

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 969**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/19** (2006.01)

**A61P 15/06** (2006.01)

**A61P 15/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.08.2014 PCT/GB2014/052450**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2015 WO15022509**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2014 E 14750630 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 3033096**

54 Título: **Una composición que comprende eotaxina y RANTES para su uso en la mejora de la tasa de embarazo**

30 Prioridad:

**13.08.2013 GB 201314452**

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

**06.02.2019**

73 Titular/es:

**OSTARA BIOMEDICAL LTD (100.0%)  
Liverpool Science Park, 131 Mount Pleasant  
Liverpool, Merseyside L3 5TF, GB**

72 Inventor/es:

**GOPICHANDRAN, NADIA;  
ORSI, NICOLAS MICHEL y  
BROOKE, DAVID ANDREW**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 698 969 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

Una composición que comprende eotaxina y RANTES para su uso en la mejora de la tasa de embarazo

5 La presente invención se refiere a composiciones para su uso en la mejora de la tasa de éxito de la implantación de embriones y la tasa de éxito de embarazo en hembras, al proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo antes de la inseminación o implantación de embriones. Los métodos de la presente invención se usan para hacer al útero más receptivo o menos hostil a, por ejemplo, embriones transferidos, espermatozoides.

10 Antecedentes de la invención

El ambiente uterino, que, si es hostil/no receptivo, puede ser responsable de las tasas bajas de implantación de embriones de buena calidad en humanos y animales por igual. Se cree que un ambiente uterino preparado inadecuadamente puede ser responsable, además, de muchos casos de fallo reproductivo en términos de implantación fallida y aborto espontáneo. De manera similar, un fallo en la preparación uterina se reconoce en los seres humanos como causante de complicaciones del embarazo tales como la preeclampsia y la restricción del crecimiento fetal al impedir el desarrollo placentario apropiado.

20 Los animales alterados o modificados genéticamente proporcionan modelos valiosos para probar terapias genéticas y farmacológicas nuevas *in vivo* y son la razón principal de que el número de experimentos con animales haya aumentado en la última década. En el Reino Unido, se llevaron a cabo en 2011 cuatro veces más procedimientos científicos mediante el uso de animales modificados genéticamente en comparación con 1995. El uso de animales modificados genéticamente representa ahora más del 50 % de todos los procedimientos científicos en animales. La categoría más grande de uso es la reproducción (para producir animales modificados genéticamente), y los roedores representan casi 25 1,8 millones de procedimientos en el Reino Unido solo en el 2012, en una tendencia de fondo de que esta cantidad aumente anualmente. La transferencia de embriones en roedores sustenta el desarrollo de enfoques transgénicos, la rederivación de cepas específicas y facilita el transporte de líneas de animales a través de distancias grandes. Típicamente, la transferencia de embriones requiere la inducción de pseudoembarazo en las hembras receptoras. Este fenómeno prepara al útero para la implantación de embriones, sin embargo, la tasa de éxito de la transferencia de 30 embriones modificados genéticamente, a pesar de la inducción de pseudoembarazo, se mantiene baja relativamente.

Los ratones son ovuladores espontáneos y pueden pseudoembarzarse después de un estro en el que la hembra se aparee con un macho estéril genéticamente, tal como la cepa T145H-Re (que es estéril debido a una translocación cromosómica) que puede obtenerse de Harlan Laboratories Inc o de un macho vasectomizado. Ambos grupos de machos eyaculan plasma seminal desprovisto de espermatozoides funcionales. Sin embargo, tanto los ratones estériles genéticamente como los vasectomizados son costosos relativamente. En el caso de los machos vasectomizados, no puede garantizarse que la esterilidad sea 100 % eficaz y se necesitan pruebas para cada macho, mientras que la producción de machos estériles genéticamente genera hembras excedentes no deseadas.

40 Alternativamente, puede inducirse el pseudoembarazo mediante la simulación de los estímulos vaginales normales alcanzados por el apareamiento con estimulación mecánica artificial, por ejemplo, mediante una herramienta de grabado vibratoria (Kenney y otros; J Reprod. Fert. 1977, 49, 305-309). Se encontró que el número y la tasa de intromisiones fueron influencias cruciales en el éxito reproductivo (Diamond; Science, 1970, 169, 4, 995-997). Si bien este enfoque ha tenido cierto éxito en ratas y ratones, la estimulación mecánica no tuvo efecto sobre la inducción de pseudoembarazo en el hámster dorado (Diamond y otros, J. Reprod. Fert. 1968, 17, 165-168). Cuando la hembra se aparee con un macho infértil o se estimula mecánicamente, el cuerpo lúteo persiste sin un embrión, lo que conduce al pseudoembarazo. La hembra, en estado de pseudoembarazo, desarrollará las glándulas mamarias, lactará y construirá nidos. Existe una necesidad de mejorar los métodos para inducir un estado de pseudoembarazo en animales de pruebas de laboratorio.

50 Aunque los protocolos para la transferencia de embriones en una serie de especies de roedores están bien establecidos relativamente, su pobre optimización significa que existe una pérdida significativa de animales, lo que suscita una serie de problemas financieros y éticos en las unidades reproductoras de animales de todo el mundo. El enfoque estándar de la técnica anterior se basa actualmente en el apareamiento de hembras receptoras con machos vasectomizados para inducir pseudoembarazo en lugar de la estimulación mecánica, donde la actividad copulatoria y la exposición seminal del tracto reproductivo materno desencadena una respuesta neuroendocrina e inflamatoria local (hacia el útero, principalmente) lo que implica una cascada compleja de citocinas y eventos mediados por prostaglandinas orientados a crear un entorno inmunopermisivo en el útero, lo que favorece de esta manera el desarrollo de embriones previo a la implantación y/o la implantación de blastocistos y el establecimiento del embarazo. Incluso en ausencia de fertilización, se apoyan el desarrollo luteal y la producción de progesterona, y la fisiología materna se orquesta para hacer que el 60 útero sea receptivo a los embriones transferidos por hasta 10-13 días. Esta técnica se usa habitualmente para apoyar el desarrollo de embriones normales (regeneración/rederivación de cepas crioconservadas) o modificados genéticamente (transgénicos/quiméricos/clonados).

65 Sin embargo, la eficacia de este enfoque es limitada. Típicamente, se preparan cuatro veces más hembras para el procedimiento en comparación con aquellas que quedan preñadas. Cuando se implantan embriones frescos o

congelados, esto representa una pérdida considerable de material biológico valioso y de esfuerzo. Además, un número de machos jóvenes vasectomizados también necesita mantenerse junto a las posibles receptoras: estos pueden aparearse solamente 2-3 veces a la semana y se reemplazan típicamente cada 6-9 meses para mantener el rendimiento.

