



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 340 782**

51 Int. Cl.:
A61K 38/16 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05791811 .2**
96 Fecha de presentación : **24.08.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1784205**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.05.2007**

54 Título: **Tratamiento de estrías con toxina botulínica.**

30 Prioridad: **03.09.2004 US 934812**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.06.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.06.2010

73 Titular/es: **ALLERGAN, Inc.**
2525 Dupont Drive
Irvine, California 92612, US

72 Inventor/es: **First, Eric, R.**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 340 782 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

Tratamiento de estrías con toxina botulínica.

5 Antecedentes

La presente invención versa acerca del uso de una toxina botulínica para tratar estrías. En particular, la presente invención versa acerca de dicho uso para tratar estrías mediante la administración de una toxina botulínica a un paciente.

10 Estrías

La piel (sinónima de cutis), membrana protectora que cubre el exterior del cuerpo, se compone de tres capas: la epidermis (la capa exterior de la piel), la dermis (la capa media de la piel) y el estrato o capa más profunda. Las estrías (también denominadas *stria atrophica* y *striae distensae*) se dan en la dermis. La dermis es una capa intermedia elástica y resiliente que permite que la piel retenga su forma. Cuando la dermis se estira durante un tiempo prolongado, como en el embarazo y la obesidad, la piel se vuelve menos elástica y las fibras conectivas de la dermis pueden romperse y rasgarse. El resultado son las estrías. Las estrías comienzan como estriaciones elevadas rosadas, marrones rojizas o marrones oscuras que pueden después volverse de un color violeta o morado más brillante. Cuando empieza a formarse, una estría puede consistir en piel fina aplanada con una tonalidad rosada y, en ocasiones, puede ser pruriginosa. Gradualmente, una estría puede aumentar en longitud y anchura y cobrar un aspecto morado rojizo (formando una *stria rubra*). La superficie de una estría puede estar delicadamente arrugada. Las estrías maduras pueden ser bandas blancas hundidas con forma irregular, siendo su eje mayor paralelo a las líneas de tensión de la piel. Pueden ser de varios centímetros de longitud y de 1-10 mm de anchura.

Tal como se ha observado, las estrías pueden darse en zonas del cuerpo en las que la piel está sometida a un estiramiento continuo y/o progresivo y pueden ser consecuencia de la tensión muscular subyacente. La distensión de la piel resultante en estrías puede darse en el abdomen y en los senos de mujeres embarazadas, en los hombros de los fisiculturistas, en adolescentes que atraviesan su racha de desarrollo y en individuos que tienen sobrepeso. Según parece, la distensión de la piel lleva a una degranulación excesiva de los mastocitos, con daño subsiguiente del colágeno y la elastina. Tal daño es evidente en las estrías debidas al embarazo, la lactancia, el levantamiento de pesas y otras actividades estresantes, o a otras actividades que puedan dar por resultado la generación de tensiones en la dermis.

Se estima que, en los Estados Unidos, aproximadamente el 90% de las mujeres embarazadas, el 70% de las adolescentes y el 40% de los adolescentes (muchos de los cuales participan de actividades deportivas) tienen estrías. Las estrías son habitualmente un problema cosmético; sin embargo, si son de gran alcance, pueden rasgarse y ulcerarse cuando ocurre un accidente o un estiramiento excesivo.

En el embarazo, las estrías normalmente afectan el abdomen y los senos. Los emplazamientos más comunes para las estrías en los adolescentes son las caras exteriores de los muslos y la región lumbosacra en los varones y los muslos, las nalgas y los pechos en las hembras. Se da una variación considerable, y en ocasiones se ven afectados otros emplazamientos, incluidas las caras exteriores de los antebrazos. Las estrías inducidas por el uso prolongado de esteroides sistémicos son normalmente más largos y más anchos que otros fenotipos de estrías, y afectan áreas extensas, que en ocasiones incluyen la cara.

Las estrías secundarias al uso tópico de esteroides están habitualmente relacionadas con la potencia aumentada de los esteroides cuando se usan envolturas plásticas oclusivas. Habitualmente, afectan a las flexuras y pueden hacerse menos visible si el tratamiento que las causa se suspende con la suficiente prontitud.

En la elastosis focal lineal (estrías elastóticas), aparecen bandas lineales amarillas asintomáticas dispuestas horizontalmente sobre la parte inferior de la espalda. Estas lesiones pueden parecerse a las *striae distensae*, pero son palpables más que deprimidas, y son amarillas, en vez de ser amoratadas o blancas.

En las primeras fases, pueden predominar los cambios inflamatorios; se presenta edema en la dermis, junto con revestimiento perivascular de linfocitos. En las fases posteriores, la epidermis se vuelve fina y se aplanan, con pérdida de puentes interpapilares. La dermis tiene haces delgados densamente apretados de colágeno dispuestos en una matriz paralela horizontal con respecto a la epidermis al nivel de la dermis papilar. Las tinciones elásticas muestran la rotura y la retracción molestas de las fibras elásticas en la dermis reticular. Las fibras elásticas rotas se ondulan a los lados de las estrías formando un patrón distintivo.

La microscopía electrónica de barrido muestra vastos amasijos de fibras elásticas finas rizadas con una distribución aleatoria. Esta distribución se diferencia de la piel normal, que tiene fibras elásticas gruesas con una distribución regular. Cuando se ve con microscopía electrónica de transmisión, la estructura de las fibras elásticas y de colágeno en las estrías es similar a la de la piel sana.

Las estrías en Z son causadas en el desgarro en la piel/en el tejido conectivo, ya sea por trauma directo o por "estiramiento" debido al crecimiento del tejido, como un músculo, subyacente a la piel y del tejido inmediatamente bajo lo piel.

Se han usado numerosas cremas, pomadas y otras terapias para intentar tratar las estrías, pero ninguna es muy efectiva. Además, los fármacos tópicos y sistémicos y/o la cirugía para escindir estrías pueden tener efectos secundarios indeseables y, desgraciadamente, puede haber un grado significativo de reapariciones de la estría después de la cirugía, así como la posibilidad de infecciones.

Se ha documentado un éxito limitado usando bajas concentraciones (15-20%) de ácido tricloroacético (TCA) y llevando a cabo una quimioexfoliación repetitiva a nivel de la dermis papilar. Los pelados pueden repetirse a intervalos mensuales. Puede lograrse una mejora significativa en lo tocante a la textura, a la firmeza y al color de la piel. Se ha demostrado que el tratamiento con el láser de colorante con estroboscopia de 585 nm con densidades bajas de energía mejora el aspecto de las estrías. Normalmente, se requieren múltiples tratamientos a intervalos de 4 a 6 semanas.

Toxina botulínica

El género *Clostridium* tiene más de ciento veintisiete especies, agrupadas según su morfología y sus funciones. La bacteria anaerobia grampositiva *Clostridium botulinum* produce una potente neurotoxina polipeptídica, la toxina botulínica, que causa una enfermedad paralizante de los nervios en los seres humanos y en los animales denominada botulismo. Las esporas del *Clostridium botulinum* se encuentran en el suelo y pueden desarrollarse en recipientes de comida indebidamente esterilizados y sellados de conservas domésticas, que son la causa de muchos de los casos de botulismo. Típicamente, los efectos del botulismo aparecen 18 a 36 horas después de comer los alimentos infectados con un cultivo o con esporas de *Clostridium botulinum*. Según parece, la toxina botulínica puede atravesar sin atenuación el revestimiento intestinal y atacar las motoneuronas periféricas. Los síntomas de la intoxicación con toxina botulínica pueden ir de la dificultad para andar, tragar y hablar a la parálisis de los músculos respiratorios y la muerte.

