



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 366 130**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01) **A61K 31/4025** (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01) **A61K 31/495** (2006.01)

A61K 31/452 (2006.01) **A61K 31/501** (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01) **A61K 31/5513** (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01) **A61K 45/06** (2006.01)

A61P 15/06 (2006.01) **A61K 38/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06747719 .0**

96 Fecha de presentación : **10.05.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1879572**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.01.2008**

54

Título: **Uso de antagonistas de oxitocina y/o vasopresina en reproducción asistida.**

30

Prioridad: **10.05.2005 PL 374954**
12.08.2005 PL 376607
04.11.2005 US 733916 P

73

Titular/es: **FERRING B.V.**
Polaris avenue 144
2132 JX Hoofddorp, NL

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.10.2011

72

Inventor/es: **Kuczynski, Waldemar y**
Pierzynski, Piotr

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.10.2011

74

Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 366 130 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de antagonistas de oxitocina y/o vasopresina en reproducción asistida

5 La presente invención se refiere al uso de barusibán o sus combinaciones con otras sustancias para la fabricación de un medicamento, cuyo principal perfil de acción es una inhibición de los receptores de oxitocina y/o vasopresina en úteros no gestantes de mamíferos, lo que produce la mejora de la receptividad uterina en la transferencia de embriones. La invención se refiere además al uso de las sustancias mencionadas anteriormente para la fabricación de un medicamento para regular la contractilidad uterina en sujetos sometidos al procedimiento de inseminación artificial.

10 Las técnicas de reproducción asistida se aplican en seres humanos para el tratamiento de la infertilidad y en animales para producir gestaciones. La infertilidad, que afecta a alrededor del 10% de las parejas humanas en el mundo, se puede tratar mediante la fecundación in vitro y transferencia de embriones (FIV-TE) o en casos menos complicados por inseminación artificial. El índice de éxito de los procedimientos de FIV-TE en seres humanos habitualmente varía entre el 10% y el 40% de embarazos por ciclo de tratamiento, para la inseminación se puede alcanzar un nivel del 20%. En general, el éxito de una transferencia de embriones depende de la receptividad uterina, una entidad que se define como la capacidad del útero de proporcionar condiciones óptimas que se encargan de la implantación y desarrollo embrionario adecuados. Los componentes básicos de la receptividad uterina son la actividad contráctil uterina y el estado del endometrio. Una contractilidad uterina exagerada que se produce durante la transferencia de embriones puede expulsar los embriones del útero hacia la vagina u oviductos, lo que puede ser una causa de tratamiento infructuoso, o –en último caso– una causa de un embarazo extrauterino – una complicación seria, potencialmente peligrosa para la vida. Además, el éxito de la inseminación artificial –aparte de la calidad del semen– también se correlaciona con la intensidad y dirección de las olas de contracción uterina así como con el estado del endometrio. Cuando las contracciones uterinas se dirigen del fondo uterino al cuello uterino, el semen inyectado en el útero durante el procedimiento se mueve fuera del útero, lo que afecta a la eficacia de este procedimiento.

15 En seres humanos, se pueden caracterizar ciclos, donde se produce la implantación uterina, con una actividad contráctil uterina disminuida. Las contracciones uterinas también influyen en la implantación de embriones en animales de crianza. Se sabe que la tasa de implantación se correlaciona negativamente con la frecuencia de contracciones uterinas. La diferencia en tasas de éxito de transferencias entre mujeres con actividad contráctil uterina alta y baja puede superar el 50%. Además de eso, las prostaglandinas derivadas del útero disminuyen la perfusión del endometrio, lo que altera la receptividad uterina. La aplicación de medicamentos que disminuyen la contractilidad uterina, tales como beta agonistas se relaciona con reacciones adversas frecuentes y no influye en las tasas de éxito de transferencia.

20 Lesny et al., Intl. J. of Obstetrics and Gynaecology 2004, vol. 111, no. 11, pp. 1182-1189, enseña que las contracciones uterinas son importantes en el transporte de semen e implantación del embrión. Las contracciones aumentadas en la zona de la unión se han relacionado directamente al fracaso de la transferencia de embriones. Para superar esto, se propuso el tratamiento con el antagonista de oxitocina Atosiban.

25 Kerin et al., Lancet, 1981, vol. 2, no. 8249, pp. 726-727, se refiere a una técnica para la transferencia de embriones humanos en el útero. Los autores sugieren que el tratamiento con antagonistas específicos de oxitocina puede salvar los problemas asociados con el tono uterino aumentado.

30 El propósito de la invención es proporcionar medicamentos que aumenten la tasa de éxito de procedimientos de reproducción asistida e identificar las sustancias que se podrían usar para la producción de tales medicamentos, considerando que estos medicamentos no deben tener los efectos secundarios que caracterizan a los que se usan actualmente y tener eficacia clínica mejorada en reproducción asistida.

35 El objeto de la invención es un uso que se define en las reivindicaciones adjuntas. En particular, está relacionado con la aplicación de barusibán para la fabricación de un medicamento para la mejora de la receptividad uterina en transferencias de embriones o en inseminaciones artificiales.

40 En detalle, la invención se refiere al uso de una cantidad efectiva de barusibán para la fabricación de medicamentos aplicados en procedimientos de reproducción asistida que se podrían aplicar antes, durante y después de la transferencia de embriones y que actúan mejorando la receptividad uterina. Según la invención, se administra barusibán por vía entérica o parenteral en la dosis de 24 horas que varía desde 0,01 mg hasta 10 g.

45 El uso particular según la invención se refiere al tratamiento de la infertilidad en seres humanos, específicamente al procedimiento de transferencia de embriones, especialmente a la transferencia de embriones recientes o congelados/descongelados. La aplicación ventajosa según la invención se refiere al procedimiento de fecundación in vitro-transferencia de embriones (FIV-TE), o se refiere a la transferencia de embriones, donde ovocito o espermatozoide – componentes del embrión se toman del/de los donante(s). La invención específicamente se refiere al tratamiento llevado a cabo en animales de crianza – vacas, cerdos, caballos, ovejas, donde se hace el

procedimiento de transferencia de embriones. La implementación de la invención se refiere además a la aplicación de otros medicamentos que se podrían aplicar en la reproducción asistida, especialmente a donantes de óxido nítrico, sustratos de la óxido nítrico sintasa, progestágenos, antagonistas de prostaglandinas, metiloxantinas, beta-agonistas, agonistas de prostacilinas.