5 El apareamiento se produce predominantemente cuando la hembra receptora está en estro. El ciclo del estro dura 4-5 días en el ratón y en la rata (equivalente al ciclo menstrual promedio de 28 días de una mujer), lo que lleva a la necesidad de depender de un gran grupo de hembras receptoras potenciales para tomar parte en posibles apareamientos con machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles. Típicamente, el 75 % de las receptoras no están en estro en poblaciones en ciclo aleatoriamente, lo que lleva a que se mantenga un gran número de hembras y machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles y, en el caso de las primeras, a menudo no se usan como sustitutas para garantizar un número adecuado de receptoras para su uso en transferencias cronometradas. Esto es evidente particularmente en casos donde los embriones a transferir son valiosos particularmente. Las mejoras a este enfoque se han basado en la inducción del estro cronometrado a través del efecto Whitten en las hembras receptoras. Esta estrategia descansa en la estimulación feromonal de las hembras receptoras, lo que las lleva típicamente al estro 3 días después de la exposición al encamado contaminado con la orina del macho semental. Sin embargo, la etapa del ciclo de las hembras en el momento de la exposición feromonal, la cercanía a las jaulas de los sementales y la edad de las receptoras pueden todos tener efectos adversos en la confiabilidad de este enfoque, lo que lo hace ineficiente relativamente.

20 La posibilidad de que las hembras se encuentren en estro (receptivas sexualmente) en el momento adecuado es 1:4 debido a la duración de su ciclo (4 días). Por lo tanto, si se requieren 4 receptoras, se aparearán 16 hembras a 16 machos, lo que se traduce en una tasa de éxito del 25 %. Esta cifra puede ser más baja aún, ya que algunas hembras se negarán a aparearse con su pareja. El punto clave es que aunque la mayoría de los criadores seleccionan hembras en estro, o inducen el estro antes de aparearlas con machos estériles, todavía solo un porcentaje bajo relativamente (a menudo aproximadamente del 50 %, pero tan bajo como el 15 % en algunas instalaciones) de hembras en estro desarrollarán el tapón mucoso y por lo tanto se asumirá que están pseudopreñada. Además, las hembras también tienen una duración de vida funcional muy limitada de unos pocos meses de edad como receptoras de transferencia de embriones. Las hembras acumulan grasa abdominal rápidamente a medida que maduran, lo que hace a las transferencias de embriones laparotómicas (el método más común y exitoso) técnicamente demasiado desafiantes.

Mediante las composiciones y métodos de la presente invención, se prevé que la necesidad de ratones machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles puede reducirse drásticamente junto con una reducción significativa del uso de ratones hembras.

35 La presente invención tiene como objetivo mejorar las tasas de embarazo en hembras de mamíferos en términos de embarazos positivos y/o aumento del número de la camada después de la inseminación artificial o natural o después del trasplante de embriones frescos o congelados o conservados de cualquier otra manera.

#### 40 Resumen de la descripción

La presente invención se define por las reivindicaciones. De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición de materia que comprende eotaxina y RANTES para su uso en la mejora de las tasas de embarazo y/o para reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación.

Preferentemente, la IL-12 es IL-12 p40 o IL-12p70.

50 Preferentemente, el MIP es MIP-1a o MIP-1b.

Preferentemente, la composición comprende además cualquier una, dos, tres, cuatro, cinco o seis citocinas adicionales seleccionadas del grupo que comprende IL-12, MCP-1, MIP, IL-17, IL-9 y GM-CSF. Por lo tanto, la composición de la presente invención puede ser, como un ejemplo ilustrativo, eotaxina y RANTES además de uno o más de TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-12, MCP-1, MIP, IL-17, IL-9 y GM-CSF. Está dentro del alcance de la invención proporcionar una serie de combinaciones específicas de citocinas específicas para su uso en la inducción de un útero a ser más receptivo o menos hostil al embrión transferido, esperma u otro tejido aloinjertado.

60 En consecuencia, las composiciones de la presente invención pueden incluir una variedad de citocinas múltiples, ya que se reconoce que las concentraciones altas de una citocina específica en el fluido seminal no reflejan necesariamente su significación biológica.

Las composiciones de la presente invención se seleccionan a partir de las citocinas siguientes:

(i) eotaxina y RANTES; y opcionalmente una o más citocinas adicionales seleccionadas del grupo que comprende;

65

(ii) **TNF- $\alpha$** , **TGF $\beta$** , IL-12, MCP-1, MIP, IL-17, IL-9 y GM-CSF y opcionalmente, otra citocina adicional seleccionada del grupo que comprende;

(iii) IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL10, IL-13, IL-15, IL-16, IL-18, FGF, G-CSF, IFN- $\alpha$ 2, IFN- $\gamma$ , IP-10, PDGF, VEGF, CTACK, KC, GRO $\alpha$ , HGF, ICAM-1, Leptina, LIF, MCP-3, M-CSF, MIF, MIG,  $\beta$ -NGF, SCF, SCGF- $\beta$ , SDF-1 $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TRAIL VEGF y VCAM-1.

La tabla 1 más abajo enumera los acrónimos de las citocinas a las que se hace referencia en la presente invención:

**Tabla 1:** Citocinas analizadas mediante el uso de ensayos bioplexados

<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	Interleucina-1 $\alpha$
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina-1 $\beta$
<b>IL-1ra</b>	Antagonista del receptor de Interleucina-1
<b>IL-2ra</b>	Antagonista del receptor de interleucina-2
<b>IL-2</b>	Interleucina-2
<b>IL-3</b>	Interleucina-3
<b>IL-4</b>	Interleucina-4
<b>IL-5</b>	Interleucina-5
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IL-7</b>	Interleucina-7
<b>IL-8</b>	Interleucina-8
<b>IL-9</b>	Interleucina-9
<b>IL-10</b>	Interleucina-10
<b>IL-12 (p40)</b>	Interleucina-12 (p40)
<b>IL-12 (p70)</b>	Interleucina-12 (p70)
<b>IL-13</b>	Interleucina-13
<b>IL-15</b>	Interleucina-15
<b>IL-16</b>	Interleucina-16
<b>IL-17</b>	Interleucina-17
<b>IL-18</b>	Interleucina-18
<b>Eotaxina</b>	Eotaxina
<b>FGF</b>	Factor de crecimiento de fibroblastos básico
<b>G-CSF</b>	Factor estimulante de colonias de granulocitos
<b>GM-CSF</b>	Factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos
<b>IFN-<math>\alpha</math> 2</b>	Interferón- $\alpha$ 2
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón- $\gamma$
<b>IP-10</b>	IFN- $\gamma$ proteína inducible-10
<b>LEPTINA</b>	Hormona asociada con el control del peso
<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotáctica de macrófagos-1
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	Proteína inflamatoria de macrófagos-1 $\alpha$