La toxina botulínica de tipo A es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. Aproximadamente 50 picogramos de una toxina botulínica de tipo A disponible comercialmente (complejo neurotóxico purificado) tiene una DL_{50} en ratones (es decir, una unidad). Una unidad de BOTOX® contiene aproximadamente 50 picogramos (aproximadamente 56 átomos-moles) de complejo de toxina botulínica de tipo A. Resulta de interés que, a escala molar, la toxina botulínica de tipo A sea aproximadamente 1.800 millones de veces más letal que la difteria, aproximadamente 600 millones de veces para letal que el cianuro sódico, aproximadamente 30 millones de veces más letal que la toxina de la cobra y aproximadamente 12 millones de veces más letal que el cólera. Singh, Critical Aspects of Bacterial Protein Toxins, páginas 63-84 (capítulo 4) de Natural Toxins II, editado por B.R. Singh *et al.*, Plenum Press, Nueva York (1976) (donde la DL_{50} declarada de la toxina botulínica de tipo A de que 0,3 ng equivalen a 1 U se corrige por el hecho de que aproximadamente 0,05 ng de BOTOX® equivalen a 1 unidad). Una unidad (U) de toxina botulínica se define con la DL_{50} tras una inyección intraperitoneal en ratonas Swiss Webster con un peso unitario de 18 a 20 gramos.

Han sido caracterizadas siete neurotoxinas botulínicas inmunológicamente diferenciadas de forma genérica, siendo estas, respectivamente, los serotipos A, B, C1, D, E, F y G de la neurotoxina botulínica, cada una de las cuales se distingue por la neutralización con anticuerpos específicos a su tipo. Los diferentes serotipos de la toxina botulínica varían en las especies animales a las que afectan y en la gravedad y la duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo A es 500 veces más potente, medida por la tasa de parálisis que produce en la rata, que la toxina botulínica de tipo B. Además, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo B no es tóxica en primates a una dosis de 480 U/kg, que es aproximadamente 12 veces la DL_{50} en primates para la toxina botulínica de tipo A. Moyer E *et al.*, Botulinum Toxin Type B: Experimental and Clinical Experience, siendo el capítulo 6, páginas 71-85 de "Therapy With Botulinum Toxin", editado por Jankovic, J. *et al.* (1994), Marcel Dekker, Inc. Según parece, la toxina botulínica se enlaza con gran afinidad a las motoneuronas colinérgicas, se transloca al interior de la neurona y bloquea la liberación de acetilcolina (disponible en Allergan, Inc., de Irvine, California, con el nombre comercial BOTOX® en viales de 100 unidades). Puede producirse una captación adicional por medio de receptores con baja afinidad, al igual que mediante fagocitosis y pinocitosis.

Con independencia del serotipo, el mecanismo molecular de intoxicación con la toxina parece ser similar e involucrar al menos tres etapas o fases. En la primera etapa del proceso, la toxina se enlaza con la membrana presináptica de la neurona diana mediante una interacción específica entre la cadena pesada, la cadena H, y un receptor en la superficie de la célula; se cree que el receptor es diferente para cada tipo de toxina botulínica y para la toxina del tétanos. El segmento final carboxilo de la cadena H, HC, parece ser importante para que la superficie celular se convierta en blanco de la toxina.

En la segunda etapa, la toxina atraviesa la membrana plasmática de la célula envenenada. La toxina es rodeada en primer lugar por la célula por medio de la endocitosis mediada por receptores, y se forma un endosoma que contiene la toxina. A continuación, la toxina escapa del endosoma y entra en el citoplasma de la célula. Se cree que esta etapa está mediada por segmento extremo amino de la cadena H, HN, que desencadena un cambio conformacional de la toxina en respuesta a un pH de aproximadamente 5,5 o inferior. Se sabe que los endosomas poseen una bomba de protones que disminuye el pH intraendosómico. El cambio conformacional expone residuos hidrófobos de la toxina, lo que permite que la toxina se incruste en la membrana endosómica. A continuación, la toxina (o, como mínimo, la cadena ligera) se transloca a través de la membrana endosómica al interior del citoplasma.

La última etapa del mecanismo de la actividad de la toxina botulínica parece involucrar la reducción del enlace bisulfuro que une la cadena pesada, la cadena H, y la cadena ligera, la cadena L. Toda la actividad tóxica de las toxinas botulínicas y del tétanos se contiene en la cadena L de la holotoxina; la cadena L es una endopeptidasa de cinc (Zn^{++}) que escinde selectivamente proteínas esenciales para el reconocimiento y el enlace de las vesículas contenedoras de neurotransmisores con la superficie citoplasmática de la membrana plasmática, y la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La neurotoxina del tétanos y los tipos B, D, F y G de la toxina botulínica causan la degradación de la sinaptobrevina (denominada también proteína de membrana asociada a vesículas (PMAV)), proteína de membrana sinaptosómica. La mayor parte de la PMAV presente en la superficie citoplasmática de la vesícula sináptica se elimina como consecuencia de uno cualquiera de estos eventos de escisión. Las toxinas botulínicas con serotipos A y E escinden la SNAP-25. En un primer momento se pensó que la toxina botulínica con serotipo C1 escindía la syntaxina, pero se descubrió que escindía la syntaxina y la SNAP-25. Cada una de las toxinas botulínicas escinde específicamente un enlace diferente, con la excepción de la toxina botulínica de tipo B y la toxina del tétanos, que escinden el mismo enlace. Cada una de estas escisiones bloquea el proceso del enlace entre la vesícula y la membrana, evitando con ellos la exocitosis del contenido de la vesícula.

Las toxinas botulínicas se han usado en entornos clínicos para el tratamiento de trastornos neuromusculares caracterizados por músculos esqueléticos hiperactivos (es decir, trastornos motores). En 1989, la U.S. Food and Drug Administration autorizó un complejo de toxina botulínica de tipo A para el tratamiento del blefarospasmo, el estrabismo y el espasmo hemifacial. Subsiguientemente, la FDA también autorizó una toxina botulínica de tipo A para el tratamiento de la distonía cervical y para el tratamiento de las líneas glabellares, y se autorizó una toxina botulínica de tipo B para el tratamiento de la distonía cervical. Según parece, los serotipos de la toxina botulínica distintos del A tienen una potencia menor y/o una duración más breve de su actividad en comparación con la toxina botulínica de tipo A. Los efectos clínicos de la toxina botulínica de tipo A intramuscular periférica se ven habitualmente en la primera semana de la inyección. La duración típica del alivio sintomático de una única inyección intramuscular de la toxina botulínica de tipo A tiene una media de aproximadamente tres meses, aunque se han documentado periodos significativamente más prolongados de actividad terapéutica.

Aunque, según parece, todos los serotipos de las toxinas botulínicas inhiben la liberación del neurotransmisor acetilcolina en la unión neuromuscular, lo hacen afectando a proteínas neurosecretoras diferentes y/o escindiendo estas proteínas por sitios diferentes. Por ejemplo, los tipos botulínicos A y E escinden ambos la proteína asociada a sinaptosomas (SNAP-25), de 25 kiloDaltons (kD), pero convierten en blanco secuencias aminoácidas diferentes dentro de esta proteína. Los tipos botulínicos B, D, F y G actúan sobre la proteína asociada con vesículas (PMAV, también denominada sinaptobrevina), escindiendo cada serotipo la proteína por un sitio diferente. Por último, se ha demostrado que la toxina botulínica de tipo C1 escinde tanto la syntaxina como la SNAP-25. Estas diferencias en el mecanismo de acción pueden afectar la potencia relativa y/o la duración de la acción de los diversos serotipos de la toxina botulínica. Según parece, puede encontrarse un sustrato de la toxina botulínica en varios tipos celulares diferentes. Véanse, por ejemplo, *Biochem J* 1: 339 (pt 1): 159-65:1999, y *Mov Disord*, 10(3):376:1995 (las células B de los islotes pancreáticos contienen al menos SNAP-25 y sinaptobrevina).

