

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 082**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 38/16</b>	(2006.01) <b>A61K 38/24</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/70</b>	(2006.01) <b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/715</b>	(2006.01) <b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/06</b>	(2006.01) <b>A61K 9/02</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/22</b>	(2006.01)	
<b>A61P 17/00</b>	(2006.01)	
<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)	
<b>A61K 38/13</b>	(2006.01)	
<b>A61K 38/17</b>	(2006.01)	
<b>A61K 38/20</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2010 E 10732051 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2381957**

54 Título: **Modulación terapéutica de la lubricación del límite del epitelio vaginal**

30 Prioridad:

**13.01.2009 US 144344 P**  
**12.11.2009 US 260402 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.04.2015**

73 Titular/es:

**LUBRIS LLC (50.0%)**  
**111 Speen Street, Suite 303**  
**Framingham, MA 01701 , US y**  
**SCHEPENS EYE RESEARCH INSTITUTE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**TRUITT, EDWARD, R., III;**  
**SULLIVAN, BENJAMIN y**  
**SULLIVAN, DAVID**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 534 082 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

Modulación terapéutica de la lubricación del límite del epitelio vaginal

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al control de la salud vaginal. En particular, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, y los métodos de uso de las mismas, incluyendo para el tratamiento de enfermedades asociadas con la lubricación del límite comprometida en la superficie vaginal (por ejemplo, epitelio).

10

## ANTECEDENTES

El gen del proteoglucano 4 (*prg4*) codifica unas proteínas altamente glucosiladas denominadas factor estimulante de megacariocitos (MSF), lubricina, y proteína de la zona superficial (SZP). La lubricina se aisló por primera vez del fluido sinovial y demostró una capacidad lubricante *in vitro* similar a la del fluido sinovial en la interfase vítrea-cartilaginosa. Posteriormente se identificó a la lubricina como un producto de los fibroblastos sinoviales. También se han descrito oligosacáridos de  $\beta(1-3)$ Gal-GalNAc con enlace O dentro de un dominio similar a mucina largo de 940 aminoácidos, codificada por el exón 6. La SZP se localizó por primera vez en la superficie de un explante de cartílago de la zona superficial y se aisló de medio condicionado. Estas moléculas (así como los proteoglucanos con enlace O de las mismas) se mencionan de forma colectiva en el presente documento como PRG4. Se ha mostrado que PRG4 está presente en la superficie sinovial, el tendón y el menisco, pero no hay descripción del uso de PRG4 como un lubricante en la vagina.

20

El documento US2003/0059489 divulga una composición para lubricación genital.

25

## SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona, en diversas realizaciones, composiciones farmacéuticas, y métodos de uso de las mismas, para controlar la lubricación vaginal, incluyendo el reemplazamiento y enriquecimiento terapéutico de moléculas lubricantes del límite en el epitelio vaginal. En determinadas realizaciones de la presente invención se describe la observación de que el ARNm de PRG4 se expresa en células epiteliales de la vagina y del cuello uterino del ratón, indicando que la proteína PRG4 se secreta por estos tejidos en el epitelio vaginal. La Figura 1 ilustra la expresión del ARNm del PRG4 humano, tal como se demuestra mediante electroforesis en agarosa después de la amplificación en tejido vaginal y cervical. Se verificó el ARNm a través de secuenciación. La Figura 2 ilustra la expresión del ARNm de PRG4 en diversas células epiteliales de ratón. Las muestras amplificadas se exploraron para la presencia de productos de PRG4 mediante el uso de electroforesis en gel de agarosa. Las líneas verticales 6-8 contienen ARNm amplificado verificado de PRG4 de tejidos vaginales de 3 ratones distintos.

35

En determinados casos de la presente invención se describe la observación de que el papel de la secreción de la proteína PRG4 en el epitelio vaginal es para proteger la cavidad vaginal contra fuerzas de rozamiento significativas generadas durante las relaciones, el nacimiento, y otras afecciones no deseadas. Además, en algunos casos de la presente invención, se describe la observación de que los mecanismos moleculares de la lubricación del límite que se encuentra en cartílago, incluyendo la capacidad de los componentes secretados de mediar estrés de rozamiento en presencia de carga dinámica, son probablemente útiles cuando se utilizan para lubricar el epitelio vaginal.

40

45

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica adecuada para aplicación tópica en la superficie vaginal de un paciente de una preparación que contiene una cantidad terapéutica de una concentración terapéuticamente efectiva de una proteína PRG4 (incluyendo por ejemplo, un proteoglucano PRG4 con enlaces O) suspendida en un gel, solución salina acuosa equilibrada osmóticamente, emulsificación multifásica, o encapsulada dentro de dispositivos de liberación lenta.

50

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende además una concentración terapéuticamente efectiva de uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, un agente que proporciona un beneficio vaginal y/o tiene eficacia cuando se administra vaginalmente. En determinadas realizaciones, un agente adicional, incluye, pero no se limita a, un andrógeno o análogo de andrógeno, en el que el andrógeno o análogo de andrógeno es un derivado de  $17\alpha$ -metil- $17(\beta$ -hidroxi-2-oxa- $5\alpha$ -androstan-3-ona, estrógeno o análogo de estrógeno, un andrógeno sustituido con nitrógeno, un estrógeno sustituido con nitrógeno, un derivado de testosterona, un derivado de estrógeno, un derivado de  $4,5\alpha$ -dihidrotestosterona, un derivado de  $19$ -nortestosterona, un derivado de  $17\beta$ -hidroxi- $5\alpha$ -androstan-3-ona que contiene una insaturación en el anillo A, o es de una subclase estructural de andrógenos que comprenden compuestos androgénicos con características estructurales inusuales. O la preparación contiene compuestos moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SARM), que son de aril-propionamida (por ejemplo, S-3-(4-acetilamino-fenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida [S-4], o S-3-(4-fluorofenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida [S-1]), hidantoína bicíclica, quinolina, y análogos de tetrahidroquinolina que tienen la actividad androgénica y actividad anabólica *in vivo* de un ligando no esteroideo para el receptor de andrógenos, compuestos moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), que son los ligandos no esteroideos del receptor de estrógenos que son

60

65

capaces de inducir una serie de cambios conformacionales en el receptor y de ese modo provocan una variedad de perfiles biológicos distintos, antagonistas de estrógenos (esteroideos, no esteroideos) sin importar la afinidad para el receptor, inhibidores de aromataasa antiproteasas, antagonistas de citocinas proinflamatorias (por ejemplo, anticuerpo anti-TNF $\alpha$ , receptor TNF $\alpha$  soluble, antagonista de receptor de IL-1), inhibidores de la liberación de citocinas, inhibidores de NF- $\kappa$ B, citocinas antiinflamatorias (por ejemplo, TGF- $\beta$ ), otros agentes antiinflamatorios (por ejemplo, ciclosporina A, ácidos grasos omega 3 y 6), o inhibidores del proteasoma.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende además una concentración terapéuticamente efectiva de uno o más agentes terapéuticos adicionales, que incluyen pero no se limitan a, hialuronato de sodio, ácido hialurónico, y fosfolípidos. Los fosfolípidos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, L- $\alpha$ -dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomiolina.

En determinadas realizaciones la composición farmacéutica de la presente invención además comprende una concentración terapéuticamente efectiva de compuestos que promueven el crecimiento epitelial y la morfología apropiada, incluyendo estrógeno, progesterona, hormona estimuladora del folículo, hormona luteinizante, u otras moléculas para promover el crecimiento epitelial.

La presente invención proporciona un método para tratar una deficiencia en la lubricación vaginal o síntomas asociados con la misma. Dicho método comprende la administración por vía tópica a la superficie vaginal de un paciente que lo necesite la composición farmacéutica de la presente invención. Los síntomas de deficiencia de la lubricación vaginal incluyen, sequedad vaginal, picor vaginal o una sensación de quemazón, relaciones sexuales dolorosas, y sangrado vaginal ligero después de las relaciones.

En determinadas realizaciones, la presente invención comprende además un método para abordar y tratar las afecciones asociadas con la lubricación vaginal desfavorable o deficiente. Las afecciones ejemplares incluyen, pero no se limitan a, atrofia vaginal, dispareunia, síndrome de Sjögren, menopausia, deficiencia en andrógenos, deficiencia en estrógenos, terapia de reemplazamiento de estrógenos, alergia, inflamación crónica, menopausia, menopausia prematura, quimioterapia, lactancia, extirpación quirúrgica de los ovarios antes de la menopausia, esclerosis por liquen genital, vulvodinia, vaginosis bacteriana, herpes, *Candida*, psoriasis, dermatitis de contacto, condiloma, efectos secundarios de medicaciones y envejecimiento.

La presente invención proporciona un método para aumentar la lubricación del límite durante las relaciones que comprende unir moléculas lubricantes del límite a la superficie de profilácticos y/o dentro de dispositivos implantables eluyentes, usando el complemento para reemplazar la lubricación del límite a lo largo del curso del roce; por ejemplo, el complemento de PRG4 y/o ácido hialurónico en presencia de una superficie profiláctica recubierta de PRG4.

En algunas realizaciones, la composición terapéutica comprende fosfato salino tamponado, ácido hialurónico, hialuronato de sodio, o combinaciones de los mismos.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción de las realizaciones preferidas de la misma y de las reivindicaciones.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones anexas. Se obtendrán un mejor entendimiento de las características y ventajas de la presente invención por medio de referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las se utilizan los principios de la invención, y los dibujos anexos de los cuales:

La Figura 1 ilustra la expresión del ARNm del PRG4 humano, y se demuestra mediante electroforesis en agarosa después de la amplificación en tejido vaginal y de cuello uterino. Se verificó el ARNm a través de secuenciación.