5 En particular, se pueden usar medicamentos producidos según la invención definida durante los procedimientos de reproducción asistida, específicamente para la regulación de la actividad contráctil uterina, que mejoran el transporte de semen en el aparato genital femenino después de la inseminación artificial. En implementaciones específicas de la patente se refiere al tratamiento que se lleva a cabo en seres humanos o al tratamiento en animales de crianza –
10 vacas, cerdos, ovejas, caballos, donde se realiza la inseminación artificial. Por último, un objeto adicional de la invención lo constituyen medicamentos producidos según la aplicación definida anteriormente.

15 El objeto de la invención es una aplicación de una cantidad efectiva de barusibán para la fabricación de medicamentos aplicados en los procedimientos de reproducción asistida, específicamente en la transferencia de embriones o inseminación artificial. Los medicamentos definidos en la invención se aplican en forma de barusibán antes y/o durante y/o después de la transferencia de embriones así como antes y/o durante y/o después de la inseminación artificial. Estos medicamentos se administran por vía entérica o parenteral en dosis de 24 horas desde 0,01 mg hasta 10 g. La aplicación de estos medicamentos se refiere al tratamiento de infertilidad en seres humanos especialmente para la fecundación in vitro y transferencia de embriones recientes, o la transferencia de embriones
20 congelados/descongelados, en la situación en la que ambos gametos (ovocito y espermatozoide) se toman de parejas o cuando uno o ambos gametos se toman de donante(s). El tratamiento con barusibán se lleva a cabo también en animales de crianza – vacas, cerdos, caballos, ovejas y cubre la transferencia de embriones, donde la aplicación efectiva se presume en una dosis diaria desde 0,01 mg hasta 10 g.

25 El tratamiento con barusibán se refiere al procedimiento de inseminación artificial en seres humanos y en animales de crianza – vacas, cerdos, caballos, ovejas, donde estos se aplican antes y/o durante y/o después del procedimiento. En tal tratamiento, se usan los medicamentos que se definen en la invención para la regulación de la contractilidad uterina, lo que mejora el transporte de semen en el aparato genital femenino, cuando se asumen dosis de 24 horas desde 0,01 mg hasta 10 g.

30 La aplicación de barusibán para la fabricación de medicamentos usados en los procedimientos de reproducción asistida se lleva a cabo junto con la aplicación de una o más sustancias de las siguientes: donantes de óxido nítrico, sustratos de óxido nítrico sintasa, progestágenos, antagonistas de prostaglandinas, metiloxantinas, beta agonistas, agonistas de prostacilinas.

35 El buen perfil de seguridad es una de las entidades favorables de medicamentos que contienen antagonistas de oxitocina, antagonistas de oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina, o sus sales farmacéuticamente aceptadas, por ejemplo atosiban, barusibán o relcovaptán, especialmente debido a la alta especificidad y selectividad de estas sustancias, que normalmente limitan la acción de estos fármacos al útero.

40 La inhibición de receptores de oxitocina y/o vasopresina en el útero produce una mejora de la receptividad uterina de varias maneras – en primer lugar, por descenso de la contractilidad uterina, en segundo lugar, gracias a la influencia beneficiosa en el estado del endometrio que se alcanza por la inhibición de la liberación local de prostaglandinas (esa liberación disminuye la perfusión endometrial). En caso de contracciones uterinas dirigidas desde fondo del útero hacia el cuello uterino, la inhibición de los receptores de oxitocina y/o vasopresina alcanzada antes, durante o
45 después de la inseminación artificial prevendrá la expulsión del semen inyectado fuera del útero a la vagina.

50 La combinación de antagonistas de oxitocina, antagonistas de oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina o sus sales farmacéuticamente aceptadas con otras sustancias que inhiben la contractilidad uterina, por ejemplo beta agonistas, ejerce un efecto hiperaditivo. Tal efecto se puede usar para disminuir las dosis de principios activos en los medicamentos de combinación y se relaciona con el aumento de la acción de las sustancias utilizadas en la composición. Por consiguiente, también disminuye la probabilidad de reacciones adversas de fármacos. Los donantes de óxido nítrico, sustratos de óxido nítrico sintasa, inhibidores de prostaglandinas, metiloxantinas, miméticos de prostacilinas o progestágenos son ejemplos de sustancias que se pueden combinar con antagonistas
55 de oxitocina o antagonistas de oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina o sus sales farmacéuticamente aceptadas, lo que mejora la receptividad uterina y regula la contractilidad uterina y disminuye la probabilidad de reacciones adversas de fármacos.

60 La invención producirá un aumento en la tasa de embarazos tras la transferencia de embriones e inseminación artificial. En seres humanos constituye un beneficio social directo para la población, además de producir una disminución de los costes del tratamiento de infertilidad. La aplicación de la invención en animales de crianza permitirá un descenso de los costes de reproducción.

65 Al contrario que la aplicación alternativa de antagonistas de oxitocina divulgada en la patente WO 9609824 que se reivindica que aumenta la fertilidad y supervivencia de embriones en animales de granja, donde se alcanza por la prolongación de la función del cuerpo lúteo, que proporciona la fuente de progesterona y apoya la gestación, la

presente invención se refiere a procedimientos de reproducción asistida no al parto espontáneo. Además la presente invención no se refiere a la formación o mantenimiento del cuerpo lúteo, ya que en ciclos de transferencia de embriones no está presente el cuerpo lúteo. Por tanto, el aumento en la tasas de embarazo según la invención se alcanza en un mecanismo diferente de mejora de la receptividad uterina, tanto en casos de transferencias de embriones como en inseminaciones artificiales.

Para una mejor ilustración de la invención, se han adjuntado las siguientes figuras.