El peso molecular de la molécula de la proteína de la toxina botulínica, para los siete serotipos conocidos de la toxina botulínica, es de aproximadamente 150 kD. Resulta interesante que las toxinas botulínicas son liberadas por la bacteria clostridial como complejos que comprenden la molécula de la proteína de la toxina botulínica, de 150 kD, junto con proteínas asociadas que no son toxinas. Así, el complejo de la toxina botulínica de tipo A puede ser producido por la bacteria clostridial como formas de 900 kD, 500 kD y 300 kD. Según parece, la toxina botulínica de tipos B y C1 se produce únicamente como un complejo de 700 kD o 500 kD. La toxina botulínica de tipo D se produce como complejos tanto de 300 kD como de 500 kD. Por último, la toxina botulínica de tipos E y F se produce únicamente como complejos de aproximadamente 300 kD. Se cree que los complejos (es decir, de peso molecular superior a aproximadamente 150 kD) contienen una proteína de hemaglutinina no toxina y una proteína no hemaglutinina no toxina y no tóxica. Estas dos proteínas no toxinas (que, junto con la molécula de la toxina botulínica, comprenden el complejo relevante de la neurotoxina) pueden actuar para proporcionar estabilidad contra la desnaturalización de la molécula de la toxina botulínica y protección contra los ácidos digestivos cuando la toxina es ingerida. Además, es posible que los complejos de la toxina botulínica mayores (mayores de aproximadamente 150 kD en peso molecular) puedan dar como resultado una tasa más lenta de difusión de la toxina botulínica que se aleje de un emplazamiento de inyección intramuscular de un complejo de la toxina botulínica.

Los estudios *in vitro* han indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por cationes de potasio tanto de la acetilcolina como de la norepinefrina a partir de cultivos celulares primarios de tejido del tronco del encéfalo. Además, se ha documentado que la toxina botulínica inhibe la liberación evocada tanto de glicina como de glutamato en cultivos primarios de neuronas de la médula espinal y que, en preparaciones de sinaptosoma cerebral, la toxina botulínica inhibe la liberación de cada uno de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, norepinefrina (Habermann E., *et al.*, *Tetanus Toxin and Botulinum A and C Neurotoxins Inhibit Noradrenaline Release From Cultured Mouse Brain*, *J Neurochem* 51 (2): 522-527: 1988) CGRP, sustancia P y glutamato (Sánchez-Prieto, J., *et al.*, *Botulinum Toxin A Blocks Glutamate Exocytosis From Guinea Pig Cerebral Cortical Synaptosomes*, *Eur J. Biochem* 165:675-681:1997). Así, cuando se usan concentraciones adecuadas, la liberación de la mayor parte de los neurotransmisores evocada por estímulos es bloqueada por la toxina botulínica. Véanse, por ejemplo, Pearce, L.B., *Pharmacologic Characterization of Botulinum Toxin For Basic Science and Medicine*, *Toxicon* 35(9): 1373-1412 en 1993; Bigalke H., *et al.*, *Botulinum A Neurotoxin Inhibits Non-Cholinergic Synaptic Transmission in Mouse Spinal Cord Neurons in Culture*, *Brain Research* 360: 318-324:1985; Habermann E., *Inhibition by Tetanus and Botulinum A Toxin of the re-*

lease of [3H]Noradrenaline and [3H]GABA From Rat Brain Homogenate, *Experientia* 44; 224-226:1988, Bigalke H., *et al.*, Tetanus Toxin and Botulinum A Toxin Inhibit Release and Uptake of Various Transmitters, as Studied with Particulate Preparations From Rat Brain and Spinal Cord, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 316;244-251:1981, y Jankovic J. *et al.*, *Therapy With Botulinum Toxin*, Marcel Dekker, Inc., (1994), página 5.

La toxina botulínica de tipo A puede obtenerse estableciendo y desarrollando cultivos de *Clostridium botulinum* en un fermentador y después cosechando y purificando la mezcla fermentada conforme a procedimientos conocidos. Todos los serotipos de la toxina botulínica se sintetizan inicialmente como proteínas monocatenarias inactivas que deben ser escindidas o cortadas por proteasas para llegar a ser neuroactivas. Las cepas bacterianas que fabrican los serotipos A y G de la toxina botulínica poseen proteasas endógenas y, por lo tanto, pueden recuperarse los serotipos A y G a partir de cultivos bacterianos predominantemente en su forma activa. En cambio, los serotipos C1, D y E de la toxina botulínica son sintetizados por cepas no proteolíticas y, por lo tanto, típicamente están inactivados cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F son producidos por cepas tanto proteolíticas como no proteolíticas y, por lo tanto, pueden recuperarse o bien en forma activa, o en forma inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen, por ejemplo, el serotipo de la toxina botulínica de tipo B escinden únicamente una porción de la toxina producida. La proporción exacta entre moléculas cortadas y sin cortar depende de la duración de la incubación y de la temperatura del cultivo. Por lo tanto, es probable que sea inactivo cierto porcentaje de cualquier preparación de, por ejemplo, la toxina botulínica de tipo B, lo que posiblemente explique la conocida potencia significativamente menor de la toxina botulínica de tipo B con respecto a la toxina botulínica de tipo A. La presencia de moléculas inactivas de la toxina botulínica en una preparación clínica contribuirá a la carga proteínica global de la preparación, lo que se ha relacionado con una antigenicidad potenciada, sin contribuir a su eficacia clínica. Además, se sabe que la toxina botulínica de tipo B, tras una inyección intramuscular, tiene una menor duración de actividad y es también menos potente que la toxina botulínica de tipo A con el mismo nivel de dosis.

Puede producirse toxina botulínica de tipo A cristalina de gran calidad a partir de la cepa Hall A de *Clostridium botulinum* con características de $\geq 3 \times 10^7$ U/mg, un A260/A278 de menos de 0,60 y un patrón definido de estratificación en electroforesis en gel. Puede usarse el conocido procedimiento de Shantz para obtener toxina botulínica de tipo A cristalina, según se expone en Shantz, E.J., *et al.*, Properties and use of Botulinum toxin and Other Microbial Neurotoxins in Medicine, *Microbiol Rev.* 56; 80-99:1992. Generalmente, el complejo de la toxina botulínica de tipo A puede aislarse y purificarse a partir de una fermentación anaerobia cultivando *Clostridium botulinum* de tipo A en un medio adecuado. También puede usarse el procedimiento conocido, tras la separación de las proteínas no toxinas, para obtener toxinas botulínicas puras, como, por ejemplo: toxina botulínica purificada de tipo A con un peso molecular de aproximadamente 150 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ DL₅₀ U/mg o mayor; toxina botulínica purificada de tipo B con un peso molecular de aproximadamente 156 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ DL₅₀ U/mg o mayor; y toxina botulínica purificada de tipo F con un peso molecular de aproximadamente 155 kD con una potencia específica de $1-2 \times 10^7$ DL₅₀ U/mg o mayor.