5	<b>MIP-1<math>\beta</math></b>	Proteína inflamatoria de macrófagos-1 $\beta$
	<b>PDGF</b>	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
	<b>RANTES</b>	Reguladas después de la activación de células T normales expresadas y secretadas
	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral
10	<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento endotelial vascular
	<b>CTACK</b>	Células T cutáneas que atraen a la quimiocina
	<b>KC</b>	Citocina derivada de queratinocitos
15	<b>GRO<math>\alpha</math></b>	Oncogén- $\alpha$ relacionado al crecimiento
	<b>HGF</b>	Factor de crecimiento de hepatocitos
	<b>ICAM 1</b>	Molécula de adhesión celular intercelular
20	<b>LIF</b>	Factor inhibidor de la leucemia
	<b>MCP3</b>	Proteína quimioatrayente de monocitos-3
	<b>M-CSF</b>	Factor estimulante de colonias de macrófagos
25	<b>MIF</b>	Factor inhibidor de la migración de macrófagos
	<b>MIG</b>	Monocina inducida por IFN- $\gamma$
	<b><math>\beta</math>-NGF</b>	Factor de crecimiento nervioso $\beta$
	<b>SCF</b>	Factor de células madre
30	<b>SCGF-<math>\beta</math></b>	Factor de crecimiento de células madre- $\beta$
	<b>SDF-1<math>\alpha</math></b>	Factor derivado de células estromales-1 $\alpha$
	<b>TGF-<math>\beta</math>1</b>	Factor de crecimiento transformante $\beta$ 1
35	<b>TNF-<math>\beta</math></b>	Factor de necrosis tumoral- $\beta$
	<b>TRAIL</b>	Ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral
40	<b>VCAM-1</b>	Molécula de adhesión de células vasculares-1

La presente invención consiste en aprovechar las propiedades de los agentes seminales que promueven la receptividad uterina y en proporcionar una alternativa quimicofísica a los machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles, preferentemente en forma de un inserto vaginal tal como un pesario, gel, atomizador o aliado a cualquier otro portador soluble.

La presente invención, ventajosamente, dado que la demanda de modelos animales no humanos transgénicos se incrementará aún más, proporciona una alternativa a el pseudoembarazo inducida por machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles y, además, reduce ventajosamente el número de hembras requeridas mediante la mejora de la receptividad uterina a los embriones transferidos.

La presente invención obvia ventajosamente la necesidad de machos vasectomizados o de cualquier otra manera estériles, dado que su contribución se refiere únicamente a desencadenar las respuestas inflamatorias neuroendocrinas y uterinas requeridas para inducir el pseudoembarazo.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica como se describe anteriormente en la presente descripción en forma de un dispositivo intrauterino para mejorar las tasas de embarazo y/o para reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación.

Preferentemente, la hembra es mamífero y con mayor preferencia es humana.

Preferentemente, la hembra de mamífero se selecciona del grupo que comprende ratón, rata, conejo, gerbo, curiel, hámster, primate (mono, simio), canino, felino, porcino o cualquier otra especie de animal de laboratorio o en peligro de extinción en la que se colocan los embriones.

5 Preferentemente, la hembra es un mamífero y aún con mayor preferencia es una raza/especie rara o una raza/especie que está en peligro de extinción.

10 Preferentemente, la hembra puede seleccionarse del grupo que comprende animales de los órdenes de Artiodactyla, Carnivora, Cetacea, Chiroptera, Dermoptera, Edentata, Hyracoidae, Insectivora, Lagomorpha, Marsupialia, Perissodactyla, Pholidata, Pinnipedia, Primates, Proboscidea, Rodentia, Sirenia y Tubulidentata.

15 Preferentemente, la cantidad de cualquiera de las citocinas presentes en la composición se libera, desde cualquiera de sus formas de entrega como se describe de ahora en adelante, *in situ* ya sea por encima o dentro de su rango fisiológico aproximado encontrado en el fluido seminal.

Las citocinas se miden como pg/ml como los valores reconocidos estandarizados en la técnica.

20 La presente invención consiste en aprovechar las propiedades de los agentes seminales, especialmente las citocinas (que son moduladores proteicos de la respuesta inmunitaria y que promueven la receptividad uterina), al proporcionar una formulación químico-física preferentemente en una forma adecuada para la administración vaginal para su inserción en la hembra antes del apareamiento/inseminación o antes de la implantación de embriones. La formulación introducida libera agentes que mejoran la receptividad del ambiente uterino.

25 El enfoque usado en la presente invención es imitar la señalización bioquímica mediada por plasma seminal mediante el uso de un sistema de administración basado en pesario, basado en gel, basado en solución, basado en emulsión, basado en polvo o basado en atomizador. Los pesarios ya se usan rutinariamente en una serie de especies domésticas grandes (por ejemplo, ganado) para la sincronización del ciclo estral para la transferencia de embriones/inseminación artificial. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha usado ningún pesario con las composiciones de la presente composición o para la función especificada de promover la receptividad uterina y/o inducir un estado de pseudoembarazo.

30 Preferentemente, las citocinas son recombinantes. Es decir, que estas se obtienen mediante ingeniería genética de una bacteria u otro tipo de célula mediante el uso de tecnología recombinante.

35 La presente invención proporciona composiciones para hembras que comprenden preparaciones de citocinas recombinantes, típicamente en la forma de un pesario colocado en la vagina o una espuma en atomizador liberada en la vagina antes de la inseminación/transferencia de embriones para reducir la alorreactividad inmunitaria materna contra el esperma/embriones, lo que mejora de esta manera la tasa/resultados de embarazo. El uso de este modo de administración como una estrategia para mejorar la receptividad endometrial es novedoso.

40 Preferentemente, la composición incluye además adyuvantes tales como conservantes, antioxidantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol o ácido sórbico. Además, puede ser conveniente incluir agentes isotónicos tales como azúcares o cloruro de sodio, por ejemplo. Además, puede ser beneficioso incluir ceras, agua y cosolventes.

45 Preferentemente, la composición está en una forma adecuada para la administración vaginal tal como una cápsula vaginal, gel vaginal, tableta vaginal, polvo vaginal, solución vaginal, pesario vaginal, copa vaginal, esponja vaginal o espuma o atomizador vaginal. Con la máxima preferencia, la composición tiene forma de un pesario vaginal.

50 Preferentemente, la formulación vaginal se disuelve o no se disuelve, es degradable o no degradable.

55 Preferentemente, las composiciones de la presente invención se preparan como un supositorio vaginal, comprimido, polvo, comprimido bioadhesivo, cápsula, micropartícula, micropartícula bioadhesiva, microcápsula, microesfera, liposoma, crema, loción, espuma, atomizador, película, ungüento, solución, gel o un gel, comprimido o cápsula de liberación sostenida, o un supositorio de liberación sostenida administrado en la vagina o incorporado en un dispositivo vaginal.

60 Preferentemente, las composiciones de la presente invención se preparan como preparaciones microencapsuladas de paredes múltiples y núcleos múltiples. Con mayor preferencia, los componentes activos de la composición se usan como material seco encapsulado en una envoltura/cubierta similar a una cápsula de gelatina.