La figura 1 presenta un gráfico sobre la actividad contráctil del útero evaluada mediante ecografía transvaginal en la paciente cuyo caso se describe en el ejemplo 1. Las contracciones uterinas en los gráficos B y C están marcadas con color claro para una mejor visualización. En el método de análisis de imágenes digitales, debido al requerimiento de una gran calidad de imagen, se seleccionó para el análisis un periodo de 4 minutos de un total de 5 minutos registrados.

A) Representación esquemática de un principio de evaluación no invasiva de contractilidad uterina (hecho de forma similar a Fanchin et al. [Hum. Reprod. 1998; 13(7): 1968-74]) Descripción: U - útero, En – endometrio (la capa interna del útero) – durante las contracciones uterinas, se observan cambios en la textura y contorno del endometrio, Mi – miometrio (la capa media del útero, construida de tejido muscular liso), T – segmento de prueba, donde se evalúan los movimientos de contorno del endometrio que representan la actividad contráctil del útero.

B) Gráfico que presenta la actividad contráctil del útero antes de la aplicación del antagonista de oxitocina atosiban (referencia). Se ve hiperactividad contráctil. Leyenda: contracción uterina, 1 min – segmento que representa 1 minuto de registro digital, T – segmento de prueba, donde se evalúan los movimientos de contorno del endometrio que representan la actividad contráctil del útero.

C) Gráfico que presenta la actividad contráctil del útero en el tiempo de efecto máximo del antagonista de oxitocina atosiban. La actividad contráctil del útero disminuye de forma notable. Leyenda: t - contracción uterina, 1 min – segmento que representa 1 minuto de registro digital, T – segmento de prueba, donde se evalúan los movimientos de contorno del endometrio que representan la actividad contráctil del útero.

La figura 2, construida en base al ejemplo 2, presenta una comparación de parámetros de motilidad de espermatozoides humanos en muestras control y en muestras expuestas a 3 concentraciones de atosiban (referencia) (300 nM, 1000 nM y 3000 nM). La figura comprende 3 gráficos: A – gráfico que presenta los porcentajes de espermatozoides activamente móviles en relación a la exposición de atosiban (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. B – gráfico que presenta los porcentajes de espermatozoides móviles en relación a la exposición de atosiban (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. C – gráfico que presenta los porcentajes de espermatozoides hiperactivamente móviles en relación a la exposición de atosiban (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. No se observaron diferencias significativas entre el grupo control (0 nM) y los grupos experimentales (atosiban 300 nM, 1000 nM y 3000 nM). La disminución de la motilidad de los espermatozoides con el tiempo (en las horas 8 y 24 del experimento) dependía del descenso gradual de la reserva energética de los espermatozoides y era comparable en todos los grupos evaluados. En el análisis estadístico (análisis de varianza – ANOVA), no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de motilidad de espermatozoides. Leyenda: % de activos – porcentaje de espermatozoides activamente móviles; % de motilidad – porcentaje de espermatozoides móviles; % de hiper – porcentaje de espermatozoides hiperactivamente móviles.

La figura 3, construida en base al ejemplo 2, presenta una comparación de parámetros de movimiento (velocidad) de espermatozoides en muestras control y en muestras de grupos experimentales (expuestas a 3 concentraciones de atosiban: 300 nM, 1000 nM y 3000 nM). La figura 3 comprende 3 gráficos: A – gráfico que presenta los cambios en la velocidad total de los espermatozoides en relación a la exposición de atosiban (referencia) (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. B – gráfico que presenta cambios en la velocidad en línea recta de los espermatozoides en relación a la exposición de atosiban (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. C – gráfico que presenta cambios en la amplitud de los desplazamientos laterales de la cabeza de los espermatozoides en relación a la exposición de atosiban (0 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) y el tiempo de exposición. Leyenda: VSL – velocidad en línea recta, VCL – velocidad total, ALH – amplitud de desplazamientos laterales de cabeza. En el análisis estadístico (análisis de varianza – ANOVA), no se encontraron diferencias significativas entre las muestras control (0 nM) y experimentales (atosiban 300 nM, 1000 nM y 3000 nM).

Los resultados del estudio del bioensayo de la motilidad de espermatozoides humanos, presentados en la figura 2 y la figura 3, a los que se hace referencia adicional en el ejemplo 2 confirman que el antagonista de oxitocina y vasopresina - atosiban (referencia) no inhibe la motilidad de los espermatozoides humanos in vitro, lo que confirma que carece de potencial embriotóxico, lo que autoriza su aplicación en reproducción asistida.

La figura 4 ilustra la relación entre la actividad contráctil del útero y las tasas de éxito de la transferencia de embriones. En casos con alta actividad contráctil (>5,0 contracciones/minuto), la tasa de embarazo clínico alcanzó el 14% y en el caso de pacientes de baja actividad contráctil del útero aumentó más de 3 veces, alcanzando el 53% (figura según la publicación Fanchin et al. [Hum. Reprod. 1998; 13(7): 1968-74]).

La figura 5 presenta un gráfico sobre actividad contráctil del útero en seres humanos no gestantes (evaluado usando el parámetro de área bajo la curva de presión intrauterina) durante la estimulación con vasopresina en casos de ausencia y presencia del antagonista de oxitocina y vasopresina relcovaptán (referencia) en el organismo.

5 Descripción de barras:
 placebo – actividad contráctil del útero de referencia (en pacientes que reciben placebo); VAS-1, VAS-2, VAS-3 – actividad contráctil del útero relativa (a placebo) en pacientes a las que se da relcovaptán: los números respectivos corresponden a las respectivas administraciones de vasopresina. Los datos presentados en la figura muestran el efecto de la inhibición de los receptores de vasopresina y oxitocina (tanto vasopresina como relcovaptán actúan también sobre los receptores de oxitocina), que disminuye la contractilidad uterina. Considerando el perfil de receptor de relcovaptán (referencia), mayor afinidad hacia los receptores de vasopresina V_{1a} comparados con los receptores de oxitocina, junto con el hecho que la expresión de V_{1a} es mayor en úteros no gestantes comparados con los gestantes, relcovaptán es un candidato prometedor para la aplicación antes de transferencia de embriones e inseminación artificial (figura según la publicación de Bossmar et al. [BJOG 1997, 104; 471-477]).