Las toxinas botulínicas y/o los complejos de toxina botulínica puede obtenerse en List Biological Laboratories, Inc., Campbell, California; el Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, Reino Unido; Wako (Osaka, Japón); Metabiologics (Madison, Wisconsin); así como en Sigma Chemicals, de St. Louis, Misuri. También puede usarse toxina botulínica pura para preparar una composición farmacéutica.

Como ocurre generalmente con las enzimas, las actividades biológicas de las toxinas botulínicas (que son peptidasas intracelulares) dependen, al menos en parte, de su conformación tridimensional. Así, la toxina botulínica de tipo A pierde su toxicidad con el calor, con diversos productos químicos, con el estiramiento de la superficie y con la desecación de la superficie. Además, se sabe que la disolución del complejo obtenido de la toxina mediante el cultivo, la fermentación y la purificación conocidos hasta obtener las concentraciones muchísimo más reducidas de la toxina usadas para la formulación de la composición farmacéutica da como resultado la rápida pérdida de la toxicidad de la toxina, a no ser que esté presente un agente estabilizador adecuado. La disolución de la toxina al pasar de cantidades expresadas en miligramos a una solución que contiene nanogramos por mililitro presenta dificultades significativas debido a la rápida pérdida de la toxicidad específica tras tan gran disolución. Dado que la toxina puede usarse meses o años después de que se formule la composición farmacéutica que contiene la toxina, la toxina puede estabilizarse con un agente estabilizante como albúmina y gelatina.

Con el nombre comercial BOTOX[®] se vende una composición farmacéutica disponible comercialmente que contiene toxina botulínica (disponible en Allergan, Inc., de Irvine, California). El BOTOX[®] consiste en un complejo purificado de toxina botulínica de tipo A, albúmina y cloruro sódico envasados en forma estéril y secados al vacío. La toxina botulínica de tipo A se fabrica a partir de un cultivo de la cepa Hall de *Clostridium botulinum* cultivada en un medio que contiene amina N-Z y extracto de levadura. El complejo de toxina botulínica de tipo A se purifica a partir de la disolución del cultivo mediante una serie de precipitaciones ácidas hasta un complejo cristalino que consiste en la proteína activa de la toxina de elevado peso molecular y de una proteína asociada de hemaglutinina. El complejo cristalino vuelve a disolverse en una solución que contiene suero fisiológico y albúmina y filtrada (0,2 micrómetros) de forma estéril antes de secarse al vacío. El producto secado al vacío se almacena en un congelador a -5°C o menos. El BOTOX[®] puede reconstituirse con suero fisiológico estéril, no conservado, antes de la inyección intramuscular. Cada vial de BOTOX[®] contiene 100 unidades (U) del complejo neurotóxico purificado de la toxina de tipo A de *Clostridium botulinum*, 0,5 miligramos de albúmina sérica humana y 0,9 miligramos de cloruro sódico en forma estéril secada al vacío sin conservantes.

Para reconstituir BOTOX® secado al vacío, se usa suero fisiológico estéril normal sin conservantes (inyección de cloruro sódico al 0,9%) preparando la debida cantidad de diluyente en una jeringa de tamaño apropiado. Dado que el BOTOX® puede desnaturalizarse por la formación de burbujas o una agitación violenta similar, el diluyente se inyecta con suavidad en el vial. Preferentemente, por razones de esterilidad, el BOTOX® se administra en menos de cuatro horas después de que el vial se retire del congelador y se reconstituya. Durante estas cuatro horas, el BOTOX® puede almacenarse en una nevera entre aproximadamente 2°C y aproximadamente 8°C. Se ha documentado que el BOTOX® reconstituido y refrigerado retiene su potencia durante al menos aproximadamente dos semanas. Neurology, 48:249-53:1997.

Se ha documentado que la toxina botulínica de tipo A se ha usado en entornos clínicos como sigue:

- (1) aproximadamente 75-125 unidades de BOTOX® mediante inyección intramuscular (múltiples músculos) para tratar la distonía cervical;
- (2) 5-10 unidades de BOTOX® mediante inyección intramuscular para tratar líneas glabellares (surcos del entrecejo) (5 unidades inyectadas intramuscularmente en el músculo prócer y 10 unidades inyectadas intramuscularmente en cada músculo superciliar);
- (3) aproximadamente 30-80 unidades de BOTOX® para tratar el estreñimiento mediante inyección intraesfintérica del músculo puborrectal;
- (4) aproximadamente 1-5 unidades por músculo de BOTOX® inyectado intramuscularmente para tratar el blefarospasmo inyectando el músculo orbicular pretarsal lateral del párpado superior y el músculo orbicular pretarsal lateral del párpado inferior;
- (5) para tratar el estrabismo, se ha inyectado intramuscularmente entre 1-5 unidades de BOTOX® en los músculos extraoculares, variando la cantidad inyectada en base tanto al tamaño del músculo en el que debía producirse la inyección como en el grado deseado de parálisis muscular (es decir, la cantidad deseada de la corrección dióptrica);
- (6) para tratar la espasticidad de las extremidades superiores tras una apoplejía, mediante inyecciones intramusculares de BOTOX® en cinco músculos flexores diferentes de la extremidad superior, como sigue:
 - (a) *flexor digitorum profundus*: 7,5 U a 30 U
 - (b) *flexor digitorum sublimis*: 7,5 U a 30 U
 - (c) *flexor carpi ulnaris*: 10 U a 40 U
 - (d) *flexor carpi radialis*: 15 U a 60 U
 - (e) *biceps brachii*: 50 U a 200 U. Cada uno de los cinco músculos indicados ha recibido la inyección en la misma sesión de tratamiento, de modo que el paciente recibe de 90 U a 360 U de BOTOX® en los músculos flexores de la extremidad superior mediante inyección intramuscular en cada sesión de tratamiento;
- (7) para tratar la migraña, la inyección pericraneal (inyectada simétricamente en los músculos glabellar, frontal y temporal) de 25 U de BOTOX® ha demostrado un beneficio significativo como tratamiento profiláctico de la migraña en comparación con el excipiente según se determina por la disminución de mediciones de la frecuencia y la severidad máxima de las migrañas, por los vómitos asociados y por el uso agudo de medicación a lo largo del periodo de tres meses que sigue a la inyección de 25 U.

Se sabe que la toxina botulínica de tipo A puede tener eficacia hasta 12 meses (European J. Neurology 6 (Supp 4): S111-S1150:1999), y, en algunas circunstancias, incluso hasta 27 meses, cuando se usa para tratar glándulas, como en el tratamiento de la hiperhidrosis. Véanse, por ejemplo, Bushara K., Botulinum toxin and rhinorrhea, Otolaryngol Head Neck Surg 1996; 114(3):507, y The Laryngoscope 109:1344-1346:1999. Sin embargo, la duración habitual de una inyección intramuscular de Botox® está típicamente entre 3 y 4 meses.

El éxito de la toxina botulínica de tipo A para tratar una variedad de estados clínicos ha llevado a que se despierte el interés por otros serotipos de la toxina botulínica. Dos preparados botulínicos de tipo A disponibles comercialmente para el uso en seres humanos son BOTOX®, disponible en Allergan, Inc., de Irvine, California, y Dysport®, disponible en Beaufour Ipsen, Porton Down, Inglaterra. Un preparado de la toxina botulínica de tipo B (MyoBloc®) está disponible en Elan Pharmaceuticals, de San Francisco, California.

