente adicional a partir de solução previamente filtrada e estéril do mesmo.

Quando os ingredientes ativos são adequadamente protegidos eles poderão ser administrados oralmente, por exemplo, com um diluente inerte ou com um veículo comestível assimilável, ou eles poderão estar enclausurados em uma cápsula de gelatina de casca dura ou macia, ou comprimidos em tablets, ou incorporados diretamente no alimento da dieta. Para a administração oral, o composto ativo poderá ser incorporado com excipientes e usado na forma de tablets digeríveis, tablets bucais, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, bolachas, e semelhantes. Tais composições de preparações, devem conter pelo menos 1% em peso do composto ativo. A percentagem das composições e preparações poderá, é claro, ser variada, e poderá convenientemente ser entre cerca de 5 a cerca de 80% do peso da unidade. A quan-

tidade de composto ativo em tais composições úteis é tal que será obtida uma dosagem adequada. As composições ou preparações preferidas de acordo com a invenção atual são preparadas de forma que uma forma de unidade de dosagem oral conte-
5 nha entre cerca de 0,5 µge 2000 µg de composto ativo.

Os tabletes, pastilhas, pílulas, cápsulas e semelhantes, poderão também conter os componentes conforme listado aqui posteriormente: um aglutinante como uma goma, acácia, amido ou gelatina de milho; excipientes, tais como
10 fosfato di-cálcico; um agente desintegrante como amido de milho, amido de batata, ácido algínico e semelhantes; e um lubrificante, como estearato de magnésio. Quando a forma da unidade de dosagem é uma cápsula, ela poderá conter, além dos materiais do tipo acima, um veículo líquido. Vários ou-
15 tros materiais poderão estar presentes como revestimentos ou para modificarem de outra forma forma física da unidade de dosagem. Um xarope ou elixir poderá conter o composto ativo, metil e propil parabens como conservante, e um corante. É claro, qualquer material utilizado na preparação de qualquer
20 forma de unidade de dosagem deve ser veterinariamente puro e substancialmente não tóxico nas quantidades utilizadas. Além disso, o composto ativo poderá ser incorporado nas preparações e formulações de liberação prolongada.

Veículos farmacêuticamente aceitáveis e/ou diluentes incluem qualquer e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes anti-bacterianos e anti-fungos, agentes isotônicos e de retardo de absorção e semelhantes. O uso de tais meios e agentes para substâncias veterinaria-
25

mente ativas é bem conhecido na arte. Na medida em que qualquer meio ou agente convencional é incompatível com o ingrediente ativo, é considerado o uso do mesmo nas composições terapêuticas. Os ingredientes ativos suplementares também
5 podem ser incorporados nas composições.

É especialmente vantajoso formular-se composições parenterais na forma de unidades de dosagem para a administração fácil e para a uniformidade da dosagem. Para a administração em criação de animais, é especialmente vantajoso
10 utilizar-se um recipiente de doses múltiplas ligado a uma pistola de vacinação de repetição. A forma unitária de dosagem, conforme usado aqui, refere-se a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos a serem tratados; cada unidade contendo uma quantidade
15 predeterminada de material ativo é calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico requerido. A especificação para as formas novas de unidades de dosagem da invenção é ditada e é dependente diretamente (a) das características únicas do material ativo e
20 do efeito terapêutico específico a ser obtido, e (b) das limitações inerentes na arte de composição de tal material ativo para o tratamento de doença em indivíduos vivos tendo uma condição de doença na qual a saúde do corpo é prejudicada, conforme apresentado aqui em detalhes.

25 O ingrediente ativo principal é composto, para a administração conveniente e efetiva, de quantidades efetivas com um veículo adequado farmacêuticamente aceitável na forma de unidade de dosagem conforme apresentado aqui anteriormen-

te. Uma forma de dosagem unitária pode, por exemplo, conter o composto ativo principal em quantidades variando de cerca de 0,5 µg até 2000 µg. Expresso em proporções, o composto ativo geralmente está presente em torno de 0,5 µg a cerca de 5 2000 µg/ml de veículo. As quantidades relativas do ingrediente ativo, do veículo farmacêuticamente aceitável, e quaisquer ingredientes adicionais em uma composição farmacêutica da invenção variará, dependendo da identidade, tamanho, e condição do indivíduo tratado e dependendo ainda da rota pela qual a composição deve ser administrada. 10