La figura 6 (según Pierzynski P et al. [JSGE 2004, 11(6): 384-387]) ilustra la actividad contráctil del miometrio gestante humano antes y después de la administración del antagonista de oxitocina barusibán.

20 Leyenda P – contracción de cloruro de potasio (KCl) de referencia L – lavado.

OT – series de inyecciones acumuladas de oxitocina para estimulación de la contractilidad uterina (repetido antes y después de la administración del antagonista de oxitocina), L – lavado, BSB – administración del antagonista de oxitocina barusibán.

En este estudio in vitro se evaluó un efecto de barusibán en la contractilidad del músculo liso uterino estimulado con oxitocina. La actividad contráctil del músculo liso uterino (miometrio) se redujo significativamente después de la administración de barusibán, y se observó la inhibición total de la actividad contráctil en el intervalo de concentraciones de oxitocina que se produce en seres humanos. En este estudio se mostró que el barusibán es un inhibidor más potente de las contracciones uterinas comparado con atosiban (referencia). A pesar de las diferencias fisiológicas entre úteros gestantes y no gestantes barusibán es un candidato prometedor para su aplicación en técnicas de reproducción asistida considerando su modo de acción prolongado (tiempo medio estimado de una dosis única – 7 horas).

La invención se refiere a la aplicación de barusibán para la fabricación de medicamentos, que contienen principios activos en la dosis de 24 horas entre 0,01 mg y 10 g. La aplicación de estos medicamentos es mejorar la receptividad uterina, lo que se alcanza mediante el alivio de la influencia de oxitocina y/o vasopresina sobre el miometrio y endometrio (músculo liso y capa más interna del útero, donde tiene lugar la implantación). Tal efecto produce quiescencia uterina (en términos de contractilidad) y además cesa la estimulación de síntesis de prostaglandinas en el útero (las prostaglandinas normalmente aumentan la contractilidad uterina y disminuyen la perfusión endometrial). Por consiguiente, el medio intrauterino se vuelve más “favorecedor para el embrión”, lo que a su vez aumenta la tasa de éxito de la transferencia de embriones. Los medicamentos descritos en la invención, cuando se administran en casos de contracciones uterinas dirigidas desde el fondo uterino hacia el cuello uterino, cuando se proporcionan antes de la inseminación artificial permitirán aumentar la eficacia de este procedimiento, al prevenir la expulsión de los espermatozoides fuera del útero hacia el cuello uterino.

La invención es útil para el tratamiento que mejora la receptividad uterina en la transferencia de embriones en seres humanos y animales de crianza. El tratamiento con antagonistas de oxitocina, antagonistas de oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina o sus sales farmacéuticamente aceptadas puede utilizar fármacos peptídicos que siguen la estructura de oxitocina y vasopresina, es decir barusibán. Los fármacos peptídicos no se pueden administrar por vía oral debido a su digestión, sin embargo, tal administración puede ser posible cuando se aplican sistemas especiales para la liberación de los fármacos. Los antagonistas peptídicos de oxitocina, oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina, es decir barusibán, o sus sales farmacéuticamente aceptadas se pueden administrar por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea o nasal. Para referencia: los antagonistas no peptídicos de oxitocina, oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina, por ejemplo, relcovaptán o sus sales farmacéuticamente aceptadas también se pueden administrar por vía entérica. Los medicamentos descritos en la invención que contienen barusibán se dosificarán desde 0,01 mg a 10 g por dosis única de 24 horas, dosis repetida o como una infusión continua/intermitente. La administración de fármacos empezará como máximo una semana antes de la transferencia de embriones y durará como máximo hasta una semana después de la transferencia. Permitirá abolir la reacción refleja de contracciones uterinas a la introducción del catéter de transferencia, así como disminuir la contractilidad uterina y mejorar la receptividad uterina hasta la implantación de un embrión, que en los seres humanos tiene lugar alrededor de una semana después de la transferencia.

Otro aspecto de la invención se refiere a la fabricación de medicamentos aplicados para la regulación de la contractilidad uterina antes, durante y después de la inseminación artificial. Barusibán se administra en casos de

contractilidad uterina dirigida desde el fondo uterino hacia el cuello uterino, que puede expulsar el semen del útero hacia el cuello uterino. La aplicación de medicamentos descritos en la invención empezará como máximo una semana antes de la inseminación y durará como máximo hasta una semana después del procedimiento. En caso de una serie de inseminaciones, el tratamiento puede continuar como máximo hasta una semana después de la última inseminación. Barusibán se dosificará desde 0,01 mg hasta 10 g por 24 horas por vía entérica o nasal, intravenosa, intramuscular o subcutánea. Ejemplos de formas para la administración de estos medicamentos son comprimidos, grajeas, cápsulas, píldoras, suspensiones, jarabes, granulados y soluciones. Cada forma farmacéutica, por ejemplo un comprimido o una cuchara de solución puede contener por ejemplo, de 0,1-1000 mg de cada uno de los constituyentes activos.

Los medicamentos que contienen barusibán se pueden administrar en combinación con otros fármacos, que pueden disminuir la contractilidad uterina, por ejemplo con donantes de óxido nítrico, sustratos de óxido nítrico sintasa, progestágenos, antagonistas de prostaglandinas, metiloxantinas, beta agonistas, agonistas de prostaciclina o progestágenos.

Las combinaciones de barusibán con otras sustancias mencionadas anteriormente se pueden administrar por vía entérica o parenteral en dosis de eficacia apropiada en disminuir la contractilidad uterina con posible efecto adicional de reducción de reacciones adversas de fármacos.

