

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 611 776**

51 Int. Cl.:

A61K 33/24 (2006.01)

A61P 15/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.01.2014 PCT/EP2014/051141**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2014 WO14114644**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.01.2014 E 14701067 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016 EP 2948156**

54 Título: **Uso de sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la esterilidad femenina en mamíferos no diabéticos**

30 Prioridad:

22.01.2013 ES 201330071

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

10.05.2017

73 Titular/es:

OXOLIFE, S.L. (100.0%)

c/ Nou 53

08192 Sant Quirze del Vallès, Barcelona, ES

72 Inventor/es:

CANALS ALMAZÁN, IGNACIO y

ARBAT BUGIÉ, AGNÈS

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 611 776 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 sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la esterilidad femenina en mamíferos no diabéticos

- 5 La invención se refiere al campo de la fecundidad. Particularmente, se refiere al uso de sales de tungsteno (VI) para el tratamiento de la esterilidad femenina.

Estado de la técnica

- 10 La esterilidad puede definirse como la incapacidad de conseguir un embarazo en un periodo de 1 año de relaciones sexuales regulares sin protección. Particularmente, la esterilidad femenina puede referirse a la incapacidad de concebir y/o llevar a término un embarazo. A pesar de las dificultades en la estimación de la prevalencia de la esterilidad, generalmente se acepta que una de cada cuatro mujeres es estéril en una cierta fase de la edad de procrear.

- 15 Las principales causas de esterilidad entre las mujeres incluyen disfunciones ovulatorias, patologías del aparato reproductor, calidad ovocitaria reducida y disminución de la población folicular inherentes al envejecimiento. Sin embargo, hay un porcentaje considerable de mujeres con esterilidad sin explicación, también denominada esterilidad idiopática, una de cuyas posibles causas podría estar relacionada con deficiencias en el proceso de implantación.

- 20 Particularmente, entre las muchas causas biológicas de esterilidad en las mujeres, pueden destacarse causas relacionadas con trastornos en los estímulos hormonales que regulan el desarrollo folicular, la ovulación, migración de los óvulos inmaduros (ovocitos), así como la posterior concepción e implantación del cigoto en la pared uterina. Todo este proceso está regulado por secreciones hormonales de órganos endocrinos específicos, tales como la hipófisis, el hipotálamo y la tiroides, por ejemplo.

- 30 Por tanto, entre las principales causas de esterilidad pueden destacarse trastornos de la ovulación tales como la falta de ovulación, así como patologías asociadas con trastornos anatómicos y funcionales del aparato reproductor y del útero que pueden alterar la implantación del cigoto.

- Se conocen diferentes tratamientos para la esterilidad femenina, incluyendo la administración de especialidades farmacéuticas para tratar la esterilidad relacionada con problemas hormonales tales como trastornos de la ovulación, así como técnicas de fecundación *in vitro* y de inseminación intrauterina.

- 35 Sin embargo, el porcentaje de embarazos conseguidos por medio de los tratamientos mencionados anteriormente tiene algunas limitaciones. Por tanto, por ejemplo, se ha observado que el tratamiento de mujeres cuya ovulación es irregular o está ausente mediante la administración de citrato de clomifeno, un fármaco de la familia del estilbano, permite restaurar la ovulación en un alto porcentaje, pero la tasa de embarazos sigue siendo baja, aproximadamente igual a o menor del 50%.

- 40 Por otro lado, los tratamientos de fecundación *in vitro* son muy eficaces en la fase de fecundación de ovocitos. Sin embargo, la tasa de transferencia (implantación de embriones en la pared uterina) es baja. Esto conduce a transferencias de embriones múltiples por cada ciclo de fecundación *in vitro*, con la consecuencia de un mayor porcentaje de embarazos múltiples de alto riesgo.

- 45 Finalmente, se conoce que trastornos metabólicos tales como diabetes u obesidad suponen una limitación de la fecundidad. Se conoce que la recuperación parcial o completa de glucemia, insulinemia y/o peso corporal en ratones hembra obesos o diabéticos con la función reproductora dañada implica una mejora en la fecundidad.