La Figura 2 ilustra la expresión del ARNm de PRG4 en diversas células epiteliales de ratón. Las muestras amplificadas se exploraron para la presencia de productos de PRG4 mediante el uso de electroforesis en gel de agarosa. Las líneas verticales 6-8 contienen ARNm amplificado verificado de PRG4 de tejidos vaginales de 3 ratones distintos.

La Figura 3 ilustra una secuencia de aminoácidos de PRG4 así como secuencias de ácidos nucleicos de cebadores para la amplificación del ARNm de PRG4.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Mientras que se muestran y se describen realizaciones preferidas de la presente invención en el presente documento, será obvio para aquellos expertos en la materia que dichas realizaciones se proporcionan únicamente a modo de ejemplo. Se darán numerosas variaciones, cambios, y sustituciones para aquellos expertos en la materia sin apartarse de la invención. Debe entenderse que pueden emplearse diversas alternativas a las realizaciones de la invención que se describe en el presente documento en la práctica de la invención. Se pretende que las siguientes

reivindicaciones definen el alcance de la invención y que los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes estén cubiertos por las mismas.

La importancia funcional de *prg4* se mostró mediante mutaciones que causan el síndrome de la enfermedad de camptodactilia-artropatía-coxa-vara-pericarditis (CACP) en humanos. La CACP se manifiesta mediante camptodactilia, artropatía no inflamatoria, y sinovitis hipertrófica, con deformidad de coxa vara, pericarditis, y efusión pleural. También, en los ratones nulos para PRG-4, se observó el deterioro del cartílago y la posterior insuficiencia articular. Por lo tanto, la expresión de PRG4 es un componente necesario de la salud de las articulaciones sinoviales.

PRG4 es un miembro de la familia de la mucina, los cuales generalmente son abundantes en revestimientos epiteliales y proporcionan numerosas funciones, incluyendo la lubricación y protección de los microorganismos invasores. Las propiedades funcionales de las mucinas se determinan generalmente mediante patrones de glucosilación especializados y su capacidad de formar multímeros a través de enlaces disulfuro intermoleculares, ambos de los cuales se alteran en enfermedades crónicas (por ejemplo, asma). La caracterización bioquímica de PRG4 aislado del fluido sinovial mostró heterogeneidad molecular en la O-glucosilación, que parece mediar las propiedades lubricantes. Los datos preliminares del PRG4 del fluido sinovial bovino han revelado la presencia de dímeros en enlaces disulfuro, además de las formas monoméricas, predichas a partir de los dominios ricos en cisteína conservados tanto en el extremo N como en el C terminal, junto con una cisteína desapareada en el extremo C terminal.

Los modos fisicoquímicos de lubricación se han clasificado como de película o límite de fluido. Los modos operativos de lubricación dependen de las fuerzas normales y tangenciales en los tejidos articulados, de la velocidad relativa del movimiento tangencial entre estas superficies, y de la evolución temporal tanto de la carga como del movimiento. El coeficiente de fricción,  $\mu$ , proporciona una medida cuantitativa, y se define como la velocidad de fricción tangencial con respecto a la fuerza normal. Un tipo de modo de lubricación mediada por fluidos es el hidrostático. En la aparición de una carga y típicamente durante una duración prolongada, el fluido intersticial se presuriza, debido a la naturaleza bifásica del tejido; el fluido puede forzarse en las asperezas entre las superficies articulares a través de un mecanismo de infiltración. El fluido intersticial presurizado y los conjuntos lubricantes atrapados pueden por lo tanto contribuir significativamente a soportar la carga normal con baja resistencia a la fuerza de rozamiento, facilitando un  $\mu$  muy bajo. También, en la aparición de la carga y/o movimiento, se da la película de compresión, de tipo hidrodinámico y elastohidrodinámico fluido, con la presurización, movimiento, y deformación que actúa para dirigir el lubricante viscoso y/o a través del hueco entre dos superficies en movimiento relativo.

En algunos casos, el grado relevante al cual se da la presión/película frente a la lubricación del límite del fluido depende de una serie de factores. Cuando la película lubricante fluye entre las superficies deslizantes conformantes, las cuales pueden deformarse elásticamente, se da la lubricación elastohidrodinámica. La presión, rugosidad de la superficie, y velocidad relativa determinan cuándo la lubricación fluida completa comienza a romperse y la lubricación entra en nuevos regímenes. En tanto la velocidad disminuye más, las películas lubricantes de las superficies articuladas comienzan a contribuir y se da un régimen de lubricación mixto. Si la velocidad disminuye aún más y solamente permanece una capa lubricante ultra-fina compuesta de unas pocas moléculas, se da la lubricación del límite. En determinados casos, un modo de lubricación del límite se indica por lo tanto mediante un coeficiente de fricción (relación de la fuerza de fricción medida entre dos superficies en contacto en movimiento con respecto a la fuerza normal aplicada) durante el deslizamiento estacionario siendo invariable con factores que influyen en la formación de una película de fluido, tales como la velocidad de deslizamiento relativa y la carga axial. Para determinados tejidos del cuerpo, tales como el cartílago articular, se ha concluido que se da la fricción del límite, y se complementa mediante presurización del fluido y otros mecanismos. No se ha perseguido anteriormente el uso de agentes para la lubricación del límite intravaginal, sin embargo, debido, por ejemplo, a los modos dominantes de lubricación intravaginal se ha asumido que esta es hidrodinámica y elastohidrodinámica. Además, los tratamientos para la capacidad de lubricación vaginal comprometida se han centrado tradicionalmente en la lubricación de fase fluida viscosa o hidratación con polímeros de cadena larga tales como policarbofilos, polietilenglicoles, y glicerina.

En la lubricación del límite, la carga se soporta mediante contacto superficie con superficie, y las propiedades de fricción asociadas se determinan por moléculas de superficie lubricante. En determinados casos, este modo puede ser importante debido a que la superficie de tejido opuesta hace contacto sobre ~ 10 % del área total, y esta puede ser donde se da la mayor parte de la fricción. Además, en algunos casos, con un tiempo de carga en aumento y la disipación de la presión hidrostática, las superficies recubiertas de lubricantes soportan una porción cada vez mayor de la carga relativa con respecto al fluido presurizado, y por consiguiente, este modo puede volverse cada vez más dominante. En determinados casos, la lubricación del límite mitiga las oscilaciones de relajación, y por lo tanto se manifiesta como la resistencia disminuida tanto del movimiento estacionario como del movimiento de puesta en marcha. En algunos casos, la última situación es relevante para cargar las superficies de apoyo después de la carga compresiva prolongada (por ejemplo, sentado o de pie *in vivo*). Los patrones de desgaste de las superficies articulares, tales como el cartílago, también ilustran eso en algunos casos, la lubricación del límite es importante para la protección y el mantenimiento de la estructura del tejido. En algunos casos, la carga del epitelio vaginal está sujeta a (por ejemplo, dominada por) fuerzas de rozamiento, con las relaciones que generan un estrés significativo sobre las células de la superficie. Además, en estados de la enfermedad que regulan negativamente la producción

de lubricantes en la vagina o actúan para la atrofia de las células epiteliales, el estrés de rozamiento rutinario no derivado de las relaciones puede plantear también un fuerte riesgo de degradación e inflamación. La atrofia grave o sequedad iatrogénica causada por los tratamientos para el cáncer tales como el tamoxifeno, las antihistaminas, el tratamiento para infecciones del tracto urinario, antidepresivos, o medicación para la hipertensión también pueden hacer que los niveles de estrés de rozamiento, independientes de las relaciones, sean dolorosos.

En algunos casos, la acumulación de PRG4 en el fluido entre las superficies articulares, así como su propensión a unirse espontáneamente a la matriz tisular, contribuye a la capacidad lubricante de PRG4.

En determinadas realizaciones que se describen en el presente documento, se divulga que el proteoglicano 4 (PRG4) juega un papel como un lubricante del límite a lo largo de las paredes de la cavidad vaginal. En algunas realizaciones, esta glucoproteína (PRG4) protege las superficies vaginales contra las fuerzas de fricción, adhesión celular y/o deposición celular. Una cualquiera o más de diversas proteínas e isoformas nativas y recombinantes de lubricina se utilizan en diversas realizaciones que se describen en el presente documento. Por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 5.326.558, 6.433.142; 7.030.223, y 7.361.738 divulgan una familia de factores estimuladores de megacariocitos (MSF), las patentes de EE.UU. N.º 6.960.562 y 6.743.774 también divulgan un polipéptido lubricante, tribonectina, que comprende un fragmento sustancialmente puro de MFS.

