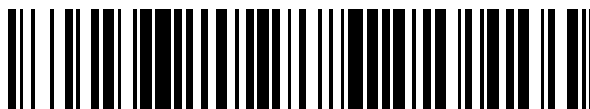


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 115**

51 Int. Cl.:

A61K 31/59 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/592 (2006.01)
A61K 31/593 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2011** **PCT/US2011/000891**
87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011** **WO11149513**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2011** **E 11787012 (1)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017** **EP 2575474**

54 Título: **Procedimientos para incrementar la producción o la actividad de la catalasa**

30 Prioridad:

26.05.2010 US 396372 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.07.2017

73 Titular/es:

NESTEC S.A. (50.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH y
THE OHIO STATE UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

MIDDLETON, RONDO PAUL y
INPANBUTR, NONGNUCH

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 627 115 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

Procedimientos para incrementar la producción o la actividad de la catalasa

5 ANTECEDENTES Y TRASFONDO DE LA INVENCION

Sector de la invención

10 La presente invención, se refiere, de una forma general, a medidas para incrementar la producción de catalasa y, de una forma particular, a la vitamina D para su uso en la producción de la catalasa en animales.

El ámbito de la presente invención, se define mediante las reivindicaciones anexas.

15 Descripción de arte relacionado de la técnica

La catalasa, es una enzima común, la cual se encuentra en casi la totalidad de los organismos los cuales se encuentran expuestos al oxígeno. La catalasa, es esencialmente universal, en los animales y en las plantas, y ésta se encuentra así mismo, también, muchos hongos y en algunos microorganismos anaeróbicos.

20 En los animales, así como también en muchos otros organismos, el estrés oxidativo u oxidante, viene causado por un desequilibrio en la producción del oxígeno y una capacidad del sistema biológico, para desintoxicar fácilmente los intermediarios reactivos o reparar fácilmente el daño resultante. El daño oxidativo celular, se ha venido viendo implicado en el envejecimiento y en una gran serie de trastornos clínicos, incluyendo al daño o lesión por isquemia y reperusión; a los daños neurodegenerativos; a la diabetes; a las enfermedades inflamatorias, tales como las
25 consistentes en aterosclerosis, en la artritis, y en la hepatitis; a la toxicidad inducida por fármacos; y al cáncer.

Las especies reactivas del oxígeno (ROS – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Reactive oxygen species] -), incluyendo al radical anión superóxido y al peróxido de hidrógeno, se producen, de una forma endógena, como respuesta a las citocinas, a los factores del crecimiento; a los receptores acoplados de la proteína G, y al
30 estrés físico o del entorno medioambiental. Las especies reactivas del oxígeno (ROS), funcionan como moléculas de señalización para mediar en varias respuestas biológicas. Sin embargo, no obstante, un exceso de ROS (especies reactivas del oxígeno), contribuye a varias patofisiologías, según éstas se describen en el arte especializado de la técnica. Con objeto de minimizar los efectos perjudiciales o dañinos de un exceso de especies reactivas del oxígeno o ROS, los organismos aeróbicos, han desarrollado diferentes líneas de defensa antioxidante. Así, de este modo,
35 una línea de defensa, es de la clase enzimática, que comprende a las catalasas, a los peróxidos, a los superóxidos dismutasas, y la glutatión-S-transferasa, entre otros componentes enzimáticos. Así, por ejemplo, los superóxidos dismutasas (SODs – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a superoxide dismutases] -), las catalasas y peróxidos, protegen a las células, procediendo a secuestrar, de una forma directa a los radicales superóxidos y al peróxido de hidrógeno, convirtiéndolos en unas especies menos reactivas. Las SODs (superóxidos dismutasas),
40 catalizan la disminución del anión superóxido (O_2^-), convirtiéndolo en el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y las catalasas y los peróxidos, reducen al H_2O_2 , convirtiéndolo en agua.
PPPPP

Así, de este modo, las catalasas, son importantes componentes enzimáticos, ubicuos u omnipresentes, en el sistema de desintoxicación de las especies reactivas del oxígeno (ROS), el cual se encuentra presente en los
45 organismos aeróbicos. En los mamíferos, las deficiencias en catalasas, se han venido asociando con la capacidad disminuida para desintoxicar las ROS (especies reactivas del oxígeno), en varias células y tejidos, conduciendo, con ello, a una variedad de condiciones perjudiciales, o encontrándose asociadas con éstas, condiciones perjudiciales éstas, las cuales incluyen a un envejecimiento prematuro (y al envejecimiento en general; véase a dicho efecto, por ejemplo, el trabajo de Harman, publicado, en el año 209, en Biogerontology 10 : 773 – 718), a la diabetes, a la
50 enfermedad cardiovascular, a la enfermedad renal, a la formación de tumores, a la infertilidad y a la aparición de canas en el pelo. En relación con esto último, se determinado, recientemente, el hecho consistente en que, el peróxido de hidrógeno acumulado y la casi ausencia de catalasa, en el envejecimiento de la matriz del pelo, se encuentran asociados con la pérdida de pigmentación del pelo (véase, a dicho efecto, el trabajo de Wood J M et al., publicado en el año 2009, en Faseb J. 23: 2065 - 2075). En concordancia con recientes estudios científicos los
55 cuales se han llevado a cabo, unos reducidos niveles de catalasa, pueden jugar un rol interpretativo de gran importancia, en el proceso de aparición de canas en el cabello o pelo humano. El peróxido de hidrógeno, se produce, de una forma natural, por parte del cuerpo, y la catalasa, lo descompone. En el caso en el que exista una caída, en los niveles de catalasa, entonces, el peróxido de hidrógeno, no puede descomponerse. Esta circunstancia, provoca el hecho consistente en que, el peróxido de hidrógeno, aclare o produzca un blanqueamiento del pelo,
60 desde el interior de éste, apareciendo entonces las canas. Los científicos expertos en este arte especializado de la técnica, piensan que, éste descubrimiento, puede hacer que, algún día, las enseñanzas de éste, se incorporen en los tratamientos anticanas, para el cabello envejecido.

La cuestión de una actividad de la catalasa reducida, en los cánceres, se ha abordado por parte de McCarty MF et al. (Véase, a dicho efecto, 2007, Med. Hypotheses 69: 489 - 496). Los autores de dicho estudio, sugieren el hecho de que, una estrategia de dos fases, para el tratamiento de los cánceres oxidativo-dependientes, basado en la

expectación de que, cuando se utiliza el calcitriol, como adyuvante, éste potenciará un quimioterapia concurrente, de una forma particular, una terapia paralela o simultánea, con una alta dosis de ascorbato. La toxicidad del ascorbato, se ha venido asociando al peróxido de hidrógeno generado mediante la reducción espontánea de oxígeno molecular. Sin embargo, no obstante, puesto que se requiere oxígeno, para la producción del peróxido de hidrógeno, las regiones hipóxicas de los tumores, serán relativamente resistentes a la citotoxicidad del ascorbato. Así, de este modo, se consideran medidas concurrentes, es decir, paralelas o simultáneas, las cuales potencien la oxidación de los tumores y que así, de esta forma, éstas pueden amplificar la capacidad de respuesta de muchos tumores a las altas dosis de ascorbato. Una de tales medidas, puede ser la consistente en el calcitriol, ya que se ha demostrado el hecho consistente en que, el tratamiento previo con vitamina D activada (calcitriol), mejora el impacto de la citotoxicidad del peróxido de hidrógeno en las células mamarias MCF-7, y que, el calcitriol, tiene un efecto pro-oxidante, en esta línea celular.

En vistas a lo anteriormente expuesto, en este documento de solicitud de patente, está claro que, el desarrollo de procedimientos y de composiciones, para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, en animales, y en otros organismos, representa un avance en el arte especializado de la técnica.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es así, por lo tanto, un objeto de la presente invención, el proporcionar vitamina D, para su uso en la prevención o en el tratamiento de una enfermedad o de una condición causada por la deficiencia de catalasa, en un animal de compañía, el cual esté envejeciendo, y que éste pueda beneficiarse de un incremento de la producción de catalasa, en donde, la enfermedad o condición, es la consistente en la acatalasemia o acatalasia.

Es así mismo, también, otro objeto adicional de la presente invención, el proporcionar la vitamina D, como único ingrediente activo, para su uso en la prevención o el tratamiento de un enfermedad o condición, causada por la deficiencia de la catalasa, en un animal de compañía el cual esté envejeciendo, y que pueda beneficiarse de un incremento en la producción de la catalasa, en donde, la enfermedad o condición, es la consistente en el hepatoma.

Es otro objeto adicional de la presente invención, el proporcionar una composición, para su uso en la prevención o en el tratamiento de un animal el cual esté envejeciendo, y el cual pueda beneficiarse de un incremento de la producción de catalasa, comprendiendo, la composición en cuestión, vitamina D, y por lo menos un agente adicional, el cual incremente la producción o la actividad de la catalasa, o que reduzca o elimine las especies de oxígeno reactivo, en donde, la enfermedad o condición, es la acatalasemia o acatalasia.

Estos objetos, se logran mediante nuevos usos de la vitamina D, y composiciones las cuales contienen vitamina D, para incrementar la producción de la catalasa, en un animal de compañía el cual esté envejeciendo. Los usos en cuestión, a los que se hace referencia, y las composiciones, comprenden vitamina D, en una cantidad efectiva para incrementar la producción de la catalasa en un animal de compañía, el cual esté envejeciendo. Los usos de la vitamina D, y de las composiciones las cuales contienen vitamina D, se proporcionan así mismo, también, para tratar la deficiencia de catalasa, en un animal de compañía, el cual esté envejeciendo.

Otros objetos, y objetos adicionales, rasgos distintivos o características, y ventajas de la presente invención, resultarán fácilmente evidentes, para aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

El término "animal", tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un animal, u otro organismo (tal como, por ejemplo, hongos), los cuales puedan beneficiarse de un incremento en la producción o en la actividad de la catalasa, incluyendo a los seres humanos, a los animales aviares, a los animales bovinos, a los animales caninos, a los animales equinos, a los animales felinos, a los animales hircinos, a los animales lupinos, a los animales murinos, a los animales ovinos, o a los animales porcinos.

El término "catalasa", tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender, de una forma inclusiva, a las enzimas de la nomenclatura de enzimas IUBMB, EC 1.11.1.6, las cuales catalizan la reacción $2\text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Otro(s) nombre(s) de la catalasa, incluyen a: equilasa, caperasa, optidasa, catalasa-peroxidasa y CAT. La catalasa, puede también actuar común peroxidasa (EC 1.11.1.7 peroxidasa), para las cuales, algunas sustancias, tales como, especialmente, el etanol, pueden actuar como un donante de hidrógeno. Una catalasa típica, es la consistente en un tetrámero de cuatro cadenas de polipéptidos, que contiene grupos hemo (hierro) porfirina, los cuales permiten el hecho consistente en que, la enzima reaccione con el peróxido de hidrógeno.

El término "animales de compañía", tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender a animales domésticos, tales como los consistentes en los perros, en los gatos, en los pájaros, en los conejos, en los conejillos de indias, en los hurones, en los hamsters, en los ratones, en los jerbos, los caballos de placer o diversión, en las vacas, en las cabras, en las ovejas, en los asnos, en los cerdos, y más

especies exóticas, las cuales se mantienen por parte de los seres humanos, a efectos de compañía, a efectos de diversión, a efectos de soporte fisiológico, a efectos de exhibición extrovertida, y a efectos de cualesquiera otras funciones, las cuales necesitan los seres humanos, para compartir con los animales o con otras especies.

El término “suplemento dietético”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un producto, el cual está previsto para que éste se ingiera, de una forma adicional a la dieta normal de un animal. Los suplementos dietéticos, pueden ser en cualquier forma, tal como, por ejemplo, en una forma sólida, en una forma líquida, en una forma de gel, en forma de tabletas, en forma de cápsulas, en forma de una materia en polvo. De una forma preferible, éstas se proporcionan en formas convenientes de dosificación. En algunas formas de presentación, éstas se suministran en envases a granel para el consumidor, tales como las materias en polvo a granel, o en los líquidos a granel. En otras formas de presentación, los suplementos, se suministran en cantidades a granel, para incluirse en otros artículos o productos alimenticios, tales como los consistentes en tentempiés, en premios, en barras de suplementos, o en bebidas.

El término “extender la flor de la vida”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el número de años en los que un animal vive una vida sana, y no únicamente extender el número de años que vive un animal, es decir, por ejemplo, que un animal se encontrará sano, en la flor de su vida, durante un transcurso de tiempo relativamente más largo. Así, de este modo, los años correspondientes a la flor de la vida, de la vida de un animal, puede extenderse, desde la edad correspondiente a la edad joven adulta (a la cual se le hará referencia como “joven”, según se describe más abajo, en este documento de solicitud de patente), hasta la edad correspondiente a un animal en su madurez, o de una edad avanzada, en una población. De hecho, los años correspondientes a la flor de la vida, en la vida de un animal, pueden extenderse esencialmente, hasta la muerte del animal, asumiendo el hecho consistente en que, el animal, se encuentre sano y activo, hasta sus años de edad avanzada.