Ejemplo 1. Aplicación clínica de medicamento que contiene atosiban – un antagonista de oxitocina y vasopresina para aumentar la receptividad uterina en la transferencia de embriones en el curso de un procedimiento de reproducción asistida de FIV-TE (fecundación in vitro-transferencia de embriones) (para referencia)

Descripción clínica: Mujer de 42 años de edad con antecedentes de 15 años de infertilidad, nunca embarazada, con antecedentes obstétricos/ginecológicos negativos respecto a clínica de infertilidad para el tratamiento. Inicial, los resultados analíticos hormonales hechos durante la menstruación fueron como sigue: FSH – 5,1 UI/ml (intervalo normal 3,2-10,0), LH – 1,8 mUI/ml (intervalo normal 1,2-12,5 mUI/ml), PRL – 23,4 ng/ml (intervalo normal 3,3-24,5), E₂ 95,7 pg/ml (intervalo normal 12,0-48,0), T – 0,43 (intervalo normal 0,1-0,96 ng/ml). En examen físico y ecografía, se demostraron útero miomatoso y quiste en el ovario izquierdo. La paciente se trató por cirugía un mes después de la visita inicial mediante una laparotomía y enucleación de miomas uterinos y enucleación de quiste del ovario izquierdo, sin complicaciones.

7 meses después de la operación, se inició el tratamiento específico de la infertilidad y la paciente se incluyó en el programa de FIV-TE. El primer programa de tratamiento se hizo en septiembre de 2003, aplicando un protocolo largo de estimulación de la ovulación. En el curso de este tratamiento la paciente recibió en total 44 ampollas de FSH recombinante (Gonal 75 UI) y 8 de gonadotropina menopáusica HMG (Menogon 75 UI), que indujeron el crecimiento de 3 folículos de Graaf. Después de la aspiración transvaginal de los folículos, se recogió 1 ovocito MII. Debido a la azoospermia detectada en el marido de la paciente, confirmada adicionalmente por biopsia testicular, para la fecundación in vitro se utilizó semen de un donante anónimo. El tercer día después de la recogida del ovocito se transfirió un embrión de 4 blastómeros en el útero, con resultado negativo.

El siguiente (2º) programa de FIV se hizo 3 meses después. En el curso de la estimulación ovárica controlada se administraron en total 74 ampollas de FSH recombinante (Gonal 75 UI) y 3 ampollas de gonadotropina menopáusica humana (Menogon 75 UI). En este ciclo de tratamiento, se confirmó el crecimiento de 3 folículos. La aspiración transvaginal de folículos produjo la recogida de 3 ovocitos MII, que se fecundaron seguidamente con el semen de un donante anónimo. El tercer día después de la recogida de los ovocitos, se transfirieron dos embriones de 2 blastómeros en el útero, con resultado negativo.

El tercer programa de FIV hecho después de 6 meses también utilizó un protocolo largo de estimulación ovárica. Durante ese ciclo de tratamiento, se administraron 58 ampollas de FSH recombinante (Gonal 75 UI) y 2 ampollas de gonadotropina menopáusica HMG (Menogon 75 UI). Como resultado, se observó el crecimiento de 8 folículos. Después de la aspiración transvaginal de folículos se recogieron 2 ovocitos MII, que se fecundaron seguidamente con el semen de un donante anónimo. Se transfirieron dos embriones de 4 blastómeros en la cavidad uterina, con resultado negativo. Un mes después, se hizo una histeroscopia, cuyo fin era proporcionar datos sobre una posible patología de la cavidad uterina, con resultado negativo.

En vista de la alta probabilidad de bajo potencial de desarrollo de los ovocitos de la paciente, después de 2 meses más, se tomó la decisión de cambiar el modo de tratamiento usando ovocitos de donantes. Los ovocitos fueron donados de forma anónima por otra paciente sana tratada en el programa de FIV debido a infertilidad masculina. Después de la fecundación in vitro de 2 ovocitos donados con semen de un donante anónimo se realizó una transferencia de embriones con resultado negativo. Después de ello, a lo largo de los siguientes 7 meses, se realizaron 3 ciclos consecutivos de embriones de ovocito de donante-semen de donante, con resultado negativo.

En el 8º ciclo de tratamiento, se tomó una decisión sobre la aplicación de un medicamento que contenía atosiban (antagonista de oxitocina y vasopresina), cuyo fin era mejorar la receptividad uterina. El medicamento se dio en infusión intravenosa, que empezó 60 minutos antes de la transferencia y continuó a lo largo de 2 horas después de

la transferencia. 10 minutos antes del inicio de la administración (70 minutos antes de la transferencia) se realizó una ecografía transvaginal con registro digital de 5 minutos de las contracciones uterinas. 60 minutos antes de la transferencia se dio una dosis embolada de 6,75 mg de atosiban por vía intravenosa, sin reacciones adversas. Inmediatamente después, se conectó una infusión continua de atosiban de 18 mg/hora usando la bomba de infusión y se continuó a lo largo de los siguientes 60 minutos. 45 minutos después del inicio de la infusión, se repitió la ecografía transvaginal con registro digital de imagen. Entre los minutos 55 y 60 de la infusión se realizó una transferencia de 2 embriones guiada por ecografía. Después de la transferencia, se cambió la dosis de atosiban a 6 mg/hora. La infusión finalizó 2 horas después de la transferencia, la dosis total administrada fue 37,5 mg.

El modo de aplicación de atosiban descrito anteriormente proporciona el efecto máximo en el momento de la transferencia de embriones (se demostró que se alcanzan concentraciones estables de atosiban alrededor de una hora después del inicio de la infusión). La paciente se mantuvo en posición horizontal hasta una hora después de terminar la infusión y limitó sus actividades en ese día. En la visita de control hecha 2 semanas después de la transferencia de embriones, se hizo una prueba del embarazo con resultado positivo. En la siguiente visita (4 semanas después de la transferencia) se confirmó un embarazo intrauterino normal de gemelos mediante ecografía transvaginal, se visualizaron los latidos del corazón fetal en ambos sacos gestacionales.

