(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 356 895**

(51) Int. Cl.:
A61K 38/24 (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **02758602 .3**
(96) Fecha de presentación : **12.09.2002**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1425033**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **09.06.2004**

(54) Título: **Uso de la HCG y LH en la hiperestimulación ovárica controlada.**

(30) Prioridad: **12.09.2001 EP 01307758**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI: **14.04.2011**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: **14.04.2011**

(73) Titular/es: **MERCK SERONO S.A.**
Centre Industriel
1267 Coinsins, Vaud, CH

(72) Inventor/es: **Menezo, Yves**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 356 895 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

Campo de la Invención

La invención se refiere al campo de las tecnologías de la reproducción asistida *in vivo* e *in vitro* (TRA), específicamente a la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) utilizando gonadotropinas.

Antecedentes de la invención

El tratamiento de la infertilidad mediante tecnologías de reproducción asistida (TRA) tales como la fertilización *in vitro* (FIV) o la FIV junto con la inyección de esperma intracitoplásmica (FIV/IEIC) y la transferencia de embriones (TE) requiere una hiperestimulación ovárica controlada (HOC) para incrementar el número de oocitos[1]. Los regímenes convencionales[2] para la HOC incluyen una fase de regulación a la baja en la cual la hormona luteinizante endógena (LH) es suprimida mediante la administración de un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) seguido de una fase de estimulación en la cual se induce el desarrollo folicular (foliculogénesis) mediante la administración diaria de hormona estimuladora de los folículos (FSH), normalmente a aproximadamente 150 UI/día. También se pueden utilizar otras moléculas que tienen actividad FSH. Alternativamente la estimulación se inicia después de la menstruación espontánea o inducida a la vez que se previene la aparición de un repentino aumento de LH mediante la administración de un antagonista de GnRH, comenzando normalmente alrededor del día 6 o 7 de la administración de FSH. En los protocolos de superovulación para las TRA, el propósito deseado es el desarrollo folicular múltiple. Cuando hay al menos 3 folículos >16 mm (uno de 18 mm), se administra un único bolo de hCG (5-10.000 UI) para desencadenar la ovulación. La recuperación de oocitos se programa a las 36-38 horas después de la inyección de hCG.

El fundamento para el uso de agonistas y antagonistas de GnRH en este contexto es la prevención de un inoportuno aumento repentino de LH que ocasionaría la ovulación prematura y la luteinización del folículo[3]. Los regímenes con agonistas de GnRH se han convertido en una norma aceptada en la medicina clínica. Se ha descubierto que los regímenes prolongados (esto es, aquellos que se inician en la fase lútea media del ciclo precedente a la inducción de la ovulación, o antes) están asociados con una programación mas fácil de la paciente, un mayor rendimiento de folículos, y mejores resultados clínicos globales.[4] El uso de antagonistas de GnRH es relativamente nuevo en la medicina clínica, pero se espera que muestre beneficios similares, con la ventaja añadida de un régimen de tratamiento más corto.

La administración prolongada de agonistas de GnRH o la administración de antagonistas de GnRH dan como resultado una profunda supresión de la LH endógena. Esta situación, aunque no es incompatible con el desarrollo del folículo, no imita el ciclo natural. En el ciclo natural, los niveles de LH muestran un incremento gradual varios días antes del pico del ciclo medio.

Varios grupos han explorado el papel de la LH y la gonadotropina coriónica (CG) en la inducción de la ovulación y las TRA. Como es bien sabido y reconocido en la técnica, los mecanismos o métodos de inducción de la ovulación (IO) son distintos de los métodos de HOC, aunque ambos pueden implicar la administración de FSH.

Hillier *et al.* han demostrado que bastan niveles muy bajos de LH para la foliculogénesis[5].

Esposito *et al.* han estudiado el papel de la LH endógena en los ciclos de TRA estimulados con rFSH. Concluyen que los niveles de estradiol del fluido folicular, el rendimiento de oocitos, y la fertilización mejoran cuando las concentraciones de LH en suero son mayores de 0,5-1,0 UI/L[6].

En el documento WO 00/67778 (Applied Research Systems) se describe el uso de LH durante la fase estimuladora para inducir la foliculogénesis en la inducción de la ovulación, concretamente para fomentar el desarrollo de un único folículo dominante.

Thompson *et al.* (Fertility and Sterility, 1995, 63(2): 273-276) y Sullivan *et al.* (J. Clin. Endocrin. Metab., 1999, 84(1): 228-232) también comentan los requerimientos de gonadotropina del folículo en desarrollo.

The *European Recombinant Human LH Study Group* informa de que la administración de rhLH (75 y 225 UI/día) para apoyar el desarrollo folicular inducido por rhFSH en mujeres hipogonadales hipogonadotrópicas aumenta el número y el tamaño de los folículos[7], con respecto a un grupo de control que recibe solamente rhFSH. Gordon *et al.* (Fertility and Sterility, 2001, 75(2): 324-331) informan del efecto de la administración simultánea de FSH y LH sobre las tasas de implantación en pacientes que experimentan FIV.

Kousta *et al.* (Human Reproduction, 1996,11(1), 70-71) han descrito la inducción de la ovulación utilizando FSH y LH en una única paciente con síndrome de Kallmann como parte de un protocolo de inducción de la ovulación.

Filicori *et al.* han investigado el papel de dosis bajas de hCG, como sustituto de la LH, en la hiperestimulación ovárica controlada (Filicori, et al., J. Clin. Endocrin. Metab., 84,1999, 2659-2663). La administración de hCG (50 UI hCG/día) se inició de manera sincronizada con la administración de FSH y continuó con una pauta diaria hasta que se desencadeno la ovulación con un bolo de hCG. El número de folículos pequeños (<10 mm), medianos (10-14 mm) y grandes (>14 mm) fue comparable entre el grupo que recibió hCG y un grupo de control que recibió FSH sola, sin embargo, la dosis cumulativa de FSH y la duración de la estimulación con FSH se redujeron en el grupo tratado con hCG.

Messinis *et al.* informaron sobre la inducción de la ovulación en mujeres anovulatorias (grupo WHO I) utilizando un régimen que emplea dosis diarias de hMG (75 UI de cada uno de FSH y LH) durante la fase estimuladora y una sola o múltiples dosis de hCG durante la fase lútea. Se encontró que la tasa de embarazos aumentaba significativamente en pacientes que recibían múltiples dosis de hCG durante la fase lútea en comparación con un grupo de control que recibía

solamente una única dosis de hCG[8] inductora/desencadenante de la ovulación.

En el documento WO 00/50066 (Novo Nordisk A/S) se describen compuestos activadores de la meiosis que se pueden utilizar para mejorar los regímenes de fertilización *in vitro* . En tales regímenes se pueden utilizar dosis elevadas de hCG para desencadenar la ovulación. El uso de dosis elevadas de hCG para desencadenar la ovulación también se describe en el documento WO 01/54715 (Applied Research Systems ARS Holding N.V.).

Blumenfeld y Ruach (Fertility and Sterility, 1992, 58(1): 19-23) informan del efecto sobre la pérdida precoz del embarazo del suplemento de hCG repetitivo durante las primeras ocho semanas de gestación y concluyen que la tasa de pérdidas de embarazo se puede reducir.

