

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 852**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/40** (2006.01)

**C07K 14/79** (2006.01)

**A61P 15/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2013 PCT/IB2013/060994**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014 WO14097123**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2013 E 13826955 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 2931303**

54 Título: **Lactoferrina para usar en el tratamiento de parto prematuro y aborto espontáneo**

30 Prioridad:

**17.12.2012 IT MI20122152**

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

**17.10.2017**

73 Titular/es:

**PROGINE FARMACEUTICI SRL (100.0%)  
77, Via Trilussa  
50040 Calenzano (FI), IT**

72 Inventor/es:

**LANDI, LAPO**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 637 852 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

Lactoferrina para usar en el tratamiento de parto prematuro y aborto espontáneo

La presente invención se refiere a una composición que comprende una dosis alta de lactoferrina y a su uso en la prevención de aborto espontáneo y/o parto prematuro.

5 La lactoferrina es un polipéptido con un peso molecular de aproximadamente 80 kDa, que es un miembro de la familia de proteínas de la transferrina.

La lactoferrina coordina el ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a través de dos sitios de unión. Normalmente tiene un contenido férrico que es variable, pero siempre por debajo del máximo grado posible de saturación.

10 La lactoferrina se encuentra principalmente en la leche, pero está presente en muchas secreciones mucosas, como lágrimas y saliva.

La actividad antimicrobiana de la lactoferrina está relacionada con su afinidad por  $\text{Fe}^{3+}$ .

15 La combinación de lactoferrina con iones férricos en las secreciones mucosas modula la actividad y la capacidad de las bacterias y virus de adherirse a las membranas celulares, ya que la lactoferrina sustrae del entorno el hierro necesario para la replicación de la célula bacteriana. De hecho, algunas bacterias requieren hierro con el fin de realizar la replicación celular y la lactoferrina sustrae el hierro del medio circundante, previniendo la proliferación de dichas bacterias.

La lactoferrina está contenida normalmente en los granulocitos neutrófilos. En los seres humanos, el gen que codifica la lactoferrina se encuentra situado en el cromosoma 3 con la ubicación 3q21-q23.

20 La lactoferrina también tiene una actividad bactericida independiente de su habilidad para unirse a iones de hierro, ya que es capaz de atacar y romper la membrana bacteriana mediante lisis, aprovechando la afinidad de sus dominios catiónicos por la membrana bacteriana cargada negativamente. Esta actividad, en combinación con la lisozima, una enzima capaz de escindir los enlaces glicosídicos  $\beta$ 1-4 del peptidoglicano, da como resultado la citólisis de la bacteria.

25 Se ha informado el uso de la lactoferrina como un agente antibacteriano (WO9806425), para el tratamiento de anemias (WO2004060392), como componente de fórmulas de alimentación infantil (WO2012091945 y WO2010130643), como suplemento para ganado (WO03047363) y en el área ginecológica (IT1392620).

Una de las desventajas de la lactoferrina es su predominante metabolismo hepático, que provoca la eliminación del 99% de la molécula del cuerpo dentro de las 24 h a partir de la administración.

30 En vista de este aspecto, según las enseñanzas en la técnica anterior, la administración de lactoferrina debe llevarse a cabo repetidamente durante el día cada 4 horas (o menos) con dosis bajas únicas. Por ejemplo, en WO2012084459 la lactoferrina se administra repetidamente por vía intraginal en una sola unidad de 100 mg cada 4, 6, 8 o 12 horas dependiendo de la frecuencia de las contracciones uterinas (en combinación con la terapia oral).

35 Este régimen de dosificación es claramente inconveniente, especialmente cuando la administración se va a llevar a cabo por vía tópica (p. ej. por vía intravaginal), debido a que el sujeto está por lo tanto obligado a repetir la toma varias veces durante un periodo de 24 horas, incluso durante la noche y durante las actividades normales del día. Este inconveniente puede hacer que sea difícil cumplir con el régimen prescrito y, finalmente, puede exponer al sujeto a riesgo de aborto espontáneo o parto prematuro.

40 Se define el parto prematuro como la presencia simultánea de contracciones (más de 6 contracciones en 1 hora), dolor y cambios cervicales, ya sea acortamiento y/o reblandecimiento o dilatación por examen (manual o por escáner por ultrasonidos) antes que el término aceptado generalmente como seguro por los médicos en la práctica normal en el hospital.