Además de tener acciones farmacológicas en el emplazamiento periférico, las toxinas botulínicas pueden también tener efectos en el sistema nervioso central. Los estudios de Weigand *et al*, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1976; 292, 161-165, y Habermann, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1974; 281, 47-56 demostraron que la

toxina botulínica es capaz de ascender hasta la zona espinal mediante transporte retrógrado. Por ello, una toxina botulínica inyectada en un emplazamiento periférico, por ejemplo intramuscularmente, puede ser transportada de forma retrógrada hasta la médula espinal.

5 También se ha propuesto o se ha usado una toxina botulínica para tratar heridas de la piel, de los huesos y de los tendones (patente estadounidense 6.447.787); el dolor intratecal (véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 6.113.915); diversos trastornos nerviosos autónomos, incluyendo trastornos de las glándulas sudoríparas (véanse, por ejemplo, la patente estadounidense 5.766.605 y Goldman (2000), *Aesthetic Plastic Surgery* Jul-Ago 24(4):280-282); la cefalea tensional (patente estadounidense 6.458.365); el dolor de cabeza migrañoso (patente estadounidense 5.714.468); el dolor postoperatorio y el dolor visceral (patente estadounidense 6.464.986); el crecimiento capilar y la retención del cabello (patente estadounidense 6.299.893); la psoriasis y la dermatitis (patente estadounidense 5.670.484); músculos lesionados (patente estadounidense 6.423.319); diversos cánceres (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 6.139.845 y 6.063.768), trastornos de los músculos lisos (patente estadounidense 5.437.291); síndromes de atrapamiento nervioso (solicitud de patente estadounidense 2003 0224019); el acné (WO 03/011333);
10 la inflamación neurógena (patente estadounidense 6.063.768); trastornos óticos (véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 6.265.379); trastornos pancreáticos (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses nºs 6.143.306 y 6.261.572); trastornos prostáticos, incluyendo la hiperplasia prostática, el cáncer de próstata y la incontinencia urinaria (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 6.365.164 y 6.667.041 y Doggweiler R., *et al* Botulinum toxin type A causes diffuse and highly selective atrophy of rat prostate, *Neurourol Urodyn* 1998; 17(4):363); la fibromialgia (patente estadounidense 6.623.742); el síndrome del músculo piramidal de la pelvis (véase, por ejemplo, Childers *et al.* (2002), *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 81: 751-759); y diversos trastornos cutáneos (véanse las solicitudes de patente estadounidenses con números de serie 731.973; 814.764 y 817.036).

La patente estadounidense nº 5.989.545 da a conocer que una neurotoxina clostridial modificada o un fragmento de la misma, preferentemente una toxina botulínica, conjugada químicamente o fusionada de forma recombinante con una porción particular de cribado puede usarse para tratar el dolor mediante administración del agente a la médula espinal. Además, se ha dado a conocer que las toxinas botulínicas objeto del cribado (es decir, con la porción de enlace no nativo) pueden usarse para tratar diversos estados (véanse, por ejemplo, los documentos WO 96/33273; WO 99/17806; WO 98/07864; WO 00/57897; WO 01/21213; WO 00/10598).

30 Se ha inyectado una toxina botulínica en el músculo pectoral para controlar el espasmo pectoral. Véase, por ejemplo, Senior M., *Botox and the management of pectoral spasm after subpectoral implant insertion*, *Plastic and Recon Burg*, julio de 2000, 224-225. Se conocen implantes de toxina con liberación controlada (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 6.306.423 y 6.312.708), igual que la administración transdérmica de la toxina botulínica (solicitud de patente estadounidense con número de serie 10/194805).

Se han dado a conocer tanto formulaciones líquidas estables como puras de la toxina botulínica (véanse, por ejemplo, los documentos WO 00/15245 y WO 74703), así como la aplicación tópica de una toxina botulínica (véase, por ejemplo, el documento DE 198 52 981).

40 Se sabe que una toxina botulínica puede usarse para: debilitar el músculo de mascado o de la masticación de la boca para que puedan sanar las heridas autoinfligidas y las úlceras resultantes (Payne M., *et al*, *Botulinum toxin as a novel treatment for self mutilation*, en *Lesch-Nyhan syndrome*, *Ann Neurol* 2002 Sep; 52 (3 Sup 1):S157); permitir la curación de lesiones o tumores quísticos benignos (Blugerman G., *et al.*, *Multiple eccrine hidrocystomas: A new therapeutic option with botulinum toxin*, *Dermatol Surg* 2003. Mayo; 29(5):557-9); tratar la fisura anal (Jost W., *Ten years' experience with botulinum toxin in anal fissure*, *Int J Colorectal Dis* 2002 Sep; 17(5):298-302); y tratar ciertos tipos de dermatitis atópica (Heckmann M., *et al.*, *Botulinum toxin type A injection in the treatment of lichen simplex: An open pilot study*, *J Am Acad Dermatol*.2002 Abr; 46(4):617-9).

50 Además, es posible que una toxina botulínica tenga efecto para reducir el dolor inflamatorio inducido en un modelo con formalina en ratas. Aoki K., *et al*, *Mechanisms of the antinociceptive effect of subcutaneous Botox: inhibition of peripheral and central nociceptive processing*, *Cephalalgia* 2003 Sep; 23(7):649. Además, se ha documentado que el bloqueo nervioso con toxina botulínica puede causar una reducción en el espesor epidérmico. Li Y, *et al.*, *Sensory and motor denervation influences epidermal thickness in rat foot glabrous skin*, *Exp Neurol* 1997; 147:452-462 (véase la página 459). Por último, se sabe administrar una toxina botulínica al pie para tratar la sudoración excesiva del pie (Katsambas A., *et al.*, *Cutaneous diseases of the foot: Unapproved treatments*, *Clin Dermatol* 2002 Nov-Dic; 20(6):689-699; Sevim, S., *et al.*, *Botulinum toxin-A therapy for palmar and plantar hyperhidrosis*, *Acta Neurol Belg* 2002 Dic; 102(4):167-70), dedos espásticos (Suputtitlada, A., *Local botulinum toxin type A injections in the treatment of spastic toes*, *Am J Phys Med Rehabil* 2002 Oct; 81(10):770-5), marcha idiopática de puntillas (Tacks, L., *et al.*, *Idiopathic toe walking: Treatment with botulinum toxin A injection*, *Dev Med Child Neurol* 2002; 44(Supl 91):6) y distonía del pie (Rogers J., *et al.*, *Injections of botulinum toxin A in foot dystonia*, *Neurology* 1993 Abr; 43(4 Supl 2)).

65 La toxina del tétanos, así como los derivados (es decir, con una porción de enlace no nativo), los fragmentos, híbridos y quimeras de la misma también pueden tener utilidad terapéutica. La toxina del tétanos tiene muchas similitudes con las toxinas botulínicas. Así, tanto la toxina del tétanos como las toxinas botulínicas son polipéptidos fabricados por especies estrechamente relacionadas de *Clostridium* (*Clostridium tetani* y *Clostridium botulinum*, respectivamente). Además, tanto la toxina del tétanos como las toxinas botulínicas son proteínas bicatenarias compuestas de una cadena ligera (peso molecular de aproximadamente 50 kD) unida de forma covalente por un único enlace bisulfuro

a una cadena pesada (peso molecular de aproximadamente 100 kD). De ahí que el peso molecular de la toxina del tétanos y de cada una de las siete toxinas botulínicas (sin complejos) sea de aproximadamente 150 kD. Además, tanto para la toxina del tétanos como para las toxinas botulínicas, la cadena ligera contiene el dominio que exhibe actividad biológica intracelular (proteasa), mientras que la cadena pesada comprende los dominios de enlace con receptores (inmunógeno) y translocacional de la membrana.