El desarrollo folicular apropiado es por supuesto esencial para los métodos de TRA satisfactorios. No obstante, hay algunos casos en los que se logran la ovulación y la fertilización, y sin embargo la implantación apropiada del embrión evita el embarazo. En otros casos, se produce un aborto no provocado (aborto no provocado) durante el primer trimestre. Ambos problemas pueden estar asociados con las condiciones del endometrio, que es bastante sensible a los niveles de hormonas. De este modo, se puede observar que incluso una vez que se han producido el desarrollo folicular, la ovulación y la fertilización no existen garantías de una preñez exitosa y a menudo se encuentran problemas con la implantación y el aborto no provocado temprano.

En algunas pacientes, la tendencia a abortar o el fracaso en el implante pueden ser superados eventualmente, pero para hacerlo se requieren ciclos repetidos de TRA, con los consiguientes efectos fisiológicos y psicológicos negativos sobre la paciente. En otras pacientes, estos problemas representan un escollo esencialmente permanente para el embarazo.

El incremento de las tasas de implantación y la disminución de las tasas de aborto no provocado, concretamente junto con la HOC, son por tanto muy deseables.

Compendio de la invención

Un objeto de la invención es proporcionar una mejora de la administración de las gonadotropinas para la HOC, conduciendo a mejores tasas de implantación y a un descenso de las tasas de aborto no provocado.

Un objeto adicional de la invención es proporcionar una administración mejorada para unas tasas de preñez crecientes, p. ej. mejorando las tasas de implantación y/o disminuyendo las tasas de aborto no provocado, en pacientes que no están experimentando HOC, por ejemplo, en pacientes que siguen un ciclo ovulatorio natural o en pacientes que experimentan una inducción de la ovulación.

En un primer aspecto, la invención proporciona el uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG) o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana, donde dicho medicamento se debe administrar antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

En un segundo aspecto, la invención proporciona el uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG) o uno de sus análogos, para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana, donde dicha hCG o uno de sus análogos se deben administrar antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

En un tercer aspecto, la invención proporciona el uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde el medicamento se debe administrar antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

En un cuarto aspecto, la invención proporciona el uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la hCG o uno de sus análogos se deben administrar antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

Asimismo se describe en la presente memoria una composición farmacéutica para su uso para ayudar a la implantación de un embrión y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, opcionalmente y preferiblemente junto con la HOC, que comprende 25-1000 UI de hCG, o uno de sus análogos, por dosificación.

En un quinto aspecto, la invención proporciona el uso de una hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde el medicamento se debe administrar comenzando entre el 3er y el 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH y donde las pacientes tienen al menos 35 años de edad.

En un sexto aspecto, la invención proporciona el uso de hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la LH se debe administrar comenzando entre el 3er y el 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH y donde las pacientes tienen al menos 35 años de edad.

Asimismo se describe en la presente memoria una composición farmacéutica para su uso para ayudar a la implantación de un embrión y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, opcionalmente y preferiblemente junto con la HOC, que comprende 150-1000 UI de LH, o uno de sus análogos, por dosificación.

Un aspecto adicional de la invención proporciona una hCG o uno de sus análogos para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la hCG o uno de sus análogos, se deben administrar empezando antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

En una realización alternativa, la invención proporciona una hCG o uno de sus análogos para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana, donde dicha hCG o uno de sus análogos se administran antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

Asimismo se describen los usos equivalentes de LH o uno de sus análogos. En particular, un aspecto adicional de la invención proporciona una hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la hLH, o uno de sus análogos, se deben administrar comenzando entre el 3er y el 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH y donde las pacientes tienen al menos 35 años de edad.

Asimismo se describe en la presente memoria una administración mejorada de gonadotropinas para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado en una paciente, que se utiliza junto con la hiperestimulación ovárica controlada utilizando FSH, o uno de sus análogos, que comprende la administración a la paciente de hCG o uno de sus análogos, o LH o uno de sus análogos, donde dicha administración comienza antes del 10º día después de comenzar el tratamiento con FSH.

Asimismo se describe en la presente memoria una administración mejorada de gonadotropinas para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado en una paciente, que comprende administrar a la paciente la hCG o uno de sus análogos, o la LH o uno de sus análogos, donde dichas hCG o LH o sus análogos se administran antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

Asimismo se describe en la presente memoria un kit para su uso en la HOC que comprende 12 o más, preferiblemente 14 o más dosis diarias de FSH, preferiblemente 75-200 UI de FSH/día, más preferiblemente 150 UI de FSH/día, y de 4 a 8, 5 a 8 o 6 a 8 dosis diarias de hCG, por ejemplo 4, 5, 6, 7 u 8 dosis diarias de hCG, preferiblemente 25-1000 UI de hCG/día, más preferiblemente 50-100 UI de hCG/día.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un kit para ayudar a la implantación de un embrión y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, comprendiendo el kit de 4 a 8, de 5 a 8 o de 6 a 8 dosis diarias de hCG, por ejemplo 4, 5, 6, 7 u 8 dosis diarias de hCG, a 25-1000 UI de hCG/día, preferiblemente a 50-100 UI de hCG/día. Tales kits pueden ser utilizados o no junto con la HOC.

Preferiblemente los kits y composiciones farmacéuticas de la invención se diseñan para su uso en los tratamientos y usos de la invención.

Descripción detallada de la invención

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una hormona peptídica glicosilada heterodimérica que es producida por la placenta durante el embarazo. Aparece en el suero poco después de la fertilización, y actúa manteniendo el cuerpo lúteo después de que disminuya la secreción de LH, apoyando la secreción continua de estrógenos y progesterona y evitando la menstruación. Debido a que solo está presente a niveles significativos en las mujeres embarazadas, no se piensa que juegue papel significativo en el ciclo ovulatorio natural. Se sabe que los receptores de LH/hCG existen en las gónadas, el útero, las trompas de falopio, la placenta y en las células del endometrio y el miometrio[9]. La hCG tiene la vida media más larga de las gonadotropinas[10].

Los autores de la invención han descubierto inesperadamente que la administración de hCG o uno de sus análogos a dosis bajas durante las fases estimuladoras de los ciclos del TRA tiene un efecto beneficioso sobre las tasas de embarazo, p. ej., ayudando a o incrementando la implantación y/o disminuyendo las tasas de aborto no provocado. La expresión "dosis bajas" incluye dosis menores que la dosis utilizada convencionalmente en una paciente concreta para desencadenar la maduración del folículo, esto es, la maduración folicular final, justo antes de la ovulación ("dosis desencadenante del folículo (u ovulación) "). La dosis desencadenante del folículo/ovulación de la hCG (normalmente en el intervalo de 5.000-10.000 UI de hCG), variará entre paciente y paciente.