A invenção é adicionalmente descrita em detalhes por referência aos seguintes exemplos de experiências. Estes exemplos são apresentados somente para fins de ilustração, e não se destinam a ser limitantes, a não ser que seja especificado de outra forma. Assim sendo, a invenção, de forma alguma, deve ser considerada como sendo limitada aos exemplos seguintes, mas ao contrário, deve ser considerada como englobando qualquer e todas as variações que ficarão evidentes como resultado dos ensinamentos apresentados aqui. 15

Embora a invenção tenha sido apresentada com referência a realizações específicas, fica aparente que outras realizações e variações desta invenção poderão ser previstas por outros adestrados na arte, sem se afastarem do espírito e do escopo verdadeiro da invenção. As reivindicações anexas 20 se destinam a ser consideradas como incluindo todas essas realizações e variações equivalentes. 25

Exemplo 1

Escopo do estudo clínico

Cadelas que foram capadas ou castradas cirurgicamente, com frequência, sofrem de incontinência urinária. A incidência da doença tem sido relatada como sendo tão elevada quanto 20%. Os tratamentos atuais são baseados na administração diária de fármacos, tais como oestrogenos sintéticos, durante períodos prolongados, que são tanto dispendiosos como inconvenientes. O uso de uma vacina de ação prolongada seria uma melhoria significativa no tratamento desta condição comum de cadelas castradas.

10 Considerações

Uma formulação para o tratamento de incontinência urinária em cachorros inclui qualquer vacina efetivas anti-LHRH. Várias de tais de vacinas foram descritas na arte anterior, apesar da maioria destas falharem em produzir uma
15 eficácia e segurança suficientemente elevadas para serem comercialmente viáveis. Tem havidos muito pouco exemplos de vacinas efetivas descritas na literatura para cachorros. Existem vários exemplos de vacinas LHRH atualmente disponíveis comercialmente, especialmente na Austrália e na Nova
20 Zelândia. Estas incluem IMPROVAC® para o controle de manchas em porcos machos, EQUITY® para o controle de comportamento relacionado com oestrus em éguas e potros, ambos os produtos obteníveis comercialmente da Pfizer Animal Health. Estas formulações são para aplicação em grandes animais, e assim
25 sendo, é esperado que sejam inseguras em animais menores, tais como cachorros, e seria esperado requerer-se uma modificação para o uso seguro e efetivo em cães e outros animais domésticos. Uma outra formulação foi registrada condicional-

mente na USDA nos USA para tratamento de hiperplasia prostática benigna em cachorros adultos machos intactos. Esta vacina demonstrou ser tanto segura como efetiva em cachorros adultos machos e é considerada para uso na invenção atual, para controlar a incontinência urinária canina (CUI), como se segue:

Foi feito um estudo como um estudo duplo cego, com dois grupos recebendo a vacina CUI ou placebo, o placebo consistindo somente de auxiliares. Nem os donos, nem os veterinários clínicos, tinham conhecimento do tratamento que estava sendo administrado.

Animais:

Cadelas (até um número de 35) que são mantidas como animais de estimação domésticos por membros da comunidade, são escolhidas de um registro clínico sem limitação, como por exemplo, o registro na universidade / clínica veterinária de Melbourne. Somente as cadelas castradas com mais de dois anos de idade, tendo uma condição clínica a longo prazo de incontinência urinária, e tendo sido tratadas anteriormente para esta condição (com outros tratamentos conhecidos, como estilbestrol, uma forma sintética de estrogênio), ou com um estimulador alfa-adrenérgico como PPA, são escolhidas para o estudo.

Vacinas

Em uma realização, a vacina é composta daquela que foi licenciada provisoriamente pela USDA para Pfizer Animal Health para o tratamento de hiperplasia prostática benigna, que contém 200 µg/dose de conjugado de 2 - 10 formas de pep-

tídeo LHRH conjugado com toxóide de difteria como veículo, com um sistema auxiliar combinado de 10 mg de dextrano DEAE e 80 mg de um complexo imunoestimulante, conforme descrito na solicitação internacional de número PCT/AU 99/01167, publicada em 21 de janeiro de 1999 como WO 99/02180. Em outra realização, a vacina é composta de uma vacina de peptídeo sintético composto de cerca de 3 a cerca de 10 epítomos auxiliares de célula T, cada um deles em seqüência linear com 4 - 10 formas de LHRH, o teor total de peptídeos sendo de 120 µg de peptídeo/dose em combinação com 80 µg de complexo imunoestimulante.

A vacina é administrada para cada cachorro no estudo em pelo menos duas ocasiões, com um intervalo de 28 dias.