65 Las composiciones para la administración vaginal se preparan preferentemente mediante la mezcla de las composiciones de la presente invención con ingredientes farmacéuticos adecuados o excipientes o portadores no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio los que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto se derriten en el recto o la cavidad vaginal y liberan el

compuesto activo. Un ejemplo típico de un pesario vaginal incluiría los ingredientes activos y los excipientes siguientes: triglicéridos de cadena media y grasa dura.

5 Alternativamente, la composición puede incorporarse en un dispositivo intravaginal o un recubrimiento de dicho dispositivo, por ejemplo, un tampón o un recubrimiento de dispositivo similar a un tampón, o incorporarse en una esponja, espuma, tira, polvo, pesario u otro material. El material o matriz absorbente de dichos dispositivos puede impregnarse con una composición de la presente invención como una solución líquida, loción en suspensión, polvo, crema, microemulsiones o suspensión de liposomas, nanopartículas bioadhesivas o micropartículas bioadhesivas. Preferentemente, el dispositivo vaginal se disuelve o no se disuelve, es degradable o no degradable.

10 Preferentemente, las composiciones incluyen además un agente mucoadhesivo, un promotor de la sorción o un potenciador de la penetración. Las composiciones de la presente invención se administran mediante administración vaginal por vía transmucosa y comprenden poner en contacto la mucosa vaginal con las composiciones de la presente invención.

15 Preferentemente, las composiciones para la administración vaginal son para administración rápida, administración controlada, administración continua o administración por pulsos.

20 Se prevé que la composición de la presente invención se formulará en una modalidad como un pesario con una cera de fusión lenta o una cera de fusión rápida para lograr una administración continua o rápida, respectivamente. En una modalidad alternativa, la composición de la invención se formulará en una espuma o gel con aditivos apropiados para permitir la liberación controlada.

25 Preferentemente, en el caso de proporcionar la composición de la presente invención como un pesario vaginal, comprimido, comprimido bioadhesivo, cápsula, polvo, micropartícula, micropartícula bioadhesiva, el recubrimiento será abrasivo. Esta es una modificación apropiada a la composición administrable, especialmente si el pene del macho de la especie que se prepara para la receptividad uterina tiene una epidermis áspera, espinas queratinosas, etcétera. En este caso, es conveniente que el vehículo de administración vaginal insertado tenga un recubrimiento externo rugoso similar al del pene para provocar una respuesta inflamatoria materna para mejorar la penetración de la preparación en la mucosa, producir una respuesta inflamatoria inicial y ayudar a la estimulación neuroendocrina genérica.

30 En una modalidad particularmente preferida de la invención, la composición tiene forma de un pesario. Preferentemente, el pesario tiene un tamaño y una forma adecuados para insertarse en la vagina de la hembra. El pesario puede tener un núcleo sólido y una capa porosa externa. Típicamente, las dimensiones de un pesario para ratones son un diámetro total de 4 mm y una longitud de 7 mm. El diámetro y la longitud del pesario dependen del tamaño de la vagina de la especie en la que se inserta, es deseable que el pesario tenga un tamaño y una forma tal que, al insertarlo en la vagina, se retenga sin incomodidad.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona la composición del primer aspecto de la invención para la fabricación de un medicamento para mejorar las tasas de embarazo y/o reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en las hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación.

40 Se describe, pero no se reivindica, un método para reducir la alorreactividad materna en una hembra contra el fluido seminal/esperma, los embriones u otro aloinjerto (lo que incluye la microflora existente) que comprende exponer la mucosa del tracto vaginal/gastrointestinal a una composición como se describió aquí anteriormente, el método comprende:

- 45 (i) introducir al menos un vehículo de administración vaginal que comprende la composición de la presente invención en la vagina de la hembra;
- 50 (ii) opcionalmente, insertar otro(s) vehículo(s) de administración vaginal;
- (iii) permitir que transcurra un período de tiempo suficiente para permitir que los componentes activos del vehículo de administración vaginal se liberen y penetren en la vagina y se absorban por vía transmucosa y/o difundan y/o se transporten al útero; e
- 55 (iv) inseminar a la hembra mediante apareamiento con un macho o mediante inseminación artificial, gametos de donantes o introducir un embrión u otro aloinjerto en el útero para la implantación.

60 Se describe, pero no se reivindica, un método para mejorar la tasa o el resultado de embarazo en una hembra antes de la inseminación o implantación de un embrión que comprende exponer la mucosa del tracto vaginal/gastrointestinal a una composición como se describió aquí anteriormente, el método comprende:

- (i) introducir al menos un vehículo de administración vaginal que comprende las composiciones de la presente invención en la vagina de la hembra;
- 65 (ii) opcionalmente, insertar otro(s) vehículo(s) de administración vaginal;

(iii) permitir que transcurra un período de tiempo suficiente para permitir que los componentes activos del vehículo de administración vaginal se liberen y penetren en la vagina y se absorban por vía transmucosa y/o difundan y/o se transporten al útero; e

5 (iv) inseminar a la hembra mediante apareamiento con un macho o mediante inseminación artificial, gametos de donantes o introducir un embrión u otro aloinjerto en el útero para la implantación.

10 En una modalidad adicional de la invención, las etapas (iii) y (iv) se realizan simultáneamente/en una secuencia cronológicamente cercana en el caso de inseminación artificial o natural. Los métodos de la invención usan una composición que comprende pesarios, gel, atomizador o espuma que contienen citocinas recombinantes colocados en la vagina en el momento de la inseminación/transferencia de embriones para reducir la alorreactividad inmunitaria materna contra el esperma/embriones/gametos y la microflora endógena o exógena, lo que mejora de esta manera la tasa de embarazo.

15 El número de dosis y el período entre dosis pueden variar de acuerdo con los requerimientos y pueden variar en dependencia de la especie o la cepa, el estado de super/ovulación, el efecto estacional, el estado de lactancia y el número de embarazos fallidos anteriores o inseminaciones previas o tratamientos de fertilización in vitro (IVF, por sus siglas en inglés). Además, pueden variar en dependencia de la edad materna y de si la hembra es *primigrávida*. Preferentemente, los métodos de la invención cuando se usan para animales de laboratorio no humanos incluyen además la etapa de sincronizar el estro en las hembras receptoras.

20 De acuerdo con aún otro aspecto la invención, se proporciona un kit de partes y opcionalmente, un conjunto de instrucciones escritas para esto, el kit comprende varios vehículos de administración vaginal que contienen las composiciones de la invención y un aparato para insertar dichos vehículos de administración vaginal en la vagina de la hembra receptora.

25 Se apreciará que las características descritas para el primer aspecto de la invención son aplicables igualmente a todos y cada uno de los aspectos de la invención y se aplican *con los ajustes necesarios*.