Como se puede observar a partir del debate de los regímenes de HOC convencionales de más arriba, la administración de esta "dosis elevada" o de la dosis de desencadenamiento de la ovulación de hCG es referida a menudo en la técnica como etapa de desencadenamiento de la ovulación, etapa de maduración de los oocitos o etapa de estimulación de la ovulación. Tales etapa de estimulación o desencadenamiento de la ovulación o etapa de maduración de los oocitos que implican la administración de una dosis elevada de hCG solamente se llevan a cabo sin embargo una vez que se ha logrado un desarrollo folicular adecuado durante la fase estimuladora del régimen de HOC, esto es la fase que implica la administración de FSH o uno de sus análogos para inducir la foliculogénesis. Una diferencia principal entre los usos de la presente invención y los regímenes de la técnica anterior es que la hCG es administrada durante la fase estimuladora, esto es antes de haber alcanzado el desarrollo folicular adecuado y antes de que se produzca o se desecadene la ovulación, y es administrada a dosis por debajo de las que inducen la maduración de los oocitos y la estimulación de la

ovulación, esto es a dosis por debajo de las dosis que desencadenan la ovulación. Tales regímenes de la presente invención dan lugar a ventajas sorprendentes en términos de implantación y aborto no provocado. De este modo, de acuerdo con la presente invención se administran dosis bajas de hCG junto con los regímenes de HOC durante la fase estimuladora antes de que se haya producido el desarrollo folicular adecuado y antes de administrar la elevada dosis final de hCG desencadenante de la ovulación para desencadenar la maduración del oocito y la ovulación.

En los aspectos de la invención en los que las pacientes no están experimentando HOC también se administran dosis bajas de hCG durante la fase de foliculogénesis, y antes de haber alcanzado un desarrollo folicular adecuado. De nuevo estas dosis de hCG están por debajo de la dosis desencadenante de la ovulación. Como se ha indicado antes, tales pacientes pueden tener un ciclo ovulatorio natural, en cuyo caso la administración eventual de una dosis de hCG desencadenante de la ovulación no será necesaria. No obstante, algunas de las pacientes que no experimentan HOC que pueden ser tratadas mediante la administración de dosis bajas de hCG de acuerdo con los métodos de la invención pueden no tener un ciclo ovulatorio natural (p. ej. aquellas que experimentan IO), en cuyo caso la administración de una dosis desencadenante de la ovulación de hCG se puede llevar a cabo una vez que se considera que se ha alcanzado un desarrollo folicular adecuado.

Como se ha mencionado antes, la invención también proporciona la administración de LH en lugar de hCG en los usos de la invención. La administración de LH también se lleva a cabo durante las fases del ciclo y el desarrollo folicular como se describe en la presente memoria para hCG.

Cuando se utiliza la hCG en los aspectos de la invención descritos en la presente memoria, la dosificación debe estar en el intervalo de 25-4000 UI de hCG/día, preferiblemente 25-1000 UI de hCG/día, más preferiblemente 30-1000 o 30-500 UI de hCG/día, y particularmente preferiblemente 50-100 UI o 75-125 o 75-100 UI de hCG/día o 75 o 100 a 500 o 75 o 100 a 1000 lU/día. Tales dosis están por debajo de la dosis desencadenante de la ovulación y, como se ha descrito antes, también son referidas en la presente memoria como "dosis bajas" de hCG. Si se utiliza un análogo de hCG, se debe administrar el equivalente a estas dosis de hCG.

Como se ha indicado más arriba, también se proporcionan los kits que pueden contener tales dosis de hCG (o dosis de LH como se describe en otra parte en la presente memoria) para su uso en la invención.

En los aspectos de la invención en los que se utiliza la hCG (o uno de sus análogos) junto con HOC utilizando FSH, o uno de sus análogos, la administración de hCG (o análogo) debe comenzar antes del 10º día después del inicio del tratamiento con FSH, más preferiblemente antes del 9º día después del inicio del tratamiento con FSH. La administración de hCG no debe empezar preferiblemente hasta al menos 3 días después del inicio del tratamiento con FSH, por ejemplo entre el 3er y el 10º día después del inicio del tratamiento con FSH, más preferiblemente no hasta al menos 5 o 6 días después del inicio del tratamiento con FSH. Particularmente preferiblemente, la administración de hCG se debe iniciar el 7º u 8º día después del comienzo del tratamiento con FSH. De este modo, la hCG se debe administrar durante la fase folicular y los momentos puntuales preferidos para la administración de la hCG son la fase folicular media del ciclo, esto es, al menos 5, 6, 7 u 8 días después del comienzo del tratamiento con FSH.

La administración de hCG de acuerdo con la presente invención puede ser un bolo individual, en cuyo caso debe tener lugar preferiblemente el 7º u 8º día después de que el tratamiento con FSH haya comenzado, y la dosificación debe comprender preferiblemente 100-1000 UI de hCG, más preferiblemente 100-500 UI de hCG o 150-600 UI de hCG, y particularmente preferiblemente 250 UI de hCG. La administración en forma de un único bolo tiene la ventaja de la conveniencia tanto para el médico como para la paciente.

Alternativamente, la administración de hCG de acuerdo con la presente invención se puede llevar a cabo con una pauta diaria hasta que se desencadena la maduración del folículo o hasta que se induce/desencadena la ovulación con el bolo convencional de hCG. Para la administración diaria, la dosificación debe estar en el intervalo de 25-4000 UI de hCG/día, preferiblemente 25-1000 UI de hCG/día, más preferiblemente 30-1000 o 30-500 UI de hCG/día, muy preferiblemente 50-100 UI o 75-125 UI de hCG/día o 75-100 o 75 o 100 a 500 o 75 o 100 a 1000 UI/día. Se ha descubierto que es particularmente eficaz un régimen diario que comience el 7º día después del comienzo del tratamiento con FSH, y que utilice 50-100 UI de hCG/día. También es posible administrar hCG con menos frecuencia, por ejemplo cada dos, tres o cuatro días, preferiblemente cada dos días, hasta que se desencadena la ovulación. En semejante régimen, se pueden utilizar dosis tales como las esbozadas antes, aunque se prefiere una dosis de 50-200 UI de hCG.

A partir del debate anterior resultará evidente que la hCG (o LH) utilizada de acuerdo con la presente invención se debe administrar comenzando antes de que se produzca la ovulación o antes de que se desencadene la ovulación, p. ej. por medio de la dosis desencadenante de la ovulación de hCG, y se continúa hasta que se produce o se desencadena la ovulación. En todos los regímenes de la invención, la administración de hCG (o LH) puede continuar, si se desea, después de la ovulación si se piensa que esto es beneficioso para la paciente.