El término “producto alimenticio” (o alimento), o “composición alimenticia”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender una composición, la cual está prevista para la ingestión por parte de un animal, incluyendo un ser humano. Un “producto alimenticio nutricionalmente equilibrado, para animales domésticos o de compañía” contiene la totalidad de los nutrientes conocidos que se requieren, para el destinatario o consumidor del producto alimenticio en cuestión, en unas cantidades y proporciones las cuales sean apropiadas, en base a, por ejemplo, las recomendaciones de las autoridades reconocidas en el sector de la nutrición de los animales de compañía o domésticos. Tales tipos de productos alimenticios, son capaces, así, por lo tanto, de servir como una única fuente de ingesta dietética, para mantener la vida, o para fomentar la producción, sin la necesidad de una adición de fuentes nutritivas adicionales. (Nota: en este documento de solicitud de patente, se hará referencia, de una forma indistinta, a los términos alimenticio(s) (o alimenticia(s) o nutricional(es), teniendo ambos el mismo significado). Las composiciones nutricionalmente equilibradas, para animales de compañía o domésticos, se conocen sobradamente, y éstas se utilizan de una forma extensa y usual, en el arte especializado de la técnica.

El término “gen”, o “genes”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un DNA completo, o un segmento parcial de DNA, el cual se encuentra involucrado en la producción de un polipéptido, incluyendo a las regiones precedentes y a las que siguen a la región de codificación (de cabeza y de cola), y a las regiones de intervención (intrones) entre los segmentos de codificación individuales (exones). El término, abarca a cualquier secuencia de DNA, la cual hibrida al complemento de las secuencias codificadoras de genes.

El término “salud y / o bienestar de una animal”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el bienestar físico, mental, y social, del animal en cuestión, y no meramente la ausencia de una enfermedad o dolencia.

El término “conjuntamente”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el hecho consistente en que, un fármaco, un producto alimenticio, u otra sustancia, se administra a una animal, (1), conjuntamente, en una composición, de una forma particular, en una composición alimenticia, o (2), de una forma separada, a la misma frecuencia, o a una frecuencia distinta, mediante la utilización de las mismas rutas de administración, o mediante diferentes rutas de administración, a aproximadamente el mismo tiempo, o de una forma periódica. El término “periódicamente” (o de una forma periódica), significa, de una forma general, el hecho de que, la sustancia en cuestión, se administra a un régimen o programación de dosificación, el cual sea aceptable para una sustancia específica. “A aproximadamente el mismo tiempo” (o de una forma simultánea, o simultáneamente), significa el hecho de que, la sustancia en cuestión (bien ya sea un producto alimenticio o bien ya sea un fármaco), se administra al mismo tiempo, es decir, de una forma simultánea, o dentro de un transcurso de tiempo de aproximadamente las 72 horas, la una con respecto a la otra. El término “conjuntamente”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender, así mismo, también, la inclusión de los esquemas de administración, en donde, las sustancias, tales como las consistentes en los fármacos, se administran durante un período de tiempo prescrito, y las composiciones de la presente invención, se administran indefinidamente.

El término “individual”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender, cuando se refiere a un animal, significa un animal individual de cualquier especie o de cualquier clase.

El término administración “durante un prolongado transcurso de tiempo”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender períodos de tiempo de administración, los cuales excedan de un mes. Mediante este término, se encuentran también incluidos, así mismo, períodos de tiempo más prolongados, los cuales incluyen a períodos de tiempo más largos de 5, de 7, de 8, de 9 ó de 10 meses. Los períodos de tiempo los cuales excedan de los 11 meses, o de un año, se encuentran también incluidos. Períodos de tiempo más largos, correspondientes a unos transcurros de tiempo los cuales se prolonguen durante 1 año, durante 2 años, y durante 3 años, o más, se encuentran también contemplados. En el caso de determinados animales, se contempla el hecho de que, al animal en cuestión, se le administren sustancias identificadas mediante los presentes procedimientos, en una base regular. El término “base regular”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender una administración de la sustancia en cuestión, por lo menos semanalmente. De una forma más frecuente, se contempla así mismo, también, una administración de la(s) sustancias en cuestión, a razón de una vez por semana o a razón de dos veces por semana. Así mismo, también, se encuentran incluidos los regímenes de administración (de la sustancia o sustancias en cuestión), los cuales comprenden una administración a razón de una vez, de dos veces, de tres veces, o de más veces por día. Se considera como siendo de utilidad, cualquier frecuencia de dosificación, independientemente del hecho de si éste se encuentra expresamente especificado, aquí, en este documento de solicitud de patente. Las personas expertas en el arte especializado de la técnica, apreciarán el hecho de que, la frecuencia de dosificación, será una función de la sustancia la cual se esté administrando, y que, algunas composiciones, pueden requerir una administración más frecuente, o menos frecuente, para mantener los efectos bioquímicos, fisiológicos o de expresión genética deseados, a saber, los efectos que incluyen a la ingestión de una o de más ingestas de productos alimenticios, a la saciedad, al metabolismo de los lípidos, y a la utilización de las grasas, y al perfil de las expresión genética asociado con éstos. El término “base regular extendida”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender la referencia a la administración durante un prolongado transcurso de tiempo, de una sustancias, en una base regular.

El término “administración oral”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el hecho consistente en que, las ingestas por parte de un animal, o por parte de un ser humano, están dirigidas a alimentar a un animal, o consisten en alimentar a un animal, con una o más de las sustancias, las cuales se describen aquí, en este documento de solicitud de patente. El término “ingestión”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el uso, de una forma intercambiable, con el término “administración oral”. Allí en donde, a un ser humano, se le oriente sobre una administración oral, o la ingestión de la sustancia, tal tipo de orientación, debe ser tal que, ésta, instruya y / o informe al ser humano, en cuanto a lo referente a que, el uso de la sustancia en cuestión, puede proporcionar y / o proporcionará el beneficio referenciado. Tal tipo de orientación, puede consistir, por ejemplo, en una orientación oral (tal como, por ejemplo, una orientación oral, proporcionada, por ejemplo, por parte de un médico, por parte de un veterinario, o por parte de otro profesional de la salud, o por parte de medios de comunicación, tales como los consistentes en la radio o en la televisión (es decir, mediante publicidad), o una orientación por escrito (tal como, por ejemplo, una orientación escrita, proporcionada por parte de, por ejemplo, un médico, un veterinario, u otro profesional de la salud (tal como, por ejemplo, prescripciones), un profesional comercial o venta, o una organización (tal como, por ejemplo, mediante prospectos o folletos de comercialización o marketing, panfletos, y otros tipos de parafernalia instructiva), medios por escrito (tal como, por ejemplo, los consistentes en internet, correo electrónico, u otro medio relacionado con los ordenadores o computadoras), y o envasados asociados con la sustancia.

El término “muestra”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un tejido de un animal, o un fluido, el cual contenga, por ejemplo, polinucleótidos, polipéptidos, anticuerpos, metabolitos, incluyendo a las células y a otros tejidos los cuales contengan DNA y RNA. Los ejemplos de estas muestras, incluyen a las muestras de adiposa, de la sangre, de cartílago, epiteliales, linfoides, de los músculos, nerviosas, del esputo. Una muestra, puede tratarse de una muestra sólida, o ésta puede tratarse de una forma líquida, o puede ser una muestra de DNA, de RNA, de cDNA, o una muestra de fluidos corporales, tales como los consistentes en la sangre, o en la orina, o una muestra de células, o puede tratarse de preparaciones celulares o fracciones solubles, o alícuotos medios de éstas, o una muestra de cromosomas, o una muestra de organelas.

El término “envase individual”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el hecho consistente en que, los componentes de un equipo a modo de kit, se encuentran físicamente asociados en un recipiente, o con uno o más contenedores, y que, éste, se considera como una unidad, para la fabricación, la distribución, la venta o el uso. Los recipientes, incluyen a las bolsas, a las cajas, a las botellas, a los empaquetados con envoltura retráctil, a los componentes empaquetados mediante grapado o, de otro modo, mediante sujeción mediante adhesivos, o combinaciones de entre éstos. Un envase individual, puede ser el consistente en recipientes para composiciones alimenticias individuales, físicamente asociados, de tal forma que, éstos, pueden considerarse como siendo una unidad, para la fabricación, la distribución, la venta o el uso.

El término “administración tópica”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender la administración o la aplicación de una composición, al cabello, al pelaje, a las uñas, a las garras, a la piel, a la mucosa, a los ojos, a las vías respiratorias, a los pulmones, o cualquier otra superficie epitelial.

- 5 El término “vitamina D”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender la vitamina D, y cualesquiera de sus formas naturales o sintéticas, los derivados, o análogos los cuales funcionan como la vitamina D, para afectar la producción o la actividad de la catalasa, en los animales. A título de trasfondo o antecedentes, cabe recordar que, la vitamina D, puede obtenerse a partir de fuentes dietética, o que, ésta puede sintetizarse en el cuerpo. La vitamina D dietética, se encuentra disponible, en dos formas: la vitamina D₂ (ergocalciferol), procedente de fuentes vegetales o plantas, y la vitamina D₃ (colecalfiferol), procedente de fuentes animales, denominándose, a ambas, de una forma colectiva, como vitamina D. La vitamina D en forma de vitamina D₃, puede fabricarse a partir del 7-deshidrocolesterol (7-DHC), en la piel, mediante la exposición de ésta a la luz ultravioleta, principalmente, a partir de la luz, en el espectro UVB. La vitamina D, es una prohormona, convertida, finalmente, a la forma activa 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃), a la cual, se la conoce, así mismo, también, como calcitriol. Así, de este modo, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, el término “vitamina D”, incluye a las formas de la vitamina D, (tales como las consistentes en la vitamina D₂ y la vitamina D₃), las cuales se producen mediante organismos y que pueden convertirse, vía medios naturales o sintéticos, en la forma biológicamente activa, consistente en el calcitriol. El término en cuestión, incluye así mismo, también, a los análogos naturales o sintéticos los cuales imitan a por lo menos una actividad biológica del calcitriol.
- 10 De una forma adicional a la estimulación de la producción o de la actividad de la catalasa, las actividades biológicas del calcitriol y / o de sus precursores, incluyen al enlace o unión de la proteína de unión a la vitamina D (precursores), al enlace o unión a los receptores de la vitamina D (calcitriol), y las subsiguiente señal de transducción, y la estimulación de la absorción de calcio.
- 15 El término “envase virtual”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender el hecho consistente en que, los componentes de un equipo, a modo de kit, se encuentran asociados con directrices, en uno o más componentes físicos o virtuales del equipo a modo de kit en cuestión, instruyendo, al usuario, de cómo obtener los otros componentes, tal como, por ejemplo, en una bolsa la cual contenga uno componente y directrices que instruyan al usuario, de cómo ir a un sitio web, contactar un mensaje registrado, ver un mensaje visual, o contactar con cuidador o instructor, para obtener instrucciones de cómo utilizar el kit.
- 20
- 25
- 30

El término “joven”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un individuo, en su temprana etapa de madurez o juventud, es decir, un individuo, el cual se encuentre en la etapa de la madurez, justo después de haberse terminado su etapa de pubertad o de adolescencia, tal y como se definiría mediante la especie, o mediante la cepa, la raza, o el grupo étnico, en el ámbito de una especie, en concordancia con parámetros los cuales se conocen. El término “anciano” o “mayor” o “de avanzada edad”, tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, pretende dar a entender un individuo, el cual se encuentre, físicamente o cronológicamente, en el su período de vida, correspondiente a la última porción del 30 %, de su esperanza media de vida, según se determina mediante la especie, o mediante la cepa, la raza, o el grupo étnico, en el ámbito de una especie, en concordancia con parámetros los cuales se conocen.

35

40

Tal y como éstos se utilizan aquí, en este documento de solicitud de patente, los rangos o márgenes, se refieren a uno márgenes abreviados, de tal forma que se evite el tener que listar y describir cada uno de los valores, y todo valor, en el ámbito del rango comprendido entre los márgenes que se citan. Puede seleccionarse cualquier valor apropiado, en el ámbito del rango comprendido entre los márgenes que se citan, allí en donde sea apropiado, como el valor superior, el valor inferior o el término del rango.