Además, tanto la toxina del tétanos como las toxinas botulínicas exhiben una afinidad elevada específica hacia los receptores gangliósidos en la superficie de las neuronas colinérgicas presinápticas. La endocitosis de la toxina del tétanos, mediada por receptores, por parte de las neuronas colinérgicas periféricas da como resultado el transporte axonal retrógrado, el bloqueo de la liberación de neurotransmisores inhibidores desde las sinapsis centrales y una parálisis espástica. En cambio, la endocitosis de la toxina botulínica, mediada por receptores, por parte de las neuronas colinérgicas periféricas da como resultado poco transporte retrógrado, si es que lo hay, la inhibición de la exocitosis de la acetilcolina desde las neuronas motoras periféricas intoxicadas y una parálisis flácida.

Por último, la toxina del tétanos y las toxinas botulínicas se parecen entre sí tanto en la biosíntesis como en la arquitectura molecular. Así, hay un 34% global de identidad entre las secuencias proteínicas de la toxina del tétanos y de la toxina botulínica de tipo A, y una identidad de secuencias de hasta el 62% para algunos dominios funcionales. Binz T. *et al.*, The Complete Sequence of Botulinum Neurotoxin Type A and Comparison with Other Clostridial Neurotoxins, J Biological Chemistry 265(16); 9153-9158:1990.

Acetilcolina

Típicamente, cada tipo de neurona del sistema nervioso de los mamíferos libera solamente un único tipo de molécula neurotransmisora pequeña, aunque hay evidencia que sugiere que la misma neurona puede liberar varios neuromoduladores. El neurotransmisor acetilcolina es segregado por las neuronas en muchas áreas del cerebro, pero específicamente por las grandes células piramidales de la corteza motora, por varias neuronas diferentes en los ganglios basales, por las neuronas motoras que inervan los músculos esqueléticos, por las neuronas preganglionares del sistema nervioso autónomo (tanto del simpático como del parasimpático), por las fibras de la bolsa 1 de la fibra muscular fusiforme, por las neuronas posganglionares del sistema nervioso parasimpático y por algunas de las neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático. Esencialmente, únicamente son colinérgicas las fibras nerviosas simpáticas posganglionares conectadas a las glándulas sudoríparas, a los músculos piloerectores y a algunos vasos sanguíneos, ya que la mayoría de las neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático segregan el neurotransmisor norepinefrina. En la mayoría de los casos, la acetilcolina tiene un efecto excitador. Sin embargo, se sabe que la acetilcolina tiene efectos inhibidores en algunas de las terminaciones nerviosas parasimpáticas periféricas, como la inhibición del ritmo cardíaco por el nervio vago.

Las señales eferentes del sistema nervioso autónomo son transmitidas al cuerpo ya sea por medio del sistema nervioso simpático o por el sistema nervioso parasimpático. Las neuronas preganglionares del sistema nervioso simpático se extienden desde los cuerpos celulares neuronales simpáticos preganglionares situados en el cuerno intermediolateral de la médula espinal. Las fibras nerviosas simpáticas preganglionares, que se extienden desde el cuerpo celular, hacen sinapsis con las neuronas posganglionares, situadas o bien en un ganglio simpático paravertebral o en un ganglio paravertebral. Dado que las neuronas tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático son colinérgicas, la aplicación de acetilcolina a los ganglios excitará las neuronas posganglionares tanto simpáticas como parasimpáticas.

La acetilcolina activa dos tipos de receptores: los receptores muscarínicos y los nicotínicos. Los receptores muscarínicos se encuentran en todas las células efectoras estimuladas por las neuronas posganglionares del sistema nervioso parasimpático. Los receptores nicotínicos se encuentran en la médula suprarrenal, al igual que dentro de los ganglios autónomos, es decir, en la superficie celular de la neurona posganglionar en la sinapsis entre las neuronas preganglionar y posganglionar tanto del sistema simpático como del parasimpático. Los receptores nicotínicos también se encuentran en muchas terminaciones nerviosas no autónomas, por ejemplo en las membranas de las fibras musculares esqueléticas en la unión neuromuscular.

La acetilcolina se libera de las neuronas colinérgicas cuando se funden pequeñas vesículas intracelulares transparentes con la membrana celular neuronal presináptica. Una amplia variedad de células secretoras no neuronales, como las células de la médula suprarrenal (al igual que la línea celular PC12) y de los islotes pancreáticos, liberan catecolaminas y la hormona paratiroidea, respectivamente, a partir de grandes vesículas de núcleo denso. La línea celular PC12 es un clon de células de feocromocitoma de rata, muy usadas como modelo de cultivo tisular para estudios de desarrollo simpato-suprarrenal. La toxina botulínica inhibe la liberación de ambos tipos de compuestos de ambos tipos de células *in vitro*, permeabilizadas (como mediante electroporación) o mediante inyección directa de la toxina en la célula desnervada. También se sabe que la toxina botulínica bloquea la liberación del neurotransmisor glutamato de los cultivos celulares de sinaptosomas corticales.

En el músculo esquelético se forma una unión neuromuscular por la proximidad de los axones a las células musculares. Una señal transmitida a través del sistema nervioso da como resultado un potencial de acción en el axón terminal, con la activación de canales de iones y la liberación resultante del neurotransmisor acetilcolina desde las vesículas sinápticas intraneuronales, por ejemplo en la placa motora de la unión neuromuscular. La acetilcolina cruza el espacio extracelular para enlazarse con las proteínas receptoras de acetilcolina en la superficie de la placa motora muscular. Una vez que se ha dado un enlace suficiente, un potencial de acción de la célula muscular causa cambios

específicos en el canal de iones de la membrana, lo que da por resultado la contracción del músculo. Acto seguido se libera acetilcolina de las células musculares y es metabolizada por las colinesterasas en el espacio extracelular. Los metabolitos vuelven a reciclarse en el axón terminal para reprocesarse en más acetilcolina.

5 Por lo tanto, lo que se requiere es un procedimiento efectivo terapéuticamente para tratar una estría.

Resumen

10 La presente invención satisface esta necesidad y proporciona el uso de una toxina botulínica para tratar de forma efectiva una estría mediante la administración local de dicha neurotoxina.

Un uso dentro del ámbito de la presente invención para el tratamiento de una estría puede tener la etapa de la administración local de una neurotoxina clostridial a un emplazamiento de una estría de un paciente, como el abdomen, el pecho o la espalda del o de la paciente. Por administración local se entiende que la neurotoxina clostridial se administra, por ejemplo mediante inyección, directamente a una zona de una estría, o a las inmediaciones de la misma. La neurotoxina puede administrarse localmente en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-3} unidades/kg de peso del paciente y aproximadamente 35 unidades/kg de peso del paciente. Preferentemente, la neurotoxina se administra localmente en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-2} U/kg de peso del paciente y aproximadamente 25 U/kg de peso del paciente. Más preferentemente, la neurotoxina se administra en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-1} U/kg y aproximadamente 15 U/kg. En un procedimiento particularmente preferido dentro del ámbito de la presente invención, la neurotoxina se administra localmente en una cantidad de entre aproximadamente 1 U/kg y aproximadamente 10 U/kg. En un entorno clínico puede ser ventajoso inyectar entre 1 U y 3000 U de una neurotoxina, como una toxina botulínica de tipo A o B, al emplazamiento de una estría mediante una aplicación tópica o mediante administración intradérmica para tratar de manera efectiva la estría.