El programa mediante el cual se puede desencadenar la ovulación mediante la administración de la "dosis desencadenante del folículo/ovulación" de la hCG será bien conocido por un experto en los regímenes de TRA y por consiguiente puede ser determinado. En general la ovulación se desencadena cuando se considera que el desarrollo del folículo es adecuado para el tipo de régimen que está siendo utilizado. El nivel de desarrollo del folículo se determina generalmente midiendo el tamaño de los folículos (p. ej. mediante ultrasonido) y el nivel de estradiol (E_2) en suero de la paciente. Si el régimen en cuestión es la HOC, debido a que el propósito de estos métodos es el desarrollo de múltiples folículos para producir un incremento del número de folículos maduros/oocitos, que generalmente son fertilizados *in vitro* y reintroducidos en la paciente, es probable que el programa de desencadenamiento de la ovulación sea ligeramente

diferente que si el régimen en cuestión es la inducción de la ovulación en el que el propósito es producir uno, o a lo sumo dos, folículos maduros que sean ovulados y fertilizados *in vivo.* Por ejemplo en las realizaciones que implican regímenes de HOC, la ovulación puede ser desencadenada con 5.000 a 10.000, p. ej. 10.000 UI de hCG cuando se detecten al menos dos folículos ≥18 mm de diámetro y se logre un nivel en suero de 300 pg/ml de estradiol. Alternativamente, en las realizaciones que implican regímenes de HOC, la ovulación puede ser desencadenada cuando el folículo más grande ha alcanzado un diámetro medio de al menos 18 mm, hay al menos otros dos folículos con un diámetro medio de ≥16 mm (esto es, hay al menos 3 folículos ≥ 16 mm y uno de estos es ≥ 18 mm) y el nivel de estradiol (E_2) está en un intervalo aceptable para el número de folículos presentes (aproximadamente 150 pg/ml/folículo maduro). Para la IO, la dosis desencadenante de la ovulación de hCG puede ser administrada cuando existe al menos un folículo ≥ 17 mm (y puede ser retenida si más de tres folículos son ≥ 15 mm).

La hCG tiene una vida media comparativamente elevada en el organismo.Por esta razón, cuando se utilizan múltiples dosis se debe tener cuidado de que la acumulación no conduzca a niveles indeseablemente elevados. Se prefiere que los niveles de hCG en suero no aumenten sustancialmente por encima de 50 UI/L, preferiblemente no por encima de 25 UI/L y muy preferiblemente no por encima de aproximadamente 10 UI/L antes de la administración del bolo inductor de la ovulación. Si los niveles de hCG aumentan sustancialmente por encima de este nivel, el resultado es probablemente una luteinización prematura. La farmacocinética de las inyecciones de bolo de hCG después de la inyección intramuscular y subcutánea ha sido referida por Mannaerts *et al.*[11]

En los aspectos de la invención en los que se utiliza la FSH (o un análogo) junto con técnicas o regímenes de HOC, las dosis y los regímenes de administración apropiados serán evidentes para el experto en la técnica y se pueden utilizar cualquier dosis y régimen de administración apropiados. Por ejemplo se puede administrar la FSH con una pauta diaria a una dosis de 75 a 250 o de 75 a 200 UI/día, preferiblemente de 150 a 200 UI/día, muy preferiblemente 150 UI/día. En algunas pacientes que muestran un descenso de la respuesta a FSH puede ser deseable utilizar dosis de hasta 600 UI/día. Un régimen típico es el siguiente: La paciente empieza con 150 UI de FSH/día. Después de 3 o 4 días, se realiza una ecografía para evaluar el desarrollo de los folículos. Si el desarrollo folicular es adecuado, se puede mantener la dosis de 150 UI de FSH/día. Si el desarrollo folicular es inadecuado, se puede incrementar la dosis a 225, 300, 375, 450, 525 o 600 UI de FSH/día. Preferiblemente la administración de FSH continúa hasta que se administra la dosis de hCG desencadenante de la ovulación. Idealmente, la dosis cumulativa de FSH no debe exceder de 6.000 UI/ciclo.

Los términos "tasa mejorada", "que fomenta", "que ayuda", tasas incrementadas", etc., según se utilizan en la presente memoria con respecto a un efecto de implantación o embarazo incluyen cualquier mejora o incremento medibles en la frecuencia
de aparición de implantación o embarazo en una paciente individual o en grupos de pacientes que están siendo tratados de acuerdo con la presente invención, por ejemplo cuando se comparan con el nivel o frecuencia de aparición de implantación o embarazo en uno o más pacientes no tratadas o cuando se comparan con el nivel o frecuencia de aparición de implantación o embarazo en la misma paciente observada en un momento puntual anterior (p. ej. comparación con un nivel de la "línea base"). Por ejemplo, en las realizaciones en las que se utilizan hCG o LH junto con HOC, una comparación relevante consiste en comparar las pacientes tratadas de acuerdo con estas realizaciones con grupos de pacientes con una HOC convencional o la misma paciente con una HOC convencional. Preferiblemente la mejora o incremento será estadísticamente significativa, preferiblemente con un valor de probabilidad <0,05. Los métodos de determinación de la significación estadística de los resultados son bien conocidos y están documentados en la técnica y se puede utilizar cualquier método apropiado.

Los términos "disminuido", decreciente", "reducción", "reductor" etc. según se utilizan en la presente memoria con respecto a un efecto sobre los abortos no provocados, hacen referencia a cualquier disminución o reducción medible en la frecuencia de aborto no provocado en una paciente individual o un grupo de pacientes tratadas de acuerdo con la presente invención, por ejemplo cuando se compara con la frecuencia de aparición de aborto no provocado en una o más pacientes no tratadas o cuando se compara con el nivel o la frecuencia de aparición de aborto no provocado en la misma paciente observado en un momento puntual anterior (p. ej. la comparación con el nivel de la "línea base"). Por ejemplo, en las realizaciones en las que se utilizan hCG o LH junto con HOC, una comparación relevante consiste en comparar las pacientes tratadas de acuerdo con estas realizaciones con grupos de pacientes con una HOC convencional o la misma paciente con una HOC convencional. Preferiblemente el descenso será estadísticamente significativo, más preferiblemente con un valor de probabilidad < de 0,05. Muy preferiblemente los usos y métodos descritos en la presente memoria de acuerdo con la presente invención dan como resultado la prevención de los abortos no provocados. De este modo, la prevención de los abortos no provocados también está incluida en estos términos.

El uso de hCG (o LH) de acuerdo con la invención puede ser útil para cualquier paciente en la que se cree que la infertilidad se puede atribuir a un aborto no provocado precoz o a un fracaso en el implante, con independencia de que la paciente esté recibiendo otras gonadotropinas exógenas.

El aborto no provocado se define como la expulsión del feto antes de que sea susceptible de supervivencia independiente. El aborto no provocado precoz hace referencia a aquellos abortos no provocados que se producen en el primer mes de desarrollo fetal. Los métodos y usos de la presente invención tienen una utilidad concreta en la reducción de los niveles de aborto no provocado precoz.

La utilización de la hCG (o en realidad LH) de acuerdo con la invención junto con la HOC se emplea normalmente junto con técnicas de fertilización *in vitro* . No obstante, es posible que los usos de la hCG (o la LH) junto con la HOC como se describe en la presente memoria se puedan emplear junto con la fertilización *in vivo* .