- 50 Diferentes tratamientos farmacológicos, tales como sales de tungsteno (VI) o metformina, o incluso cambios en el estilo de vida, han demostrado que mejoran la diabetes o trastornos de insulina, tales como deficiencia de insulina o resistencia a la insulina por ejemplo, consiguiendo una recuperación total o parcial de la función reproductora. En el caso específico del tungstato de sodio, se conoce que ratas con diabetes e insulinopenia inducida por inyección de estreptozotocina recuperan parcialmente los niveles de insulina circulante después de un tratamiento prolongado (10 semanas) con tungstato de sodio como resultado de una remisión parcial de la diabetes. Posteriormente, cuando las ratas hembra mencionadas anteriormente que se recuperaron parcialmente de la diabetes se aparean con ratos macho sanos, se observa que, en paralelo a la recuperación parcial de la diabetes, las ratas hembra recuperaron parcialmente su capacidad reproductora. Particularmente, se observa que el porcentaje de partos con respecto al número de legrados positivos en ratones hembra que se habían recuperado parcialmente de la diabetes después del tratamiento con tungstato de sodio aumenta hasta el 66%, siendo este porcentaje menor que el de ratones hembra que no tuvieron diabetes en las que el porcentaje es del 100% (véase J. Ballester *et. al.*, "Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes", Human Reproduction, 2007, vol. 22, págs. 2128-2135).

- 65 En resumen, a pesar del progreso en tratamientos de la esterilidad femenina, todavía hay pacientes que no pueden beneficiarse de las terapias disponibles hoy en día debido a su ineficacia. Por tanto, existe todavía la necesidad de

encontrar nuevas terapias para tratar la esterilidad femenina para proporcionar mayor eficacia.

Descripción de la invención

- 5 Los inventores han descubierto que el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéutica o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal, es útil para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad en mamíferos hembra no diabéticos.
- 10 Aunque se conoce que el tungstato de sodio puede revertir parcialmente los trastornos de la función reproductora en ratones hembra diabéticos puesto que normaliza los niveles de glucosa en sangre, el estado de la técnica ni describe ni sugiere que el tungstato de sodio pueda tener actividad por sí mismo sobre la función del sistema reproductor femenino para el tratamiento de la esterilidad femenina.
- 15 Debe señalarse en el estado de la técnica que el tungstato de sodio ha demostrado ser eficaz en la normalización de los niveles de glucosa. Particularmente, el documento EP1400246 divulga una composición farmacéutica de un compuesto de tungsteno (VI) para reducir la glucemia en humanos con diabetes tipo 1 (DMID) o diabetes tipo 2 (DMNID)
- 20 Los inventores de la presente invención han demostrado que las sales de tungsteno (VI) son un tratamiento eficaz para recuperar la ovulación y/o aumentar la implantación de ovocitos independientemente de los cambios en el metabolismo de la glucosa o los cambios en el peso corporal, y por consiguiente, la administración de una sal de tungsteno (VI) es eficaz para el tratamiento de la esterilidad en mamíferos hembra no diabéticos.
- 25 La presente invención se refiere a una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéutica o veterinariamente aceptable, o un solvato de dicha sal, para su uso en el tratamiento de la esterilidad en mamíferos hembra no diabéticos.
- 30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión “grupo catiónico farmacéutica o veterinariamente aceptable” se refiere a cualquier catión orgánico o inorgánico no tóxico aceptable, capaz de formar una sal de tungsteno (VI) terapéuticamente eficaz y que es adecuado para su uso en terapia farmacéutica o veterinaria.
- 35 El anión tungstato está siempre acompañado por un grupo catiónico que forma una sal de tungstato neutra. En una realización de la presente invención, las sales de tungsteno (VI) son aquellas sales que comprenden grupos catiónicos seleccionados del grupo que consiste en cationes alcalinos o alcalinotérreos. Se prefieren las sales cuyo grupo catiónico se selecciona del grupo que consiste en sodio, potasio, magnesio y calcio. Preferiblemente, la sal de tungsteno (VI) es la sal de sodio de tungsteno (VI).
- 40 Los solvatos de las sales de tungsteno (VI) y el uso de los mismos para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina en mamíferos no diabéticos también forman parte de la invención. En una realización de la invención, el solvato es el solvato dihidratado de una sal de tungsteno (VI) tal como se definió anteriormente.
- 45 Preferiblemente, el solvato de la sal de tungsteno (VI) es el tungstato de sodio dihidratado que está disponible comercialmente.
- 50 En una realización de la invención, el mamífero es un humano. En una realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina que se produce con un cambio en el eje hipotalámico-hipofisario. Las enfermedades o los estados que se producen con un cambio en el eje hipotalámico-hipofisario incluyen, entre otros, síndrome del ovario poliquístico, síndrome metabólico, hiperprolactinemia, endometriosis, trastornos alimenticios, obesidad, hipotiroidismo, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus eritematoso, cirrosis, celiaquía, insuficiencia renal crónica y causas idiopáticas.
- 55 En una realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad idiopática femenina. Los conceptos “esterilidad idiopática” o “esterilidad sin una causa aparente” o “esterilidad sin explicación” tienen el mismo significado y se usan indistintamente. Estos conceptos se refieren a aquellos casos de esterilidad en los que el motivo para la incapacidad de conseguir un embarazo no se ha encontrado en pruebas de esterilidad convencionales.
- 60 En otra realización preferida, la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina debida a trastornos alimenticios. Los trastornos alimenticios que se producen con un cambio en el eje hipotalámico-hipofisario incluyen, entre otros, anorexia nerviosa y bulimia.
- 65 El término “ovulación” se entiende como ese proceso a través del cual una mujer libera ovocitos en el útero, y el término “restauración de la ovulación” se entiende como el proceso a través del cual se restablece el ciclo menstrual,