45 Las intervenciones para prevenir el trabajo y parto prematuro (PTL), que incluyen reposo en cama, antibióticos, cerclaje cervical, etc. han sido en gran parte infructuosas (Berghella et al., J. Obstet. Gynecol. 2011, 117: 663-671). Además, las terapias más comunes (es decir, beta miméticos, atosiban, bloqueantes de los canales de calcio) no siempre tienen éxito (Locci et al. J. Obstet. Gynecol. 2006, 26: 396-401). Este fracaso es probable que sea debido a la etiología multifactorial de PTL.

Un objetivo de la presente descripción es un método para el tratamiento y prevención del nacimiento prematuro y el aborto espontáneo, que sea eficaz y permita un fácil cumplimiento del régimen prescrito.

50 Una tarea de la presente invención es proporcionar una formulación que permite una administración fácil y eficaz de lactoferrina para la prevención y el tratamiento de partos prematuros y abortos espontáneos.

- De acuerdo con la presente invención, estos objetivos, y otros que serán más evidentes de aquí en adelante, se consiguen por medio de la lactoferrina para usar en la prevención y el tratamiento de parto prematuro y aborto espontáneo, en donde dicho uso comprende administrar una composición, en donde la cantidad de lactoferrina es de 250 a 800 mg por unidad, una o dos veces al día por administración intravaginal tópica a un sujeto que lo necesita. Estos objetivos también se han conseguido mediante una composición en una forma de dosificación unitaria adecuada para administración intravaginal única que comprende al menos un excipiente adecuado para la toma intravaginal y una cantidad de lactoferrina de 350 a 800 mg de lactoferrina.
- Si no se especifica de otro modo, dentro del alcance de la presente invención, los porcentajes se refieren al peso de un componente sobre el peso total de la composición.
- Como se usa en esta memoria, el término “comprende” se refiere a un componente de una composición, se entiende para abarcar también la posibilidad de que dicho componente constituye el 100% de la composición, es decir, una mezcla “que comprende” componente A puede consistir también en 100% de A.
- Dentro del alcance de la presente invención, el contenido de lactoferrina comprendido en forma de dosificación de composición/unidad única indica que todo el peso de lactoferrina en la forma de composición/unidad. Por ejemplo, una composición que comprende 800 mg de lactoferrina y al menos un excipiente que contiene 800 mg de lactoferrina, junto con un(os) componente(s) adicional(es), que son diferentes de lactoferrina.
- Dentro del alcance de la presente invención, el término “lactoferrina” indica ya sea la proteína completa de origen natural, sintética o semi-sintética o un fragmento biológicamente activo de la misma, así como sus formas polimórficas. Como ejemplos no limitantes, la lactoferrina para usar en la presente invención puede ser de origen humano o de origen bovino.
- El término “administración tópica” se refiere a la administración local de lactoferrina en la mucosa de la cavidad vaginal, por ejemplo mediante aplicación de un comprimido vaginal, una crema, una pomada, un pesario, un supositorio o formas de dosificación similares, que excluyen la administración parenteral.
- Dentro del alcance de la presente invención, la administración de lactoferrina a sujetos con necesidad de la misma se lleva a cabo exclusivamente por ruta tópica intravaginal, es decir, en el uso de la presente invención la lactoferrina no se administra al sujeto por otras vías, como oral, intravenosa o toma rectal, además de la administración intravaginal.
- Dentro del alcance de la presente invención, el sujeto con necesidad de lactoferrina puede ser una mujer o un mamífero femenino, como un primate, un animal de granja o una mascota.
- La Figura 1 muestra los niveles de IL-6 cervico-vaginales en el día 30 en el estudio del ejemplo: los niveles de IL-6 fueron estadísticamente menores en el grupo tratado con lactoferrina que en el grupo control.
- La Figura 2 muestra las mediciones de la longitud cervical en el día 30 en el estudio del ejemplo: las mediciones de CL (longitud cervical) fueron estadísticamente menores en el grupo control que en el grupo tratado con lactoferrina.
- La Figura 3 muestra las mediciones de la longitud cervical y niveles de IL-6 en el día 0 y en el día 30 en el grupo de estudio (es decir, el grupo de sujetos que no recibieron un comprimido de lactoferrina) en el estudio del ejemplo. La disminución en los niveles de IL-6 está inversamente relacionada con un aumento en las mediciones de CL.
- La Figura 4 muestra las mediciones de la longitud cervical y los niveles de IL-6 en el día 0 y en el día 30 en el grupo control (es decir, el grupo de sujetos que no recibieron un comprimido de lactoferrina) en el estudio del ejemplo. El aumento en los niveles de IL-6 está inversamente relacionado con una disminución en las mediciones de CL.
- En una realización, la presente invención se refiere a lactoferrina para usar en la prevención y tratamiento del parto prematuro y del aborto espontáneo, en donde dicho uso comprende administrar una composición, en donde la cantidad de lactoferrina es de 250 a 800 mg por unidad, una vez o dos veces al día mediante administración intravaginal tópica a un individuo que lo necesite.
- Sorprendentemente se encontró que la administración de altas dosis de lactoferrina una vez o dos veces al día es eficaz y prácticamente libre de efectos secundarios. Este régimen de dosificación está en fuerte contraste con las enseñanzas de la técnica anterior, en donde la lactoferrina se administra por vía intravaginal sólo en cantidades relativamente bajas individuales (p. ej. 100 mg) y a intervalos de 4 o 6 horas.
- Podría decirse que, la dosis seguida en la técnica anterior se basa en la suposición de que la lactoferrina se metaboliza casi completamente y se inactiva poco después de la toma. Por lo tanto, siguiendo este supuesto, para lograr una concentración efectiva de lactoferrina por un tiempo prolongado, sería necesario repetir la administración al sujeto a intervalos de tiempo cortos.