45

Tal y como ésta se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, la forma singular de una palabra, incluye al plural, y viceversa, a menos de que, el contexto, dicte claramente algo distinto. Así, de este modo, las referencias “un”, “una”, y “el” o “la”, son generalmente inclusivas de los plurales de los respectivos términos. Así, por ejemplo, la referencia a “un compuesto”, o a “un procedimiento”, incluye a una pluralidad de tales tipos de “compuestos” o de “procedimientos”. De una forma similar, las palabras “comprenden”, “comprende”, “que comprende”, y “que comprenden” (o comprendiendo), deben todas ellas interpretarse de una forma inclusiva, en lugar de interpretarse de una forma exclusiva. Del mismo modo, el término “incluye”, “que incluye” (o incluyendo) y “o”, incluyendo”, deben todas ellas interpretarse de una forma inclusiva, a menos de que, tal tipo de construcción, sea claramente prohibitiva, a raíz del contexto.

50

55

Los términos “que comprende(n)” o “comprendiendo”, o “que incluyen(n)” o “incluyendo”, pretenden incluir a las formas de presentación, las cuales se encuentran abarcadas mediante los términos “que consiste(n) esencialmente en” (o consistiendo esencialmente en) y “que consiste(n) en” (o consistiendo en). De una forma similar, el término “que consiste(n) esencialmente en” (o consistiendo esencialmente en), pretende incluir a las formas de presentación abarcadas por el término “que consiste(n) en” (o consistiendo en).

60

Todos los porcentajes los cuales se expresan aquí, en este documento de solicitud de patente, se refieren a porcentajes en peso de la composición, en una base seca, a menos de que se indique específicamente de una forma distinta. Las personas expertas en el arte especializado de la técnica, apreciarán el hecho consistente en que,

65

el término "en base a materia seca", significa que, una concentración de un ingrediente, en una composición, se mide después de que se haya eliminado cualquier humedad libre en la composición.

De una forma adicional, la terminología la cual se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, es para los propósitos de describir únicamente formas particulares de presentación en concordancia con la presente invención, y ésta no pretende limitar, ni limita, el ámbito de lo que se revela o se reivindica.

A menos de que se defina de otro modo, todos los términos técnicos o científicos, los términos del arte especializado de la técnica, acrónimos, los cuales se utilizan aquí, en este documento de solicitud de patente, tienen los significados usualmente conocidos y comprendidos por parte de aquellas personas expertas en arte usual de la técnica especializada, en el sector o los sectores de la invención, o en el sector o los sectores en donde se utiliza el término. Si bien pueden utilizarse cualesquiera composiciones, procedimientos, artículos, de fabricación u otros medios o materiales similares o equivalentes a aquellos los cuales se describen aquí, en este documento de solicitud de patente, pueden utilizarse en la práctica de la presente invención, las composiciones, procedimientos, artículos de fabricación, u otros medios o materiales los cuales se prefieren, se describen aquí, en este documento de solicitud de patente.

La Invención

En un aspecto, la presente invención, proporciona vitamina D, y una composición, la cual comprende la vitamina D, para incrementar la producción de catalasa, en los animales. La presente invención, se basa, en parte, en el descubrimiento de que, la vitamina D, incrementa la producción de catalasa, y regula la expresión de genes, asociada con la producción de catalasa, en animales, cuando se les administra en las cantidades apropiadas. De una forma particular, tal y como se describe de una forma ampliamente detallada, en los ejemplos, el calcitriol, y ciertos análogos de la vitamina D, incrementan la producción de catalasa, y regulan positivamente la expresión de genes que codifican a la catalasa.

El animal, en el sentido de la presente invención, se trata de un animal, el cual podría beneficiarse de un incremento en la producción de catalasa, tal como por ejemplo un animal aeróbico el cual respire aire, o el cual viva en un entorno medioambiental que contenga oxígeno. De una forma más particular, el animal en cuestión, se trata de un animal de compañía o doméstico, tal como el consistente en un animal canino o en un animal felino, incluyendo a los perros o a los gatos.

Tal tipo de animal, se trata de un animal que esté envejeciendo, y el cual sea un animal deficiente en catalasa, o que se encuentre en riesgo de tener una deficiencia de catalasa, o bien, que se trate de un animal que sufra de una enfermedad o condición relacionada con la deficiencia de catalasa, a saber, con una acatalasemia o acatalasia, o un hepatoma.

La vitamina D, es una vitamina D, la cual incrementa la producción de la catalasa en un animal, a saber, el calcitriol (1 α ,25-dihidroxivitamina D₃), 25(OH)vitamina D₃, 20-Epi-1 α ,25(OH)₂D₃, ó 1 α ,24(R)(OH)₂D₃. Las combinaciones de una o de más vitaminas D anteriormente mencionadas, arriba, se encuentran también incluidas, así mismo, en el ámbito de la presente invención. En determinadas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, se utilizan las formas de vitamina D, o los análogos los cuales poseen actividades biológicas seleccionadas del calcitriol, pero en donde, éstas se encuentran reducidas, o que carecen de otras actividades biológicas del calcitriol. Así, por ejemplo, las formas de la vitamina D, o análogos, los cuales se unen a los receptores de la vitamina D, pero que no estimulan la absorción del calcio, pueden ser apropiadas, para su uso en varias formas de presentación de la presente invención.

La cantidad de vitamina D la cual es necesaria para incrementar la producción de catalasa, o la actividad de ésta, en un animal, variará, en concordancia con la forma de la vitamina D, en dependencia de las especies de animales, en dependencia de la condición biológica del animal, en dependencia de los tejidos los cuales se estén tratando, y en dependencia de otros parámetros, los cuales se entienden bien, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, tal como, por ejemplo, por parte de un médico químico o de un biólogo. Una dosificación correspondiente a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. 1 nanogramo por kilogramo (ng / kg) de peso corporal, hasta aprox. 10 miligramos por kilogramo (mg / kg) de peso corporal, es apropiada para la mayoría de los usos, siendo dicha dosificación, de una forma preferible, la correspondiente a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde los aprox. 10 ng / kg de peso corporal, hasta los aprox. 5 mg / kg de peso corporal, de una forma preferible, la correspondiente a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde los aprox. 100 ng / kg de peso corporal, hasta los aprox. 5 mg / kg de peso corporal, y de una forma mayormente la correspondiente a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. 1 microgramo por kilogramo (μ g / kg) de peso corporal, hasta aprox. 1 mg / kg de peso corporal. En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se administra en unas cantidades correspondientes a una tasa de aprox. 1, de aprox. 10, de aprox. 50, de aprox. 100, de aprox. 250 de aprox. y de aprox. 500 ng / kg de peso corporal; en unas cantidades correspondientes a una tasa de aprox. 1, de aprox. 10, de aprox. 50, de aprox. 100, de aprox. 250 de aprox. y de aprox. 500 μ g / kg de peso corporal; o en unas cantidades correspondientes a una tasa de aprox. 1, de aprox. 1, de aprox. 2, de aprox. 4, de aprox. 6 de

aprox. 8 y de aprox. 10 mg / kg de peso corporal. Una conversión de estos rangos de dosificación, a Unidades Internacionales, (UI) – (o también, IU, de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a International Units), puede llevarse a cabo, mediante la utilización de la fórmula $40 \text{ UI} = 1 \mu\text{g}$ de vitamina D. Las dosificaciones en cuestión, pueden también calcularse, así mismo, en base a la concentración de vitamina D, a ser suministrada a las células o tejidos objetivizados como diana. Las concentraciones apropiadas, comprenden unos valores de concentración de por lo menos aprox. 10^{-15} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-14} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-13} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-12} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-11} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-10} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-9} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-8} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-7} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-6} M, ó de por lo menos aprox. 10^{-5} M de vitamina D, convertible en disponible, para su captación por parte de las células objetivizadas como diana.

En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se administra de una forma oral, tal como, por ejemplo, en una composición formulada para la administración oral, a animal en cuestión, composición ésta, la cual puede ser la consistente en una tableta, en una bebida, en una medicación, o en una composición alimenticia. La administración, en concordancia con los procedimientos según la invención, puede ser del tipo consistente en una base correspondiente a según sea necesario (según necesidades), o del tipo consistente en una base correspondiente a según se desee (según deseo), de una frecuencia variable, o de una frecuencia regular. Un objetivo de ingestión regular, es la de proporcionar, al animal en cuestión, una dosis regular y consistente de la composición, o de los metabolitos directos o indirectos, los cuales resultan de una ingestión de este tipo. Tal tipo de dosificación regular y consistente, tenderá a crear unos niveles constantes de los componentes de la composición, o de sus metabolitos directos o indirectos, en la sangre. Así, de este modo, la administración regular, puede ser la consistente en un régimen de una vez al mes, de una vez a la semana, de una vez al día, o de más de una vez al día. De una forma similar, la administración, puede ser en días alternos (es decir, cada dos días), en semanas alternas, en meses alternos, o bien, cada tres días, cada tres semanas, o cada tres meses, o bien, cada cuatro días, cada cuatro semanas, o cada cuatro meses. La administración, puede ser la consistente en múltiples veces por día. Cuando se utiliza como un suplemento a los requerimientos dietéticos ordinarios, la composición en concordancia con la presente invención, puede administrarse de una forma directa, al animal. La composición, de una forma alternativa, puede contactarse, o mezclarse con los alimentos o productos alimenticios para la alimentación diaria, incluyendo un fluido, tal como el consistente en agua corriente para beber, o una conexión intravenosa, para un animal, el cual esté recibiendo tal tipo de tratamiento. Cuando éste se utiliza como un alimento o un producto alimenticio diario, la administración, será conocida, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica.

La administración, puede también llevarse a cabo, como una parte de un régimen dietético para el animal en cuestión. Así, por ejemplo, un régimen dietético, puede comprender el provocar la ingestión regular, por parte del animal en cuestión, de vitamina D o de una composición de vitamina D, las cuales se describen aquí, en este documento de solicitud de patente, en una cantidad efectiva, para incrementar la producción de catalasa, en el animal en cuestión.

El objetivo de la administración de la vitamina D, incluyendo la administración como parte de un régimen dietético, es el consistente en un animal el cual esté envejeciendo. Un animal, el cual haya alcanzado un porcentaje de aprox. un 35 % de sus expectativas de existencia o esperanza de vida es, de una forma general, un animal apropiado. En determinadas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la administración, se inicia, por ejemplo, según una base regular o extendida, cuando el animal haya alcanzado un porcentaje de más de aprox. un 30 %, de más de aprox. un 40 %, de más de aprox. un 50 %, de sus expectativas de existencia o esperanza de vida proyectada o anticipada. En algunas formas de presentación, el animal en cuestión, ha alcanzado un porcentaje del 40 %, del 45 %, o del 50 %, de sus expectativas de existencia o esperanza de vida anticipada. En todavía otras formas de presentación, el animal en cuestión, es mayor, habiendo alcanzado un porcentaje del 60 %, del 66 %, del 70 %, del 75 %, o del 80 %, de su probable existencia o esperanza de vida anticipada. Una determinación de la existencia o esperanza de vida, puede basarse en tablas actuariales, en cálculos, en estimaciones, y puede tener en consideración los factores y las influencias del pasado, del presente y del futuro, los cuales, según se conoce, pueden influenciar de una forma positiva, o de una forma negativa, a la existencia o esperanza de vida. Las consideraciones sobre las especies, el género, el tamaño, los factores genéticos, los factores del entorno medioambiental, los factores estresantes, el estatus de salud presente y pasado, el estatus nutricional presente y pasado, pueden también influenciar, o deben tenerse en consideración, cuando se procede a determinar la las expectativas sobre la existencia o esperanza de vida.

En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se administra en una composición alimenticia, tal como la consistente una composición alimenticia para animales de compañía o domésticos, o en un complemento dietético. Así, por ejemplo, la composición en concordancia con la presente invención, puede ser una composición alimenticia, la cual comprenda, de una forma adicional, un contenido de proteínas, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 15 %, hasta aprox. un 50 %, un contenido de grasas, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 %, hasta aprox. un 40 %, un contenido de ceniza, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 %, hasta aprox. un 10 %, y que tiene un contenido de humedad, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los

cuales van desde aprox. un 5 %, hasta aprox. un 20 %. Tal y como se describe en mayor detalle, posteriormente, a continuación, en este documento de solicitud de patente, la composición en concordancia con la presente invención, puede contener ingredientes adicionales, incluyendo a las vitaminas, a los minerales, a los probióticos, a los prebióticos, y a combinaciones de entre éstos. Los usos, los cuales se describen aquí, en este documento de solicitud de patente, pueden también emplear composiciones farmacéuticas o nutracéuticas, las cuales se encuentran formuladas para la administración mediante cualquier tipo de ruta seleccionada, tal y como se describirá, en mayor detalles, más abajo, a continuación, en este documento de solicitud de patente.