La invención se describirá a manera de ejemplo solo con referencia a las figuras siguientes en donde:

30 Breve descripción de las figuras

Las modalidades de la invención se describen adicionalmente de aquí en adelante con referencia a los dibujos acompañantes, en los cuales:

35 La Figura 1 muestra el modelo matemático bayesiano de redes de citocinas en plasma seminal de ratón. Los nodos (citocinas) se codifican por colores de acuerdo con la probabilidad condicional de que las concentraciones relativas del mediador correspondiente sean concentraciones altas (verde), bajas (rojas) o medias (blancas), dado el estado(s) de sus nodos parentales (los gráficos de barras adyacentes a cada nodo reflejan las probabilidades condicionales subyacentes de categorización en uno de los tres compartimientos de concentración, desde abajo a la izquierda hasta arriba a la derecha). La concentración normalizada (baja o alta) determina la intensidad del color del nodo. Los bordes (líneas de conexión causales entre nodos) representan interacciones causales dirigidas entre nodos. Estas citocinas interactuarán con el tracto reproductivo materno para inducir la inmunopermisividad a los antígenos paternos.

45 La Figura 2 muestra el modelo matemático bayesiano de redes de citocinas en plasma seminal de rata (detalles discutidos anteriormente). Los bordes de nivel de confianza muy alto se colorean en rojo, basado en el análisis de confianza del resultado bayesiano (basado en la ocurrencia en > 90 % de iteraciones de arranque).

50 Figura 3 muestra un gráfico de barras del porcentaje de administraciones exitosas después de la inducción de pseudoembarazo mediante el apareamiento con un macho vasectomizado o un pesario (n = 14 por grupo) de mezcla completa, mezcla 1, mezcla 2 y mezcla 3.

Descripción detallada

55 La referencia en la presente descripción a "embrión" pretende incluir una blástula, blastocisto, óvulo fertilizado o un organismo en sus etapas iniciales de desarrollo, especialmente antes de que haya alcanzado una forma reconocible claramente para implantarse en una hembra receptora. Los términos se usan indistintamente.

60 La referencia en la presente descripción a una "tasa de embarazo mejorada" pretende incluir un resultado positivo de embarazo o una mejora en la supervivencia perinatal o viabilidad general después de la inseminación artificial con semen procesado o inseminación natural o después del trasplante de embriones frescos o congelados o conservados de cualquier otra manera. El término embarazo, como se usa de aquí en adelante, debe interpretarse como que abarca una embarazo que resulta de la inseminación natural o artificial o después del trasplante de un embrión(es) y gametos frescos o congelados o conservados de cualquier otra manera.

65

La referencia en la presente descripción a un "dispositivo intrauterino" pretende incluir cualquier sistema de administración basado en pesario, basado en gel, basado en solución, basado en emulsión, basado en polvo o basado en atomizador que sea capaz de administrar las composiciones de la presente invención en la vagina para permitir que las composiciones de la presente invención tengan un efecto farmacológico sobre el ambiente uterino.

La referencia en la presente descripción a un "pesario" se pretende como un medio de administración de las sustancias farmacéuticas de la presente invención de modo que se absorban fácilmente a través de las superficies mucosas de la vagina, o pretende tener acción local, por ejemplo, contra la inflamación, o en el útero.

"Ingrediente farmacéutico" o "excipiente" significa un compuesto inactivo farmacológicamente aceptable farmacéuticamente añadido a una composición mucoadhesiva de la invención. El ingrediente o excipiente no tiene ninguna propiedad farmacológica.

"Administración rápida" significa la liberación y administración rápida inmediata inicial de los componentes de la composición. Típicamente, la administración rápida se sigue por una reducción dependiente del tiempo en la liberación de los componentes de la composición o dispositivo y la administración del fármaco al plasma/tejido de la pared uterina (o tracto gastrointestinal, donde sea apropiado).

"Administración controlada" significa una liberación en donde el agente activo se libera del material en una manera diseñada previamente. La liberación del agente activo puede ser constante durante un período largo, puede ser cíclica durante un período largo, o puede desencadenarse por el ambiente u otros eventos externos.

"Administración continua" significa la liberación continua e ininterrumpida de los componentes de la formulación o dispositivo y la administración de dichos componentes en una manera continua. La administración continua puede precederse por la administración rápida.

"Administración por pulsos" significa una liberación y administración de los componentes en intervalos intermitentes. Dicha administración por pulsos puede proporcionarse, por ejemplo, mediante la formulación de la composición en capas individuales interespaciadas con capas inactivas de recubrimientos solubles o mediante el uso de ingredientes farmacéuticos diferentes.

#### Análisis de citocinas del fluido seminal

Se sacrificaron ratones machos CD1 maduros sexualmente (n = 20) y ratas Wistar (n = 20) y se recolectó el fluido seminal a partir de las glándulas seminales *post mortem*, se eligió un enfoque *post mortem* para evitar recolectar muestras mediante electroeyaculación ya que la calidad del semen es variable por este método, y porque las muestras se coagulan rápidamente, lo que hace al análisis problemático. El muestreo de vesículas seminales es ideal ya que el fluido (en lugar del de las glándulas accesorias) contiene los factores inmunomoduladores del tracto materno investigados y porque las secreciones de las glándulas coagulantes pueden evitarse más fácilmente.

Las muestras de líquido seminal se pesaron individualmente, se suspendieron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) suplementada con albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés) al 0,5 %, y se pesaron nuevamente. Por inferencia a la relación peso:volumen estándar del fluido seminal murino, pudo determinarse el volumen original aislado y el factor de dilución introducido por el PBS. Esta etapa se necesitó porque el fluido es demasiado viscoso para pipetarse con precisión. Las muestras se centrifugaron y el sobrenadante se congeló a -80 °C hasta que se analizó simultáneamente para las 23 citocinas siguientes: interleucina (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-17, eotaxina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), interferón (IFN)- $\gamma$ , quimiocina derivada de queratinocitos (KC), proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), proteína inhibidora de macrófagos 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), MIP-1 $\beta$ , reguladas después de la activación de células T normales expresadas y secretadas (RANTES) y factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Esto se logró mediante kits de inmunoensayo personalizados en fase fluida de 23 plexos ejecutados en un Luminex-100™ equipado con el software StarStation™. Se usó diluyente sérico en todos los casos para evitar falsos positivos/negativos y la dilución se ajustó a 1:1 para maximizar la sensibilidad a los niveles de referencia. Se realizó un análisis similar en fluido seminal de rata.

#### Ejemplo 1

La Tabla 2 más abajo muestra una variedad de citocinas analizadas y medidas en fluido seminal de ratón. La eotaxina y RANTES parecen ser las citocinas predominantes presentes, con niveles superiores a 500 pg/ml. La IL-9, el TNF- $\alpha$  y la MIP-1a tenían niveles por encima de 100 pg/ml, mientras que varias citocinas tales como el G-CSF e IFN- $\gamma$  tenían niveles entre 50-100 pg/ml y varias otras tales como la IL-13 y el TGF  $\beta$  tenían niveles más abajo de 50 pg/ml.