Os seguintes parâmetros são medidos diretamente após cada vacinação: temperatura do corpo, conduta, incluindo a letargia, dor no local da injeção, e o inchaço no local da injeção. Além disso, foram tomadas amostras do soro para medir os níveis de LH e de respostas do anticorpo ao LHRH. A avaliação da incontinência urinária em cada cadela é feita pelos donos individuais, de acordo com um sistema de avaliação comum, começando duas semanas antes da primeira vacinação. Desta forma, cada cachorro individual tem o seu próprio controle em relação a alterações após o tratamento.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma vacina anti-LHRH, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na preparação de um medicamento para tratamento de incontinência urinária.

5 2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma fêmea.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma fêmea tendo concentrações elevadas de soro de uma gonadotropina.

10 4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato da referida gonadotropina ser escolhida do grupo consistindo de hormônio luteinizante e o hormônio folículo-estimulante.

15 5. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser castrado cirurgicamente.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido mamífero ser uma cadela castrada.

20 7. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato da vacina anti-LHRH compreender um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH.

25 8. Uso, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelo fato é do referido veículo compreender uma proteína.

9. Uso, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato da referida proteína compreender um toxóide bacteriano.

10. Uso, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato do toxóide bacteriano ser um toxóide de difteria.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 7, **5 CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo compreender um peptídeo sintético composto de pelo menos um epítipo auxiliar de célula T.

12. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **10 CARACTERIZADO** pelo fato da referida vacina incluir ainda um auxiliar.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido auxiliar compreender um dextrano DEAE.

14. Uso, de acordo com a reivindicação 13, **15 CARACTERIZADO** pelo fato do referido auxiliar ainda compreender um complexo imunoestimulante, onde o referido complexo imunoestimulante é composto de uma saponina e um componente de colesterol.

15. Uso, de acordo com a reivindicação 7, **20 CARACTERIZADO** pelo fato do referido conjugado imunogênico compreender um conjugado toxóide de difteria-LHRH.

16. Uso de uma composição compreendendo um conjugado imunogênico entre um veículo e LHRH, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na preparação de um medicamento para o tratamento ou controle de incontinência urinária. **25**

17. Uso, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo compreender uma proteína.

18. Uso, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo compreender um toxóide de difteria.

19. Uso, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido veículo compreender um epítipo de célula T.

20. Uso, de acordo com a reivindicação 16, **CARACTERIZADO** pelo fato da referida composição incluir ainda um auxiliar.

21. Vacina para o tratamento ou para controle de incontinência urinária, em um mamífero fêmea, a referida vacina sendo **CARACTERIZADA** pelo fato de compreender uma quantidade terapeuticamente efetiva de LHRH.

22. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato de ser ainda composta de um auxiliar.

23. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato do LHRH ser conjugado com um veículo imunogênico.

24. Vacina, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido veículo imunogênico compreender uma proteína.

25. Vacina, de acordo com a reivindicação 23, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido veículo imunogênico compreender um epítipo auxiliar de célula T.

26. Vacina, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADA** pelo fato da referida proteína compreender toxóide de difteria.

27. Vacina, de acordo com a reivindicação 21, **CARACTERIZADA** pelo fato do referido mamífero fêmea compreender um cachorro cirurgicamente capado.

28. Uso de LHRH, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na
5 preparação de um medicamento para provocar o aumento da resposta imunológica de um mamífero sofrendo de incontinência urinária devido a produção e liberação irrestrita de gonadotropina.

29. Uso, de acordo com a reivindicação 28,
10 **CARACTERIZADO** pelo fato do referido LHRH ser administrado na forma de um antígeno.

30. Uso, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo fato do referido LHRH ser administrado na forma de uma vacina.

15 31. Uso de uma vacina anti-LHRH, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na preparação de um medicamento para o tratamento de incontinência urinária em um cachorro capado ou castrado cirurgicamente.

32. Uso, de acordo com a reivindicação 31,
20 **CARACTERIZADO** pelo fato do cachorro ser uma fêmea.

33. Uso de uma vacina anti-LHRH após a castração, **CARACTERIZADO** pelo fato de ser na preparação de um medicamento para a prevenção do início de incontinência urinária em uma cadela castrada.

RESUMO

"COMPOSIÇÕES DE VACINA E USO DE COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO VACINA ANTI-LHRH NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR INCONTINÊNCIA URINÁRIA"

5 A invenção atual refere-se ao uso de composições compreendendo uma vacina anti-LHRH para o controle ou tratamento de incontinência urinária. A invenção atual se refere ainda a usos de composições compreendendo vacina anti-LHRH na preparação de um medicamento para tratamento ou controle
10 de incontinência urinária em mamíferos, e especialmente, naqueles que foram cirurgicamente capados, como por exemplo, cadelas castradas.