El presente inventor encontró, en cambio, que la administración se puede llevar a cabo de manera eficaz mediante la toma de dosis más altas y durante una o dos veces al día, con ventajas significativas para la comodidad del sujeto que necesita lactoferrina y para el cumplimiento con la dosis prescrita.

Preferiblemente, la lactoferrina para usar según la presente invención es la proteína completa de origen mamífero.

5 Preferiblemente, la lactoferrina para usar según la presente invención es de origen bovino.

La composición para usar en la presente invención puede comprender lactoferrina y al menos un excipiente fisiológicamente adecuado, es decir, al menos una sustancia conocida para la persona experta en la técnica como adecuada para usar en una forma de dosificación para suministro intravaginal de una sustancia activa.

10 Preferiblemente, la composición que comprende lactoferrina para usar según la presente invención es en forma de comprimido intravaginal.

Preferiblemente, en la composición según la presente invención la cantidad de lactoferrina para la forma de dosificación intravaginal única es 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 o 800 mg.

Preferiblemente, en la composición según la presente invención, la cantidad de lactoferrina está entre 600 y 800 mg para la forma de dosificación intravaginal única por día.

15 Preferiblemente, la composición para usar según la presente invención se administra una vez al día y la cantidad de lactoferrina en la misma es de 300 mg.

Preferiblemente, la composición para usar según la presente invención se administra una vez al día y la cantidad de lactoferrina en la misma es de 800 mg.

20 Preferiblemente, la composición para usar según la presente invención se administra dos veces al día y en cada administración la cantidad de lactoferrina es de 250 mg.

Preferiblemente, la composición para usar según la presente invención se administra dos veces al día y en cada administración la cantidad de lactoferrina es de 300 mg.

Preferiblemente, la composición para usar según la presente invención se administra dos veces al día y en cada administración la cantidad de lactoferrina es de 250 mg.

25 Como ejemplos no limitantes, cuando la composición se administra dos veces al día, la segunda forma de dosificación de la composición que comprende lactoferrina se puede administrar 4, 6, 8, 10 o 12 horas después de la primera administración del día.

30 Preferiblemente, cuando la composición se administra dos veces por día, más preferiblemente en las dosificaciones anteriores, la segunda forma de dosificación de la composición que comprende lactoferrina se administra 4 o 6 horas después de la primera administración.

Preferiblemente, cuando la composición se administra dos veces por día, más preferiblemente en las dosificaciones anteriores, la segunda forma de dosificación de la composición que comprende lactoferrina se administra 8 o 10 horas después de la primera administración.

35 Preferiblemente, cuando la composición se administra dos veces por día, más preferiblemente en las dosis anteriores, la segunda forma de dosificación de la composición que comprende lactoferrina se administra 12 horas después de la primera administración.