En determinadas realizaciones del presente documento se proporciona un método para tratar la deficiencia de la lubricación vaginal (por ejemplo, deficiencia de la lubricación del límite vaginal) (o mejorar la lubricación vaginal), o síntomas asociados al mismo, en un individuo que necesita del mismo que comprende de la administración por vía tópica a la superficie vaginal del individuo de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína PRG4. También dado que en algunas realizaciones del presente documento hay composiciones farmacéuticas que comprenden la proteína PRG4 en una formulación vaginalmente aceptable (vaginalmente aceptable se define como las formulaciones que no causan incomodidad indebida, dolor, alergia, inflamación, o calor), por ejemplo, para tratar la deficiencia de la lubricación vaginal (por ejemplo, deficiencia de la lubricación del límite vaginal) (o mejorar la lubricación vaginal). En algunas realizaciones, una formulación vaginalmente aceptable comprende un demulcente, un astringente, un emoliente, o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones se usa la composición para tratar o recubrir un dispositivo profiláctico o administrarse por medio de un dispositivo implantable eluyente (por ejemplo, un anillo eluyente). En algunas realizaciones, dicha administración se alcanza mediante la administración de un dispositivo implantable eluyente, eluyendo después el dispositivo implantable una cantidad terapéuticamente efectiva de PRG4. En determinadas realizaciones, se utiliza un dispositivo implantable eluyente para proporcionar una terapia prolongada.

En algunas realizaciones de la presente invención se proporcionan composiciones farmacéuticas, y los métodos de uso de las mismas, para tratar una deficiencia en la lubricación vaginal en el epitelio vaginal (por ejemplo, de una deficiencia, tal como lubricación del límite vaginal disminuida o no deseada). Una composición farmacéutica de determinadas realizaciones de la presente invención comprende una proteína PRG4 aislada o purificada (por ejemplo, suspendida en una solución salina vaginal equilibrada) en combinación con uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en un demulcente, excipiente, astringente, vasoconstrictor, y emoliente. En algunas realizaciones, cualquier composición farmacéutica proporcionada en el presente documento además comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados del grupo que consiste en hialuronato de sodio, fosfolípidos tensioactivos, y electrolitos en un vehículo farmacéuticamente aceptable para la administración tópica.

La presente invención proporciona, en determinadas realizaciones, un enfoque novedoso para controlar la lubricación vaginal, incluyendo el reemplazamiento terapéutico y enriquecimiento de moléculas lubricantes del límite de la superficie vaginal. La presente invención dispone que PRG4 se sintetiza por las células epiteliales de la vagina y después se secreta en la superficie vaginal. Además, la presente invención dispone que PRG4 ejerce un papel análogo en la superficie vaginal y protege a las superficies epiteliales de la vagina contra fuerzas de rozamiento significativas que se generan durante las relaciones, o en estos estados de enfermedad u otros factores iatrogénicos que comprometen sus capacidades lubricantes del límite.

Existe una necesidad de controlar la lubricación vaginal y proteger el epitelio vaginal contra las fuerzas de rozamiento (incluyendo las fuerzas de rozamiento significativas) e incomodidad generada por las afecciones no deseables que se describen en el presente documento, incluyendo, a modo de ejemplo no limitante, la atrofia vaginal, disparemia, síndrome de Sjögren, deficiencia en andrógenos, deficiencia en estrógenos, terapia de reemplazamiento de estrógenos, alergia, inflamación crónica, menopausia, menopausia prematura, quimioterapia, lactancia, extirpación quirúrgica de los ovarios antes de la menopausia, esclerosis por liquen genital, vulvodinia, vaginosis bacteriana, herpes, *Candida*, psoriasis, dermatitis de contacto, condiloma, efectos secundarios de medicaciones y envejecimiento. Los síntomas o indicaciones de deficiencia de la lubricación vaginal incluyen, a modo de ejemplo no limitante, sequedad vaginal, picor vaginal o una sensación de quemazón, relaciones sexuales dolorosas y sangrado vaginal ligero después de las relaciones.

Una deficiencia en la lubricación vaginal y los síntomas asociados con la misma pueden determinarse mediante cualquier método adecuado. En algunos casos, una deficiencia en la lubricación vaginal y los síntomas asociados

con la misma se define bien cualitativamente (por ejemplo, una sensación de poca lubricación, incomodidad, sequedad vaginal, picor vaginal o una sensación de quemazón, relaciones sexuales dolorosas y sangrado vaginal ligero después de las relaciones, etc.) o cuantitativamente (por ejemplo, medidas a través de ensayos mecánicos, bioquímicos, eléctricos, ópticos u otros métodos de ensayo cuantitativos).

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones y métodos para la modulación de la regulación de PRG4 en la superficie vaginal para promover condiciones favorables para la lubricación del límite apropiada. Una composición farmacéutica de determinadas realizaciones de la presente invención comprende una proteína PRG4 aislada o purificada en combinación con uno o más de los siguientes agentes farmacéuticos, incluyendo, una cantidad terapéuticamente efectiva de un análogo de estrógeno o andrógeno, estrógeno o análogo de estrógeno, oestradiol, modulador selectivo del receptor de andrógenos, modulador selectivo del receptor de estrógenos, antagonista de estrógenos, inhibidor de aromataasa, antiproteasa, antagonista de citocinas proinflamatorias, inhibidor de la liberación de citocinas, citocina antiinflamatoria (por ejemplo, TGF- $\beta$ ), agente antiinflamatorio (por ejemplo, ciclosporina A, ácidos grasos omega 3 y 6), inhibidor de NF- $\kappa$ B, o inhibidor del proteasoma, ácido hialurónico, lípidos neutros o polares, ácidos grasos, progesterona, hormona estimuladora del folículo, hormona luteinizante, u otras moléculas para promover el crecimiento epitelial y vehículos farmacéuticamente aceptables para uso tópico.

En una realización, el análogo de andrógeno o estrógeno se selecciona del grupo que consiste en un derivado de 17 $\alpha$ -metil-17( $\beta$ -hidroxi-2-oxa-5 $\alpha$ -androstan-3-ona un andrógeno sustituido con nitrógeno, un derivado de testosterona (es decir, una molécula de anillo central de testosterona con las cadenas laterales modificadas, tal como por la adición o sustracción del amino, hidroxilo, hidrógeno, metilo, oxígeno u otros grupos para afectar a la estabilidad o solubilidad, así como la adición o sustracción de una saturación dentro de la estructura del anillo para modificar la estabilidad o solubilidad), un derivado de 4,5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, un derivado de 19-nortestosterona, un derivado de 17 $\beta$ -hidroxi-5 $\alpha$ -androstan-3-ona que contiene una insaturación en el anillo A, y una subclase estructural de andrógenos que comprenden compuestos androgénicos con características estructurales inusuales, y un fosfato salino tamponado o una sustancia transportadora tal como el hialuronato para uso tópico. Cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable y/o excipientes adecuados para el uso tópico están dentro del alcance de la invención.

En otra realización, los moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SARM) se seleccionan de un grupo que consiste en aril-propionamida (por ejemplo, S-3-(4-acetilamino-fenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida [S-4], o S-3-(4-fluorofenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida [S-1]), hidantoína bicíclica, quinolina, y análogos de tetrahidroquinolina que tienen la actividad androgénica y actividad anabólica *in vivo* de un ligando no esteroideo para el receptor de andrógenos,

En otra realización más, los moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SERM) son ligandos no esteroideos del receptor de estrógenos que son capaces de inducir una serie de cambios conformacionales en el receptor y provocar una variedad de perfiles biológicos distintos. Preferentemente, los SERM son aquellos que previenen la inflamación inducida por estrógenos en superficies tisulares vaginales. En una determinada realización preferida más, los antagonistas de estrógenos son compuestos esteroideos o no esteroideos sin importar las afinidades del receptor.

En una realización, el antagonista de citocinas proinflamatorias se selecciona del grupo que consiste en el anticuerpo anti-TNF $\alpha$ , receptor TNF $\alpha$  soluble, y antagonista de receptor de IL-1.

En otra realización más, el estrógeno o la progesterona incluyen terapias de reemplazamiento hormonal comercialmente disponibles, incluyendo, Estrace, Premarina y Estring.

En algunas realizaciones, se formula el PRG4 aislado o purificado para uso vaginal, por ejemplo, con un excipiente vaginalmente aceptable. En determinadas realizaciones, las composiciones que se describen en el presente documento se formulan para suministrar una cantidad efectiva de PRG4 a la vagina de un individuo que necesite del mismo. En algunas realizaciones, la composición se formula como una formulación tópica, tal como una crema, un bálsamo, una solución, una suspensión, una pasta, una pomada, o similares. La administración de dicha composición se consigue por cualquier modo adecuado, mediante un enema, ducha, manual, pulverización, supositorio, dispositivo impregnado, aplicador, o similares. En varias realizaciones, la administración se realiza en un área siempre según sea necesario, por ejemplo, la superficie exterior de la vagina, la superficie interior de la vagina, o partes y/o combinaciones de estos. En algunas realizaciones, el PRG4 se formula para la liberación extendida o prolongada, tal como en un supositorio, o en un tampón impregnado con una formulación de liberación extendida.