es decir, se restablece el proceso de liberar regularmente el ovocito en el útero en mujeres que no ovulaban (anovulación) o que ovulaban de manera irregular (oligo-ovulación). Esto significa que la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina de mujeres con incapacidad de ovulación (anovulación) o mujeres con la necesidad de mejorar la eficacia de la ovulación (oligo-ovulación).

Tal como se muestra claramente en los resultados de la tabla 1 en los ejemplos, la administración de una sal de tungsteno (VI) permite restaurar rápidamente el ciclo estral (después de solo 7 días desde el inicio del tratamiento) en el 100% de los ratones hembra no diabéticos tratados. Se restaura la ovulación en un periodo de tiempo en el que la administración de la sal de tungsteno (VI) de la presente invención no modifica el peso corporal ni la glucemia de los ratones hembra tratados (véanse las tablas 3 y 4). Por tanto, una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato de la misma, para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina que comprende la restauración de la ovulación.

Por otro lado, tal como se muestra claramente en los resultados de la tabla 2 en los ejemplos, la administración de una sal de tungsteno (VI) permite la implantación de un promedio de 5 embriones implantados o crías en el 80% de los ratones hembra no diabéticos tratados que restauraron su ciclo estral normal. Por tanto, una realización de la invención se refiere al uso de una sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato de la misma, para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina que comprende el aumento de la implantación del cigoto en la pared uterina.

El término "aumento de la implantación del cigoto" se entiende como el proceso a través del cual se aumenta la eficacia de la implantación de los ovocitos en el útero. Esto significa que la sal de tungsteno (VI) de la presente invención es útil o bien para aumentar el número de ovocitos implantados en el útero o bien para mejorar las posibilidades de un embarazo logrado sin aumentar el riesgo de embarazos múltiples.

Una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungsteno (VI) definida anteriormente, o un solvato de la misma para la preparación de una especialidad farmacéutica para el tratamiento de la esterilidad femenina que comprende la restauración de la ovulación y el aumento de la implantación del cigoto en la pared uterina.

Por tanto, el uso de una sal de tungsteno (VI) es útil para el tratamiento de la esterilidad femenina al aumentar la tasa de embarazos. El tratamiento de la presente invención puede ser útil como tratamiento farmacológico alternativo con respecto a aquellos tratamientos ya existentes para normalizar la ovulación y/o aumentar la implantación de ovocitos en la pared uterina, o como tratamiento asociado con técnicas de inseminación intrauterina y/o fecundación *in vitro* para aumentar la tasa de implantación de embriones en la fase de transferencia.