40 Preferiblemente, la lactoferrina para usar según la presente invención se administra como una prevención de aborto espontáneo y/o nacimiento prematuro en embarazos de alto riesgo, una o dos veces al día durante 7 días por mes desde el comienzo del embarazo hasta la trigésimo sexta semana de embarazo. De acuerdo con las directrices de la NIH (EE.UU.), los embarazos de alto riesgo se definen generalmente (pero no exclusivamente) como embarazos en presencia de al menos un factor de riesgo que incluye presión sanguínea alta, pre-eclampsia, eclampsia, síndrome de ovario poliquístico, diabetes, enfermedades renales, enfermedades autoinmunes, VIH/SIDA; obesidad, embarazo adolescente, primer embarazo después de los 35 años, consumo de alcohol, tabaquismo, gestación múltiple, diabetes gestacional y similares.

45 Preferiblemente, la lactoferrina para usar según la presente invención se administra durante embarazos en el caso de que los valores de cervicometría que están disminuidos con respecto a aquellos esperados para el periodo gestacional relevante o no correspondiente al periodo gestacional, con o sin contracciones, una vez o dos veces al día a partir de la vigésima semana hasta la semana cuarenta.

50 Para el alcance de la presente invención, los valores de cervicometría se determinan mediante examen objetivo del cuello uterino, normalmente mediante análisis de ultrasonidos, basado en determinar la longitud de la parte cerrada del cuello uterino y de la forma del orificio interno.

La evaluación de los parámetros de cervicometría en relación con el periodo gestacional correspondiente se lleva a cabo según el procedimiento conocido por aquellos expertos en la técnica, por ejemplo, siguiendo las indicaciones de Mella y Berghella (*Sem. in Perinatol.* 2009, 317-324), Mára M et al, *Med Sci Monit*, 2002; 8(5): MT72-77 y Berghella et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009 Jul 8; (3): CD007235.

5 Preferiblemente, la lactoferrina para usar según la presente invención se administra a sujetos con niveles sanguíneos normales de hierro (niveles de hierro sérico normalmente por encima de 50 µg/dl) y/o están libres de enfermedades de la coagulación de la sangre, es decir, a sujetos que no padecen crónicamente enfermedades como anemia por deficiencia de hierro o trombofilia.

10 En otro aspecto, la presente invención comprende una composición en una forma de dosificación unitaria para administración intravaginal única que comprende al menos un excipiente y una cantidad de lactoferrina de 350 a 800 mg.

Preferiblemente, la forma de dosificación intravaginal para la composición según la presente invención se selecciona de un comprimido, un óvulo, una crema, un gel, un lipogel, un supositorio o una cápsula. Más preferiblemente, el dispositivo intravaginal según la presente invención es un comprimido, un óvulo o una cápsula.

15 La composición de la presente invención puede comprender todos los excipientes adecuados para la producción de preparaciones sólidas o en gel para uso intravaginal, como es conocido por la persona experta en la técnica.

Preferiblemente, en la composición según la presente invención la cantidad de lactoferrina es 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 o 800 mg para una forma de dosificación intravaginal única.

20 A modo de ejemplos no limitantes, dichos excipientes pueden incluir diluyentes, absorbentes, adsorbentes, lubricantes, aditivos anti-adherentes, agentes deslizantes, aglutinantes, disgregantes, tensioactivos, colorantes, antioxidantes, antimicrobianos y polímeros.

Preferiblemente, en la composición según la presente invención el al menos un excipiente adecuado para la administración intravaginal se selecciona de manitol, estearato de magnesio, estearato de magnesio vegetal, hidroxietil celulosa, crospovidona, poliacróbilo, carboximetilcelulosa sódica y mezclas de los mismos.

25 Preferiblemete, la composición según la presente invención comprende lactoferrina, manitol, estearato de magnesio, hidroxietilcelulosa y polietilenglicol. Más preferiblemente, en dicha composición la cantidad de lactoferrina es 350, 600 o 800 mg.

La composición según la presente invención se puede preparar mediante todos los métodos adecuados y conocidos por el experto en la rama.

30 El siguiente ejemplo ilustra una realización de la invención, sin limitar su alcance.

### **Ejemplo**

#### Métodos

#### Participantes del estudio

35 Se llevó a cabo un estudio longitudinal, prospectivo, aleatorio desde junio de 2009 hasta diciembre de 2010. A un total de 3.324 pacientes que fueron sometidos a ultrasonografía de rutina a las 20-24 semanas de edad gestacional para el examen de anatomía y crecimiento fetal, se les dio la opción de mediciones ultrasonográficas transvaginales de la longitud cervical como un indicador de PTL espontáneo. Las mujeres con CL 25-29 mm se les invitó a formar parte en un ensayo tratamiento - no tratamiento aleatorio de lactoferrina vaginal. El estudio no se lleva a cabo bajo el protocolo de doble ciego.