#### 60 *Profilácticos Recubiertos*

En determinadas realizaciones la presente invención proporciona un profiláctico que comprende PRG4 o cualquier composición farmacéutica de PRG4. También, se describen en el presente documento métodos para tratar un profiláctico que comprenden depositar (por ejemplo, unir, recubrir, o similar) PRG4 o cualquier composición farmacéutica de PRG4 que se describe en el presente documento a la superficie del profiláctico. La deposición de PRG4 en el profiláctico se alcanza de cualquier modo adecuado, tal como recubriéndolo (por ejemplo, en una

- composición adecuada), uniéndose mediante enlace covalente, asociándose a través de interacciones hidrófobas o iónicas, o similares. También se proporcionan en el presente documento otros dispositivos vaginales (por ejemplo, tampón) que tienen PRG4 depositado sobre los mismos. En algunas realizaciones, la deposición del PRG4 en el dispositivo reduce la irritación causada por dicho dispositivo, particularmente en un individuo que padece lubricación vaginal disminuida (por ejemplo, lubricación del límite vaginal disminuida).
- Otra realización más comprende además complementar al profiláctico con la administración tópica de una cantidad efectiva de PRG4 o cualquier composición farmacéutica que se describe en el presente documento.
- Un método para proporcionar lubricación durante las relaciones que comprende la administración tópica a la superficie vaginal, la superficie del pene, de una cantidad efectiva de PRG4 o cualquier composición farmacéutica que se describe en el presente documento.
- La administración de PRG4 se logra por cualquier modo adecuado, tal como a través de administración tópica, administración con una crema, gel, solución, o cualquier otra composición extensible. En algunas realizaciones, la administración se alcanza con un dispositivo implantable, tal como un tampón impregnado con PRG4 o la composición de PRG4. En algunas realizaciones, el PRG4 se combina con otro lubricante personal, o composición lubricante personal, por ejemplo, con base de vaselina, tal como K-Y Gel.
- Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan un lubricante personal que aumenta las posibilidades de concepción manteniendo o aumentando la movilidad del espermatozoides que se pone en contacto con el mismo, comprendiendo la aplicación en la vagina de una paciente que lo necesite, una cantidad efectiva de PRG4 o cualquier composición farmacéutica que se describe en el presente documento. Numerosos lubricantes comercialmente disponibles contienen ingredientes tales como la glicerina que son espermicidas e impiden la movilidad del espermatozoides. En algunos casos, PRG4, un componente normal del fluido vaginal, puede jugar un papel en el mantenimiento de la motilidad del espermatozoides y promover la concepción. En otra realización, un lubricante personal o cualquier otra composición que se describe en el presente documento comprende un aditivo, por ejemplo, un aditivo para liberar óxido nítrico tal como precursores naturales del óxido nítrico tal como aminoácidos, por ejemplo L-arginina, citrulina y ácido aspártico. Dichos aditivos pueden inducir un efecto de calentamiento después de la aplicación del lubricante en la vagina aumentando así la sensación vaginal. Además, la liberación del ácido nítrico puede tener el efecto de mantener o aumentar la motilidad del espermatozoides. Como tales, la inclusión de compuestos que liberan óxido nítrico puede aumentar o maximizar las probabilidades de concepción.
- En una realización, la composición farmacéutica descrita en el presente documento tiene un pH de 2,4 a 7,8, de 5,8 a 7,4; o de 6,5 a 7,4.
- Tal como se usa en el presente documento, el término "profilácticos" se refiere a dispositivos que se usan para la prevención del embarazo, incluyendo preservativos masculinos y femeninos.
- Tal como se usa en el presente documento, el término "PRG4", o las expresiones "proteína PRG4" o proteína de "proteoglucano 4", se usan indistintamente con el término proteína "lubricina". PRG4 se usa en el presente documento también para abarcar la expresión factor estimulador de megacariocitos (MSF), que se ha aceptado por la de la base de datos UCL/HGNC/HUGO Human Gene Nomenclature, y proteína de la zona superficial (SZP). La proteína PRG4 o lubricina (usada indistintamente en el presente documento con proteoglucano de lubricina) tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquiera de las proteínas de lubricina nativas o recombinantes aisladas o purificadas, homólogos, fragmentos funcionales o motivos, isoformas y/o combinaciones de estos. En determinadas realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos para una proteína lubricina nativa o recombinante humana. En otras realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos codificada por los exones del gen prg4 que codifica las estructuras primarias de la proteína PRG4 de longitud completa o de sus isoformas. El gen del proteoglucano 4 (prg4) contiene 12 exones. La proteína PRG4 que se usa en el presente documento comprende una secuencia de aminoácidos codificada por los exones 1-12 del gen prg4, más preferentemente, los exones 6-12, y más preferentemente, los exones 9-12.
- Tal como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 incluye cualquiera de las proteínas PRG4 que se conocen actualmente, o que se describan después. En determinadas realizaciones, una secuencia de aminoácidos preferida de la proteína PRG4 se proporciona en SEC ID N°:1. La proteína PRG4 comparte la estructura primaria de aminoácidos de cualquiera de las proteínas PRG4 conocidas o isoformas con al menos el 60 % de homología, preferentemente el 75 % de homología, más preferentemente el 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más homología. En determinadas realizaciones, una proteína PRG4 preferida tiene una masa molecular media de entre 50 kDa y 400 kDa, que comprende una o más porciones biológicamente activas de la proteína PRG4, o fragmentos funcionales, tales como un fragmento lubricante, o un homólogo del mismo.
- Tal como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 comprende una porción biológicamente activa de la proteína. Tal como se usa en el presente documento, una "porción biológicamente activa" de la proteína PRG4 incluye un fragmento funcional de una proteína que comprende secuencias de aminoácidos con la suficiente

homología, o derivadas de, la secuencia de aminoácidos de la proteína, que incluyen menos aminoácidos que la proteína de longitud completa, y muestran al menos una actividad de la proteína de longitud completa. Típicamente una porción biológicamente activa comprende un dominio funcional o motivo con al menos una actividad de la proteína. Una parte biológicamente activa de una proteína puede ser un polipéptido que es de, por ejemplo, 10, 25, 50, 100, 200, o más aminoácidos de longitud. En una realización, una porción biológicamente activa de la proteína PRG4 puede usarse como solo un agente terapéutico o en combinación con otros agentes terapéuticos para tratar la lubricación disminuida o no deseable del límite vaginal.

En otra realización más, los fragmentos funcionales, multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, etc.), homólogos u ortólogos de PRG4 se usan en la composición. Los fragmentos funcionales y homólogos de PRG4 incluyen aquellos con menos repeticiones dentro del dominio de repetición central similar a mucina KEPAPTT, formas glucosiladas y no glucosiladas de la proteína, variantes de corte y empalme, formas recombinantes, y similares. Un fragmento lubricante de PRG4 muestra al menos el 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 95 % del efecto lubricante del PRG4 humano, tal como se mide cualitativamente, mecánicamente, ópticamente, eléctricamente, o mediante un ensayo bioquímico.

Las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos de varias proteínas PRG o de lubricina nativas y recombinantes, y la caracterización de las proteínas PRG4 y diversas isoformas se divulgan en, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N° 5.326.558, 6.433.142; 7.030.223; 7.361.738 a Turner *et al.*, y las patentes de EE.UU. N° 6.743.774 y 6.960.562 a Jay *et al.* La publicación de EE.UU. N° 20070191268 a Flannery *et al.* también divulga moléculas recombinantes de PRG4 o lubricina útiles en la presente invención.

Los métodos para el aislamiento, purificación, y la expresión recombinante de una proteína PRG4 se conocen bien en la técnica. En determinadas realizaciones, el método comienza con la clonación y aislamiento del ARNm y ADNc que codifica las proteínas o isoformas de PRG4 usando técnicas convencionales de biología molecular, tales como PCR o RT-PCR. El ADNc aislado que codifica la proteína o isoforma de PRG4 se clona después en un vector de expresión, y se transforma adicionalmente y se expresa en una célula hospedadora para producir una proteína PRG4 recombinante.

Tal como se usa en el presente documento, "recombinante" se refiere a un polinucleótido sintetizado o modificado genéticamente *in vitro* de otro modo (por ejemplo, "polinucleótido recombinante"), a métodos para usar los polinucleótidos recombinantes para producir productos génicos en células u otros sistemas biológicos, o a un polipéptido ("proteína recombinante") codificada por un polinucleótido recombinante. "Recombinante" también abarca el ligamiento de los ácidos nucleicos que tienen varias regiones codificantes o dominios o secuencias promotoras de distintas fuentes en un casete o vector de expresión para la expresión, por ejemplo, de la expresión inducible o constitutiva de una proteína de fusión que comprende un dominio activo del gen PRG4 y una secuencia de ácidos nucleicos amplificados usando un cebador de la invención.

En determinadas realizaciones, el ácido nucleico codificante de PRG4 puede contener una o más mutaciones, deleciones, o inserciones. En dichas realizaciones, la proteína PRG4 que codifica el ácido nucleico tiene al menos el 60 % de homología, preferentemente el 75 % de homología, más preferentemente el 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más homología, con respecto a un ácido nucleico que codifica una proteína PRG4 de tipo silvestre.

Tal como se usa en el presente documento, el término "ADNc" incluye ADN que es complementario a moléculas de ARNm presentes en un ARNm de una célula u organismo que pueden convertirse en ADNc mediante una enzima, tal como transcriptasa inversa. En determinadas realizaciones, el ADNc que codifica la proteína PRG4 se aísla de ARNm de PRG4 que se expresa en células epiteliales de la córnea o la conjuntiva humana usando un método de RT-PCR que se conoce bien en la técnica.

Tal como se usan en el presente documento, los términos "polinucleótido", "ácido nucleico/nucleótido" y "oligonucleótido" se usan indistintamente, e incluyen formas poliméricas de nucleótidos de cualquier longitud, bien desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional, y pueden realizar cualquier función, conocida o desconocida. Los siguientes son ejemplos no limitantes de polinucleótidos: un gen o fragmento génico, exones, intrones, ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADN, ADNc, ADN genómico, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácidos nucleicos, y cebadores. Los polinucleótidos pueden ser de origen natural, sintético, o cualquier combinación de los mismos.

Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. Si están presentes, las modificaciones de la estructura de los nucleótidos pueden transmitirse antes o después del ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede interrumpirse mediante componentes no nucleotídicos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, tal como mediante conjugación con un componente de marcaje. El término también incluye tanto moléculas bicatenarias como monocatenarias. A menos que se especifique o se requiera de otro modo, cualquier realización de esta invención

que sea un polinucleótido abarca tanto la forma bicatenaria como las dos formas monocatenarias complementarias conocidas o predichas para constituir la forma bicatenaria.

5 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "secuencia de polinucleótidos" es la representación alfabética de una molécula de polinucleótido. Un polinucleótido está compuesto de una secuencia específica de cuatro bases nucleotídicas: adenina (A); citosina (C); guanina (G); timina (T); y uracilo (U) en lugar de timina cuando el polinucleótido es ARN, en lugar de ADN. Esta representación alfabética puede introducirse en bases de datos en un ordenador y usarse para aplicaciones bioinformáticas tales como, por ejemplo, búsquedas de genómica funcional y homología.

10 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "polinucleótido/ADNc aislado" incluye moléculas de polinucleótidos que están separadas de otras moléculas de polinucleótidos que están presentes en la fuente natural del polinucleótido. Por ejemplo, con respecto al ADN genómico, el término "aislado" incluye moléculas de polinucleótidos que están separadas del cromosoma con el cual se asocia el ADN genómico de manera natural. 15 Preferentemente, un polinucleótido "aislado" está libre de secuencias que flanquean naturalmente el ácido nucleico (es decir, secuencias localizadas en los extremos 5' y 3' del polinucleótido de interés) en el ADN genómico del organismo del cual deriva el polinucleótido. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la molécula de polinucleótido aislada que codifica la proteína PRG4 que se usa en la invención puede contener menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de las secuencias de nucleótidos que flanquean naturalmente la molécula de polinucleótido en el ADN genómico de la célula de la cual deriva el polinucleótido. Además, una molécula de polinucleótido "aislado", tal como una molécula de ADNc, puede estar sustancialmente libre de otro material celular o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros compuestos químicos cuando se sintetiza químicamente.

25 Tal como se usa en el presente documento, un "gen" incluye un polinucleótido que contiene al menos una fase de lectura abierta que es capaz de codificar un polipéptido o proteína particular después de transcribirse y traducirse. Cualquiera de las secuencias de polinucleótidos que se describen en el presente documento también puede usarse para identificar fragmentos más largos o secuencias codificantes de longitud completa del gen con el que estos se asocian. Los métodos para aislar fragmentos de secuencias más largos se conocen por aquellos expertos en la materia. 30 Tal como se usa en el presente documento, una molécula de polinucleótidos de "origen natural o nativa" incluye, por ejemplo, una molécula de ARN o ADN que tenga una secuencia de nucleótido que se de en la naturaleza (por ejemplo, codifica a una proteína natural).

35 Tal como se usa en el presente documento, el término "polipéptido" o "proteína" es intercambiable, e incluye a un compuesto de dos o más subunidades de aminoácidos, análogos de aminoácidos, o peptidomiméticos. Las subunidades pueden unirse mediante enlaces peptídicos. En otra realización, la subunidad puede unirse mediante otros enlaces, por ejemplo, éster, éter, etc. Tal como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" incluye bien los aminoácidos naturales y/o aminoácidos no naturales o sintéticos, incluyendo glicina y tanto los isómeros ópticos D y L, y análogos de aminoácidos y peptidomiméticos. Un péptido de tres o más aminoácidos se 40 menciona comúnmente como un oligopéptido. Las cadenas peptídicas de tres o más aminoácidos se mencionan como un polipéptido o una proteína.

45 En determinadas realizaciones, la proteína PRG4 que se usa en el presente documento se refiere a proteínas o diversos homólogos o isoformas de las mismas, y se expresan de forma natural o recombinante en humanos u otras células hospedadoras. Tal como se usa en el presente documento, "expresa" o "expresión" incluye el proceso mediante el cual se transcriben los polinucleótidos en ARN y/o se traducen en polipéptidos. Si el polinucleótido se deriva de ADN genómico, la expresión puede incluir el corte y empalme del ARN, si se selecciona un hospedador eucariota adecuado. Los elementos reguladores requeridos para la expresión incluyen secuencias promotoras para unir la ARN polimerasa y las secuencias de iniciación de la transcripción para la unión a ribosomas. Por ejemplo, un vector de expresión bacteriana incluye un promotor tal como el promotor lac y para la iniciación de la transcripción la secuencia de Shine-Dalgarno y el codón de iniciación AUG. De un modo similar, un vector de expresión eucariota incluye un promotor heterólogo u homólogo para ARN polimerasa II, una señal de poliadenilación cadena abajo, el codón de iniciación AUG, y un codón de terminación para la separación del ribosoma. Dichos vectores pueden obtenerse comercialmente o ensamblarse mediante las secuencias que se describen en los métodos que se 50 conocen bien en la técnica, por ejemplo, los métodos generales para construir vectores que se describen a continuación. Tal como se usa en el presente documento, el término "vector" incluye una molécula auto-replicante de ácido nucleico que transfiere un polinucleótido insertado en y/o entre las células hospedadoras. El término pretende incluir vectores que funcionan principalmente para la inserción de una molécula de ácido nucleico en una célula, los vectores de replicación que funcionan principalmente para la replicación de ácidos nucleicos y vectores de expresión que funcionan para la transcripción y/o traducción del ADN o ARN. También se pretende tener vectores que proporcionen más de una de las funciones anteriores.

60 Tal como se usa en el presente documento, se pretende que una "célula hospedadora" incluya cualquier célula individual o cultivo celular que puede ser, o ha sido, un receptor para vectores o para la incorporación de polinucleótidos y/o polinucleótidos exógenos. También se pretende incluir la descendencia de una sola célula. La descendencia puede no ser necesariamente completamente idéntica (en morfología o en el complemento genómico

o total del ADN) a la célula parental original debido a mutación natural, accidental o deliberada. Las células pueden ser eucariotas o procariotas, que incluyen pero no se limitan a células bacterianas, células de levaduras, células de insectos, células animales, y células de mamífero, que incluyen pero no se limitan a las células murinas, de rata, de simios o humanas. Tal como se usa en el presente documento, una "célula hospedadora" también incluye células genéticamente modificadas. La expresión "células genéticamente modificadas" incluye células que contienen y/o expresan un gen o secuencia de polinucleótido extraña o exógena que a su vez modifica el genotipo o fenotipo de la célula o su descendencia. "Genéticamente modificado" también incluye una célula que contiene o expresa un gen o secuencia de polinucleótidos que se ha introducido en la célula. Por ejemplo, en esta realización, en una célula modificada genéticamente se ha introducido un gen cuyo gen es también endógeno para la célula. La expresión "genéticamente modificada" también incluye cualquier adición, delección, o interrupción con respecto a unos nucleótidos endógenos de la célula. Tal como se usa en el presente documento, una "célula hospedadora" puede ser cualquier célula que exprese una proteína PRG4 humana.

Tal como se usan en el presente documento, los "homólogos" se definen en el presente documento como dos ácidos nucleicos o péptidos que tienen secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos similares o sustancialmente idénticas, respectivamente. El término "homólogo" abarca además moléculas de ácidos nucleicos que difieren de una de las secuencias de nucleótidos debido a degeneración del código genético y por lo tanto codifica las mismas secuencias de aminoácidos. En una de las realizaciones preferentes, homólogos incluye variantes alélicas, ortólogos, parálogos, agonistas, y antagonistas de ácidos nucleicos que codifican la proteína PRG4 (por ejemplo, la SEC ID N°:1, véase, por ejemplo, Figura 3).

Tal como se usa en el presente documento, el término "ortólogos" se refiere a dos ácidos nucleicos de distintas especies, pero que han evolucionado de un ancestro común mediante especiación génica. Normalmente, los ortólogos codifican péptidos que tienen la misma o similares funciones. En particular, los ortólogos de la invención generalmente mostrarán al menos un 80-85 %, más preferentemente un 85-90 % o un 90-95 %, y más preferentemente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o incluso un 99 % de identidad, o yb 100 % de identidad de secuencia, con la totalidad o parte de la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las proteínas PRG4 conocidas (por ejemplo, la SEC ID N°: 1), isoformas, o análogos de las mismas y mostrarán una función similar a estos péptidos. Tal como se usa en el presente documento, el término "parálogos" se refiere a dos ácidos nucleicos que están relacionados mediante duplicación dentro de un genoma. Los parálogos habitualmente tienen distintas funciones, pero estas funciones pueden estar relacionadas.

Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos, se alinean las secuencias para fines de comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de un polipéptido para el alineamiento óptimo con el otro polipéptido o ácido nucleico). Se comparan los dos restos de aminoácidos en las posiciones de aminoácidos correspondientes. Cuando una posición en una secuencia está ocupada por el mismo resto de aminoácidos que el de la posición correspondiente en la otra secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. Puede hacerse el mismo tipo de comparación entre dos secuencias de ácidos nucleicos. El porcentaje de identidad de secuencia entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, porcentaje de identidad de secuencia = números de posiciones idénticas/número total de posiciones x 100). Preferentemente, los homólogos de aminoácidos aislados incluidos en la presente invención son de al menos un 50-60 %, preferentemente de al menos aproximadamente un 60-70 %, y más preferentemente de al menos aproximadamente un 70-75 %, 75-80 %, 80-85 %, 85-90 %, o 90-95 %, y más preferentemente al menos aproximadamente un 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más de identidad con respecto a la secuencia de aminoácidos completa de cualquiera de las proteínas PRG4 conocidas (por ejemplo, la SEC ID N°: 1).