El resultado positivo del tratamiento de infertilidad en esa paciente confirma el efecto beneficioso de los antagonistas de oxitocina y vasopresina para aumentar la receptividad uterina en la transferencia de embriones. Puesto que no es posible confirmar otros aspectos de acción del atosiban (su efecto sobre la perfusión endometrial o sobre la producción local de prostaglandinas) durante la transferencia, la prueba de acción se basó en su efecto de disminución de la actividad contráctil del útero, que se demostró de forma no invasiva en el momento de máximo efecto de atosiban. El análisis de contractilidad uterina se hizo por dos métodos, utilizando secuencias de imágenes ecográficas: mediante inspección y registro manual de contracciones en una secuencia acelerada de película (método I) y mediante análisis digital de desplazamientos del contorno endometrial (método II, hecho de forma similar a la presentada por R. Franchin y col. [Franchin R i wsp. Hum. Reprod. 1998; 13(7): 1968-74]. El análisis de la actividad contráctil del útero hecho en la situación de falta de acción y en la situación de niveles estables en sangre de atosiban demostró su reducción significativa (método I: 15 contracciones/5 minutos antes de la administración de atosiban frente a 8 contracciones/5 minutos después de la administración. Método II: 11 contracciones/4 minutos antes de la administración de atosiban frente a 7 contracciones/4 minutos después de la administración). El método II se ilustra en la figura 1. La aplicación de un medicamento que contiene atosiban mejoró la receptividad uterina de varias maneras: directamente – disminuyendo la actividad contráctil del útero, así como indirectamente – reduciendo la estimulación de la contractilidad uterina y aliviando el efecto de descenso de la perfusión endometrial, que se produjo de la inhibición de la producción/excreción de prostaglandinas en la cavidad uterina.

Recapitulando, este caso confirma la base lógica para la aplicación de medicamentos que contienen antagonistas de oxitocina, antagonistas de oxitocina y vasopresina o antagonistas de vasopresina o sus sales farmacéuticamente aceptadas en el tratamiento que mejora la receptividad uterina en reproducción asistida, especialmente durante el procedimiento de transferencia de embriones. Además, se logró el embarazo en una segunda paciente con características clínicas similares.

Ejemplo 2. Seguridad de los antagonistas de oxitocina en la reproducción asistida (para referencia).

El medicamento que contiene atosiban es hasta la fecha el único de los antagonistas de oxitocina y vasopresina registrado para su uso en seres humanos. Es una sustancia peptídica, registrada para aplicación intravenosa en situaciones diametralmente opuestas a la reproducción asistida – en parto prematuro, donde se usa para prolongar el embarazo. La seguridad clínica de atosiban se verificó por completo en estudios anteriores al registro. Se considera atosiban especialmente seguro, que produce efectos secundarios mínimos. Sin embargo, no se supuso aplicación en reproducción asistida ya que no se habían hecho estudios embriotóxicos sobre atosiban.

Para verificar la embriotoxicidad de atosiban se realizó un estudio sobre la influencia de atosiban en parámetros de motilidad de espermatozoides humanos (Bioensayo de motilidad de espermatozoides humanos). La técnica usada en el estudio es una norma en el control de calidad y evaluación de embriotoxicidad en laboratorios de FIV. Se mostró, que esta técnica es comparable a los bioensayos de embriones de ratón o conejo, que son modelos animales para embriotoxicidad [Miller, JW et al., Fertil Steril 2001: 76(3), Supl. 1; S104]. La especificidad y sensibilidad del bioensayo de motilidad de espermatozoides humanos es comparable a pruebas realizadas en embriones y actualmente es la más popular debido al menor coste y complejidad. Se demostró que cuando un cierto factor en el medio de los espermatozoides humanos limita su motilidad, también será embriotóxico.

El estudio se realizó en muestras de semen humano reciente tomadas de 15 donantes sanos con parámetros seminológicos perfectos. Después de seleccionar la población viva y móvil (método de migración en ascenso nadando), las muestras de semen se transfirieron a tubos Eppendorf estériles que contenían medio de preparación de espermatozoides humanos solo o con atosiban en concentraciones de 300 nM, 1000 nM, 3000 nM, siendo las últimas concentraciones 10 veces las concentraciones máximas alcanzadas en seres humanos en el curso de tratamiento para parto prematuro. La evaluación de la motilidad de los espermatozoides se realizó con el analizador de espermatozoides asistido por ordenados Hobson Sperm Tracker en las horas 1, 8 y 24 de exposición a atosiban.

Se analizaron los siguientes parámetros:

- 5 a) porcentaje de espermatozoides activamente móviles (% de activo); b) porcentaje de espermatozoides móviles (% de motilidad); c) porcentaje de espermatozoides hiperactivamente móviles (% de hiper), d) VSL – velocidad en línea recta, e) VCL – velocidad total, f) ALH – amplitud de desplazamientos laterales de cabeza. Los resultados se presentan en la figura 2 y la figura 3. En el análisis estadístico, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las muestras control y las expuestas a atosiban. Esto confirma la falta de embriotoxicidad de atosiban, lo que autoriza su utilización en reproducción asistida.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de barusibán para la fabricación de un medicamento para una receptividad uterina mejorada en reproducción asistida.
2. Uso según la reivindicación 1, en donde el medicamento fabricado se va a aplicar antes, durante y después de la transferencia de embriones en la cavidad uterina.
- 10 3. Uso según la reivindicación 1, en donde se va a aplicar barusibán en una dosis de 24 horas desde 0,01 hasta 10 g.
- 15 4. Uso según la reivindicación 1, en donde el medicamento fabricado se va a utilizar para el tratamiento de infertilidad en seres humanos o para la reproducción asistida en animales, que se refiere a la transferencia de embriones y/o inseminación artificial.
5. Uso según la reivindicación 4 en donde la transferencia de embriones es la transferencia de embriones recientes o congelados/descongelados.
- 20 6. Uso según la reivindicación 1, en donde se refiere a procedimientos de fecundación in vitro-transferencia de embriones (FIV-TE).
7. Uso según la reivindicación 1 en donde se refiere a procedimientos de reproducción asistida en animales de crianza, donde se hace transferencia de embriones o inseminación artificial.
- 25 8. Uso según las reivindicaciones 4 a 7 en donde los animales de crianza son del grupo que sigue: vacas, cerdos, ovejas y caballos.
- 30 9. Uso según la reivindicación 1 en donde se va a administrar barusibán en combinación con la aplicación de otros medicamentos para el tratamiento en reproducción asistida del grupo siguiente: donantes de óxido nítrico, sustratos de óxido nítrico sintasa, progestágenos, antagonistas de prostaglandinas, metiloxantinas, beta agonistas, agonistas de prostaciclina.