40 Los criterios de inclusión son: pacientes en el primer embarazo (primigrávida) a las 20-24 semanas de gestación con embarazo en curso de feto único, membranas intactas y fecha de embarazo confirmada por sonografía del primer trimestre.

45 Los criterios de exclusión son: cualquier anomalía estructural o cromosómica fetal conocida; rotura de membranas; infecciones intra-amnióticas (basadas en parámetros clínicos y bioquímicos); sangrado vaginal; contracciones uterinas; anomalías uterinas conocidas; enfermedad cervical previa; cultivo vaginal/orina positivo; relación sexual y la necesidad de un parto indicado obstétricamente.

El estudio fue aprobado por el Consejo de Revisión Institucional.

Se obtiene un consentimiento informado firmado de todos los pacientes que participan en el estudio.

Asignación al azar y seguimiento

La lista de asignación al azar se prepara usando una lista de números generados informáticamente. Los impares (tratamiento) y los pares (observación) definen la asignación del tratamiento. La lista es administrada por una matrona experimentada.

5 Las mujeres inscritas como casos de estudio reciben comprimidos vaginales que comprenden lactoferrina bovina (300 mg) como una sola administración durante 21 días (grupo de estudio). Aquellas asignadas al azar para la observación no recibieron medicamentos (grupo control). Ambos grupos se manejaron de forma similar. Se realizaron medida de ultrasonido transvaginal (TVM) de la longitud cervical (CL) y lavado cervico-vaginal para el ensayo de IL-6 en el día de admisión y después de 30 días. Se realizaron las mediciones sonográficas de la longitud cervical según las directrices y definiciones publicadas (Mella y Berghella (*Sem. in Perinatol.* 2009, 317-324). Se asume CL 25-29 mm como un cuello uterino corto (Ness et al. *Am J. Obstet. Gynecol.* 2007, 197: 426. e1-e7)). Se realiza la TVM por un operador con experiencia, que desconocía la asignación del tratamiento. La recogida del fluido cervical se realiza por un operador ciego. Los análisis de IL-6 se llevan a cabo por otro operador ciego. Para evaluar la infección, se recogen un frotis vaginal y una muestra de orina, ya sea en la admisión o en el día de seguimiento.

#### Recogida de muestra e inmunoensayos

15 Se usa un total de 3 ml de solución salina normal para el lavado cervico-vaginal después de la visualización del cuello uterino mediante espéculo vaginal.

20 Se recoge el fluido cervico-vaginal mediante una pipeta estéril y se transfiere a tubos de centrifuga estériles. Los especímenes se congelan rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenan a 80°C hasta el análisis. Para el análisis, las muestras se descongelan y se centrifugan. Para evaluar la concentración de IL-6 secretada, se recoge el sobrenadante y se almacena a 4°C hasta su uso, mientras que el sedimento se resuspende en tampón de lisis y se centrifuga para obtener la fracción intracelular de proteínas. Antes de realizar el ensayo, se determina la concentración intracelular de proteínas mediante el Eppendorf Biophotometer (Eppendorf GmbH, Hamburgo, Alemania) y se expresa en µg/µl.

25 Se emplean los kits de ELISA de IL-6 humana (Raybiotech Inc., GA, EE.UU.) ELHIL6-001 (específico para suero, plasma, sobrenadante de cultivo celular y orina) y ELH-IL6 – 001C (específico para lisados celulares y de tejido) para determinar la concentración de IL-6 secretada o de fracción intracelular, respectivamente. Se cargan 200 µl. de cada muestra, por duplicado o triplicado y se realiza un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) siguiendo el protocolo del fabricante. Se lee la absorbancia (densidad óptica) con el lector de microplacas Biotek ELx800 (Biotek, VT, EE.UU.) a 450 nm.

30 Los kits de ELISA empleados en el estudio son adecuados para la detección de IL-6 en el sobrenadante celular y las células lisadas. Además, están disponibles y validados comercialmente por los proveedores en el mercado. Los niveles de Interleuquina-6 se expresan como pg/mg de proteínas totales extraídas del fluido cervico-vaginal.

#### Medidas de resultados

35 Las medidas de resultados primarios son los cambios en la longitud cervical y en los niveles de IL-6 cervico-vaginales. Las medidas de resultados secundarios son la detección tocográfica de las contracciones uterinas regulares (más de 6 contracciones uterinas en 1 hora), dolor y cambios en la consistencia cervical antes de la semana 37 de gestación.