En determinadas realizaciones, un homólogo aislado de ácidos nucleicos que codifica la proteína PRG4 comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente un 40-60 %, preferentemente al menos aproximadamente un 60-70 %, más preferentemente al menos aproximadamente un 70-75 %, 75-80 %, 80-85 %, 85-90 %, o 90-95 %, e incluso más preferentemente al menos aproximadamente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más de identidad con respecto a una secuencia de nucleótidos que codifica secuencias de aminoácidos de dicha proteína PRG4 (por ejemplo, la SEC ID N°:1).

La determinación del porcentaje de identidad de secuencia entre dos ácidos nucleicos o secuencias peptídicas se conoce bien en la materia. Por ejemplo, puede usarse el paquete informático Vector NTI 6.0 (PC) (InforMax, Bethesda, MD) para determinar el porcentaje de identidad de secuencia entre dos ácidos nucleicos o secuencias peptídicas. En este método, se usan una penalización de hueco de 15 y una penalización de extensión de hueco de 6,66 para determinar el porcentaje de identidad de dos ácidos nucleicos. Se usan una penalización de hueco de 10 y una penalización de extensión de hueco de 0,1 para determinar el porcentaje de identidad de dos polipéptidos. El resto de los parámetros se establecen en la configuración por defecto. Para fines de alineamiento múltiple (algoritmo Clustal W), la penalización de hueco es 10, y la penalización de extensión de hueco es 0,05 con la matriz blosum62. Se entenderá que para los fines de determinación de la identidad de secuencia cuando se compara una secuencia de ADN con una secuencia de ARN, un nucleótido de timidina es equivalente a un nucleótido de uracilo.

Además, la proteína PRG4 que se usa en el presente documento incluye la proteína PRG4 codificada por un polinucleótido que hibrida con el polinucleótido que codifica la proteína PRG4 en condiciones rigurosas. Tal como se

usa en el presente documento, "hibridación" incluye una reacción en la que uno o más polinucleótidos reaccionan para formar un complejo que se estabiliza por medio de enlaces de hidrógeno entre las bases de los restos de nucleótidos. El enlace de hidrógeno puede darse mediante emparejamiento de bases de Watson-Crick, unión de Hoogsteen, o cualquier otro modo específico de secuencias. El complejo puede comprender dos cadenas que forman una estructura duplexa, tres o más cadenas que forman un complejo multicatenario, una cadena que hibrida con ella misma, o cualquier combinación de estas. Una reacción de hibridación puede constituir una etapa de un proceso más extenso, tal como la iniciación de una reacción de PCR, o la escisión enzimática de un polinucleótido mediante una ribozima.

Las reacciones de hibridación pueden realizarse en condiciones con distintas restricciones. La presente invención incluye polinucleótidos capaces de hibridar en condiciones de rigurosidad reducida, más preferentemente en condiciones rigurosas, y más preferentemente en condiciones altamente rigurosas, a polinucleótidos que codifican la proteína PRG4 que se describe en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "condiciones rigurosas" se refiere a la hibridación durante toda la noche a 60 °C en solución de Denhart 10x, SSC 6x, SDS al 0,5 % y 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Las transferencias se lavan secuencialmente a 62 °C durante 30 minutos cada vez en SSC 3x/ SDS al 0,1 %, seguido de SSC 1x/ SDS al 0,1 %, y finalmente SSC 0,1x/ SDS al 0,1 %. Tal como se usa en el presente documento, en determinadas realizaciones, la expresión "condiciones rigurosas" se refiere también a la hibridación en una solución a 65 °C. En otras realizaciones, "condiciones altamente rigurosas" se refiere a la hibridación a lo largo de toda la noche a 65 °C en solución de Denhart 10x, SSC 6x, SDS al 0,5 % y 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Las transferencias se lavan secuencialmente a 65 °C durante 30 minutos cada vez en SSC 3x/ SDS al 0,1 %, seguido de SSC 1x/ SDS al 0,1 %, y finalmente SSC 0,1x/ SDS al 0,1 %. Los métodos para las hibridaciones de ácidos nucleicos se conocen bien en la técnica. Por consiguiente, las proteínas PRG4 codificadas por los ácidos nucleicos que se usan en el presente documento que tienen al menos un 60 % de homología, preferentemente un 75 % de homología, más preferentemente un 85 %, más preferentemente un 90%, más preferentemente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de homología con respecto a una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína PRG4 humana (por ejemplo, SEC ID N°: 1) o una isoforma específica u homóloga de la misma.

Además, las proteínas PRG4 que se usan en el presente documento pueden ser también una proteína quimérica o proteína de fusión. Tal como se usa en el presente documento, una "proteína quimérica" o "proteína de fusión" comprende un primer polipéptido unido operativamente a un segundo polipéptido. Las proteínas quiméricas pueden comprender opcionalmente un tercer, cuarto o quinto u otro polipéptido unido operativamente a un primer o segundo polipéptido. Las proteínas quiméricas pueden comprender uno o más polipéptidos distintos. Las proteínas quiméricas pueden comprender múltiples copias del mismo polipéptido. Las proteínas quiméricas también comprenden una o más mutaciones en uno o más polipéptidos. Los métodos para hacer proteínas quiméricas se conocen bien en la técnica. En determinadas realizaciones de la presente invención, la proteína quimérica es una quimera de la proteína PRG4 con otras isoformas de la proteína PRG4.

Tal como se usa en el presente documento, una proteína, polinucleótido o molécula "aislada" o "purificada", significa extraída del ambiente en el que se da naturalmente, o sustancialmente libre de material celular, tal como otras proteínas contaminantes de la célula o fuente tisular de la que se deriva la proteína, polinucleótido o molécula, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros químicos cuando se sintetiza químicamente. La expresión "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones separadas de los componentes celulares de las células de las que se aíslan o se producen o sintetizan recombinantemente. En determinadas realizaciones, la expresión "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones de una proteína PRG4 que tenga menos de aproximadamente el 30 % (en peso seco) de otras proteínas (también mencionadas en el presente documento como una "proteína contaminante"), más preferentemente menos de aproximadamente el 20 %, aún más preferentemente menos de aproximadamente el 10 %, y lo más preferente menos de aproximadamente el 5 % de otras proteínas. Cuando la proteína o el polinucleótido se produce recombinantemente, se prefiere que esté sustancialmente libre de medio de cultivo, es decir, que el medio de cultivo represente menos de aproximadamente el 20 %, más preferentemente menos de aproximadamente el 10 %, y más lo más preferente menos de aproximadamente el 5 % del volumen de la preparación de la proteína de interés.

## Ejemplos

Ejemplo 1 Tratamiento de la lubricación del límite vaginal deficiente *in vivo*

Se examinó a una paciente de 65 años de edad post-menopáusica se quejaba de irritación de la superficie vaginal, quemazón durante la micción, disparemia, sangrado ligero después de las relaciones, y descarga vaginal periódica, se descartó que tuviera infecciones activas, y se determinó que tenía vaginitis atrófica. En particular, el examen pélvico reveló la aparición de paredes vaginales delgadas pálidas.

A la paciente se le administró un supositorio intravaginal de PRG/17β-oestradiol semanal que proporcionaba dosis de 100 µg/ml de PRG4 y 1 µg de 17β-oestradiol, que a pesar de tener una concentración total menor que las terapias con oestradiol típicas, se suministra directamente en la pared vaginal mediante cotransporte con PRG4. La histopatología durante las visitas de seguimiento anuales revelará, en determinadas casos, un rellenado labial y

vulvar mejorado, epitelio uretral y vaginal enrojecido, y/o síntomas (por ejemplo, en las que los síntomas no permanecen).

Ejemplo 2 Tratamiento de la lubricación del límite vaginal deficiente en una paciente de cáncer

5 Una paciente de 60 años menopáusica con cáncer de mama que termina recientemente un ciclo de quimioterapia con tamoxifeno, presenta un epitelio vaginal inflamado, con eritema en parches, Petequias, y friabilidad aumentada, además de una lesión vulvar pequeña. Además, un ultrasonido vaginal revela un endometrio delgado de aproximadamente 4 mm de espesor. Sin que se encuentren pruebas de tricomonas, *Candida* u otras bacterias. El frotis de Papanicolau revela células epiteliales parabasales escamosas inmaduras con núcleos agrandados y en un fondo de restos celulares basófilos granulares amorfos y exudado inflamatorio.

15 A la paciente se le administra en la vagina una dosis de gel de PRG4 tamponado a 200 µg/ml. A los 6 meses del seguimiento se realizan frotis de Papanicolau para demostrar si hay células escamosas de las capas media y superficial del epitelio vaginal. En algunos casos, a diferencia de en la visita original, muchas de esas células muestran abundante citoplasma con una relación núcleo-citoplasma baja. En determinados casos, la mayoría de los núcleos se condensarán, y habrá pruebas de un citoplasma rosa queratinizado apropiadamente. En algunos casos, la paciente mostrará elasticidad tisular mejorada y menos inflamación. En determinados casos, los síntomas pueden aliviarse completamente, o mejorar de graves a tolerables.