Tabla 2

	<b>Ratón</b>	<b>Media</b>	<b>SEM</b>
5	IL-1 $\alpha$	8.19	1.96
	IL-1 $\beta$	87.48	9.04
	IL-2	3.03	0.49
10	IL-3	0.35	0.04
	IL-4	0.11	0.01
	IL-5	0.56	0.07
15	IL-6	3.63	0.44
	IL-9	135.14	33.47
	IL-10	19.95	3.36
	IL-12 p40	5.25	0.53
20	IL-12 p70	10.91	1.08
	IL-13	20.64	1.86
	IL-17	5.10	0.90
25	Eotaxina	857.22	73.85
	G-CSF	45.03	3.33
	GM-CSF	4.16	0.39
30	IFN- $\gamma$	46.38	3.95
	KC	37.17	3.56
	MCP-1	30.23	2.65
35	MIP-1 $\alpha$	114.32	8.31
	MIP-1 $\beta$	6.68	1.36
	RANTES	618.62	84.17
40	TNF- $\alpha$	102.27	9.11
	TGF- $\beta$	27.63	6.54

45 La Tabla 3 más abajo muestra una variedad de citocinas analizadas y medidas en fluido seminal de rata. RANTES  
parece ser la citocina predominante presente. De las citocinas analizadas, solo RANTES y GRO/KC tuvieron niveles por  
encima de 200 pg/ml. La IL-10 y la IL-6 tenían niveles por encima de 100 pg/ml, mientras que varias citocinas tales  
50 como la MCP-1 tenían niveles entre 50-100 pg/ml y varias otras tales como la IL-17 tenían niveles más abajo de 50  
pg/ml.

55

60

65

Tabla 3

Rata	Media	SEM
IL-1 $\alpha$	3.28	0.97
IL-1 $\beta$	20.41	0.84
IL-2	29.11	3.40
IL-4	20.17	1.13
IL-5	9.58	0.95
IL-6	149.17	1.13
IL-9	54.56	0.84
IL-10	114.89	1.45
IL-12 p70	55.14	4.31
IL-13	8.29	1.35
IL-17	15.80	1.11
IL-18	6.66	0.89
TNF- $\alpha$	2.27	0.16
IFN- $\gamma$	2.93	0.39
Eotaxina	34.84	1.45
GCSF	1.51	0.07
GMCSF	40.53	2.10
MCP-1	61.56	2.21
LEPTINA	43.69	2.61
MIP-1 $\alpha$	0.13	0.02
IP-10	4.24	0.34
GRO/KC	228.00	2.10
RANTES	287.31	2.21
VEGF	0.00	0.00
TGF- $\beta$	0.00	0.00

Ejemplo 2

La eotaxina y RANTES parecen ser las citocinas predominantes, cada una presente en una cantidad de más de 500 pg/ml (ver Tablas 1 y 2). Las citocinas IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), GM-CSF y MIP-1 $\beta$  estuvieron presentes a niveles más abajo de 20 pg/ml y las citocinas IL-1 $\beta$ , IL-9, IL-13, G-CSF, TNF- $\alpha$ , MCP-1, KC, MIP-1 $\alpha$  e IFN- $\gamma$  estaban presentes a niveles por encima de 20 y más abajo de 150 pg/ml.

Basado en estos análisis, se preparó una solución de citocinas de ratón recombinantes probadas en cultivo celular en PBS mediante el uso de citocinas recombinantes en las concentraciones encontradas en el fluido seminal (Tabla 3). Esta se almacenó a -80 °C hasta que se requirió para embeber el pesario.

Tabla 4 Concentraciones de citocinas *in utero* en una preparación de pesario de ratón una vez solubilizada.

	Citocina	Concentración de solución de pesario (pg/ml)
5	IL-1 $\alpha$	8.19
	IL-1 $\beta$	87.48
	IL-6	3.63
10	IL-9	135.14
	IL-10	19.95
	IL-12 (p40)	5.25
15	IL-12 (p70)	10.91
	IL-13	20.64
	G-CSF	45.03
20	GM-CSF	4.16
	TNF- $\alpha$	102.27
	MCP-1	30.23
	RANTES	618.62
25	Eotaxina	857.22
	KC	37.17
	MIP-1 $\alpha$	114.32
30	MIP-1 $\beta$	6.68
	IFN- $\gamma$	46.38

35 Los pesarios incluyen, además, una cantidad de TGF- $\beta$ 1 ya que esto es importante para provocar la receptividad uterina.

Ejemplo 3

40 Los componentes de la formulación adicionales de pesarios para animales de laboratorio se dictaron principalmente por toxicidad (en caso de ingestión accidental), palatabilidad (para disuadir la ingestión) e impacto en el pH luminal (la bioactividad de determinadas citocinas es promovida por el pH vaginal). El tamaño y la forma de los pesarios se determinan en gran medida por las especies para las cuales se pretende su uso. Por ejemplo, pesarios de aproximadamente 4 mm de diámetro son particularmente adecuados para ratones ya que el tamaño se ha determinado como apropiado para la inserción sin molestias excesivas y también es de un tamaño adecuado para retenerse en el vestíbulo vaginal. Los animales de laboratorio más grandes o incluso las cepas más grandes de ratones pueden necesitar pesarios más grandes. Los pesarios se fabricaron de nailon grabado con láser en un ajuste de entre 5-10 vatios, el uso de esta técnica hace posible manipular la porosidad (lo que facilita la 'carga') y la forma y dimensiones generales. Se prevé que los pesarios se proporcionarán en una gama de tamaños y que los tallos puedan separarse de una unidad de sujeción central para su uso como se desee y que pueda proporcionarse al usuario una gama de pesarios de tamaños diferentes. Los pesarios se preparan para su uso remojándolos durante toda la noche en 500  $\mu$ l de 100 veces la concentración de solución de citocinas para cargar los pesarios con los agentes activos necesarios para garantizar un fluido seminal similar a la concentración final en el tracto reproductivo materno. Después se retira una cabeza de pesario del tallo y se inserta por medio de un dispositivo adecuado directamente en la vagina del ratón. Después, el pesario se deja en la vagina del ratón durante un período de tiempo y después se retira en el momento de la transferencia del embrión cuando los animales se anestesian, o se autodisuelve o el pesario se autoexpulsa una vez que se han absorbido los ingredientes activos.

50 Se apreciará que la modalidad anterior es solo un ejemplo de un medio para administrar las composiciones de la presente invención y que el pesario puede estar en la forma de una formulación de tipo de cera de fusión lenta o rápida y que el método de administración de las composiciones de la presente invención puede variar de especie a especie. Los medios de administración, además, pueden estar en la forma de un producto biodegradable y, por ejemplo, en seres humanos, una esponja vaginal puede ser un método más conveniente para administrar las composiciones.