#### Métodos estadísticos

40 Las principales variables de los resultados son la concentración de IL-6 cervico-vaginal y la longitud cervical. El resultado medio se comparó entre los dos grupos aleatorios. Se compararon las distribuciones de las variables mediante la prueba t de Student. Se usaron las medias y las desviaciones estándar como estadística descriptiva para cada grupo.

Se usó el coeficiente de correlación de Pearson (r) para evaluar la relación, si la hay, entre CL y cambios de IL-6. El porcentaje de mujeres con concentraciones uterinas antes de la semana 37 se comparó usando la prueba de  $\chi^2$ .

45 Se consideran estadísticamente significativas las diferencias asociadas con valores de p de menos de 0,05. Todos los análisis estadísticos se realizaron con software estadístico profesional (SPSS 7.5 para Windows).

#### Resultados

50 Se pudieron inscribir un total de 143 pacientes asintomáticos con un cuello uterino corto (CL: 25-29 mm); 113 tenían un CL menor que 25 mm. Se sometieron a tratamiento estándar para pacientes en riesgo y se evaluaron para la sala de recuperación. Un total de 221 tenían un CL 25-29 mm y de estos, 163 se evaluaron para su elegibilidad, homogéneos para de edad, raza, estilo de vida y criterios de inclusión. Un total de 143 mujeres se inscribieron entonces inicialmente en el estudio.

De las mujeres, se asignaron 71 para evaluar el efecto de la lactoferrina sobre la longitud cervical y la concentración de IL-6 cervico-vaginal y se asignaron para tratamiento (grupo de casos de estudio). Las 72 mujeres restantes se asignaron para ningún tratamiento (grupo control).

5 Se retiraron un total de 15 mujeres, como sigue: siete en el grupo de estudio (2 hidramnios; 2 ruptura de membranas; 2 hipertensión maternal; 1 abandonó el estudio) y ocho en el grupo de control (1 hidramnios; 3 ruptura de membranas; 2 contracciones uterinas; 2 abandonaron el estudio). Se analizaron finalmente así los datos de 128 casos para resultados.

10 No hay diferencia significativa en los niveles de IL-6 basales entre los casos y el grupo control (casos: media 49,85 pg/mg; control: 49,59 pg/mg). No se encuentra diferencia en la longitud cervical entre los dos grupos en la admisión (control: media: 27,1 mm; casos: media 27,26 mm).

15 En el día 30 de evaluación, se encuentra una diferencia significativa en los niveles de IL-6 cervicales entre los dos grupos (casos: media 5,823 pg/mg; intervalo 0,1-12,81 pg/mg; controles: media 80,82 pg/mg; intervalo 55,8-113,0 pg/mg) ( $p$  menor que 0,0001) (Figura 1). El kit ELH-IL6 – 001, específico para la detección de IL-6 de sobrenadante de cultivo celular, no reveló la presencia de la proteína en el sobrenadante, probablemente debido a la dilución de la muestra. La fracción intracelular de IL-6 se detectó fácilmente y se midió en su lugar.

Se encuentra una diferencia en las mediciones de CL entre los dos grupos en el día 30 de seguimiento (tratados: CL media: 37,6 mm; intervalo 34,8-43,0 mm; controles: CL media: 21,38 mm; intervalo 20,0-23,5 mm) ( $p$  menor que 0,0001) (Figura 2).

20 Se encuentra una relación negativa entre las mediciones de CL y los niveles de IL-6 en ambos grupos (casos: [ $r = -0,81$ ];  $p$  menor que 0,0001; controles : [ $r = -0,73$ ];  $p$  menor que 0,0001).

Cinco mujeres (9%) de las 64 en el grupo de lactoferrina y 13 mujeres (20,3%) de las 64 en el grupo control, presentaron más de seis contracciones uterinas en 30 min, con cambios en la longitud cervical y reblandecimiento del cuello uterino antes de la gestación de 37 semanas completas ( $\chi^2 = 4,14$ ;  $p$  menor que 0,05).

Estos sujetos se sometieron a protocolos estándar para la prevención de PTD.

25 Estos datos muestran que altos niveles de IL-6 citoquina inflamatoria intracelular parecen estar relacionados con un cuello uterino corto. Una administración diaria de lactoferrina a alta dosis (300 mg) previene eficazmente el aborto espontáneo y el parto prematuro y está desprovista de efectos secundarios significativos.