25 Sin desear estar atados por la terapia, puede proponerse un mecanismo para la eficacia de la presente invención. Se sabe que una toxina botulínica puede ser efectiva para relajar músculos y promover una curación cosmética de las cicatrices superficiales de la piel. Además, una toxina botulínica puede inhibir la liberación de otros mediadores, como el cGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina), que puede tener un efecto en la degranulación de los mastocitos. Hay evidencia de que el receptor acoplado a las proteínas G, cGRP-R, se expresa en las células cutáneas. El cGRP es un potente vasodilatador de los vasos pequeños y grandes, al menos en parte mediante la activación directa de los receptores celulares de los músculos lisos arteriales. El cGRP también aumenta la permeabilidad vascular, produciendo edema dérmico por medio de la activación indirecta de los mastocitos o mediante estimulación de la producción de óxido nítrico (ON) por parte de las células endoteliales con la consiguiente vasodilatación.

35 Así, puede emitirse la hipótesis de que una toxina botulínica puede relajar el tejido muscular que rodea una estría para reducir la tensión en la dermis, permitiendo con ello la curación de una estría y evitando la formación de estrías nuevas. Además, una toxina botulínica puede tratar estrías inhibiendo la degranulación de los mastocitos, ya que se cree que la degranulación de los mastocitos contribuye a la formación de estrías.

40 Una bacteria clostridial, concretamente *Clostridium botulinum*, puede fabricar una neurotoxina adecuada para el uso en la práctica de la presente invención. La neurotoxina usada puede ser una neurotoxina modificada, que es una neurotoxina uno de cuyos aminoácidos ha sido eliminado, modificado o sustituido, en comparación con una neurotoxina nativa. Además, la neurotoxina puede ser una neurotoxina producida de manera recombinante, o un derivado o un fragmento de una neurotoxina fabricada de forma recombinante. La neurotoxina puede ser una toxina botulínica, como uno de los serotipos A, B, C1, D, E, F o G de la toxina botulínica. Una toxina botulínica preferida para el uso en la práctica de la presente invención es la toxina botulínica de tipo A.

50 Un uso conforme a la invención del solicitante puede llevarse a cabo mediante la administración de una toxina clostridial a un paciente con una estría o que esté predispuesto a tenerla. La toxina clostridial usada es una toxina botulínica (ya sea como complejo o pura [es decir, una molécula de aproximadamente 150 kDa]), como una toxina botulínica A, B, C, D, E, F o G. La administración de la toxina clostridial puede realizarse mediante una administración por vía transdérmica (es decir, mediante la aplicación de una toxina clostridial en una crema, un parche o un vehículo en forma de loción), por vía subdérmica (es decir, subcutánea o intramuscular) o por vía intradérmica.

55 La dosis de una toxina clostridial usada conforme a la presente invención es menor que la cantidad de toxina que se usaría para paralizar un músculo, dado que el propósito de un uso conforme a la presente invención no es paralizar un músculo, sino tratar una estría.

60 En el presente documento se aplican las siguientes definiciones:

“Aproximadamente” significa alrededor de o casi y, en el contexto de un valor o un intervalo numérico expresado en el presente documento significa el 10% del valor o del intervalo enumerado o reivindicado.

65 “Aliviar” significa una reducción en la prominencia visual de una estría. Así, el alivio incluye alguna reducción, una reducción significativa, una reducción casi total y una reducción total de un síntoma de estría. Es posible que un efecto de alivio no aparezca clínicamente hasta entre 1 y 7 días tras la administración de una neurotoxina clostridial a un paciente.

“Toxina botulínica” significa una neurotoxina botulínica, ya sea como toxina pura (es decir, una molécula de aproximadamente 150 kDa de peso) o como un complejo (es decir, un complejo de entre aproximadamente 300 y aproximadamente 900 kDa de peso que comprende una molécula de neurotoxina y una o más moléculas asociadas no tóxicas), y excluye las toxinas botulínicas que no son neurotoxinas, como las toxinas botulínicas citotóxicas C2 y C3, pero incluye las toxinas botulínicas fabricadas de forma recombinante, las híbridas, las modificadas y las quiméricas.

“Administración local” o “administrar de forma local” significa la administración (es decir, mediante una vía subcutánea, intramuscular, subdérmica o transdérmica) de un agente farmacéutico a un emplazamiento dérmico o subdérmico, o a sus inmediaciones, de un paciente.

“Tratar” significa aliviar (o eliminar) al menos un síntoma de una estría, ya sea de manera temporal o permanente.

La neurotoxina clostridial se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva para aliviar un síntoma de una estría. Una neurotoxina clostridial adecuada puede ser una neurotoxina fabricada por una bacteria; por ejemplo, la neurotoxina la puede fabricar un *Clostridium botulinum*. En ciertas realizaciones de la invención, la estría puede tratarse aplicando una toxina botulínica a la piel (tópica) o en la piel (intra o transdérmica) de un paciente. La toxina botulínica puede ser una toxina botulínica de los tipos A, B, C1, D, E, F o G. Los efectos de la toxina botulínica de alivio de las estrías puede persistir entre aproximadamente 2 semanas (es decir, tras la administración de una toxina botulínica de acción breve, como una toxina botulínica de tipo E) y 5 años (es decir, tras la implantación de un implante de toxina botulínica de liberación controlada). La neurotoxina botulínica puede ser una neurotoxina botulínica fabricada de forma recombinante, como las toxinas botulínicas producidas por una bacteria *E. coli*. Además o de forma alternativa, la neurotoxina botulínica puede ser una neurotoxina modificada, es decir, una neurotoxina botulínica al menos uno de cuyos aminoácidos se ha eliminado, modificado o sustituido, en comparación de una nativa, o la neurotoxina botulínica modificada puede ser una neurotoxina botulínica producida de forma recombinante, o un derivado o un fragmento de la misma.

Un uso para tratar una estría conforme a la presente invención puede comprender la etapa de la administración local de una toxina botulínica a un paciente con una estría para aliviar con ello la estría. La toxina botulínica puede seleccionarse del grupo constituido por los tipos A, B, C, D, E, F y G de la toxina botulínica. La toxina botulínica de tipo A es una toxina botulínica preferida.

Una realización detallada de la invención del solicitante puede comprender un uso para tratar una estría mediante la administración local a un paciente con una estría de entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 3.000 unidades de una toxina botulínica (por ejemplo, entre aproximadamente 1-50 unidades de una toxina botulínica de tipo A, o entre aproximadamente 50 y 3.000 unidades de una toxina botulínica de tipo B), aliviando con ello la estría durante entre aproximadamente dos semanas y aproximadamente 5 años.

La invención del solicitante también comprende un uso para tratar una estría administrando localmente una toxina botulínica (tal como una toxina botulínica de tipo A, B, C, D, E, F o G, en una cantidad de entre 1 unidad y 3.000 unidades por sesión de tratamiento) a un paciente predispuesto a padecer estrías, con lo que se evita que el paciente experimente una estría. Un paciente predispuesto a padecer estrías es un ser humano que haya experimentado una estría al menos una vez en los últimos doce meses). La administración local puede llevarse a cabo mediante la administración subcutánea o tópica de la toxina botulínica a un emplazamiento en la piel o dentro de la piel de un paciente en el que se localiza una estría. La estría puede reducirse en tamaño entre aproximadamente el 20% y el 100%.