Una realización de la invención se refiere al uso de la sal de tungsteno (VI), o un solvato de la misma cuando dicha sal de tungstato forma parte de una composición farmacéutica o veterinaria que comprende además excipientes o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables. En una realización de la invención, la composición farmacéutica o veterinaria es una composición para administración oral. Son de especial interés las composiciones orales sólidas tales como comprimidos y cápsulas, y las composiciones orales líquidas tales como disoluciones o suspensiones orales.

La expresión "excipientes o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables" se refiere a los excipientes o vehículos adecuados para su uso en tecnología farmacéutica o veterinaria para la preparación de las composiciones para uso médico. Estos componentes, excipientes y vehículos deben ser compatibles con los demás componentes de la composición. Deben ser adecuados también para el uso en contacto con tejidos u órganos humanos o animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otros problemas de inmunogenicidad o complicaciones con una relación riesgo/beneficio razonable.

Las sales de tungsteno (VI) se han usado en terapia para el tratamiento de la obesidad o diabetes. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de la sal de tungsteno (VI) que, cuando se administra, es suficiente para el tratamiento de la esterilidad femenina definida en la presente invención. Las dosis específicas de la sal de tungsteno (VI) según esta invención están determinadas por las circunstancias particulares que rodean al caso, incluyendo, por ejemplo, la sal administrada, la vía de administración, la composición farmacéutica o veterinaria administrada, así como las características del paciente incluyendo, entre otras cosas, la altura, el peso y la edad; y la naturaleza y el estadio de la enfermedad. Por ejemplo, puede usarse una cantidad de una sal de tungsteno (VI) definida anteriormente comprendida entre 50 y 500 mg/kg/día.

Generalmente en roedores la cantidad terapéuticamente eficaz de la sal de tungsteno (VI) para el tratamiento de la esterilidad femenina tal como se definió anteriormente puede estar comprendida entre 100 y 350 mg/kg/día. Preferiblemente, la cantidad farmacéuticamente eficaz está comprendida entre 150 y 280 mg/kg/día.

Se ha demostrado el efecto de la sal de tungsteno (VI) para el tratamiento de la esterilidad femenina en mamíferos no diabéticos en un modelo animal denominado IRS/-/ en los ejemplos de la presente invención. Estos ratones

hembra son un buen modelo de ratón estéril no diabético. Además, este modelo animal es también un buen modelo para mujeres estériles no diabéticas.

5 En la totalidad de la descripción y las reivindicaciones, la expresión “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Además, la expresión “comprende” incluye “consiste en”. Para los expertos en la técnica, se entenderán otros objetos, ventajas y características de la invención en parte a partir de la descripción y en parte a partir de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración y no pretenden limitar la presente invención.

10 Ejemplos

1. DESCRIPCIÓN DEL MODELO ANIMAL (RATONES HEMBRA IRS2^{-/-})

15 El modelo de ratón IRS2^{-/-} es un modelo de ratón deficiente en el gen Irs2 (Burks *et. al.*, “IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis”, Nature, 2000, vol. 407, págs. 377-382). La delección del gen Irs2 se traduce en un dimorfismo sexual claro en relación con la fecundidad y el metabolismo de los hidratos de carbono.

20 Los ratones macho de este modelo presentan resistencia a la insulina e hiperglucemia intensa que empezó a una edad temprana. En cambio, los ratones hembra permanecen relativamente normoglucémicos hasta edades más avanzadas (4-5 meses).

Los ratones hembra IRS2^{-/-} muestran un bajo desarrollo folicular y anovulación persistente, acompañados por ausencia del ciclo estral en la mayoría de los ratones.

25 La tasa de embarazos en ratones hembra IRS2^{-/-} es del 9% en comparación con una tasa del 100% en ratones hembra IRS^{wt} (IRS-2^{+/+} de tipo natural).

2. ESTUDIO DE OVULACIÓN, IMPLANTACIÓN Y EMBARAZO.

30 A. Animales

10 ratones hembra IRS2^{-/-} de edades comprendidas entre 6 y 8 semanas. 6 ratones macho “de tipo natural” (IRS2^{wt}) de edades comprendidas entre 6 y 8 semanas.