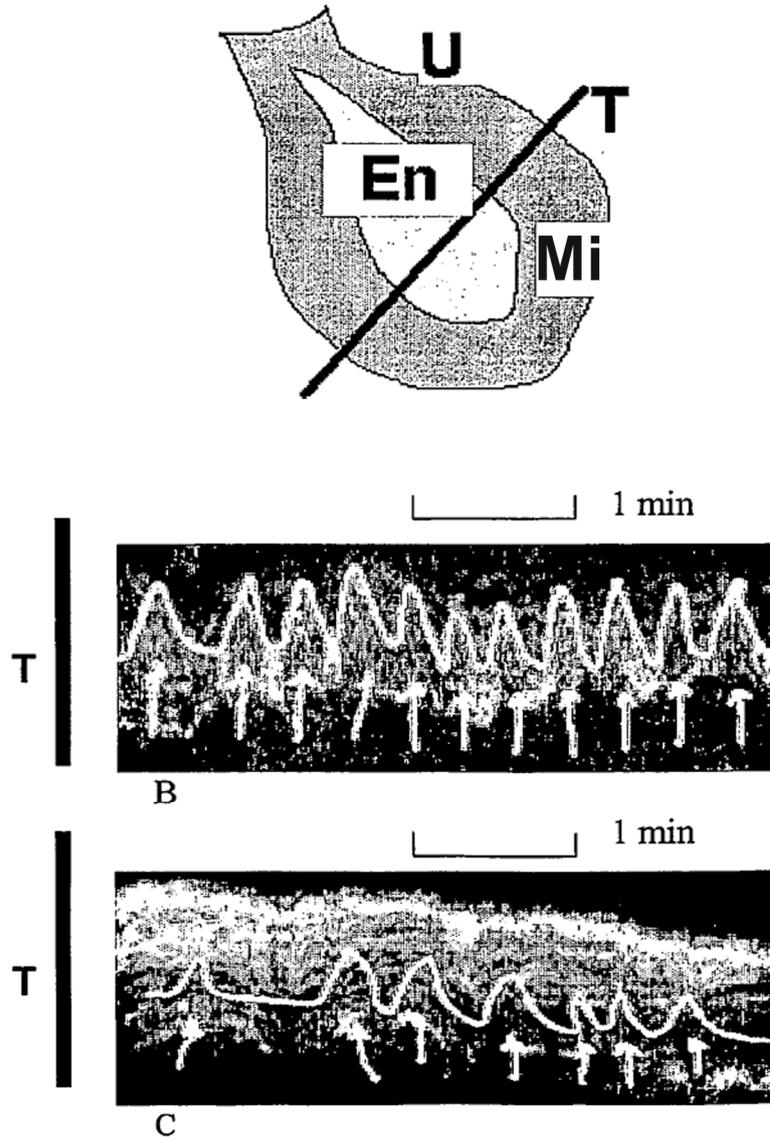


Fig 1.

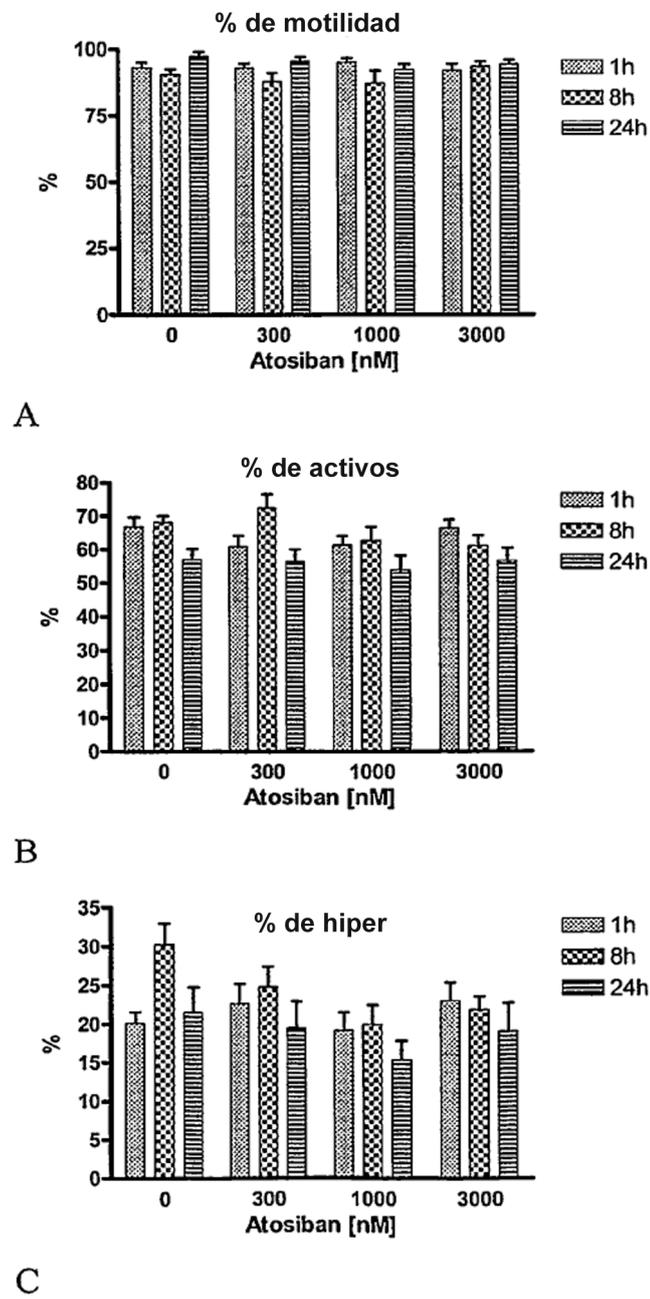
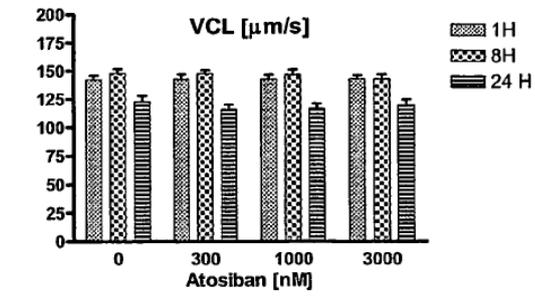
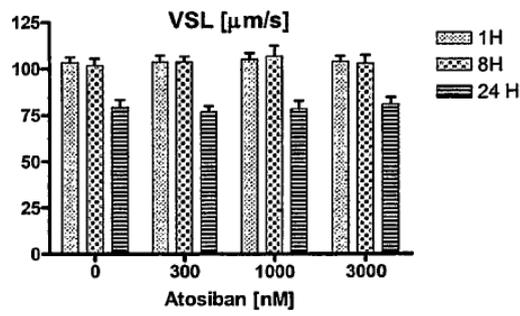