Además, el uso de la hCG de acuerdo con la invención puede ser conjuntamente con la fertilización *in vivo* en pacientes que no están experimentando HOC, por ejemplo regímenes que implican tanto la ovulación natural como regímenes de inducción de la ovulación, por ejemplo utilizando anti-estrógenos o inhibidores de aromatasa (esto es, regímenes que no implican la administración de gonadotropinas exógenas). Cuando se utiliza en pacientes que no reciben otras gonadotropinas exógenas, la hCG debe ser administrada comenzando antes del momento en el que se espera que se produzca la ovulación en cualquier ciclo dado, preferiblemente comenzando el 6º, 7º u 8º días después de la menstruación. Se puede administrar un único bolo (por ejemplo a las dosis descritas más arriba para la administración de único bolo y en particular 100-500 UI de hCG), o se puede administrar con una pauta diaria (por ejemplo a las dosis descritas más arriba para la administración y en particular a 50-100 UI de hCG), o cada dos días (por ejemplo a las dosis descritas más arriba y en particular a 50-200 UI de hCG), hasta que tenga lugar la ovulación o bien naturalmente o, si se requiere, desencadenándola con una dosis de hCG desencadenante de la ovulación como se ha descrito más arriba.

En las realizaciones de la invención en las que se utiliza hCG en pacientes que no están experimentando HOC, tales pacientes pueden estar experimentando alternativamente IO empleando gonadotropinas exógenas (p. ej., FSH exógena). Las dosificaciones apropiadas de hCG para este uso se describen en alguna parte en la presente memoria. La ovulación se desencadena en el momento apropiado por medio de una dosis elevada de hCG como se ha descrito antes.

De este modo, como se ha indicado antes, se apreciará que así como el uso de hCG (o LH) de acuerdo con la presente invención está resultando ventajoso junto con los regímenes de HOC utilizando GSH, la hCG también se puede utilizar para mejorar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana que no está experimentando un régimen de HOC, pero tratando de mejorar sus oportunidades de embarazo exitoso. Tales pacientes (o sus parejas) habrán experimentado generalmente problemas de fertilidad de alguna clase, esto es, tienen cierto nivel de infertilidad o subfertilidad. Alternativamente, o adicionalmente, las pacientes pueden no tener problemas de fertilidad obvios en términos de ovulación y fertilización pero pueden presentar infertilidad debida a la tendencia a un aborto no provocado precoz y/o fracaso en el implante. Las mujeres más mayores, p. ej. de más de 35, en las que se reconocen problemas con la implantación y elevados niveles de aborto no provocado, también son buenos candidatos para este tratamiento. En tales pacientes se puede producir la ovulación naturalmente o se puede inducir mediante un régimen de inducción de la ovulación en lugar de un régimen de HOC, p. ej. regímenes de IO que implican inhibidores de aromatasa, etc. (que estimulan la secreción endógena de FSH), o la administración de FSH exógena como se ha comentado más arriba. Tales regímenes de OI son convencionales y están bien descritos en la técnica.

En tales usos que no implican regímenes de HOC, el programa de administración de la hCG se calcula generalmente desde el día de comienzo de la menstruación, aunque en los regímenes de IO que utilizan FSH el programa de administración se puede calcular a partir del día de comienzo del tratamiento con FSH. Los programas apropiados después de la menstruación o después del comienzo del tratamiento con FSH son los discutidos más arriba. Como se ha comentado más arriba, la hCG se administra empezando antes de la ovulación (que puede ser ovulación natural o desencadenada por dosis de hCG desencadenantes de la ovulación), durante la fase folicular y preferiblemente en la fase folicular media del ciclo, p. ej. 5 a 8 días después de la menstruación, p. ej. 6, 7 u 8 días después de la menstruación, o al menos 5 o 6 días después del comienzo del tratamiento con FSH, p. ej. 5, 6, 7 u 8 días después de comenzar el tratamiento con FSH. De este modo, se puede observar que aunque los regímenes de tratamiento en tales pacientes son diferentes de aquellos que experimentan HOC utilizando FSH, el programa de administración preferido de la hCG es similar, esto es en o en torno a la fase folicular media del ciclo.

Preferiblemente la LH se administra con una pauta diaria o con una pauta semi-diaria a dosificaciones diarias de 125-7000 UI de LH o 150-1000 UI de LH, más preferiblemente 150-700 o 350-700 UI de LH. Otras dosis que se pueden utilizar son de 10 a 200 UI de LH, 10-150 UI de LH o 20-100 UI de LH/día. Se ha demostrado que una dosis diaria de 150 UI de LH es particularmente eficaz en los usos de la invención y es preferida. Se ha demostrado que la administración de LH de acuerdo con la presente invención es particularmente eficaz en mujeres que tienen 35 años de edad como mínimo.

La LH, la FSH y la hCG utilizadas en la invención pueden ser formuladas para la administración mediante cualquier ruta conveniente, generalmente asociadas con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones y rutas de administración apropiadas son bien conocidas y documentadas en la técnica para LH, FSH y hCG y se pueden utilizar cualquier ruta y cualquier formulación apropiadas. De este modo, las composiciones farmacéuticas de la invención generalmente contienen un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, junto con el ingrediente activo apropiado.

Como se ha mencionado antes, las pacientes que se pueden beneficiar de los usos descritos en la presente memoria son cualquiera de las pacientes que padecen alguna forma de infertilidad o subfertilidad o cualquiera de las pacientes que desean reducir la posibilidad de aborto no provocado y/o reducir los problemas asociados con una implantación inapropiada, por ejemplo pacientes que tienen un riesgo incrementado de implantación inapropiada y/o aborto no provocado, p. ej. pacientes que tienen como mínimo 35 años de edad, o pacientes que han experimentado en el pasado problemas de implantación y/o aborto no provocado. Las pacientes adecuadas pueden tener un ciclo de ovulación natural o pueden estar experimentando regímenes de IO o HOC.

La administración de hCG (o LH) de acuerdo con la invención es útil en aquellas pacientes que están siendo tratadas con agonistas o antagonistas de GnRH. La administración de hCG o LH de acuerdo con la invención es particularmente

útil junto con la FIV o la FIV/ICSI. El método da como resultado un aumento de las tasas de implantación y embarazos que se prolongan más allá del primer trimestre. El uso de hCG o LH puede conducir a la implantación incluso en pacientes que han demostrado previamente fracasos en los regímenes de FIV debido a problemas no asociados con la ovulación.

El uso de hCG o LH de acuerdo con la invención puede ser particularmente útil en el tratamiento de pacientes con niveles bajos de LH endógena, tales como pacientes que padecen hipogonadismo hipogonadotrófico.

El uso de hCG o LH de acuerdo con la invención también se puede emplear en pacientes que han mostrado previamente un fracaso para quedarse o permanecer embarazadas utilizando solamente FSH, p. ej. en regímenes de HOC o IO convencionales.

Los ejemplos de otros grupos de pacientes adecuados son aquellos que padecen enfermedad OPQ (enfermedad del ovario poliquístico), fase lútea inadecuada y factores inmunológicos, y pacientes de 35 años de edad y mayores ("pacientes mayores"). Preferiblemente las pacientes no son mayores de 45 años, más preferiblemente no mayores de 42 años.

La hCG que se utiliza puede ser de cualquier fuente, siempre que no esté contaminada con ninguna sustancia (concretamente otras gonadotropinas) que afecten sustancialmente su acción. Se puede utilizar hCG de orina, aunque se prefiere utilizar hCG recombinante (rhCG), debido a su elevada pureza. Se aplican condiciones similares a la fuente de hLH para su uso en la presente invención.