35 Se alojaron por separado los ratones macho y hembra en condiciones normales, es decir, ciclo de 12 horas de luz/oscuridad y humedad y temperatura controladas. Se alimentaron los animales de manera voluntaria (también denominado *ad libitum*, a voluntad) con una dieta de alimentación convencional.

40 B. Método

Fase de pretratamiento

45 Después de un periodo de aclimatación, se alojaron los ratones hembra IRS2^{-/-} en grupos de 4-6 ratones/jaula. Se administró agua potable libre de tungstato a los animales durante la fase de pretratamiento (2 semanas).

Fase de tratamiento

50 Se administró tungstato de sodio en el agua potable (a voluntad) por medio de una disolución 2 mg/ml de tungstato de sodio dihidratado (comercializada por Carlo Erba) en agua destilada después de la fase de pretratamiento (día 0 de tratamiento) y hasta 4 semanas antes de sacrificar a los animales. La dosis diaria de tungstato de sodio ingerida por los ratones es de aproximadamente 180 mg/kg de peso corporal.

Apareamiento

55 Después de las tres primeras semanas de tratamiento, se alojaron los ratones hembra IRS2^{-/-} de manera continua en jaulas por parejas junto a un ratón macho IRS2^{wt}.

60 Se observaron los ratones diariamente en busca de signos de embarazo o parto. Después de 4 semanas, se intercambiaron los ratones macho entre las jaulas y se dejaron en dichas jaulas durante otras 4 semanas.

Se mantuvo la administración de tungstato durante las 8 semanas en las que los ratones macho y hembra se alojaron juntos. Después de estas 8 semanas, se retiró el tratamiento y se alojaron los ratones macho y hembra juntos durante 4 semanas adicionales.

65 Sacrificio

Después de que transcurriese este periodo, se sacrificaron los ratones hembra y se les realizaron biopsias en busca de indicaciones de embarazo.

C. Resultados

5

Resultados del estudio de ovulación

10

Durante el periodo de pretratamiento y durante las 3 primeras semanas de tratamiento, se realizaron frotis vaginales en 6 ratones hembra elegidos al azar en los días -8; -5; -2; -1; 7; 8; 14; 15 y 22 para determinar la fase del ciclo estral en la que estaban.

15

Se introdujeron entre 1 y 2 ml de solución salina en la vagina de las ratonas con una pipeta Pasteur. Se recogió el exudado vaginal con la misma pipeta y se depositó sobre un portaobjetos. Una vez que se secó al aire, se fijó y tiñó con la técnica de Papanicolaou.

La técnica de Papanicolaou comprende la tinción de los frotis vaginales fijados sobre el portaobjetos tal como sigue:

20

- 10 inmersiones en alcohol al 50% v/v;
- sumergir en solución de hematoxilina de Harris durante 3 minutos;

25

- enjuagar con agua corriente;
- 10 inmersiones en ácido-alcohol (ácido clorhídrico al 1%);

30

- enjuagar con agua corriente;
- 10 inmersiones en alcohol al 95% v/v;
- sumergir en solución OG-6 durante 30 segundos;

35

- 10 inmersiones en alcohol al 96% v/v;
- sumergir en disolución de eosina durante 1 minuto;

40

- 10 inmersiones en alcohol al 96% v/v;
- 10 inmersiones en alcohol al 86% v/v; y
- 10 inmersiones en xilol.

Se analizaron las preparaciones por personal capacitado usando un código de manera simple ciego para eliminar el sesgo del observador.

45

Se identificaron las muestras en las siguientes fases: diestro, proestro, estro, metaestro, anestro o no evaluable. El carácter cíclico de las cuatro fases en periodos de 4 a 6 días es un indicador de un ciclo estral normal, mientras que la ausencia de este carácter cíclico de y la persistencia en las fases de anestro, diestro o proestro son indicadores de ausencia del ciclo estral.

50

De los 10 ratones hembra en estudio, la tabla 1 resume las fases del ciclo estral de los frotis vaginales realizados en 6 de estos ratones hembra IRS2^{+/+}.