Ejemplo 4

65

Se prepararon una mezcla completa y tres combinaciones diferentes de mezclas de citocinas reducidas, en concentraciones fisiológicas, como se muestra en la Tabla 5. La mezcla completa comprendía IL-12 (P40), RANTES, Eotaxina, MIP-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-13, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 (p70), MCP-1, IL-10, IL-1 $\alpha$ , IL-9, GM-CSF, KC, MIP-1 y GCSF.

5 La mezcla 1 contenía IL-12 (P40), RANTES, MIP-1 $\beta$ , IL-13 y TGF- $\beta$ . Se incluyó IL-12 (P40) debido a su papel como progenitor ancestral de la red principal (dado el número marcado de bordes salientes) y su control causal putativo de múltiples mediadores aguas abajo. Se incluyeron RANTES y MIP-1 $\beta$  ya que estos eran nodos centrales (involucrados probablemente en la integración de señalización múltiple en base al número alto de bordes entrantes). La importancia de la señalización MIP-1 resaltada por la conservación de esta función de nodo central en todas las especies, donde su función es análoga probablemente a la resaltada en la red de ratas (Figura 2) Se incluyó la IL-13 al seguir un razonamiento similar y porque parece ser el nodo principal que cumple esta función en el lado derecho de la rama principal de la red ilustrada en la Figura 1. Se incluyó el TGF- $\beta$  debido a sus presuntas propiedades inmunomoduladoras potentes que atemperan la respuesta inflamatoria inducida por el apareamiento.

15 La mezcla 2 contenía IL-12 (P40), RANTES, MIP-1 $\beta$ , IL-13 e IFN- $\gamma$ . La elección de los mediadores para esta mezcla se da anteriormente con la excepción del IFN- $\gamma$  que, a pesar de ser un abortivo conocido, probablemente tenga un papel fisiológico que desempeñar como un nodo central a niveles bajos como se presenta en la presente descripción.

20 La mezcla 3 contenía RANTES, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$  por las razones resaltadas anteriormente: se añadió TNF- $\alpha$  dado que era el único nodo terminal de la red. Su papel clave probable se ve subrayado por el hecho de que su posición de nodo terminal fue consistente tanto en el ratón como en la rata, a pesar de la diferencia en las especies y el cambio en algunos de los nodos de la red analizados. Su papel en la inmunidad reproductiva se discute acaloradamente, pero se reconoce cada vez más como un actor clave probable en el desencadenamiento de la respuesta inflamatoria temprana asociada con este proceso. Esta selección se basó en el modelo matemático de redes de citocinas en el plasma seminal (ver Figuras 1 y 2). La composición de la mezcla completa se basa en el análisis basado en inmunoensayo multiplexado murino más extenso disponible para el análisis del plasma seminal.

30 **Tabla 5:** La composición de citocina de los cuatro pesarios usados en este estudio (los cuadros sombreados indican inclusión en la mezcla)

Citocina	Mezcla completa	Mezcla1	Mezcla2	Mezcla3
IL-12 (p40)				
RANTES				
Eotaxina				
MIP-1 $\beta$				
TNF- $\alpha$				
IL-13				
IFN- $\gamma$				
TGF- $\beta$				
IL-1 $\beta$				
IL-6				
IL-12 (p70)				
MCP-1				
IL-10				
IL-1 $\alpha$				
IL-9				
GM-CSF				
KC				
MIP-1 $\alpha$				
G-CSF				

Los datos que se muestran en la Figura 3, confirman que el pesario prototipo de nailon actual, 'cargado' con un complemento completo o con un número reducido de citocinas, puede inducir exitosamente el pseudoembarazo en CaCBAXC57BL/6 F1. Encontramos que nuestras tres mezclas de citocinas reducidas dieron tasas de éxito diferentes, pero que una combinación en particular, la Mezcla 3, indujo pseudoembarazo con una tasa de éxito similar a la de los machos vasectomizados comprados (n = 14).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta descripción, las palabras "comprende" y "contiene" y sus variaciones significan "incluyen pero no se limitan a", y no pretenden (y no lo hacen) excluir otros restos, aditivos, componentes, números enteros o etapas. A través de toda la descripción y reivindicaciones de esta especificación, el singular abarca el plural a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera. En particular, donde se use el artículo indefinido en la especificación, se entiende que la descripción contempla la pluralidad así como también la singularidad, a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera.

Las características, los números enteros, las características, los compuestos, los grupos químicos o los grupos descritos en relación con un aspecto particular, una modalidad o un ejemplo de la invención deben entenderse como aplicables a cualquier otro aspecto, una modalidad o un ejemplo descrito en la presente descripción, a menos que sea incompatible con el mismo. Todas las características descritas en esta descripción (lo que incluye cualquier reivindicación, resumen y figuras adjuntos), y/o todas las etapas de cualquier método o proceso descrito de este modo, pueden combinarse en cualquier combinación, excepto las combinaciones donde al menos algunas de dichas características y/o etapas son excluyentes mutuamente.

Reivindicaciones

- 5 1. Una composición de materia que comprende eotaxina y RANTES para su uso en la mejora de las tasas de embarazo y/o para reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en las hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación.
- 10 2. Una composición para su uso de conformidad con la reivindicación 1, que comprende además cualquiera o más de las ocho citocinas adicionales seleccionadas del grupo que comprende TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-12, MCP-1, MIP, IL-17, IL-9 y GM-CSF.
- 15 3. Una composición para su uso de conformidad con la reivindicación 2, en donde la IL-12 es IL-12 p40 o IL-12p70 y en donde la MIP es MIP-1a o MIP-1b.
- 20 4. Una composición farmacéutica para su uso de conformidad con cualquier reivindicación precedente en forma de un dispositivo intrauterino para su uso en mejorar las tasas de embarazo y/o para reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en las hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación.
- 25 5. Una composición farmacéutica para su uso de conformidad con la reivindicación 4, en donde los ingredientes activos se liberan *in situ* por encima o dentro del rango fisiológico aproximado como aquel que se encuentra en el fluido seminal.
- 30 6. Una composición farmacéutica para su uso de conformidad con la reivindicación 4 o 5, en donde el dispositivo intrauterino es una cápsula vaginal, gel vaginal, tableta vaginal, polvo vaginal, solución vaginal, pesario vaginal, copa vaginal, esponja vaginal, atomizador vaginal o espuma o atomizador vaginal.
- 35 7. Una composición farmacéutica para su uso de conformidad con la reivindicación 5 o 6, que incluye además un adyuvante, excipiente o portador.
- 40 8. Una composición farmacéutica para su uso de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 para la administración rápida, administración controlada, administración continua o administración por pulsos.
- 45 9. Un pesario para la administración vaginal por vía transmucosa que comprende la composición de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la promoción de la receptividad uterina.
- 50 10. Un pesario de conformidad con la reivindicación 9 para su uso en la promoción de la receptividad uterina en un roedor, opcionalmente en donde el roedor es un ratón o una rata.
- 55 11. Un kit de partes que comprende una serie de vehículos de administración vaginal que contienen las composiciones de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o los pesarios de las reivindicaciones 9 a 10, que es un kit para su uso en la mejora de las tasas de embarazo y/o para reducir la alorreactividad materna contra el fluido seminal/esperma o los embriones y/o para proporcionar un ambiente uterino inmunopermisivo en las hembras antes de la implantación de un embrión o antes de la inseminación, y un aparato para insertar dichos vehículos de administración vaginal en la vagina de la hembra receptora y, opcionalmente, un conjunto de instrucciones por escrito para esto.