Los análogos de hCG incluyen todas las moléculas que ejercen los mismos efectos fisiológicos, bioquímicos o biológicos que la hCG, y/o se unen a los mismos receptores que la hCG. Se sabe que la hormona luteinizante (LH) comparte algunas acciones fisiológicas con la hCG.

Algunos análogos de hCG incluyen hCG de cadena sencilla, en la cual el extremo N de la subunidad β está fusionado al extremo N de la subunidad α (Sugahara et al., PNAS, 92, 1995, 2041-2045). Otros ejemplos de análogos se describen, por ejemplo en la Patente Europea Núm. EP 0 322 226 (Applied Research Systems), en el documento WO 92/22568 (University of Medicine & Dentistry of New Jersey), en el documento WO 96/05224 (Washington University), en el documento WO 90/09800 (Washington University), en el documento WO 93/06844 (Washington University), en el documento WO 98/43999 (Washington University), en el documento WO 99/25849 (Washington University).

La hCG puede ser detectada mediante cualquier técnica apropiada por ejemplo utilizando el radioinmunoanálisis, como describen Vaitukaitis *et* al.[12], así como análisis ELISA.[13] La bioactividad de hCG se puede medir mediante cualquier técnica apropiada, por ejemplo, mediante el inmunoanálisis con células Leydig de ratón.[14]

Como se ha mencionado antes, el uso de LH o uno de sus análogos también resulta beneficioso durante la fase estimuladora tardía en los ciclos de TRA. En los regímenes de HOC (esto es en realizaciones en las cuales se utiliza LH junto con HOC), la administración de LH debe comenzar antes del 10º día después del inicio de la administración de FSH. Debido a que la LH tiene una vida media relativamente corta, se prefiere la administración diaria o semi-diaria. En los aspectos de la invención en los que se utiliza LH junto con la HOC, los programas de administración de LH preferidos son los descritos más arriba para la hCG. En un régimen de HOC modificado muy preferido, la administración de LH se inicia el 6º o 7º día después del comienzo del tratamiento con FSH. La administración de LH debe comenzar preferiblemente después del 3er día después del comienzo del tratamiento con FSH.Se pueden administrar dosificaciones diarias de 125-7000 UI de LH o 150-1000 UI de LH, más preferiblemente 150-700 o 350-700 UI de LH cada día hasta que se induzca la ovulación. Otras dosis que se pueden utilizar son de 10 a 200 UI de LH, 10-150 UI de LH o 20-100 UI de LH/día. Se ha demostrado que una dosis diaria de 150 UI de LH es particularmente eficaz en los usos de la invención y es preferida.

Los análogos de LH incluyen todas las moléculas que ejercen los mismos efectos fisiológicos, bioquímicos o biológicos que la LH, y/o se unen a los mismos receptores que la LH. Se sabe que la hCG comparte algunas acciones fisiológicas con la LH. Algunos ejemplos de análogos de LH se describen, por ejemplo en la Patente Europea Núm. EP 0 322 226 (Applied Research Systems), en el documento WO 92/22568 (University of Medicine & Dentistry of New Jersey), en el documento WO 96/05224 (Washington University), en el documento WO 90/09800 (Washington University), en el documento WO 93/06844 (Washington University), en el documento WO 98/43999 (Washington University), en el documento WO 99/25849 (Washington University), en el documento WO 00/61586 (Akzo Nobel) .

En las realizaciones de la invención en las que se utiliza FSH, un experto en la técnica comprenderá que la FSH puede ser sustituida por un análogo biológicamente activo, o por un compuesto que estimula la secreción de FSH endógena. En esta última clase de incluyen los inhibidores de aromatasa, y anti-estrógenos tales como el tamoxifeno y el citrato de clomifeno (CC). Estos compuestos estimulan la secreción de FSH endógena eliminando la retroalimentación negativa ejercida por el estrógeno sobre el hipotálamo (ya sea suscitando antagonismo de los receptores de estrógenos, como es el caso del CC y el tamoxifeno, ya sea disminuyendo enormemente las concentraciones de estrógenos, como es el caso de los inhibidores de aromatasa).

Una forma particularmente preferida de FSH para su uso junto con la utilización de la hCG de acuerdo con la invención es conocida como FSH-CTP. Esta FSH humana de acción prolongada se describe en el documento WO 93/06844, y tiene una subunidad α y una subunidad β de FSH de tipo salvaje que consiste en la subunidad β de FSH de tipo salvaje fusionada en su carboxilo terminal al péptido carboxi terminal (PCT) de la subunidad p de hCG (residuos 112-118 con respecto a la posición 145 de la secuencia de hCGβ nativa). Otros tipos de análogos de FSH incluyen, por ejemplo

análogos de FSH de cadena sencilla en los que la subunidad β está fusionada a PCT de la hCG, que a su vez está fusionada a la subunidad α de FSH, como se describe en el documento WO 96/05224 (FSH-PCT de cadena sencilla).

En cuanto a la LH y la hCG descritas más arriba, la FSH utilizada en los métodos de la invención puede ser de cualquier fuente. Tales fuentes serán bien conocidas por los expertos en el campo de la inducción de la ovulación y de los procedimientos de HOC. Se puede utilizar una preparación de FSH de orina, p. ej. una hMG que contiene actividad FSH y LH a una razón 1:1. Preferiblemente se utilizará FSH recombinante (rFSH) debido a su elevada pureza.

Se ha utilizado gonadotropina menopáusica humana (hMG) para remplazar la FSH durante la fase estimuladora en la inducción de la ovulación y la HOC para la FIV. La hMG es un extracto hormonal relativamente bruto de la orina de mujeres post-menopáusicas que contiene actividad tanto FSH como LH (razón 1:1). La hMG sin derechos de propiedad puede contener tan poco como 2% de hormonas activas y por consiguiente tanto como 98% del contenido en proteína pueden ser contaminante de la orina. Cuando se utiliza hMG en lugar de FSH en los métodos de la invención, también puede resultar beneficioso, un suplemento de hCG como se ha descrito más arriba, por ejemplo para ayudar a la implantación y/o prevención o disminución de aborto no provocado. La administración de hCG se debe comenzar antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con hMG, más preferiblemente antes del 9º día después del comienzo del tratamiento con hMG, particularmente preferiblemente el 7º u 8º día después del comienzo del tratamiento con hMG. La administración de hCG debe comenzar preferiblemente después del 3er día después del comienzo del tratamiento con hMG. Las dosificaciones y los regímenes de dosificación son como los administrados para el uso de hCG junto con FSH. Una dosis preferida es de 150 UI/día, más preferiblemente 50 o 100 UI de hCG/día.

La hMG también puede ser utilizada como fuente de hLH en los métodos de la invención, esto es, se puede utilizar hMG como fuente de hLH de orina.

La invención se describirá ahora con más detalle en los siguientes Ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1 Protocolo de Estimulación

Grupo de control 1: El primer día de la menstruación, las pacientes se sometieron a desensibilización mediante inyecciones diarias de decapeptilo (0,1 mg). Después de 14 días, se realizó un examen sonográfico y en ausencia de quistes, se inició la estimulación con rFSH (150 a 200 UI/día). Después de 7 días, se verificó el crecimiento folicular mediante sonografía y se midió la concentración de E_2 en sangre. Las pacientes se examinaron con una pauta diaria y se desencadenó la ovulación con 10.000 UI de hCG cuando se detectaron al menos dos folículos ≥ 18 mm de diámetro y se logró un nivel en suero de 300 pg/mL de E_2. Grupo de control 2: El día 7 del grupo de control 1, el grupo de control 2 recibió hMG (150 IU/día) además de rFSH.