En otras formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se administra conjuntamente con uno o con más probióticos, prebióticos, o combinaciones de entre éstos, para beneficiar a los animales en cuestión, tal como, por ejemplo, para tratar la deficiencia de catalasa en un animal.

Tal y como se da a conocer aquí, en este documento de solicitud de patente, y sin ser parte de la presente invención, la producción o la actividad de la catalasa, se incrementa, en las células y tejidos epiteliales objetivizados como diana, mediante la administración tópica de la vitamina D, de una forma preferible, en una composición la cual contenga la vitamina D. Las células y los tejidos a ser objetivizados como diana, incluyen así, de este modo, a la piel, al cabello o pelo, al pelaje, a las uñas, a las garras, a la mucosa oral, anal o vaginal, la mucosa / epitelio gastrointestinal, las superficies oculares, las superficies otolaringeas y las superficies de las vías aéreas o respiratorias, incluyendo a las superficies bronquiales y las superficies alveolares de los pulmones. Tales tipos de procedimientos, pueden utilizarse para suplementar una deficiencia de catalasa en tales tipos de células y de tejidos, deficiencia ésta, la cual exacerba el daño provocado por una acumulación del peróxido de hidrógeno. Así, por ejemplo, la aplicación tópica de la vitamina D al pelo o cabello, y al cuero cabelludo, podría reducir o prevenir la aparición de canas en el pelo, dando ello como resultado, una acumulación del peróxido de hidrógeno y una deficiencia de catalasa, en el tejido el cual se encuentra asociado con la aparición de canas en el pelo.

La vitamina D, puede administrarse conjuntamente con uno o más agentes adicionales, los cuales son de utilidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para reducir o eliminar la especie de oxígeno reactivo, en el animal. Así, por ejemplo, el agente o agentes adicionales, pueden administrarse antes, durante o después de administración de la vitamina D. Si los agentes adicionales se administran conjuntamente con la vitamina D, éstos pueden administrarse conjuntamente o separadamente, tal como, por ejemplo, en una composición individual o en composiciones separadas.

Los agentes adicionales son los consistentes en uno o en más antioxidantes. Los antioxidantes en cuestión, pueden ser cualquier antioxidante el cual sea apropiado para la administración a un animal. Los antioxidantes, son bien conocidos en el arte especializado de la técnica, de una forma particular, en el arte especializado de la técnica correspondiente a la tecnología de la alimentación y a la formulación de los productos alimenticios. Los compuestos antioxidantes naturales, incluyen a las vitaminas (tales como las consistentes en la vitamina A, en la vitamina C y en la vitamina E, y sus derivados, conjugados y análogos de éstas), así como extractos de plantas o vegetales, incluyendo a los extractos de frutas, de vegetales, de hierbas, de semillas, y de otros tipos y / o partes de plantas. Los compuestos tales como los consistentes en el ácido α -lipóico, en la clorofila y los derivados de ésta, en el glutatión, en los ubiquinoles (tales como, por ejemplo, la coenzima Q10, en los carotenoides (tal como, por ejemplo, el licopeno), en los flavonoides, en los ácidos fenólicos y polifenoles, y en el picnogenol, son todos ellos conocidos, como siendo unos excelentes antioxidantes. Algunos ejemplos de fuentes de plantas o vegetales de los antioxidantes, incluyen a aquéllas procedentes de las frutas, tales como las consistentes en las bayas o frutas del bosque (tales como las cerezas, las zarzamoras, las fresas, las frambuesas, las camarinas negras, los arándanos, los arándanos rojos / arándanos salvajes, las grosellas negras), en las granadas, en la uva, en las naranjas, en las ciruelas, en la piña americana o ananá, en las frutas de actinidia o kiwis, y en los pomelos; incluyendo así mismo, también, a aquellas fuentes de vegetales, que incluyen a la col rizada, a las guindillas o pimientos picantes, a la col roja o lombarda, a los pimientos, al perejil, a las alcachofas, a las coles de Bruselas, a las espinacas, al limón, al jengibre, al ajo, y las remolachas rojas; y que incluyen así mismo, también, a las frutas secas, tales como las consistentes en los albaricoques secos, en la prunas o ciruelas secas, y en los dátiles secos; incluyendo así mismo, también, a las legumbres, tales como las consistentes en las habas, en las judías pintas, y en las semillas de soja. Cabe también citar, así mismo, como fuentes vegetales de antioxidantes, a las nueces y frutos secos, y semillas, tales como las consistentes en las pecanas o nueces o lisas, en las nueces tradicionales, en las avellanas, en las nueces moscadas, y en las semillas de girasol; e incluyendo así mismo, también, a los cereales, tales como los consistentes en la cebada, en el mijo, en la avena, y en el maíz. Muchos antioxidantes naturales, se encuentran así mismo disponibles, también, de procedencia de una gran variedad de especias, tales como las consistentes en la especia clavo, en la canela, en el romero, y en el orégano. Unas fuentes vegetales, menos conocidas, a nivel general, de antioxidantes naturales, incluyen a la planta Ginkgo biloba, y a las plantas tropicales, tales como las consistentes en la planta uyaku y en la planta carica papaya. Las propiedades antioxidantes conocidas de varias clases de té, y de té verde, así como de los productos fermentados, tales como los consistentes el vino tinto, se han convertido en unos productos de gran interés, en los años recientes, y éstos deberían ser apropiados, para su uso en los procedimientos los cuales se dan a conocer aquí, en este documento de solicitud de patente. El selenio, es un excelente secuestrante del oxígeno, y éste trabaja bien, de una forma especial, con vitaminas, o con compuestos relacionados con el tocoferol. Lo antioxidantes dietéticos, sintéticos, incluyen al hidroxianisol butilado (BHA – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a butylated hidroxianisol] -) y al hidroxitolueno butilado BHT – [de sus

siglas, en idioma inglés, correspondientes a butylated hidroxytoluene] -), los cuales se utilizan, de una forma usual, en productos alimenticios. Cualesquiera de los productos anteriormente mencionados, arriba, bien ya sea solos, o bien ya sea en combinación, son apropiados para su uso aquí, en este documento de solicitud de patente, tal y como son las combinaciones de antioxidantes naturales y sintéticos. En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, los antioxidantes, comprenden a la astaxantina, bien ya sea sola, o bien ya sea en combinación con otros antioxidantes.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se da a conocer, de una forma adicional, un procedimiento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o de una condición, provocada por una deficiencia de catalasa, en animales. Este procedimiento, comprende (1) determinar el hecho consistente en que, un animal, tiene una deficiencia de catalasa, o que éste tiene probabilidades de tener una deficiencia de catalasa, y (2), administrar la vitamina D, al animal en cuestión, en una cantidad efectiva como para incrementar la producción de catalasa, o la actividad de ésta, en el animal, previniendo o evitando, o tratando la enfermedad o condición. Esta condición, es cualquier tipo de condición provocada por la deficiencia de catalasa, tal como, por ejemplo, la consistente en una acatalasemia o acatalasia, o en un hepatoma.

En otro aspecto, la presente invención, proporciona composiciones, las cuales son de utilidad para incrementar la producción y, de una forma opcional, la actividad de la catalasa, en un animal. Estas composiciones, comprenden vitamina D, en por lo menos un agente adicional, para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para reducir o eliminar la especie de oxígeno reactivo, en el animal en cuestión.

La vitamina D, en la composición según una forma de presentación en concordancia con la presente invención, es la consistente en el calcitriol (1 α ,24-dihidroxit vitamina D₃). Otras formas apropiadas de la vitamina D, son las consistentes en la 25(OH) vitamina D₃, en la 20-Epi-1 α ,25(OH)₂D₃, y en la 1 α ,24(R)(OH)₂D₃. Las combinaciones de dos o de tres de las anteriormente mencionadas vitaminas D, se contemplan así mismo, también, en la presente invención. En determinadas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, se utilizan formas de la vitamina D, o de sus análogos, las cuales poseen actividades biológicas seleccionadas del calcitriol, pero que tienen unas actividades reducidas del calcitriol, o bien carecen de éstas. Así, por ejemplo, las formas de vitamina D, o análogos de éstas, las cuales se unen a los receptores de la vitamina D, pero que no estimulan la absorción de calcio, pueden ser apropiadas para su uso en varias formas de presentación de la presente invención.

La cantidad de vitamina D, en la composición en concordancia con la presente invención, es cualquier cantidad necesaria para incrementar la producción de catalasa, en un animal. Dicha cantidad, variará en concordancia con la forma de la vitamina D, de la especie de animal, de las condiciones biológicas del animal en cuestión, del tejido o los tejidos los cuales se estén tratando, y de otros parámetros, los cuales se entienden bien, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, como por ejemplo, un químico médico, o un biólogo. Una composición formulada para suministrar una dosificación correspondiente a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. 1 μ g / kg de peso corporal hasta aprox. 1.000 μ g / kg de peso corporal, se trata de una formulación apropiada para la mayoría de los usos. De una forma más particular, puede procederse a utilizar una dosificación de por lo menos aprox. 1 μ g / kg de peso corporal, bien, de por lo menos 5 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 10 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 20 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 30 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 40 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 50 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 100 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 200 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 300 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 400 μ g / kg de peso corporal, o bien, de por lo menos 500 μ g / kg de peso corporal. Una conversión de estos rangos de dosificación, a Unidades Internacionales, (UI) – (o también, IU, de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a International Units), puede llevarse a cabo, mediante la utilización de la fórmula 40 UI = 1 μ g de vitamina D. Las dosificaciones en cuestión, pueden también calcularse, así mismo, en base a la concentración de vitamina D, a ser suministrada a las células o tejidos objetivizados como diana. Las concentraciones apropiadas, comprenden unos valores de concentración de por lo menos aprox. 10⁻¹⁵ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻¹⁴ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻¹³ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻¹² M, ó de por lo menos aprox. 10⁻¹¹ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻¹⁰ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻⁹ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻⁸ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻⁷ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻⁶ M, ó de por lo menos aprox. 10⁻⁵ M de vitamina D, convertible en disponible, para su captación por parte de las células objetivizadas como diana.

Los agentes adicionales, son cualesquiera agentes los cuales sean de utilidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para incrementar la producción o la actividad de cualquier tipo de sistema antioxidante, en el cuerpo, o para desintoxicar una o más especies de oxígeno reactivo. En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, los agentes adicionales, son uno o más antioxidantes. Los antioxidantes, son cualesquiera antioxidantes los cuales sean apropiados para su administración a un animal. Los antioxidantes, son bien conocidos en el arte especializado de la técnica, de una forma particular, el arte de la técnica especializada correspondiente a la tecnología de los alimentos y a la formulación de productos alimenticios. Los compuestos antioxidantes naturales, incluyen a las vitaminas (tales como las consistentes en la vitamina A, en la vitamina C y en la vitamina E, y sus derivados, conjugados y análogos de éstas), así como extractos de plantas o vegetales, incluyendo a los extractos de frutas, de vegetales, de hierbas, de semillas, y de otros tipos y / o partes de plantas. Los compuestos tales como los consistentes en el ácido α -lipóico, en la clorofila y los derivados de ésta, en el