Tabla 1

N.º de ratón	Tiempo (días)								
	-8	-5	-2	-1	7	8	14	15	22
72	A	A	P	D	E	E-M	E	E	A
898	D	D	P	P	E	E	E-M	M	M
926	D	D	P	P	E-M	E-M	D	E	P
928	D-P	D	P	P	E	E	E-M	M	A
942	A	D	P	P	E	E-M	E-M	A	D
972	D	D	-	P	M	M	-	D	D

55

Las fases del ciclo estral son: A: anestro, D: diestro, P: proestro, E: estro y M: metaestro.

Las fases del ciclo estral encontradas en los frotis vaginales de los ratones hembra IRS2^{-/-} de la tabla 1 muestran que durante el periodo de pretratamiento todas las ratonas estaban en la fase de proestro (P) o diestro (D), es decir, con ausencia del ciclo estral.

5 Sin embargo, después de empezar la administración de tungstato, se observa que los ratones hembra IRS2^{-/-} están en las fases tardías del ciclo estral, estro (E) y metaestro (M), lo que es un indicador de la recuperación del ciclo estral normal.

10 Estos resultados indican que la administración de una sal de tungsteno (VI) permite una rápida recuperación (en el séptimo día de tratamiento) del ciclo estral en ratones hembra IRS2^{-/-} estériles no diabéticos en el 100% de las ratonas analizadas.

Resultados del estudio de implantación y embarazo

15 Después de que transcurriese el periodo de apareamiento del método en la sección B, se sacrificaron los ratones hembra y se realizaron biopsias en busca de indicaciones de embarazo.

La tabla 2 resume la edad en el momento de tratamiento, hubiese o no un embarazo y el número de embriones por ratón hembra.

20 Tabla 2

N.º de ratón	Edad (meses) Al inicio del		Embarazo	Número de embriones implantados o crías
	Tratamiento	Apareamiento		
72	10	12	SI	1 cría
942	10	12	SI	8 crías
928	10	12	SI	7 embriones
931	10	12	SI	3 crías
898	10	12	SI	7 embriones
900	10	12	NO	-
921	10	12	SI	6 embriones
926	10	12	SI	8 crías
972	8	10	NO	-
973	8	10	SI	7 embriones

25 Los resultados de la tabla 2 muestran que mientras la tasa de embarazos en ratones hembra IRS2^{-/-} sin tratar es del 9%, la tasa de embarazos en ratones hembra IRS2^{-/-} tratados con tungstato aumenta hasta el 80%.

Además, estos resultados también muestran que el número medio de crías/embriones implantados por embarazo de ratón hembra es de aproximadamente 5, un número que puede considerarse que es comparable al número de crías de un ratón hembra.

30 Por tanto, los resultados de las tablas 1 y 2 demuestran que una sal de tungsteno (VI) es un tratamiento eficaz para recuperar la ovulación y/o aumentar la implantación de ovocitos. Por tanto, la administración de una sal de tungsteno (VI) tal como se define en la presente invención es eficaz para el tratamiento de la esterilidad en mamíferos hembra no diabéticos.

35 3. Estudio de glucemia y peso corporal

A. Animales

40 6 ratones hembra IRS2^{-/-} con edades comprendidas entre 6 y 8 semanas.

Se alojaron los ratones hembra en condiciones normales, es decir, ciclo de 12 horas de luz/oscuridad y humedad y temperatura controladas. Se alimentaron los animales de manera voluntaria (también denominado *ad libitum*, a voluntad) con una dieta de alimentación convencional.

45 B. Método

Fase de tratamiento

50 Después de un periodo de aclimatación, se administró tungstato de sodio en el agua potable (a voluntad) por medio de una disolución 2 mg/ml de tungstato de sodio dihidratado (comercializada por Carlo Erba) en agua destilada después de la fase de pretratamiento (día 0 de tratamiento) y durante 12 días.

C. Resultados

5 Se monitorizó el peso corporal en los días 0, 2, 5, 7, 9 y 12 del periodo de tratamiento, y después de 6 horas de estar en ayunas en cada uno de los días mencionados se determinó la glucemia por medio de extracción de sangre de la vena de la cola y con un sensor de glucosa (sensor de glucosa AccuTrend de Roche, Mannheim, Alemania).