20 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Singularis Inc Schepens Eye Research Institute

25 <120> MODULACIÓN TERAPÉUTICA DE LA LUBRICACIÓN DEL LÍMITE DEL EPITELIO VAGINAL

<140> EP10732051.7

<141> 13-01-2010

30 <150> 61/260.402

<151> 12-11-2009

<150> 61/144.344

<151> 13-01-2009

35 <160> 4

<170> PatentIn versión 3.5

40 <210> 1

<211> 1404

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

45 <400> 1

ES 2 534 082 T3

Met Ala Trp Lys Thr Leu Pro Ile Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Val  
 1 5 10 15

Phe Val Ile Gln Gln Val Ser Ser Gln Asp Leu Ser Ser Cys Ala Gly  
 20 25 30

Arg Cys Gly Glu Gly Tyr Ser Arg Asp Ala Thr Cys Asn Cys Asp Tyr  
 35 40 45

Asn Cys Gln His Tyr Met Glu Cys Cys Pro Asp Phe Lys Arg Val Cys  
 50 55 60

Thr Ala Glu Leu Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Ser Phe Glu Arg  
 65 70 75 80

Gly Arg Glu Cys Asp Cys Asp Ala Gln Cys Lys Lys Tyr Asp Lys Cys  
 85 90 95

Cys Pro Asp Tyr Glu Ser Phe Cys Ala Glu Val His Asn Pro Thr Ser  
 100 105 110

Pro Pro Ser Ser Lys Lys Ala Pro Pro Pro Ser Gly Ala Ser Gln Thr  
 115 120 125

Ile Lys Ser Thr Thr Lys Arg Ser Pro Lys Pro Pro Asn Lys Lys Lys  
 130 135 140

Thr Lys Lys Val Ile Glu Ser Glu Glu Ile Thr Glu Glu His Ser Val  
 145 150 155 160

ES 2 534 082 T3

Ser Glu Asn Gln Glu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Ile Arg Lys Ile Lys Ser Ser Lys Asn Ser Ala Ala Asn Arg  
 180 185 190

Glu Leu Gln Lys Lys Leu Lys Val Lys Asp Asn Lys Lys Asn Arg Thr  
 195 200 205

Lys Lys Lys Pro Thr Pro Lys Pro Pro Val Val Asp Glu Ala Gly Ser  
 210 215 220

Gly Leu Asp Asn Gly Asp Phe Lys Val Thr Thr Pro Asp Thr Ser Thr  
 225 230 235 240

Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys  
 245 250 255

Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys  
 260 265 270

Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu  
 275 280 285

Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr  
 290 295 300

Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp  
 305 310 315 320

Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu  
 325 330 335

Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro  
 340 345 350

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro  
 355 360 365

Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr  
 370 375 380

Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr  
 385 390 395 400

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr  
 405 410 415

ES 2 534 082 T3

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro  
420 425 430

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro  
435 440 445

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro Thr Thr Pro  
450 455 460

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
465 470 475 480

Glu Pro Ala Pro Thr Ala Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
485 490 495

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys  
500 505 510

Glu Pro Ser Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys  
515 520 525

Ser Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser  
530 535 540

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ser Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro  
545 550 555 560

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro  
565 570 575

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
580 585 590

Ala Pro Thr Thr Thr Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
595 600 605

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Leu  
610 615 620

Thr Pro Thr Thr Pro Glu Lys Leu Ala Pro Thr Thr Pro Glu Lys Pro  
625 630 635 640

Ala Pro Thr Thr Pro Glu Glu Leu Ala Pro Thr Thr Pro Glu Glu Pro  
645 650 655

Thr Pro Thr Thr Pro Glu Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Ala Ala  
660 665 670

ES 2 534 082 T3

Ala Pro Asn Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
675 680 685

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr  
690 695 700

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr Thr Leu Lys Glu Pro  
705 710 715 720

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Lys Glu Leu Ala Pro Thr  
725 730 735

Thr Thr Lys Glu Pro Thr Ser Thr Thr Cys Asp Lys Pro Ala Pro Thr  
740 745 750

Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr  
755 760 765

Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr  
770 775 780

Thr Leu Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Lys  
785 790 795 800

Glu Leu Ala Pro Thr Thr Thr Lys Gly Pro Thr Ser Thr Thr Ser Asp  
805 810 815

Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
820 825 830

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Glu  
835 840 845

Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser Glu Val Ser Thr Pro Thr Thr Thr Lys  
850 855 860

Glu Pro Thr Thr Ile His Lys Ser Pro Asp Glu Ser Thr Pro Glu Leu  
865 870 875 880

Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys Ala Leu Glu Asn Ser Pro Lys Glu Pro  
885 890 895

Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr Pro Ala Ala Thr Lys Pro Glu Met Thr  
900 905 910

Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr Thr Glu Arg Asp Leu Arg Thr Thr Pro  
915 920 925

ES 2 534 082 T3

Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro Lys Met Thr Lys Glu Thr Ala Thr Thr  
 930 935 940

Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser Lys Ile Thr Ala Thr Thr Thr Gln Val  
 945 950 955 960

Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp Thr Thr Pro Phe Lys Ile Thr Thr Leu  
 965 970 975

Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro Lys Val Thr Thr Thr Lys Lys Thr Ile  
 980 985 990

Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn Lys Pro Glu Glu Thr Ala Lys Pro Lys  
 995 1000 1005

Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys Ala Thr Thr Pro Lys Pro Gln Lys  
 1010 1015 1020

Pro Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro Thr Ser Thr Lys Lys Pro Lys  
 1025 1030 1035

Thr Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg  
 1040 1045 1050

Lys Met Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile  
 1055 1060 1065

Ala Glu Ala Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro  
 1070 1075 1080

Asn Ser Lys Leu Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly  
 1085 1090 1095

Gly Ala Glu Gly Glu Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val  
 1100 1105 1110

Phe Met Pro Glu Val Thr Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val  
 1115 1120 1125

Pro Asn Gln Gly Ile Ile Ile Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr  
 1130 1135 1140

Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro Val Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg  
 1145 1150 1155

Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg Gly His Tyr Phe Trp Met Leu  
 1160 1165 1170

ES 2 534 082 T3

Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala Arg Arg Ile Thr Glu Val  
 1175 1180 1185

Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val Phe Thr Arg Cys Asn  
 1190 1195 1200

Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser Gln Tyr Trp Arg  
 1205 1210 1215

Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Pro Ile Phe  
 1220 1225 1230

Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala Leu Ser  
 1235 1240 1245

Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe Lys  
 1250 1255 1260

Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val  
 1265 1270 1275

Gln Lys Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala Leu Asn Tyr Pro Val Tyr  
 1280 1285 1290

Gly Glu Thr Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg Phe Glu Arg Ala Ile  
 1295 1300 1305

Gly Pro Ser Gln Thr His Thr Ile Arg Ile Gln Tyr Ser Pro Ala  
 1310 1315 1320

Arg Leu Ala Tyr Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn Glu Val Lys  
 1325 1330 1335

Val Ser Ile Leu Trp Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr Ser Ala  
 1340 1345 1350

Ile Ser Leu Pro Asn Ile Arg Lys Pro Asp Gly Tyr Asp Tyr Tyr  
 1355 1360 1365

Ala Phe Ser Lys Asp Gln Tyr Tyr Asn Ile Asp Val Pro Ser Arg  
 1370 1375 1380

Thr Ala Arg Ala Ile Thr Thr Arg Ser Gly Gln Thr Leu Ser Lys  
 1385 1390 1395

Val Trp Tyr Asn Cys Pro  
 1400

ES 2 534 082 T3

5 <210> 2  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético

10 <400> 2  
gatgcagggt accccaaa 18

15 <210> 3  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético

20 <400> 3  
cagacttgg ataaggctg cc 22

25 <210> 4  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

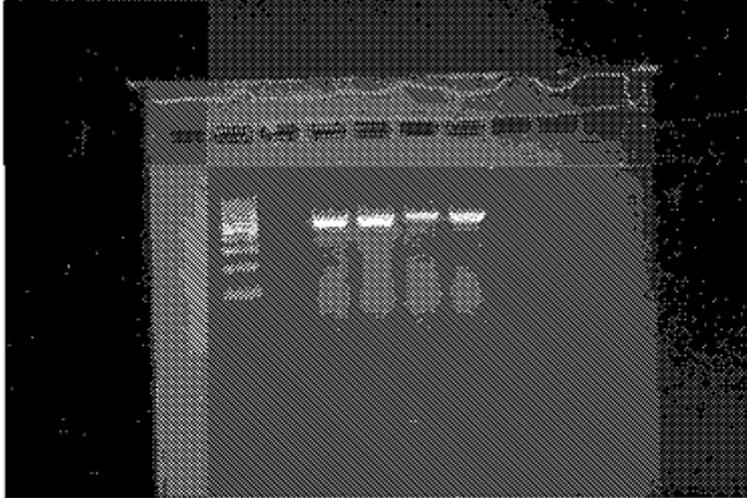
30 Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr  
1 5