- glutación, en los ubiquinoles (tales como, por ejemplo, la coenzima Q10, en los carotenoides (tal como, por ejemplo, el licopeno), en los flavonoides, en los ácidos fenólicos y polifenoles, y en el picnogenol, son todos ellos conocidos, como siendo unos excelentes antioxidantes. Algunos ejemplos de fuentes de plantas o vegetales de los antioxidantes, se han listado anteriormente, más arriba, en este documento de solicitud de patente. El selenio, es un excelente secuestrante del oxígeno, y éste trabaja bien, de una forma especial, con vitaminas, o con compuestos relacionados con el tocoferol. Lo antioxidantes dietéticos, sintéticos, incluyen al hidroxianisol butilado (BHA – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a butylated hydroxyanisol] -) y al hidroxitolueno butilado BHT – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a butylated hydroxytoluene] -), los cuales se utilizan, de una forma usual, en productos alimenticios. Cualesquiera de los productos anteriormente mencionados, arriba, bien ya sea solos, o bien ya sea en combinación, son apropiados para su uso aquí, en este documento de solicitud de patente, tal y como son las combinaciones de antioxidantes naturales y sintéticos. En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, los antioxidantes, comprenden a la astaxantina, bien ya sea sola, o bien ya sea en combinación con otros antioxidantes.
- Las composiciones en concordancia con la presente invención, pueden comprender, de una forma adicional, sustancias tales como las consistentes en los minerales, en otras vitaminas, en las sales, en aditivos funcionales, incluyendo, por ejemplo, a los saborizantes, a los colorantes, a los emulsionantes, a los agentes antimicrobianos u otros conservantes. Los minerales los cuales son de utilidad en tales tipos de composiciones, incluyen, por ejemplo, al calcio, al fósforo, al potasio, al sodio, al hierro, al cloro (en forma de cloruro), al boro, al cobre, al zinc, al magnesio, al manganeso, al yodo al selenio. Los ejemplos de vitaminas adicionales, las cuales son de utilidad, aquí, incluyen a las vitaminas solubles en grasas, tales como las consistentes en las vitaminas A, E y K. La inulina, los aminoácidos, las enzimas, las coenzimas, pueden ser de utilidad, para incluirlos en varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención.
- Las composiciones en concordancia con la presente invención, pueden formularse como una composición alimenticia o como un suplemento dietético, para animales de compañía o domésticos. Tales tipos de composiciones, incluyen a los productos alimenticios los cuales pretenden proporcionar los requerimientos dietéticos necesarios para un animal, regalos o premios para animales (tales como, por ejemplo, galletas), o suplementos dietéticos. Las composiciones en cuestión, pueden ser, por ejemplo, una composición seca (tal como, por ejemplo, croquetas), una composición semihúmeda, una composición húmeda, o cualquier mezcla de entre éstas. En otra forma de presentación, en concordancia con la presente invención, la composición, es un suplemento dietético, tal como una salsa, agua potable para el consumo, una bebida, un yogurt, una materia en polvo, un granulado, una pasta, una suspensión, una goma de mascar, un bocadito, un regalo o premio, un tentempié, un gránulo, una píldora, una cápsula, una tableta, o cualquier otra forma de suministro apropiada. El suplemento dietético, puede comprender una alta concentración de vitamina D. Esto permite, al suplemento, el que éste se administre al animal, en pequeñas cantidades, o de una forma alternativa, éste puede diluirse antes de su administración a un animal. El suplemento dietético, puede requerir su entremezclado o, de una forma preferible, entremezclarlo con agua, u otros diluyentes, previamente a la administración al animal.
- En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, las composiciones, son composiciones refrigeradas o composiciones congeladas. En otra forma de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se premezcla con los otros componentes, para proporcionar las cantidades beneficiosas necesarias. En todavía otras formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se utiliza para recubrir un producto alimenticio, un tentempié, una composición alimenticia para animales de compañía o domésticos, o un premio o regalo para animales de compañía o domésticos. En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, la vitamina D, se añade, a la composición, inmediatamente antes de ofrecerla al animal, tal como, por ejemplo, mediante la utilización de una materia en polvo o de una mezcla espolvoreada.
- Las composiciones en concordancia con la presente invención, pueden comprender, de una forma opcional, una o más sustancias suplementarias, las cuales fomentan o sostienen la salud general, tal y como se apreciaría por parte de las personas expertas en el arte especializado de la técnica.
- En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, el producto alimenticio para animales de compañía o domésticos, o las composiciones para regalos o premios para animales de compañía o domésticos, comprenden una cantidad de proteína cruda, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 15 % hasta aprox. un 50 %. El material de proteína cruda, puede comprender proteínas vegetales, tales como los consistentes en la harina de semilla de soja, en el concentrado de semilla de soja, en la harina de gluten, en el gluten de trigo, en la semilla de algodón y en la harina de cacahuete, o proteínas animales, tales como las consistentes en la caseína, en la albúmina, y en la proteína de carne. Los ejemplos de la proteína de carne, la cual es de utilidad en la presente invención, incluyen a las proteínas procedentes de la carne de cerdo, de cordero, de caballo, de aves, de pescado, y mezclas de entre éstas.
- Las composiciones en concordancia con la presente invención, pueden comprender, de una forma adicional, un contenido de grasa, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 %, hasta aprox. un 40 %. Las composiciones, pueden comprender, de una forma adicional, una fuente

de hidratos de carbono. Así, de este modo, las composiciones, pueden comprender un contenido de hidratos de carbono, correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 15 %, hasta aprox. un 60 %. Los ejemplos de tales tipos de hidratos de carbono, incluyen a los granos o cereales, tales como los consistentes en arroz, en el maíz, en el mijo, en el sorgo, en la alfalfa, en la cebada, en las semillas de soja, en la canela, en la avena, en el trigo, y mezclas de entre éstos. Las composiciones, pueden también comprender, de una forma opcional, otros materiales, tales como los consistentes en el suero lácteo seco, o bien, otros subproductos lácteos.

En algunas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, el contenido de ceniza, es el correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde menos de un 1 %, hasta aprox. un 15 %, siendo éste, de una forma preferible, el correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 %, hasta aprox. un 10 %.

El contenido de humedad, puede variar, en dependencia de la naturaleza de la composición. En una forma preferida de presentación, en concordancia con la presente invención, la composición en cuestión, se trata de un producto alimenticio completo y nutricionalmente equilibrado, para animales domésticos o de compañía. En esta forma de presentación, en concordancia con la presente invención, el producto alimenticio para animales domésticos o de compañía, puede ser el consistente en un "producto alimenticio húmedo", en un "producto alimenticio seco", o en un producto alimenticio con un contenido de humedad intermedio. El término "producto alimenticio húmedo", describe un producto alimenticio para animales domésticos o de compañía, el cual, de una forma típica, se comercializa y se vende en latas o tarros, o en bolsas a base de folios, y éste tiene un contenido de humedad, el cual, de una forma típica, tiene un contenido de humedad, el cual se encuentra comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde un porcentaje de aprox. un 70 %, en peso, hasta un porcentaje de aprox. un 90 %. El término "producto alimenticio seco", describe un producto alimenticio para animales domésticos o de compañía, el cual se trata de una composición la cual es similar a la de un producto alimenticio húmedo, pero, con la diferencia de que éste, contiene un limitado contenido de humedad, siendo éste, de una forma típica, el correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 % hasta aprox. un 15%, o un 20 %, y así por lo tanto, éste se presenta, por ejemplo, en forma de pequeñas croquetas, semejantes a galletas. En una forma de presentación, actualmente preferida y en concordancia con la presente invención, la composición en cuestión, tiene un contenido de humedad, correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes, los cuales van desde aprox. un 5 % hasta aprox. un 20 %. Los productos alimenticios secos, incluyen una variedad de productos alimenticios con varios contenidos de humedad, de tal forma que, éstos, son relativamente estables, en cuanto a lo referente a su tiempo de vida de conservación, y que, éstos, son resistentes a la degradación o a la contaminación fúngica. Se prefieren así mismo, también, las composiciones de productos alimenticios secos, las cuales son productos alimenticios extrusionados, tales como las consistentes en productos alimenticios para animales de compañía o domésticos, o bien, de productos alimenticios consistentes en tentempiés, para tanto seres humanos como animales de compañía o domésticos.

Las composiciones, pueden también comprender, así mismo, uno o más fuentes de fibras. El término "fibra", incluye a todas las fuentes, "a granel", en el producto alimenticio, bien se trate de fibras digeribles o de fibras indigeribles, de fibras solubles o de fibras insolubles, o bien de fibras fermentables o de fibras no fermentables. Las fibras preferidas, son fibras las cuales proceden de fuentes de plantas o vegetales, tales como las consistentes en fibras de plantas marinas, pero pueden también utilizarse, así mismo, fuentes microbianas de fibras. Tal y como se conocerá por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, puede utilizarse una gran variedad de fibras solubles o insolubles. La fuente de fibra, puede ser la consistente en la pulpa de remolacha (procedente de la remolacha azucarera), en la goma arábiga, en la goma talha, en psilio o ispágula, en el salvado de arroz, en la goma de algarrobo, en la pulpa de cítricos, en el fructooligosacárido, en la pectina, en la oligofructosa de cadena corta, en la manano-oligofructosa, en la fibra de soja, en el arabinolactano, en el galactooligosacárido, en el arabinoxilano, o mezclas de entre éstos.

De una forma alternativa, la fuente de fibra, puede ser la consistente en una fibra fermentable. La fibra fermentable, se ha descrito previamente, arriba, en este documento de solicitud de patente, para proporcionar un beneficio al sistema inmune de un animal de compañía o doméstico. La fibra fermentable en cuestión, o bien otras composiciones, las cuales, según se conoce por parte de las personas expertas en el arte especializado de la técnica, proporcionan un prebiótico, para incrementar el crecimiento de los probióticos, en el ámbito del intestino, pueden también incorporarse en la composición, con objeto de ayudar en la mejora del beneficio proporcionado por la presente invención, al sistema inmune de un animal.

En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, las composiciones, comprenden, de una forma adicional, uno o más probióticos. En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, las composiciones, contienen (1) uno o más probióticos muertos o inactivados, (2), componentes de los probióticos muertos o inactivados, los cuales fomentan los beneficios para la salud, de una forma similar o de la misma forma, que los probióticos vivos, o (3) combinaciones de entre éstos. Los probióticos, o sus componentes, pueden integrarse en las composiciones (tal como, por ejemplo, distribuidos de forma no uniforme o de una forma uniforme, en la composición), o aplicarse a la composición alimenticia (tal como por ejemplo, aplicarse tópicamente, con un portador o soporte o sin éste). En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, los

probióticos, se encapsulan en un portador o soporte. Los probióticos típicos, incluyen a las cepas de probióticos, seleccionadas entre los lactobacilos, las bifidobacterias o los enterococos, tales como, por ejemplo, los consistentes en los *Lactobacillus reutei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, y *Bifidobacterium sp.*, *Enterococcus faecium* y *Enterococcus sp.* En algunas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, la cepa de probiótico, se selecciona de entre el grupo consistente en los *Lactobacillus reuteri* (NCC2581; CNCMI-2448), *Lactobacillus reuteri* (NCC2592; CNCM I-2450), *Lactobacillus rhamnosus* (NCC2583; CNCMI-2449), *Lactobacillus reuteri* (NCC2603; CNCM I-2451), *Lactobacillus reuteri* (NCC2613; CNCM I-2452), *Lactobacillus acidophilus* (NCC2628; CNCM I-2453), *Bifidobacterium adolescentis* (tal como, por ejemplo, el NCC2627), *Bifidobacterium sp.* NCC2657 ó *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB 10415). Las composiciones, contienen probióticos, en unas cantidades suficientes como para suministrar una tasa de unidades de formación de colonias (ufc – [o también, cfu, de sus iniciales en idioma inglés, correspondientes a colony-forming unit), por animal y día, correspondiente unos valores que van desde las aprox. 10^4 ufc / animal / día, a las aprox. 10^{12} ufc / animal / día, siendo dicha tasa, de una forma preferible, la correspondiente a unos valores que van desde las 10^5 ufc / animal / día, a las 10^{11} ufc / animal / día, y de una forma más preferible, la correspondiente a unos valores que van desde las 10^7 ufc / animal / día, a las 10^{10} ufc / animal / día. Cuando los probióticos, están muertos o inactivados, entonces, la cantidad de probióticos muertos o inactivados, o sus componentes, deberían producir un efecto beneficioso similar al de los microorganismos vivos. Muchos de tales tipos de probióticos, y su beneficios, son conocidos, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, tal como, por ejemplo, a raíz de los documentos de patente europea EP 1 213 970 B1 y EP 1 143 806 B1, del documento de patente estadounidense US 7 189 390, de los documentos de patente europea EP 1 482 811 B1 y EP 1 296 565 B1, y del documento de patente estadounidense US 6 929 793.

En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, las composiciones comestibles, comprenden, de una forma adicional, uno o más prebióticos, tales como, por ejemplo, los consistentes en los fructo-oligosacáridos, en los gluco-oligosacáridos, en los galacto-oligosacáridos, en los isomalto-oligosacáridos, en los xilo-oligosacáridos, en los oligosacáridos de las semillas de soja, en la lactosucrosa, en la lactulosa, y en la isomaltulosa. En determinadas formas de presentación, en concordancia con la presente invención, el prebiótico, es achicoria, extracto de raíz de achicoria, aleurona, o combinaciones de entre éstos. Los prebióticos, se integran en las composiciones, de la forma la cual se encuentra descrita aquí, en este documento de solicitud de patente, (tal como, por ejemplo, distribuidos de una forma uniforme o distribuidos de una forma no uniforme, en la composición), o bien, éstos se aplican a las composiciones alimenticias (tal como, por ejemplo, aplicándose de una forma tópica, mediante un portador o soporte, o sin éste. De una forma general, los prebióticos, se administran en unas cantidades suficientes como para estimular, de una forma positiva, la microflora saludable, en el intestino. Las cantidades típicas, son las correspondientes a una tasa comprendida dentro de unos márgenes, los cuales van desde los aprox. 1 gramo, hasta los aproximadamente 10 gramos, por servicio, o desde un porcentaje de aprox. el 5 %, hasta un porcentaje de aprox. el 40 %, de la fibra dietética diaria recomendada, para un animal.

En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, las composiciones comestibles, comprenden, de una forma adicional, una combinación de uno o más probióticos y uno o más prebióticos.