Grupo Experimental: El día 7 del grupo de control, el grupo experimental recibió 50-100 UI de hCG con una pauta diaria combinada con la rFSH, hasta que se desencadenó la ovulación como más arriba.

Los oocitos se fertilizaron *in vitro.* Cuatro horas más tarde, se enjuagaron y se pusieron en medio de cultivo (ISM1). Después de 20 hrs, se verificó la fertilización y los embriones se dejaron en el mismo medio hasta 48 horas. Después fueron transferidos a un segundo medio de cultivo (ISM2). Los 2 mejores embriones se transfirieron después a pacientes y el resto se cultivaron hasta alcanzar la formación de blastocistos (días 5-6).

Resultados

Los resultados se resumen en las Tablas 1, 2 y 3. Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados que comparan el grupo de control 1 (rFSH sola) con el grupo experimental (rFSH + hCG). La Tabla 3 muestra los resultados que comparan el grupo de control 2 (rFSH + hMG) con el grupo experimental (rFSH + hCG).

No hubo diferencia en las duraciones de los períodos de estimulación. Los niveles de E_2 aumentaron en el grupo que recibía hCG. Las tasas de transferencia fueron similares en ambos grupos: 92% con hCG Vs 86% en el grupo de control, (p=0,1). La formación de blastocistos a partir de embriones supernumerarios no fue diferente entre los 2 grupos (185/411=45% con hCG Vs 292/627=46,5% control, p=0,622). Las tasas de implantación (24,5% hCG Vs 14,6% control, p=0,0134) así como las tasas de embarazos por transferencia (37,5% hCG Vs 23,6% control, p=0,0246) aumentaron en el grupo con hCG, dando un número medio de 1,9 embriones por transferencia.

Tabla 1: Dosis baja de hCG en la estimulación con rFSH

	+hCG	Sin hCG
Núm. de pacientes	96	127
Rango (edad)	2,2 (32,8 ±4,1)).	1,5 (32,1 ±4,5)). (p=0,1068)
Transferencias	89(92%)	109 (86%)
Estimulación (días)	11,7	12,3
Oocitos recuperados	10	9,7
Embriones (m)	6,2 (62%)	5,4 (56%)
Implantaciones	43/175 (24,5%)).	30/206 (14,6%)). (p=0,0134)
Embrión/transferencia	1,97	1,89

Embarazos	36/96 (37,5%)).	3 U/127 (23,6%) (p=0,0246)
Blastocistos	185/411 (45%)	292/627(46,5%) (p=0,6221)

Tabla 2: Dosis baja de hCG en la estimulación con rFSH

	+hCG	Sin hCG	Total
Embarazos	109	230	339
Ectópicos	2	6	8 (2,4%) (p=0,95)
Abortos no provocados	8 (7,3%)	36 (15,6%)	44 (13%) (p=0,03)
Total abortos no provocados + ectópicos	10 (9,17)	42 (18,3)	52 (15,7%) (p=0,03)

Tabla 3: Dosis baja de hCG en la estimulación con rFSH Vs hMG

	FSH + hCG	hMG
Embarazos	109	76
Ectópicos	2	2
Abortos no provocados	8	13 (p=0,049)
Total abortos no provocados + ectópicos	10	15 (p=0,049)

Ejemplo 2

El siguiente estudio comparó el resultado del embarazo de pacientes tratadas con HOC utilizando FSH sola, con aquellas tratadas utilizando FSH más LH comenzando el día 6.

Siguiendo una prueba de embarazo en suero cuantitativa negativa, las participantes que reunían las condiciones se sometieron a desensibilización de la pituitaria utilizando el agonista de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH-a), Lupron®, comenzando de 7 a 8 días después de la ovulación estimada a una dosis de 0,5 mg diariamente hasta que se estableció la desensibilización por medio de un nivel de estradiol en suero (E2) < 75 pg/mL. En ese momento, se inició el tratamiento con FSH humana recombinante a una dosis de partida de 225 UI subcutánea por día. Esta dosis continuó durante los 5 primeros días de tratamiento en cuyo momento la dosis se pudo incrementar de 75 a 150 UI/día cada 2 a 3 días si se consideraba que la respuesta del ovario de la paciente era lenta. La dosis máxima de FSH permitida fue de 450 UI/día y la dosis cumulativa máxima no excedió de 6.000 UI por ciclo. Para aquellas pacientes elegidas al azar para recibir FSH más r-hLH, se inició el tratamiento con r-hLH a una dosis de 150 UI por día el día 6 de la estimulación. La dosis de r-hLH no se debía modificar. Después de lograr una regulación a la baja, el tratamiento con Lupron continuó a lo largo de todo el ciclo de estimulación a una dosis de 0,25 mg diariamente hasta la administración de hCG. Los niveles de estradiol y las mediciones ultrasónicas se evaluaron a lo largo de todo el ciclo de estimulación para determinar la respuesta de la paciente al tratamiento. La administración de FSH o FSH más r-hLH continuó diariamente hasta que el desarrollo folicular se consideró adecuado. El criterio para la administración de hCG (para el desencadenamiento de la ovulación) se satisfizo cuando el folículo más grande alcanzó un diámetro medio ≥ 18 mm y al menos otros dos folículos tuvieron un diámetro medio ≥ 16 mm. Las pacientes también necesitaron un nivel de E2 en el intervalo aceptable para el investigador para el número de folículos presentes (aproximadamente 150 pg/ml/folículo maduro). En ese momento, la paciente recibió una única inyección IM de 10.000 unidades USP de hCG para la fase final de maduración del folículo. Los oocitos se recuperaron vaginalmente bajo control por ultrasonidos 34 a 36 horas después de la administración de hCG de acuerdo con la práctica habitual del lugar de la investigación. Después se realizó la inyección intracitoplásmica de esperma (ICSI) de acuerdo con los procedimientos convencionales de cada lugar. Hasta 3 embriones pudieron ser remplazados 2 a 3 días después de la aspiración intravaginal de los ovocitos. Se proporcionó apoyo de la fase lútea con progesterona natural en aceite a todas las pacientes que recibieron hCG comenzando la tarde de la recuperación del oocito y continuando durante un mínimo de 7 días; el investigador podría elegir después utilizar supositorios de progesterona. La duración total de apoyo de la fase lútea estuvo al criterio del investigador.

Se recogió una muestra de sangre para el nivel de β-hCG en suero el día 15 a 17 después de la inyección de hCG para todas las pacientes que experimentaron transferencia de embriones. Si los resultados eran positivos (embarazo bioquímico), el ensayo se repetía de 2 a 7 días más tarde.