10 La tabla 3 resume los niveles de glucemia expresados en mg/dl, y la tabla 4 resume el peso corporal de los ratones en estudio expresado en gramos.

Tabla 3

Glucemia (mg/dl)	R1327	R1345	R1347	R1354	R1376	R1381	Promedio
Día 0	146	129	115	126	141	112	128,17
Día 2	136	128	118	110	105	107	117,33
Día 5	125	142	114	111	137	105	122,33
Día 7	140	110	106	89	133	135	118,83
Día 9	125	153	109	108	131	125	125,17
Día 12	136	116	111	86	123	141	118,83

Tabla 4

15

Peso corporal (g)	1327	1345	1347	1354	1376	1381	Promedio
Día 0	22,7	15,33	18,21	16,5	13,99	15,45	17,03
Día 2	22,9	14,84	18,98	17,01	14,18	16,04	17,33
Día 5	22,61	14,89	18,2	16,61	13,79	15,72	16,97
Día 7	22,42	15,07	17,81	16,35	13,74	15,66	16,84
Día 9	22,85	15,56	17,9	16,89	14,5	16,39	17,35
Día 12	23,15	15,91	18,24	17,19	14,92	16,89	17,72

20

Los resultados de las tablas 3 y 4 muestran que durante la administración de tungstato de sodio no se observaron variaciones en el peso corporal ni en la glucemia en los primeros 12 días de tratamiento, el mismo periodo en el que se restablece con éxito la ovulación en los ratones hembra sometidos a prueba empezando en el día 7 de tratamiento (véase la tabla 1).

25

Por tanto, los resultados de las tablas 1 a 4 demuestran que una sal de tungsteno (VI) es un tratamiento eficaz para recuperar la ovulación y/o aumentar la implantación de ovocitos, independientemente de los cambios en el peso corporal y los cambios en el metabolismo de los hidratos de carbono. Por tanto, se demuestra que la administración de una sal de tungsteno (VI) tal como se define en la presente invención tiene un efecto directo sobre el sistema reproductor femenino y, por tanto, es eficaz para el tratamiento de la esterilidad en mamíferos hembra no diabéticos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sal de tungsteno (VI) con un grupo catiónico farmacéutica o veterinariamente aceptable, o un solvato de la misma para su uso en el tratamiento de la esterilidad femenina en mamíferos no diabéticos.
2. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 1, en la que el mamífero es un humano.
- 10 3. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que el grupo catiónico es un catión alcalino o alcalinotérreo.
4. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 3, en la que el grupo catiónico se selecciona del grupo que consiste en sodio, potasio, magnesio y calcio.
- 15 5. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 4, en la que la sal de tungsteno (VI) es la sal de sodio de tungsteno (VI).
6. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el solvato es el dihidrato.
- 20 7. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el tratamiento de la esterilidad femenina comprende restaurar la ovulación.
8. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el tratamiento de la esterilidad femenina comprende aumentar la implantación del cigoto en la pared uterina.
- 25 9. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la esterilidad femenina se produce con un cambio en el eje hipotalámico-hipofisario.
- 30 10. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 9, en la que el cambio en el eje hipotalámico-hipofisario se selecciona del grupo que consiste en síndrome del ovario poliquístico, síndrome metabólico, hiperprolactinemia, endometriosis, trastornos alimenticios, obesidad, hipotiroidismo, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus eritematoso, cirrosis, celiarquía, insuficiencia renal crónica y causas idiopáticas.
- 35 11. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 10, en la que el cambio en el eje hipotalámico-hipofisario se debe a causas idiopáticas.
12. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 10, en la que los trastornos alimenticios se seleccionan de anorexia nerviosa y bulimia.
- 40 13. Sal de tungsteno (VI) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que la sal de tungsteno (VI), o un solvato de la misma forma parte de una composición farmacéutica o veterinaria que comprende además excipientes o vehículos farmacéutica o veterinariamente aceptables.
- 45 14. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 13, en la que la composición farmacéutica o veterinaria es una composición para administración oral.
15. Sal de tungsteno (VI) para su uso según la reivindicación 14, en la que la composición para administración oral es una composición líquida.