Las composiciones y suplementos dietéticos, pueden formularse, de una forma especial, para los destinatarios o consumidores previstos. Así, por ejemplo, puede prepararse una composición adaptada para animales los cuales estén envejeciendo. De una forma general, las composiciones especializadas, comprenderán los requerimientos energéticos y nutricionales apropiados, para animales, en diferentes etapas de desarrollo o de edad.

Ciertos aspectos de la invención, se utilizan, de una forma preferible, en combinación con un producto alimenticio completo y equilibrado. En concordancia con ciertas formas de presentación los cuales se proporcionan aquí, en este documento de solicitud de patente, las composiciones las cuales comprenden la vitamina D, se utilizan, de una forma preferible, con un producto alimenticio comercial de alta calidad. Tal y como éste se utiliza aquí, en este documento de solicitud de patente, la expresión “producto alimenticio comercial, de alta calidad”, se refiere a una dieta, la cual se encuentra elaborada para producir la digestibilidad de los nutrientes clave, de un porcentaje de un 80 %, o más, tal y como se establece, por ejemplo, en las recomendaciones del National Research Council (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) antes citadas, para perros, o en las directrices las cuales se exponen por parte de la entidad estadounidense consistente en la Association of American Feed Control Officials (Asociación de Autoridades Estadounidenses del Control de los Productos Alimenticios).

En otra forma de presentación, la presente invención, proporciona composiciones farmacéuticas, las cuales comprenden una composición de la presente invención, de la forma la cual se describe anteriormente, arriba, en este documento de solicitud de patente, y uno o más portadores o soportes, diluentes, o excipientes, farmacéuticamente aceptables. De una forma general, las composiciones farmacéuticas, se preparan procediendo a mezclar un compuesto o composición, con excipientes, tampones, ligantes, plastificantes, colorantes, diluyentes, agentes de compresión, lubricantes, saborizantes, agentes humectantes, incluyendo otros ingredientes los cuales son conocidos por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, como siendo de utilidad, para producir productos farmacéuticos y para formular composiciones farmacéuticas, las cuales son apropiadas para su administración a un animal como productos o composiciones farmacéuticas. La composición

farmacéutica en concordancia con la presente invención, puede formularse para cualquier forma de administración. En una forma de presentación, la composición en cuestión, se formular para la administración tópica. Las formulaciones tópicas apropiadas, pueden incluir a las soluciones, a las emulsiones, a las cremas, a los ungüentos, a los geles, a los liposomas, a las micropartículas biodegradables, y otros vehículos de suministro, tal y como se entenderá bien por parte del químico farmacéutico.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se dan a conocer, de una forma adicional, equipos, a modo de "kits", los cuales son de utilidad para la administración de una composición, la cual comprende una o más formas de vitamina D, a un animal. Los equipos a modo de "kits", en cuestión, incluyen, en recipientes separados, en un envase individual, o en recipientes separados, en un envase virtual, de la forma apropiada para el componente del equipo a modo de kit, (a) una o más formas de vitamina D, (b) uno o más de entre (1) uno o más ingredientes distintos apropiados para su consumo por parte de un animal; (2) uno o más agentes adicionales distintos, para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, (3) uno o más antioxidantes; (4) uno o más agentes para reducir las especies de oxígeno reactivo; (5) uno o más probióticos; (6) uno o más prebióticos; (7) uno o más dispositivos de diagnóstico, apropiados para determinar el hecho de si, un animal, puede beneficiarse de composiciones y procedimientos para incrementar la producción de la actividad de la catalasa, (8) instrucciones para cómo combinar o preparar la vitamina D, y cualesquiera otros ingredientes provistos en el equipo a modo de kit, para la administración a un animal; (9) instrucciones sobre cómo utilizar los componentes combinados del equipo a modo de kit, los componentes preparados del equipo a modo de kit, u otros componentes del equipo a modo de kit, para el beneficio de un animal; y (10) un dispositivo para administrar los componentes combinados o preparados del equipo a modo de kit, a un animal.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se dan a conocer, de una forma adicional, y sin formar parte de la invención, procedimientos para identificar un agente o régimen, que incrementa la producción o la actividad de la catalasa, en las células de los animales, de un modo particular, de una forma similar a la de la vitamina D, o miméticos de la vitamina D. Los procedimientos en cuestión, comprenden (a) determinar un perfil de expresión genética, procediendo a medir los productos de transcripción o de traducción de los genes que codifican a la catalasa, el superóxido dismutasa de manganeso, el superóxido dismutasa de cobre y zinc, y de una forma opcional, una o más de entre la glutatión peroxidasa, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, el factor de crecimiento transformante beta 1, y el receptor de la vitamina D, en una muestra celular, en ausencia del agente o régimen; (b) determinar un segundo perfil de expresión genética, procediendo a medir los productos de transcripción o de traducción de los genes que codifican a la catalasa, el superóxido dismutasa de manganeso, el superóxido dismutasa de cobre y zinc, y de una forma opcional, una o más de entre la glutatión peroxidasa, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, el factor de crecimiento transformante beta 1, y el receptor de la vitamina D, en una muestra celular, en presencia del agente o régimen y (c) comparar el primer perfil de expresión celular, con el segundo perfil de expresión celular, en donde, un incremento de la transcripción de la catalasa, o de los productos de traducción, pero no en los productos de transcripción o traducción de los otros genes, en el segundo perfil de expresión, indica el hecho de que, el agente o régimen, probablemente, aumentará la producción o la actividad de la catalasa, en una célula, de una forma similar a la de la vitamina D.

Los ensayos para medir los cambios en la expresión genética o en la actividad enzimática, son bien conocidos, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica. De una forma típica, los ensayos de expresión genética, medirán los cambios en los productos de transcripción o de traducción de genes seleccionados (1), procediendo a medir el RNA transcrito, tal como, por ejemplo, mediante un ensayo de hibridación o de amplificación, mediante la utilización de sondas o cebadores de ácidos nucleicos, o (2), procediendo a medir las proteínas, tal como, por ejemplo, mediante un ensayo de unión inmunológica, tal como el consistente en un ensayo de transferencia Western, o en un ensayo ELISA, mediante la utilización de sondas de anticuerpos. De una forma adicional, los ensayos para la medición de la actividad de una o más de las enzimas anteriormente listadas, arriba, se conocen bien, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica. Un ensayo para medir la actividad de la catalasa, es el que se describe en el Ejemplo 3, en este documento de solicitud de patente.

Los procedimientos de este tipo, pueden comprender, de una forma adicional, el proceder a comparar por lo menos un segundo perfil de expresión genética, con un perfil de expresión genética, de referencia, el cual se haya obtenido procediendo a medir los productos de transcripción o de traducción de uno o más genes, los cuales codifiquen a las proteínas anteriormente mencionadas, arriba, en este documento de solicitud de patente, en presencia de una sustancia de referencia, tal como la consistente en el calcitriol, el cual, según se ha demostrado, incrementa la producción o la actividad de la catalasa, tal como, por ejemplo, mediante la regulación positiva de la expresión genética de la catalasa.

La comparación entre el perfil de expresión genética de ensayo, y el perfil de referencia, puede ser relativamente contemporáneos, a saber, las células o los tejidos, se ensayan conjuntamente. Sin embargo, no obstante, y de una forma alternativa, la referencia utilizada para la comparación, puede basarse en datos, los cuales se hayan obtenido previamente, mediante la utilización del procedimiento.

El procedimiento puede llevarse a cabo en una población de células cultivadas. En una forma de presentación, en concordancia con la presente invención, los productos de transcripción o de traducción de la células, se mide en

presencia o en la ausencia de un compuesto de ensayo, o de un compuesto de referencia, a saber, mediante la detección de una sonda, o un cebador de amplificación, los cuales hibriden, de una forma específica, con un mRNA, codificado por los genes anteriormente listados, arriba, o mediante la detección con un anticuerpo el cual se una de una forma específica, a una proteína codificada por los genes. De una forma alternativa, puede procederse a la

5 utilización de genes reporteros, en un sistema recombinante. En ambas formas de presentación, las células pueden ser líneas celulares de mamíferos, de una forma preferible, de un origen de procedencia de un ser humano, o bien de un animal doméstico o de compañía, tal como el consistente en un can o en un felino. De una forma alternativa, los procedimientos, pueden llevarse a cabo en células o tejidos, recientemente aislados de un sujeto.

10 El procedimiento en cuestión, puede llevarse a cabo en animales. De una forma típica, un compuesto de ensayo o un régimen de ensayo (dietético, ejercicio) se administra a un sujeto y, el perfil de expresión genética, en un tejido seleccionado de un sujeto, se analiza, con objeto de determinar el efecto del compuesto de ensayo, en la transcripción o en la traducción de los genes anteriormente mencionados, arriba. La expresión genética, puede

15 analizarse in situ, o ex vivo, para determinar los efectos de un compuesto de ensayo. En otra forma de presentación, en concordancia con la presente invención, se procede a administrar un compuesto de ensayo o un régimen de ensayo, a sujeto, y la actividad de una proteína expresada a partir de un gen, se analiza in situ, o ex vivo, en concordancia con uno cualquiera de los medios apropiados del arte especializado de la técnica, para determinar el efecto de un compuesto de ensayo, en la actividad de las proteínas de interés. De una forma adicional, allí en donde, un compuesto de ensayo, se administre a un sujeto, pueden también evaluarse, así mismo, los efectos

20 fisiológicos, sistémicos y físicos del compuesto en cuestión, así como una potencial toxicidad del compuesto.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se da a conocer, de una forma adicional, y sin formar parte de la invención, una sustancia o régimen, identificados mediante los procedimientos para la identificación de un agente o régimen, los cuales incrementen la producción o la actividad de la catalasa, como, probablemente, que

25 incrementen la producción o la actividad de la catalasa, cuando se administran a un individuo. Debido a la forma mediante la cual éstas se identifican, tales tipos de sustancias, deberían actuar como miméticos de la vitamina D, por lo menos con respecto al incremento de la producción de catalasa, de una forma similar a la de la vitamina D.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se da a conocer, de una forma adicional, y sin formar parte de la invención, equipos, a modo de "Kits", los cuales son de utilidad para la identificación de un agente o régimen, los cuales incrementen la producción o la actividad de la catalasa, en las células, de una forma celular a la vitamina D. Este tipo de equipo a modo de kit, incluye: (1) reactivos apropiados para medir los productos de transcripción o de traducción de dos o de más genes que codifican a la catalasa, el superóxido dismutasa de manganeso, el

30 superóxido dismutasa de cobre y zinc, y de una forma opcional, una o más de entre la glutatión peroxidasa, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, el factor de crecimiento transformante beta 1, y el receptor de la vitamina D, y (2) instrucciones sobre cómo utilizar las mediciones de expresión de los genes, para determinar el hecho de si, un agente o régimen, incrementa la producción o la actividad de la catalasa, en células, de una forma similar a la de la vitamina D. Tales tipos de equipos a modo de kits, pueden comprender, de una forma adicional, uno o más de entre: (1) una muestra de vitamina D; y (2) información que comunique el nivel de expresión de los

35 genes que codifican a la catalasa, el superóxido dismutasa de manganeso, el superóxido dismutasa de cobre y zinc, y de una forma opcional, una o más de entre la glutatión peroxidasa, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, el factor de crecimiento transformante beta 1, y el receptor de la vitamina D, el cual se espera para las células expuestas a la vitamina D.

45 Aquí, en este documento de solicitud de patente, se da a conocer, de una forma adicional, y sin formar parte de la invención, un medio para la comunicación de la información sobre las instrucciones, o instrucciones, para uno o más de entre (1) los beneficios de incrementar la producción o la actividad de la catalasa, en un animal; (2) mezclar una o más de entre: las formas de la vitamina D, otros agentes para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, antioxidantes, agentes para reducir las especies de oxígeno reactivo, probióticos, prebióticos, y otros

50 agentes apropiados para su consumo, por parte de un animal, para producir composiciones, para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, en un animal, (3) instrucciones para administrar las composiciones, a un animal, (4) información para determinar el hecho de si, un animal, se beneficiará de la producción o de la actividad de la catalasa, y (5) información perteneciente a las forma de exploración de rastreo de la vitamina D, en cuanto a lo referente a su capacidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, comprendiendo, los medios en

55 cuestión para la comunicación, uno o más de entre un documento físico o un documento electrónico, medios de almacenamiento digital, medios de almacenamiento óptico, una presentación por audio, un exposición audiovisual, o un exposición visual, que contengan información o instrucciones sobre el producto. Estos medios de comunicación, pueden incluir uno o más de entre un sitio web, un kiosco de exposición visual, un panfleto, una etiqueta del producto, un inserto en el envase, un anuncio publicitario, un folleto, un anuncio o publicación, una cinta de video, un

60 DVD, un CD – ROM, un chip electrónico susceptible de poderse leer en un ordenador o computadora, un disco susceptible de poderse leer en un ordenador o computadora, un dispositivo de USB, un puerto del tipo "Fire Wire" de video capturable por interfaz, una memoria informática de ordenador o computadora, una tarjeta de lectura por ordenador o computadora, o cualesquiera combinaciones de entre éstos. Los medios de comunicación, son de utilidad para, entre otras cosas, instruir sobre los beneficios de la utilización de la presente invención, y para proporcionar una información de contacto, para un consumidor o usuario, de la invención, para obtener ayuda en la

65 utilización o para interpretar los resultados proporcionados por la invención.