50

55

60

65

FIGURA 1

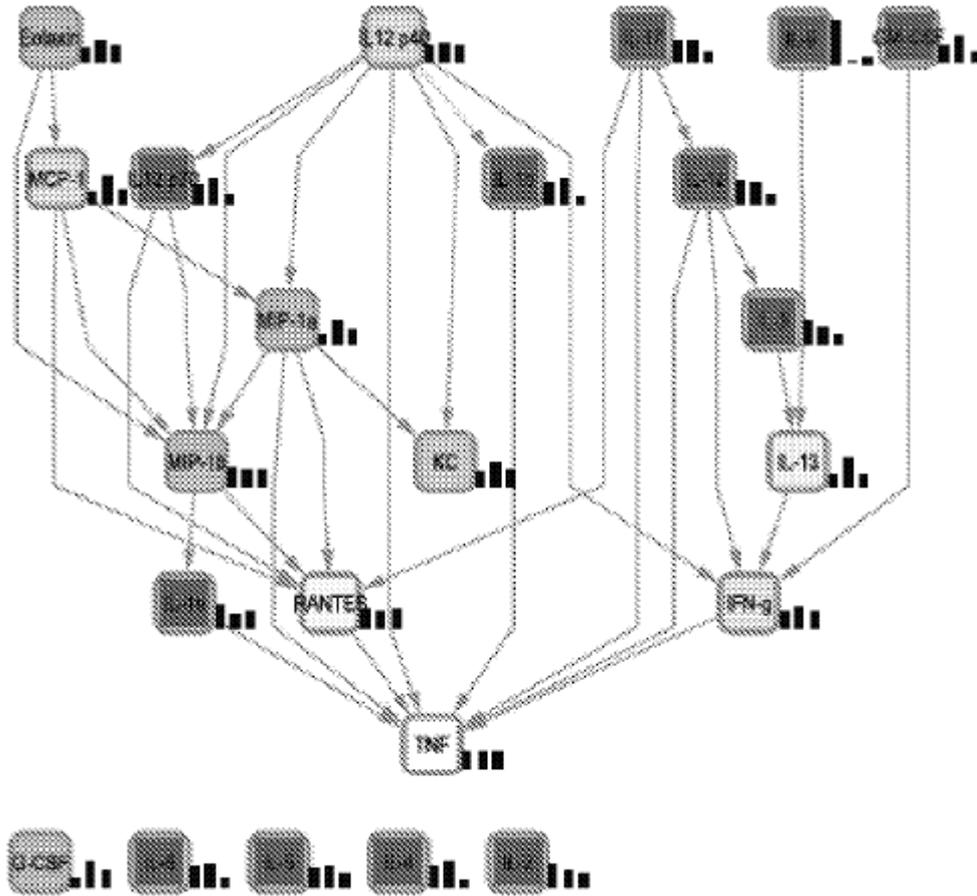


FIGURA 2

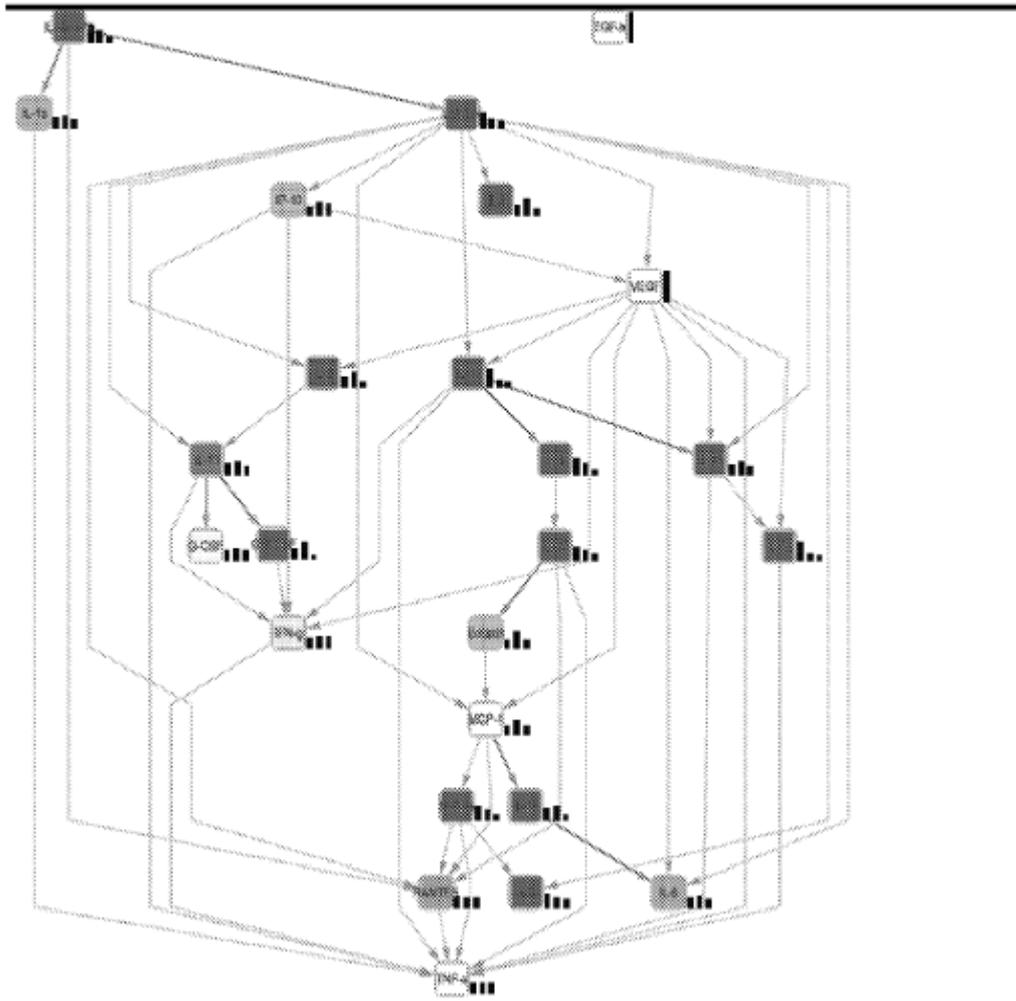


FIGURA 3