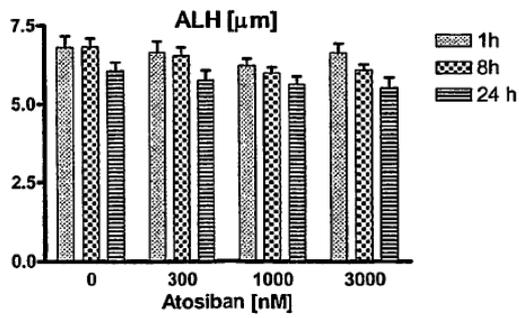
Fig 2.



A



B



C

Fig 3

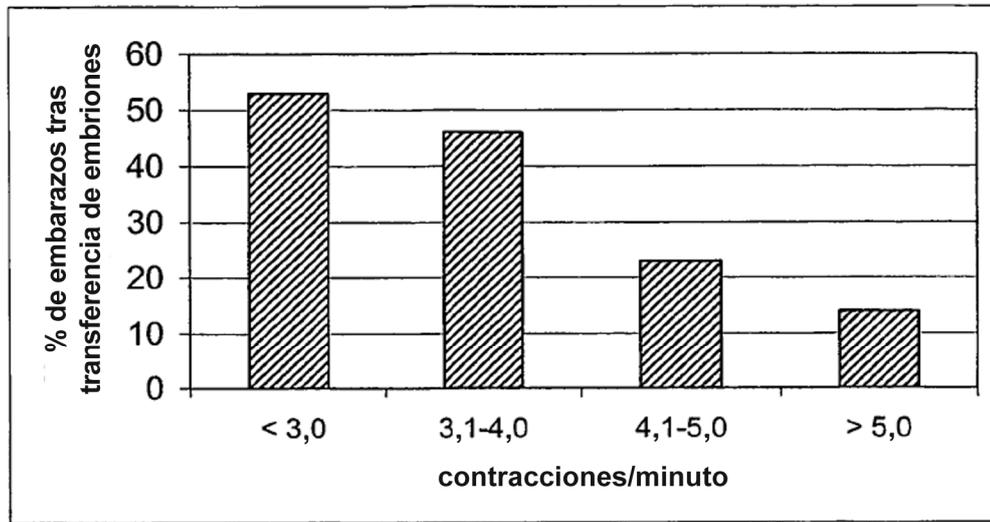


Fig. 4

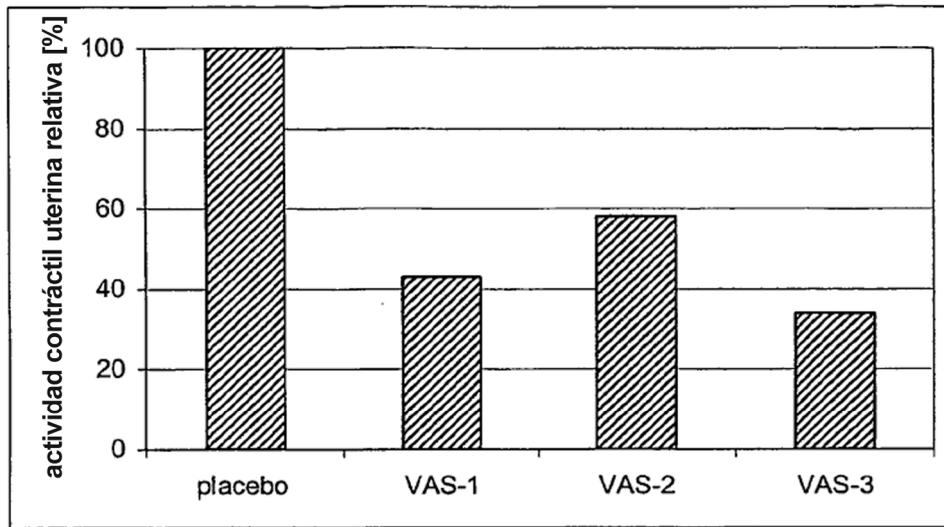


Fig. 5

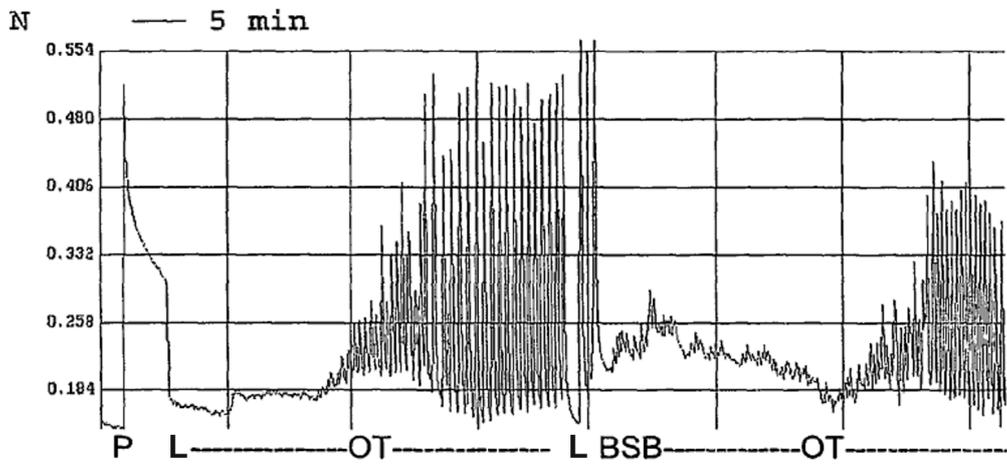


Fig. 6