Se realizó una visita post-tratamiento que incluyó examen físico general y pruebas de laboratorio clínico a todas las pacientes de 15 a 17 días después de la administración de hCG (cuando la paciente regresó para la prueba de embarazo) o a la semana del comienzo de la menstruación. Para todas las pacientes que se quedaron embarazadas, se realizó un barrido mediante ultrasonidos de 35 a 42 días después de la administración de hCG y se registraron el número total de sacos fetales y la actividad cardíaca del feto ("embarazo clínico"). Si se había producido embarazo clínico, se hacía un seguimiento de las mujeres para determinar el resultado del embarazo.

Los datos se analizaron dividiendo las pacientes en las que tenían 35 años y mayores ("pacientes mayores"), y las que tenían menos de 35 años. Los datos de los embarazos clínicos se muestran en la Tabla 4. El tratamiento de FSH + LH es claramente mejor en los resultados de embarazo en las pacientes de 35 años y mayores (48,8% con FSH + LH VS

21,6% con FSH sola).

Tabla 4: Datos de embarazo para pacientes tratadas con FSH sola versus pacientes tratadas con FSH + LH (comenzando LH el día 6)						
Número de pacientes (N)	FSH + LH			FSH		
	<35	> ≥ 35	Global	<35	> ≥ 35	Global
	103	41	144	107	37	144
Embarazos Clínicos (%)	46 (44,7%)	20 (48,8%)	66 (45,8%)	48 (44,9%)	8 (21,6%)	56 (38,9%)

Bibliografía:

[1] Healy *et al; Lancet* 343 *1994;* 1539-1544

[2] por ejemplo, se describe una técnica convencional en el documento EP 0 170 502 (Serono Laboratories, Inc.)

[3] Filicori, M.; *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81 *1996;* 2413-6

[4] Filicori, M. *et al.; Fertil. Steril.* 65 *1996;* 387-93

[5] Hillier *et al.; Horm. Res.* 43 *1995;* 216-223

[6] Esposito *et al.; Fertility & Sterility* 75 *2001;* 519-524

[7] The European Recombinant Human LH Study Group; *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83 *1998;* 1507-1514

[8] Messinis *et al.; Fertility & Sterility* 50 7988; 31-35

[9] Lei *et al.; J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75 *1992;* 651-659

[10] Bennett *et al.; Pharmacol. Rev.* 30 *1979;* 247-292

[11] Mannaerts *et al.; Human Reproduction* 13 *1998;* 1461-1464

[12] Vaitukaitis *et al.; Am. J. Obstet. Gynecol.* 113 1972□□□751; *Clin. Chem.* 31 *1985;* 1749

[13] Tyrey *et al.; Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 15 *1988;* 457

[14] Robertson, W.R. y Binden, S. P; The in vitro bioassay of peptide hormones. In Hutton, J.C. y Siddle, K. (eds), Peptide Hormones; a Practical Approach. IRL Press, Oxford (1990).

REIVINDICACIONES

1. El uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde el medicamento se va a administrar comenzando antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el medicamento se va administrar comenzando antes del 9º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

3. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde el medicamento se va a administrar al menos 3 días después del comienzo del tratamiento con FSH.

4. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, donde el medicamento se va administrar comenzando el 7º u 8º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

5. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el medicamento se va a administrar a una dosificación de 25-1000 UI de hCG/día.

6. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el medicamento se va a administrar a una dosificación de 50-100 UI de hCG/día.

7. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el medicamento se va a administrar en forma de un bolo individual.

8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7, donde el bolo individual se va administrar el 7º u 8º día después del comienzo del tratamiento con FSH, y el bolo comprende 100-500 UI de hCG.

9. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el medicamento se va a administrar en una pauta diaria hasta que se induzca la ovulación.

10. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la HOC se lleva a cabo junto con la fertilización *in vitro* o la fertilización *in vivo* .

11. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde las pacientes se ven afectadas por niveles bajos de LH endógena.

12. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde las pacientes han fracasado previamente al quedarse o permanecer embarazadas utilizando FSH sola.

13. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la hCG es hCG recombinante.

14. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la hCG es hCG de orina.

15. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde se utiliza un análogo de hCG y donde dicho análogo es una hCG de cadena sencilla.

16. El uso de una gonadotropina coriónica humana (hCG) o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana, donde dicho medicamento se administra antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

17. El uso de acuerdo con la reivindicación 16, donde el medicamento se va a administrar en forma de un bolo individual el 7º u 8º día después de la menstruación.

18. El uso de acuerdo con la reivindicación 16, donde el medicamento se va a administrar en una pauta diaria, comenzando el 7º u 8º día después de la menstruación y continuando hasta que se produzca la ovulación.

19. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, donde la hCG se define como en una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 o la dosificación se define como en una cualquiera de las reivindicaciones 5, 6 u 8.

20. El uso de una hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, para la fabricación de un medicamento para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde el medicamento se va a administrar comenzando entre el 3er y el 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH y donde las pacientes tienen al menos 35 años de edad.

21. El uso de acuerdo con la reivindicación 20, donde el medicamento se va a administrar a una dosificación de 125-7000 UI de hCG/día.

22. El uso de cuerdo con la reivindicación 20 o 21, donde el medicamento se va a administrar como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4 o en las reivindicaciones 9 a 12.

23. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, donde la hLH es LH recombinante.

24. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, donde la hLH es LH de orina.

25. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, donde se utiliza un análogo de hLH.

26. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o 20 a 25, donde se utiliza un análogo de FSH y donde dicho análogo es FSH-CTP, o donde la FSH se remplaza por un inhibidor de aromatasa o citrato de clomifeno.

27. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o 20 a 26 para su uso junto con HOC que comprende administrar 25-1000 UI de hCG, o uno de sus análogos, o 125-7000 UI de LH o uno de sus análogos, por dosificación.

28. El uso de acuerdo con la reivindicación 27 que comprende administrar 75-125 UI de hCG, o uno de sus análogos, por dosificación.

29. Un kit para ayudar a la implantación de un embrión y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, que comprende de 4 a 8 dosis diarias de hCG, a 25-1000 UI de hCG/día, o uno de sus análogos.

30. Una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la hCG, o uno de sus análogos, se va a administrar empezando antes del 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH.

31. Una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, de acuerdo con la reivindicación 30, donde la hCG, o uno de sus análogos, se va a administrar como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15 o 26 a 28.

32. Una gonadotropina coriónica humana (hCG) o uno de sus análogos, para fomentar la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado de un embrión en una paciente humana, donde dicha hCG, o uno de sus análogos, se va a administrar antes de la ovulación o del desencadenamiento de la ovulación.

33. Una gonadotropina coriónica humana (hCG), o uno de sus análogos, de acuerdo con la reivindicación 32, donde la hCG, o uno de sus análogos, se va a administrar como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19.

34. Una hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, para su uso junto con la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) en pacientes humanas utilizando FSH, o uno de sus análogos, para ayudar a la implantación y/o disminuir las tasas de aborto no provocado, donde la hLH, o uno de sus análogos, se va a administrar comenzando entre el 3er y el 10º día después del comienzo del tratamiento con FSH y donde las pacientes tienen al menos 35 años de edad.

35. Una hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, de acuerdo con la reivindicación 34, donde dicha hormona luteinizante humana (hLH), o uno de sus análogos, se va a administrar como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 27.