**REIVINDICACIONES**

1. Lactoferrina para usar en la prevención y tratamiento de parto prematuro y aborto espontáneo, que consiste en administrar una vez o dos veces al día mediante ruta intravaginal tópica a un sujeto que lo necesita una forma de dosificación unitaria, que consiste en:

- 5
- lactoferrina en cantidades de 250 a 800 mg y
  - al menos un excipiente adecuado para toma intravaginal.

2. Lactoferrina para usar según la reivindicación 1 en la que la lactoferrina es lactoferrina bovina, o un fragmento o derivado de la misma.

10 3. Lactoferrina para usar según una de las reivindicaciones precedentes en donde la composición es en forma de un comprimido intravaginal.

4. Lactoferrina para usar según una de las reivindicaciones precedentes en donde la composición se administra una vez al día y la cantidad de lactoferrina en ella es 300 mg.

15 5. Lactoferrina para usar según una de las reivindicaciones precedentes, en donde, para usar en la prevención del nacimiento prematuro y del aborto espontáneo en embarazos de riesgo, se administra lactoferrina una vez o dos veces al día durante siete días en un mes desde el comienzo del embarazo hasta la semana treinta y siete de embarazo.

20 6. Lactoferrina para usar según una de las reivindicaciones precedentes, en donde, para usar en la prevención del nacimiento prematuro y del aborto espontáneo en embarazos en caso de cervicometría reducida con respecto al valor normal para el periodo gestacional, correspondiente o no al periodo gestacional, con o sin contracciones, se administra lactoferrina una vez o dos veces al día desde la semana veinte hasta la semana cuarenta.

7. Lactoferrina para usar según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la administración tópica de lactoferrina se lleva a cabo en sujetos con niveles sanguíneos normales de hierro y/o libres de enfermedades de la coagulación sanguínea.

25 8. La lactoferrina para usar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde la cantidad de lactoferrina en dicha forma de dosificación unitaria oscila de 350 a 800 mg.

9. La lactoferrina para usar según la reivindicación 8 en donde la cantidad de lactoferrina en dicha forma de dosificación unitaria va de 600 a 800 mg.

30 10. La lactoferrina para usar según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 9, en donde el al menos un excipiente adecuado para la toma intravaginal se selecciona de manitol, estearato de magnesio, estearato de magnesio a partir de fuentes vegetales, hidroxietil celulosa, crospovidona, poliacarbófilo, carboximetilcelulosa sódica, y mezclas de los mismos.

35 11. La lactoferrina para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde dicha forma de dosificación unitaria se selecciona de: un comprimido intravaginal, una cápsula intravaginal o un óvulo intravaginal.