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende PRG4 aislado o purificado para su uso en un método para tratar la lubricación disminuida del límite vaginal o para mejorar la lubricación del límite vaginal, comprendiendo el método la administración por vía tópica a una superficie vaginal de un sujeto que necesite de la misma en una cantidad terapéuticamente efectiva de dicho PRG4.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1 en la que dicho PRG4 está presente en una composición farmacéutica formulada en un gel, una solución salina acuosa equilibrada osmóticamente, una emulsión multifásica, o un dispositivo de liberación lenta o extendida.
- 15 3. La composición de la reivindicación 2 que además comprende un agente terapéutico seleccionado entre: un análogo de andrógeno o de estrógeno; un modulador selectivo del receptor de andrógenos; un modulador selectivo del receptor de estrógenos; un antagonista de estrógenos; un inhibidor de aromatasas; una antiproteasa; un antagonista de citocinas proinflamatorias; un inhibidor de la liberación de citocinas; una citocina antiinflamatoria; un agente antiinflamatorio; un inhibidor de NF- $\kappa$ B, un inhibidor del proteasoma; un ácido hialurónico, lípidos neutros o polares; ácidos grasos; estrógeno o análogos de estrógeno; oestradiol; progesterona; hormona estimuladora del folículo; hormona luteinizante y óxido nítrico.
- 20 4. La composición de la reivindicación 3 en la que dicho andrógeno o análogo de andrógeno se selecciona de: un derivado de 17 $\alpha$ -metil-17 $\beta$ -hidroxi-2-oxa-5 $\alpha$ -androstan-3-ona, un derivado de testosterona, derivado de 4,5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, un derivado de 17 $\beta$ -hidroxi-5 $\alpha$ -androstano que contiene una insaturación en el anillo A, un derivado de 19-nortestosterona, un andrógeno sustituido con nitrógeno, una subclase estructural de andrógenos que comprenden compuestos androgénicos con características estructurales inusuales, o una combinación de estos.
- 25 5. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho modulador selectivo del receptor de andrógenos es: un compuesto de aril-propionamida; un análogo bicíclico de hidantoína, un análogo de quinolina; o un análogo de tetrahidroquinolina.
- 30 6. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho antagonista de citocinas proinflamatorias se selecciona entre: anticuerpo anti-TNF $\alpha$ ; receptor TNF $\alpha$  soluble, y antagonista de receptor de IL-1.
- 35 7. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho agente antiinflamatorio se selecciona entre ciclosporina A y ácidos grasos omega 3 y 6.
8. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho óxido nítrico es un precursor natural del óxido nítrico, siendo opcionalmente un aminoácido, por ejemplo seleccionado entre L-arginina, citrulina y ácido aspártico.
- 40 9. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho agente terapéutico es hialuronato de sodio o ácido hialurónico.
10. La composición de la reivindicación 9 en la que la composición comprende hialuronato de sodio o ácido hialurónico en una concentración de: (a) 10-100.000  $\mu$ g/ml; o (b) 500-5.000  $\mu$ g/ml.
- 45 11. La composición de la reivindicación 2, en la que la composición comprende el PRG4 en una concentración de 10-10.000  $\mu$ g/ml.
12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el PRG4 tiene una masa molar media de entre 50 kDa y 400 kDa.
- 50 13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el PRG4:
- (a) comprende un fragmento lubricante, multímero u homólogo del mismo, por ejemplo un homólogo que tiene al menos aproximadamente un 75-80 % de identidad con respecto a una secuencia completa de aminoácidos de SEC ID N $^{\circ}$ : 1; o
- 55 (b) es una proteína PRG4 recombinante, o un fragmento de la misma, o
- (c) es una proteína PRG4 de origen natural purificada.
- 60 14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que dicha lubricación del límite vaginal disminuida se asocia con atrofia vaginal, dispareunia, síndrome de Sjögren, menopausia, deficiencia en andrógenos, deficiencia en estrógenos, terapia de reemplazamiento de estrógenos, alergia, inflamación crónica, menopausia, menopausia prematura, quimioterapia, lactancia, extirpación quirúrgica de los ovarios antes de la menopausia, esclerosis por liquen genital, vulvodinia, vaginosis bacteriana, herpes, *Candida*, psoriasis, dermatitis de contacto, condiloma, efectos secundarios de medicaciones y envejecimiento.
- 65

15. Un método no terapéutico para proporcionar lubricación durante las relaciones que comprende la administración tópica en una superficie vaginal, una superficie del pene, o una combinación de las mismas de una cantidad efectiva de un PRG4 aislado o purificado.

**FIGURA 1**



**Línea 1 (al fondo a la izquierda): marcador de escala de 100 pares de bases.**

**Línea 2: Control sin molde.**

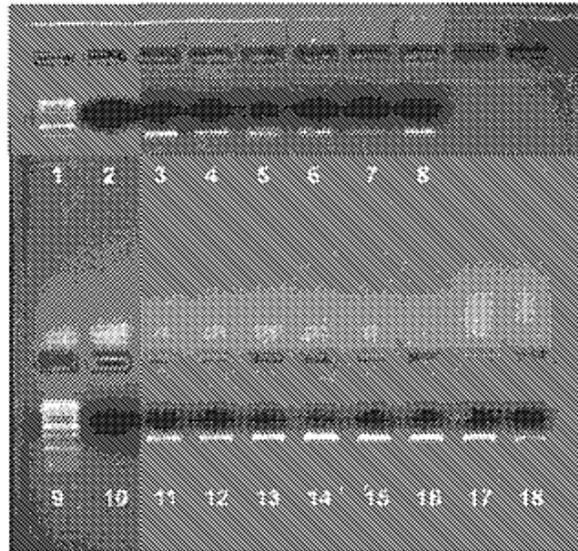
**Línea 3: ARNm de vejiga humana.**

**Línea 4: ARNm de próstata humana.**

**Línea 5: ARNm de cuello uterino humano.**

**Línea 6 (al fondo a la derecha): ARNm de útero humano.**

**FIGURA 2**



Línea#	
1- Marcadores de ADN	10- Control sin molde
2- Control sin molde	11-Vesícula seminal 1
3-Útero 1	12-Vesícula seminal 2
4-Útero 2	13-Vesícula seminal 3
5-Útero 3	14 - Vejiga masculina 1
6-Vagina 1	15 - Vejiga masculina 2
7-Vagina 2	16 - Vejiga masculina 3
8-Vagina 3	17 - Vejiga femenina 1
9- Marcadores de ADN	18 - Vejiga femenina 2

FIGURA 3

SEC ID N°:1

MAWKTLPYLLLLLSVFVIQQVSSQDLSSCAGRCGEGYSRDATCNCDYNCQHMECCP  
DFKRVCTAELSCKGRFCFESFERGREDCDAQCKKYDKCCPDYESFCAEVHNPTSPSSK  
KAPPPSGASQTIKSTTKRSPKPPNKKKTKKVIIESEEITEEHSVSENQESSSSSSSSSSSTIRK  
IKSSKNSAANRELQKKLVKDNKKNRTKKKPTPKPPVVDEAGSGLDNGDFKVTTPDTS  
TTQHNKVSTSPKITTAKPINRPSLPPNSDTSKETSMTVKNKETTVEKETTNTKQTSTDG  
KEKTTSAKETQSIEKTSKDLAPTSLVAKPTPKAETTTKGPALTPKEPTPTPKEPAST  
TPKEPTPTTIKSAPTTPKEPAPTTTKSAPTTPKEPAPTTTKEPAPTTPKEPAPTTTKEPAPTT  
TKSAPTTPKEPAPTTPKKAPTTTPKEAPTTTPKEPTPTTPKEAPTTKEPAPTTPKEPAPTA  
PKKAPTTTPKEAPTTTPKEAPTTTKEPSPTTPKEAPTTTKSAPTTTKEPAPTTTTSAPTT  
PKEPSPTTTPKEAPTTTPKEAPTTPKKAPTTTPKEAPTTTPKEAPTTTTPKEAPTTTPKEAP  
TTPKETAPTTPKKLTPTTPEKLAPTTPEKAPTTPEELAPTTPEEPTPTTPEEPAPTTPKAA  
APNTPKEAPTTTPKEAPTTTPKEAPTTPKETAPTTPKGTAPTTLKEPAPTTPKKAPKEL  
APTTTKEPTSTTCDKAPTTTPKGTAPTTPKEAPTTTPKEAPTTTPKGTAPTTLKEPAPTTPK  
KPAPKELAPTTTKGPTSTTSDKAPTTPKETAPTTTPKEAPTTTPKAPAPTTPETPPPTTSEV  
STPTTTKEPTTIHKSPDESTPELSAEPKALENSPKKEGVPPTKTPAATKPEMTTAKDK  
TTERDLRTPPETTTAAPKMTKETATTTEKTTESKITATTTQVTSTTTQDITPFKITTLLKT  
TLAPKVTTTCKTITTTTEIMNKPEETAKPKDRATNSKATTPKPQKPTKAPKPTSTKKPKT  
MPRVRKPKTTPTPRKMTSTMPELNPTSRIAEAMLQTTTRPNQTPNSKLVEVNPKSEDAG  
GAGETPHMLLRPHVFMPEVTPDMDYLPRVNPQGIINPMLSDETNICNGKPV DGLTTLR  
NGTLVAFRGHYFWMLSPFSPSPARRITEVWGIPSPIDTVFTRCNCEGKTTFFKDSQYWR  
FTNDIKDAGYPKPIFKGFGGLTGQIVAALSTAKYKNWPESVYFFKRGGSIQYIYKQEPV  
QKCPGRRPALNYPVYGETTQVRRRRFERAIGPSQHTIRIQYSPARLAYQDKGVLHNEV  
KVSILWRGLPNVVTSALSLPNIRKPDGYDYAFSKDQYYNIDVPSRTARAITTRSGQTLS  
KVWYNCP

SEC ID N°: 2:GATGCAGGGTACCCCAA (humano, sentido)

SEC ID N°: 3: CAGACTTTGGATAAGGTCTGCC (humano, antisentido)