Aquí, en este documento de solicitud de patente, se da a conocer, de una forma adicional, y sin formar parte de la invención, un envase, el cual comprende una composición de la presente invención, y una etiqueta, adherida al envase en cuestión, la cual contiene una palabra o varias palabras, un dibujo, una figura, un acrónimo, un eslogan, una frase, u otro tipo de dispositivos, o una combinación de entre éstos, los cuales indiquen el hecho de que, los contenidos del envase, contienen un envase una composición, la cual es apropiada para incrementar la cantidad o la actividad de la catalasa, en un animal. De una forma típica, tal tipo de dispositivo, comprende las palabras “fomenta la salud y el bienestar”, o una expresión equivalente, impresa sobre el envase. Cualquier tipo de envase, o material de envasado, el cual sea apropiado para contener la composición, es de utilidad en la presente invención, tal como, por ejemplo, un saco, una caja, una botella, una lata o tarro, una bolsa, las cuales estén fabricadas a base de papel, de plástico, de folio, de metal. En una forma preferida de presentación, en concordancia con la presente invención, el envase en cuestión, contiene una composición alimenticia, la cual se encuentra adaptada para un animal, tal como un ser humano, un can, o un felino, de la forma apropiada, a referenciar en la etiqueta, tratándose dicha composición alimenticia, de una forma preferible, en una composición alimenticia para animales de compañía o domésticos.

En otro aspecto, la composición, proporciona el uso de la vitamina D, preparar un medicamento. El medicamento en cuestión, es de utilidad para incrementar la producción de la catalasa, en un animal. En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, el medicamento comprende, de una forma adicional, uno o más agentes adicionales, de utilidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para reducir o eliminar las especies de oxígeno reactivo, en el animal en cuestión. De una forma general, los medicamentos, se preparan procediendo a mezclar la vitamina D con excipientes, tampones, ligantes, plastificantes, colorantes, diluyentes, agentes de compresión, lubricantes, saborizantes, agentes humectantes, y otros ingredientes, los cuales son bien conocidos por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, para producir medicamentos o para formar medicamentos, los cuales sean apropiados para su administración a un animal. En varias formas de presentación, en concordancia con la presente invención, los medicamentos, comprenden, de una forma adicional, un probiótico, y prebiótico, o combinaciones de entre éstos.

En otro aspecto, la presente invención, proporciona procedimientos para elaborar una composición, la cual comprenda por lo menos una vitamina D, y uno o más agentes de adicionales, los cuales sean de utilidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para reducir las especies de oxígeno reactivo en el animal. Los procedimientos, comprenden la administración de la vitamina D, y uno o más agentes adicionales. Los agentes son cualquier compuesto u otra sustancia, las cuales sean de utilidad para incrementar la producción o la actividad de la catalasa, o para reducir o eliminar las especies de oxígeno reactivo, en el animal en cuestión. Cuando la composición es un producto alimenticio, la composición en cuestión, puede comprender uno o más ingredientes diferentes, los cuales sean apropiados para su consumo por parte de un animal, tales como, por ejemplo, consistentes en las proteínas, las grasas, los hidratos de carbono, las fibras, las vitaminas, los minerales, los probióticos, los prebióticos, y por el estilo. De una forma alternativa, los procedimientos, comprenden aplicar la vitamina D, agentes y otros ingredientes, de una forma separada, o en cualquier combinación, en una composición, tal como, por ejemplo, a modo de recubrimiento o de cobertura superior. La vitamina D, puede añadirse en cualquier momento, durante la elaboración y / o procesado del producto alimenticio. Esto incluye, por ejemplo, el añadir y mezclar la vitamina D, y otros ingredientes seleccionados, como parte de la formulación principal o central del “cuerpo” de la composición alimenticia, o aplicarlos como un recubrimiento, a saber, principalmente, a la superficie del producto alimenticio, después de la elaboración de la elaboración de éste. Las composiciones, pueden elaborarse en concordancia con cualquier procedimiento, el cual sea apropiado, en el arte de la técnica especializada.

EJEMPLOS

La invención, puede ilustrarse, de una forma adicional, mediante los ejemplos los cuales se facilitan abajo, a continuación, en este documento de solicitud de patente, si bien, se entenderá el hecho de que, dichos ejemplo, se incluyen meramente para los propósitos de ilustración, y que no se pretende que éstos limiten el ámbito y alcance de la presente invención, a menos de que se indique de una forma expresa de otro modo.

Ejemplo 1

Se procedió a cultivar células del carcinoma de células transicionales de vejiga en canes (cbTCC), en medio DMNM suplementado con un 5 % FBS, 5 % de suero de ternero recién nacido, y penicilina – estreptomycin (GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA), a una temperatura de 37 °C, en una atmósfera humidificada de 5 % CO₂. Las células, se colocaron en placas de cultivo de 6 pozos, a razón de una concentración de 50.000 células / ml (las placas, eran de procedencia de la firma Corning Incorporated Life Sciences, Acton, MA, USA), y éstas se incubaron, durante un transcurso de tiempo de 24 horas, antes de proceder al tratamiento. Para llevar a cabo los análisis de transferencia Western las células, se trataron con calcitriol (1 α ,25-dihidroxit vitamina D₃), a 10⁻⁷ M y 10⁻⁹ M, y seocalcitol (EB1089, 1 α ,25-dihidroxi-22,24-dieno-24,26,27-trihomovitamina D), a 10⁻⁹ M, durante un transcurso de tiempo de 24 horas. Para los análisis de la actividad enzimática, las células, se trataron con calcitriol, a 10⁻⁷ M y 10⁻⁹ M, con seocalcitol a 10⁻⁹ M y análogo V (1 α ,25-dihidroxi-16-en-23-ino-vitamina D₃) a 10⁻⁹ M, durante un transcurso de tiempo de 24 horas. Para el análisis de expresión genética, las células, se trataron con calcitriol, a 10⁻⁷ M y 10⁻⁹ M, y con seocalcitol a 10⁻⁷

M y 10^{-9} M, durante un transcurso de tiempo de 24 horas. Los tratamientos, se llevaron a cabo por lo menos por triplicado. La concentración final del vehículo (etanol), en la totalidad de los controles, era de menos de un porcentaje del 0,1 % del medio.

5 Ejemplo 2

La células recolectada, se homogeneizaron y se analizaron, en cuanto a lo referente a la producción de superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD), el superóxido dismutasa de cobre y zinc (Cu/ZnSOD), la catalasa (CAT), y la glutatión peroxidasa (GPX). Se procedió a recolectar los lisados, después de la centrifugación, y se cuantificaron las proteínas totales. Las cantidades equivalentes de las proteínas totales (20 ó 40 μ), se redisolviéron en geles de poliacrilamida preelaborados, al 10 %, y se transfirieron electrónicamente a membranas de nitrocelulosa. Después de que las membranas se hubieron sometido a la transferencia, éstas de bloquearon, durante el transcurso de toda la noche, a una temperatura de 4 °C, mediante la adición de leche descremada al 5 %, en tampón salino tamponado tris (TBS). Las membranas, se cortaron a unos pesos moleculares de 37 kD (banda verde) y de 25 kD (banda rosada). La parte superior de las membranas, se tiñeron, para CAT, GPX, y β -actina, y la parte del fondo, para MnSD y Cu/ZnSOD. Los anticuerpos principales, para las proteínas específicas, se utilizaron a las siguientes diluciones: MnSOD anti-humana del conejo, a un valor de dilución de 1 : 2000 (de procedencia de la firma Upstate Biotech); Cu/ZnSOD antihumana de la oveja, a un valor de dilución de 1 : 2000 (de procedencia de la firma Calbiochem), catalasa antihumana de la oveja, a un valor de dilución de 1 : 1000 (de procedencia de la firma Bidesign); y GPX antihumana de la oveja, a un valor de dilución de 1 : 500 (de procedencia de la firma Bideosign). Los anticuerpos secundarios, son sus respectivos conjugados IgG-HRP, utilizados a un valor de dilución de 1 : 2000. Los datos, se reportaron como bandas de intensidad de las proteína, relativas al control (normalizadas a los niveles de β -actina; considerando, el control, como un porcentaje del 100 %. CAT, MnSOD y Cu/ZnSOD, n=7; GPX, n=4. Previamente a transformar los datos como un porcentaje del control, se procedió a llevar a cabo un test de ensayo t apareado de un cola, asumiendo una varianza igual, para determinar la significancia. Los resultados obtenidos, se encuentran recopilados en la Tabla 1.

Tabla 1

30 Expresión de las proteínas, según se determina mediante análisis de transferencia Western

Tratamiento	Calcitriol a 10^{-7} M	Calcitriol a 10^{-9} M	Seocalcitol a 10^{-9} M
Catalasa	170,21 $\pm$ 56,01 *	131,34 $\pm$ 26,60 *	162,68 $\pm$ 39,88 *
MnSOD	103,58 $\pm$ 14,29	99,44 $\pm$ 20,95	113,48 $\pm$ 20,56
Cu/ZnSOD	99,72 $\pm$ 10,81	103,85 $\pm$ 17,81	101,27 $\pm$ 26,41
GPX	102,18 $\pm$ 9,51	97,93 $\pm$ 17,67	81,85 $\pm$ 37,45
Los valores, representan la intensidad porcentual media de la banda de proteína, con relación a la desviación del control $\pm$ desviación estándar: * = p < 0,5			

Ejemplo 3

La actividad enzimática de la catalasa, se determinó mediante la utilización de equipos, a modo de "kits", de procedencia de la firma Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, en concordancia con las instrucciones del fabricante. El ensayo, utilizaba la función peroxidasa de la CAT, para la determinación de la actividad enzimática, en base a la reacción de la enzima, con metanol, en presencia de una concentración óptima de H_2O_2 . El formaldehído producido, se midió de una forma espectrofotométrica, con 4-amino-3-hidroxino-4-mercapto-1,2,4-triazol (Purpald), como el cromágeno. El Purpald forma, de una forma específica, un heterociclo bicíclico con aldehídos, el cual después de la oxidación, cambia, desde un una tonalidad de color incolora, a un color púrpura. La absorbancia, se leyó a 540 nm, mediante la utilización de un lector de placa espectrométrica. Los resultados obtenidos, se calcularon a partir de una curva estándar, procedente de muestras conocidas, mediante la utilización de las ecuaciones proporcionadas. A partir de estos datos, se procedió a derivar la actividad enzimática de la CAT, como nmol / minuto / ml de CAT. Las muestras, se realizaron por triplicado. Se procedió a llevar a cabo un test de ensayo t apareado de un cola, asumiendo una varianza igual, para determinar la significancia. Los resultados obtenidos, se encuentran recopilados en la Tabla 2.

Tabla 2

Actividad enzimática de la catalasa

Tratamiento	Control	Calcitriol a 10^{-7} M	Calcitriol a 10^{-9} M	Seocalcitol a 10^{-9} M	Análogo V a 10^{-9} M
Catalasa nmol / minuto / ml	11,20 ± 0,43	12,24 ± 0,80	12,51 ± 0,42 *	13,99 ± 0,99 **	13,93 ± 0,53 **
Los valores, representan la desviación media ± desviación estándar de nmol / minuto / ml CAT. Significantes diferencias con respecto al control: * = p < 0,05 y ** = p < 0,01					

Ejemplo 4

El RNA total, se aisló mediante la utilización de un equipo, a modo de "kit", del tipo "RNAqueous® kit" (de procedencia de la firma Ambion Inc. (Austin, TX, USA). En resumen, se procedió a tripsinizar las células tratadas, (a una temperatura de 37 °C, en un horno), y éstas se homogeneizaron mediante un homogeneizador eléctrico, sostenido mediante las manos (a una temperatura de 4 °C). Los lisados celulares, se sometieron, a continuación, a un aislamiento total de RNA, en concordancia con el protocolo proporcionado por el equipo, a modo de kit, del tipo "RNAqueous® kit", y éstos se almacenaron a una temperatura de - 80 °C. El RNA recibido, se purificó, y éste se concentró a un valor de ~ 100 ng / µl, mediante la utilización de una precipitación de etanol. Se procedió a resuspender el RNA, en agua tratada con agua tratada con DEPC y DNasa I, para eliminar el DNA residual. El equipo a modo de kit de tratamiento de DNasa exenta de DNA, del tipo "DNA-free™ DNase Treatment kit" de procedencia de la firma Ambion (cat # 1906), para el tratamiento de DNasa I, en concordancia con las instrucciones del fabricante. El RNA purificado, se cuantificó, mediante la utilización de un espectrofotómetro del tipo NanoDrop, y éste se investigó, en cuanto a lo referente a su integridad, mediante la utilización de un bioanalizador del tipo "Agilent 2100 Bioanalyzer", siguiendo el protocolo del equipo a modo de kit de nano chip, de RNA (cat # 5067 - 1511).