Figura 1

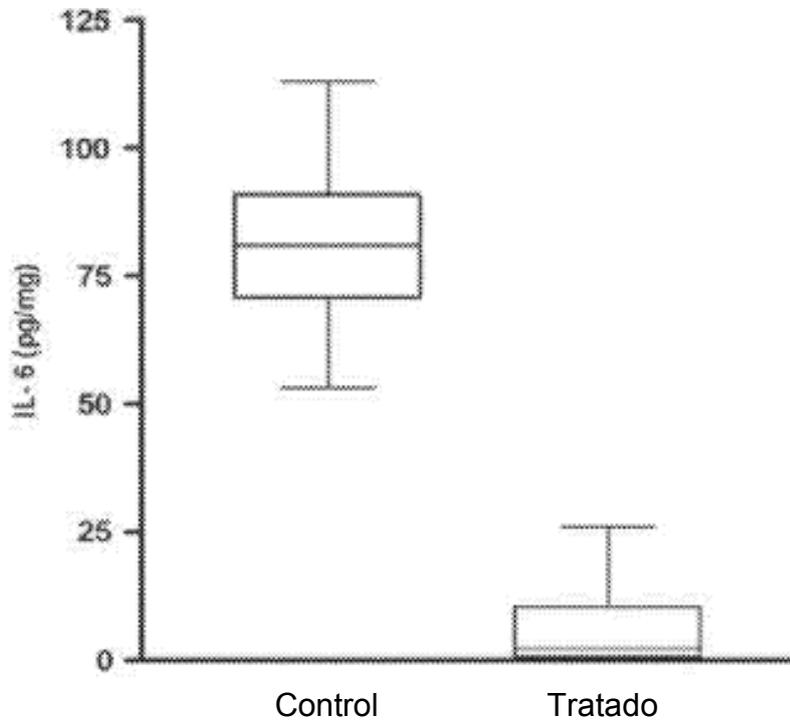


Figura 2

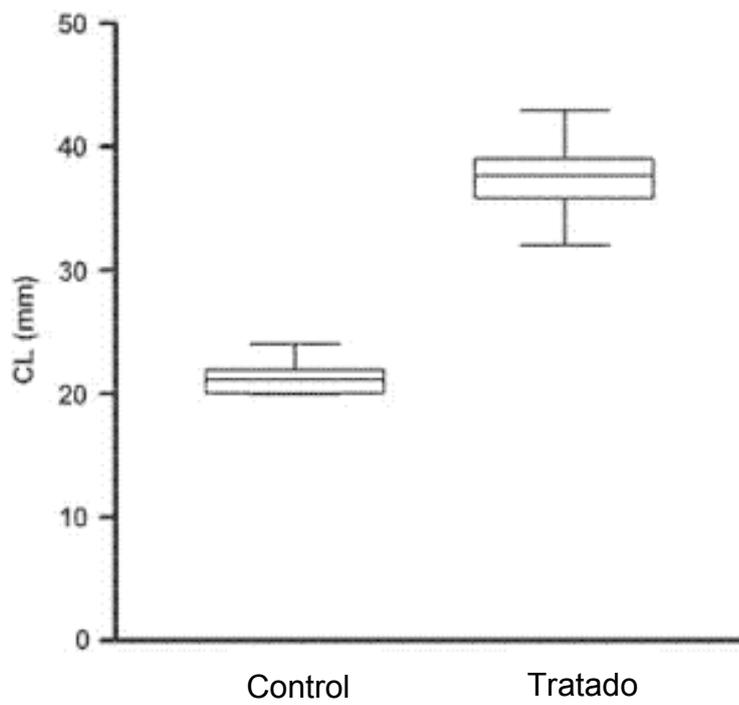


Figura 3

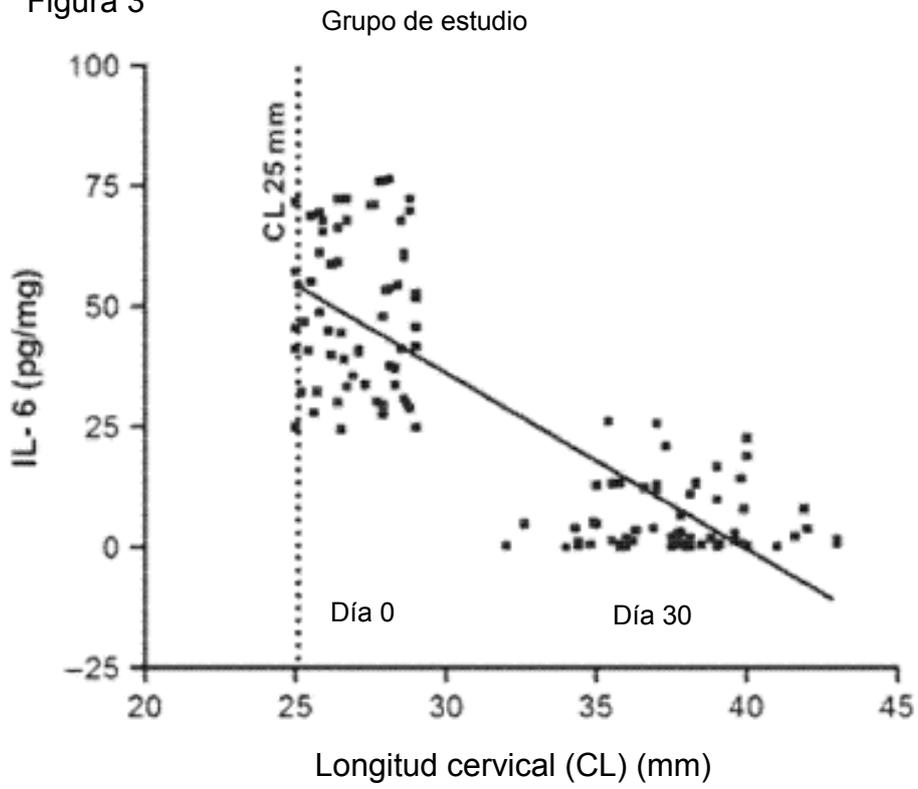


Figura 4