PCR cuantitativa. Se procedió a llevar a cabo una PCR cuantitativa, para determinar los cambios en la expresión del RNA, para células tratadas con calcitriol, a 10^{-7} M (n=5) y 10^{-9} M (n=5), y seocalcitol a 10^{-7} M (n=3) y 10^{-9} M (n=3), con relación al control (n=5), durante un transcurso de tiempo de 24 horas. Se llevaron a cabo reacciones de transcriptasa inversa, mediante la utilización del sistema de síntesis de primeras hebras, del tipo "Super Script II® First-Strand Synthesis System" para RT-PCR (de procedencia de la firma Invitrogen # 11904-018), en concordancia con las instrucciones de fabricante. Para cada reacción, se procedió a añadir 1 µg de RNA, H₂O exenta de nucleasa, y tratadas con DEPC del tipo "DEPC Treated & Nuclease free H₂O (Fisher # BP561-1), hasta un volumen final de 11,4 µl. Se procedió a fabricar una mezcla madre, mediante la utilización de 1,5 µl 10 mM dNTPs, 1,5 µl de hexámeros aleatorios, y 0,6 µl de cebadores Oligo dT, por reacción (muestra). Se procedió a añadir 3,6 µl de mezcla madre, a cada muestra. Las muestras, se incubaron a una temperatura de 68 °C, durante un transcurso de tiempo de 10 minutos, y a continuación, éstas se llevaron a una temperatura de 4 °C, durante un transcurso de tiempo de por lo menos 1 minuto, mediante un sistema de PCR del tipo "GeneAmp PCR System 9700" (de procedencia de la firma Applied Biosystems). Se procedió a retirar una porción (0,25X) de la reacción anteriormente descrita, arriba, y ésta se utilizó como una reacción del tipo minus RT (control negativo, no conteniendo Transcriptasa Inversa Super Script II®). Mediante la utilización del mismo equipo a modo de kit de Transcriptasa Inversa Super Script II®, se procedió a fabricar una mezcla madre, la cual contenía 3 µl de 10X tampón RT, 6µl de 25mM MgCl₂, 3µl de 0,1 M DTT y 1,5 µl de inhibidor de RNasa. Se retiró una porción de (0,25 X) y se procedió a añadir un 0,375 µl de H₂O por muestra, para la mezcla madre del tipo minus RT. Se procedió, a continuación, a añadir 3,75 µl, a cada muestra de minus RT. Al resto de la mezcla madre, se le añadieron 1,125 µl de Transcriptasa Inversa Super Script II®, por muestra, para la mezcla madre del tipo Plus RT. Se añadieron 11,25 µl, a cada muestra de Plus RT. Todas la reacciones, se incubaron a una temperatura de 42 °C, durante un transcurso de tiempo de 1 hora, se sometieron a ebullición, a una temperatura de 95 °C, durante un transcurso de tiempo de 5 minutos, y se bajó la temperatura, llevándolas a una temperatura de 4 °C, mediante la utilización de un sistema de PCR del tipo "GeneAmp PCR System 9700". Se procedió, a continuación, a diluir las muestras a razón de 29 partes de tampón TE, pH = 8,0 (Ambion # 9858), para crear un stock de cDNA, para experimentación.

Se diseñaron cebadores y sondas de ensayo de 5' nucleasa, en base a secuencias seleccionadas, mediante la utilización de un sistema de software informático del tipo "Primer Express™ v 3.0", con ajustes de fábrica por defecto (Applied Biosystems Primer Express® Tutorial para Cebadores de PCR a tiempo real, y Tutorial de diseño de sondas a Tiempo Real). Se procedió a encargar Sondas de unión al surco menor (ABI Custom Oligo Synthesis Factory), de procedencia de ABI. Los oligos, se reconstruyeron con DEPC H₂O (agua tratada con DEPC), a una concentración µM y, a continuación, se diluyeron con DEPC H₂O, a una concentración stock de trabajo 5 µM. Para llevar a cabo las reacciones de PCR cuantitativas, se procedió a utilizar un mezcla madre para PCR del tipo "TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix (2X) (Applied Biosystems # 4352042), en concordancia con las instrucciones del fabricante. La concentración final de los cebadores, era la correspondiente a un valor de 300 µM, cada uno, y a concentración final de las sondas, era la correspondiente a un valor de 200 µM (determinados, de una forma óptima, a partir de experimentos llevados a cabo previamente). Se utilizaron 3,2 ml para las reacciones Plus

RT y minus RT, para las reacciones cuantitativas de PCR, en un volumen final de 20 µl. La totalidad de las reacciones positivas, se realizaron por triplicado, y los controles negativos, se realizaron de una forma individual. Se procedió a utilizar unas condiciones estándar de qPCR, de la forma la cual se describe para a mezcla madre del tipo Taq-Man® Fast Universal Master Mix (Applied Biosystems, a una temperatura de 95,0 °C, durante un transcurso de tiempo de 20 segundos, y 40 - 50 ciclos, a una temperatura de 95 °C, durante un transcurso de tiempo de 03 segundos, y a continuación, a una temperatura de 60 °C, durante un transcurso de tiempo de 30 segundos), a un volumen final de 20 µl. La muestras, se ejecutaron en Sistema de PCR a tiempo real, del tipo ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR System, mediante la utilización de un sistema de software informático del tipo "ABI SDS Software v1.3".

Todas las muestras, se ejecutaron de una forma individual, frente a cada conjunto de cebador / sonda, para determinar qué tipo debía utilizarse para la Curva Estándar. Las curvas estándar, se generaron mediante la utilización de diluciones de RNA, procedentes de muestras experimentales, las cuales mostraban el menor CT (Ciclo umbral – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a cycle threshld] -), para la mayor parte de las dianas objetivizadas. La muestra reducido umbral, se sometió, de nuevo, a transcripción inversa, y se utilizó una dilución en serie correspondiente a un valor de 1 : 10, como curva estándar, para la totalidad de conjuntos de cebadores / sondas. Los valores del ciclo umbral, se utilizaron para calcular una cantidad de entrada, mediante la utilización de la curva estándar y las cantidades de entrada medias. Los valores, se normalizaron a niveles de Ciclofilina A (Peptidil-prolil isomerasa A), según se determinaba mediante PCR cuantitativa. Se procedió a calcular las inducciones, a partir de cada uno de los valores normalizados más bajos de la muestra. Se llevó a cabo el test de ensayo de Dunnett, en la hipótesis nula, en donde, la media de cada grupo de tratamiento, es igual a la media del grupo de control común, en un intervalo de confianza del 99 % (alfa = 0,01). Los resultados obtenidos, se encuentran recopilados en la Tabla 3.

Tabla 3

Valores de expresión genética, según se determina mediante PCR cuantitativa

Tratamiento	CAT	Cu/ZnSOD	MnSOD	VDR	PTHrP	TGFb
Control	1,86 ± 0,11	1,11 ± 0,02	1,28 ± 0,05	2,09 ± 0,019	1,35 ± 0,09	2,26 ± 0,18
Seocalcitol 10 ⁻⁷ M	2,66 ± 0,08 **	1,17 ± 0,01	1,11 ± 0,05	1,99 ± 0,09	1,20 ± 0,07	1,89 ± 0,34
Seocalcitol 10 ⁻⁹ M	2,55 ± 0,13 **	1,20 ± 0,07	1,16 ± 0,05	1,45 ± 0,10	1,30 ± 0,02	2,02 ± 0,32
Calcitriol 10 ⁻⁷ M	2,60 ± 0,11 **	1,18 ± 0,03	1,05 ± 0,03 **	1,66 ± 0,09	1,16 ± 0,05	1,95 ± 0,11
Calcitriol 10 ⁻⁹ M	2,13 ± 0,06	1,16 ± 0,02	1,15 ± 0,04	2,26 ± 0,27	1,36 ± 0,11	2,19 ± 0,12
Los valores, representan la media ± los errores estándar de la media.						
** Representa una significativa diferencia si se compara con el control, a un porcentaje del 99 % de intervalo de confianza						

REIVINDICACIONES

- 1.- Una vitamina A, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad o condición, causada por la deficiencia de catalasa, en un animal, el cual puede beneficiarse de un incremento en la producción de catalasa;
 5 en donde, la vitamina D, se administra al animal, en una cantidad de la vitamina D, la cual incrementa la producción de catalasa;
 en donde, el animal, es un animal de compañía el cual está envejeciendo;
 en donde, la vitamina D, es uno o más de entre calcitriol ($1\alpha,25$ -dihidroxit vitamina D3), $25(\text{OH})$ vitamina D3, $20\text{-Epi-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y $1\alpha,24(\text{R})(\text{OH})_2\text{D}_3$; y
 10 en donde, la enfermedad o condición, es la acatalasemia.
- 2.- Una vitamina D, como el único ingrediente activo, para su uso en la prevención o en el tratamiento de una enfermedad o condición, causada por la deficiencia de catalasa, en un animal, el cual puede beneficiarse de un incremento en la producción de catalasa,
 15 en donde, la vitamina D, se administra al animal, en una cantidad de la vitamina D, la cual incrementa la producción de catalasa;
 en donde, el animal, es un animal de compañía el cual está envejeciendo;
 en donde, la vitamina D, es uno o más de entre calcitriol ($1\alpha,25$ -dihidroxit vitamina D3), $25(\text{OH})$ vitamina D3, $20\text{-Epi-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y $1\alpha,24(\text{R})(\text{OH})_2\text{D}_3$; y
 20 en donde, la enfermedad o condición, es un hepatoma.
- 3.- La vitamina D, para su uso según la reivindicación 1 ó 2, en donde, la vitamina D, se administra en una composición formulada como una composición alimenticia para animales de compañía, o un suplemento dietético.
- 25 4.- La vitamina D, para su uso según la reivindicación 3, en donde, la composición, es una composición alimenticia, la cual comprende un porcentaje que va del 15 % al 50 % de proteína, un porcentaje que va de un 5 % a un 40 % de grasa, un porcentaje que va del 5 % al 10 % de ceniza, y que tiene un contenido de humedad que va de un 5 % a un 20 %.
- 30 5.- Una composición para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad o condición, causada por una deficiencia de catalasa, en un animal de compañía el cual esté envejeciendo y que pueda beneficiarse de un incremento en la producción de catalasa, comprendiendo, la composición, un medio biológicamente aceptable, en el cual se disponen una o más formas de vitamina D, y por lo menos un agente adicional que incrementa la producción o la actividad de catalasa, o que reduzca o elimine las especies de oxígeno reactivo, en el animal;
 35 en donde, la vitamina D, es uno o más de entre calcitriol ($1\alpha,25$ -dihidroxit vitamina D3), $25(\text{OH})$ vitamina D3, $20\text{-Epi-}1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y $1\alpha,24(\text{R})(\text{OH})_2\text{D}_3$; y
 en donde, la enfermedad o condición, es la acatalasemia.
- 40 6.- La composición para su uso, según la reivindicación 5, la cual comprende vitamina D, en unas cantidades suficientes como para proporcionar desde 1 ng / kg de peso corporal hasta 10 mg / kg de peso corporal.
- 7.- La composición para su uso, según la reivindicación 5 ó 6, en donde, el agente adicional, es uno o más antioxidantes.
- 45 8.- La composición para su uso, según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, formulada como una composición farmacéutica o nutracéutica, la cual comprende uno o más soportes o portadores, diluyentes, o excipientes, farmacéuticamente o nutracéuticamente aceptables.
- 50 9.- La composición para su uso, según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, formulada como una composición alimenticia para animales de compañía, o un suplemento dietético.
- 10.- La composición para su uso, según la reivindicación 9, en donde, la composición, es una composición alimenticia, la cual comprende, de una forma adicional, un porcentaje que va del 15 % al 50 % de proteína, un porcentaje que va de un 5 % a un 40 % de grasa, un porcentaje que va del 5 % al 10 % de ceniza, y que tiene un
 55 contenido de humedad que va de un 5 % a un 20 %.
- 11.- La composición para su uso, según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, la cual comprende, de una forma adicional, probióticos, prebióticos, o una combinación de entre éstos.