Descripción

La presente invención se basa en el descubrimiento de que una estría puede tratarse mediante la administración local de una cantidad terapéuticamente efectiva de una neurotoxina clostridial, es decir, una neurotoxina botulínica. La neurotoxina botulínica (una neurotoxina botulínica de serotipo A, B, C1 D, E, F o G) puede inyectarse o aplicarse tópicamente en o sobre o en las inmediaciones de una estría de un paciente. Alternativamente, la toxina botulínica puede administrarse a una neurona intradérmica o subdérmica para regular a la baja, inhibir o suprimir una estría mediada o influida neuronalmente.

Sin desear quedar ligado a la teoría, puede proponerse un mecanismo fisiológico para la eficacia de la invención del solicitante tal como se da a conocer en el presente documento para el tratamiento de una estría usando una neurotoxina clostridial. En esencia, se presenta la hipótesis de que el uso de una toxina botulínica puede inhibir la liberación de acetilcolina y/o de otro neurotransmisor o neuropéptido por uno o más nervios o estructuras dérmicas que inervan o que influyen en una estría, para permitir con ello el tratamiento efectivo de una estría. Alternativamente, la neurotoxina clostridial administrada puede tener un efecto directo en la estría. Con tratamiento efectivo se quiere decir que la estría se vuelve menos dolorosa, menos inflamada y/o experimenta una regresión (es decir, se vuelve de menor tamaño [es decir, más fina] o desaparece por completo).

Con respecto al mecanismo fisiológico propuesto para el uso de una neurotoxina clostridial para tratar una estría tal como se expone en el presente documento, se sabe que los queratinocitos humanos pueden responder a la acetilcolina. Se cree que la acetilcolina la desprenden los queratinocitos para que actúe como hormona local en la

epidermis. Grando S. *et al.*, Human keratinocytes synthesize, secrete and degrade acetylcholine, *J Invest Dermatol.* 1993 Jul; 101(1):32-6. Los queratinocitos epidérmicos humanos poseen enzimas colinérgicas que sintetizan y degradan la acetilcolina y que expresan tanto las clases nicotínicas como las muscarínicas de los receptores colinérgicos en sus superficies celulares. Estos receptores de la superficie celular de los queratinocitos epidérmicos se enlazan con la acetilcolina e inician diversas respuestas celulares. Significativamente, la presencia en los queratinocitos de un sistema colinérgico funcional sugiere un papel para la acetilcolina en la mayoría de los aspectos, si no en todos, de la función de los queratinocitos. La acetilcolina emplea el calcio como mediador de sus efectos en los queratinocitos. A su vez, los cambios en la concentración de calcio pueden afectar la expresión y la función de las enzimas colinérgicas de los queratinocitos y de los receptores colinérgicos. En diferentes etapas de su diferenciación, los queratinocitos demuestran combinaciones únicas de las enzimas colinérgicas y de los tipos de receptores colinérgicos. Grando S., Biological functions of keratinocyte cholinergic receptors, *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1997 Ago; 2(1): 41-8.

Es importante que la innervación de la piel ejerza una influencia en la proliferación de los queratinocitos y el espesor de la epidermis. Huang *et al.*, Influence of cutaneous nerves on keratinocyte proliferation and epidermal thickness in mice. *Neuroscience.* 1999; 94(3):965-73. Varias líneas de evidencia sugieren que los nervios que terminan en la piel tienen influencias profundas en su objetivo, la epidermis. Véanse, por ejemplo, Grando S., Biological functions of keratinocyte cholinergic receptors, *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1997 Ago; 2(1):41-8; Grando S., *et al.*, Activation of keratinocyte nicotinic cholinergic receptors stimulates calcium influx and enhances cell differentiation. *Invest Dermatol.* 1996 Sep; 107(3):412-8; Ndoye A., *et al.*, Identification and mapping of keratinocyte muscarinic acetylcholine receptor subtypes in human epidermis, *J Invest Dermatol.* 1998 Sep; 111 (3):410-6; Palacios J., *et al.*, Cholinergic neuropharmacology: an update, *Acta Psychiatr Scand. Supl.* 1991; 366:27-33; Whitehouse P., *et al.*, Nicotinic and muscarinic cholinergic receptors in Alzheimer's disease and related disorders, *J Neural Transm Suppl.* 1987; 24:175-82; Arredondo J., *et al.*, Central role of alpha7 nicotinic receptor in differentiation of the stratified squamous epithelium, *J Cell Biol.* 2002 Oct 28; 159(2):325-36; Andreadis S., *et al.*, Keratinocyte growth factor induces hyperproliferation and delays differentiation in a skin equivalent model system, *FASEB J.* 2001 Abr; 15(6):898-906; Krnjevic K., Central cholinergic mechanisms and function. *Prog Brain Res.* 1993; 98:285-92; Epidermal expression of the full-length extracellular calcium-sensing receptor is required for normal keratinocyte differentiation, *J Cell Physiol.* 2002 Jul; 192 (1):45-54; Grando S., *et al.*, Human keratinocytes synthesize, secrete, and degrade acetylcholine *J Invest Dermatol.* 1993 Jul; 101(1):32-6; Zia S., *et al.*, Receptor-mediated inhibition of keratinocyte migration by nicotine involves modulations of calcium influx and intracellular concentration, *J Pharmacol Exp Ther.* 2000 Jun; 293(3): 973-81; Nguyen V., *et al.*, Keratinocyte acetylcholine receptors regulate cell adhesion *Life Sci.* 2003 Mar 28; 72 (18-19):2081-5; Nguyen V., *et al.*, Programmed cell death of keratinocytes culminates in apoptotic secretion of a humectant upon secretagogue action of acetylcholine *J Cell Sci.* 2001 Mar; 114 (Parte 6):1189-204; Grando S., *et al.*, Keratinocyte muscarinic acetylcholine receptors: immunolocalization and partial characterization, *J Invest Dermatol.* 1995 Jan; 104 (1):95-100; Lin Y., *et al.*, (2001) Cutaneous nerve terminal degeneration in painful mononeuropathy, *Experimental Neurology.* 170(2): 290-6; Pan C., *et al.*, (2001) Degeneration of nociceptive nerve terminals in human peripheral neuropathy, *Neuroreport.* 12(4):787-92; Hsiung-F., *et al.*, (2001) Quantitative pathology of cutaneous nerve terminal degeneration in the human skin, *Acta Neuropathologica* 102: 455-461; Ko M., *et al.*, Cutaneous nerve degeneration induced by acrylamide in mice, *Neuroscience Letters* (2000) 293(3):195-8; Lin Y., *et al.*, Quantitative sensory testing: normative values and its application in diabetic neuropathy, *Acta Neurol Taiwan* 1998; 7:176-184; T. Huang, *et al.*, Influence of cutaneous nerves on keratinocyte proliferation and epidermal thickness in mice, *Neuroscience* 94:965-973, 1999; Hsieh S., *et al.*, Pathology of nerve terminal degeneration in the skin, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology.* 2000; 59(4):297-307; Huang I. *et al.*, Influence of cutaneous nerves on keratinocyte proliferation and epidermal thickness in mice, *Neuroscience.* 1999; 94(3):965-73; Hsieh S., *et al.*, Modulation of keratinocyte proliferation by skin innervation. *Journal of Investigative Dermatology.* 1999; 113(4):579-86; Chen W., *et al.*, Trophic interactions between sensory nerves and their targets, *Journal of Biomedical Science.* 1999; 6(2):79-85; Chiang H-Y, *et al.*, Regional difference in epidermal thinning after skin denervation, *Exp Neurol* 1998; 154(1):137-45; Hsieh S., *et al.*, Skin innervation and its influence on the epidermis, *J Biomed Sci* 1997; 4:264-268; Lee M., *et al.*, Clinical and electrophysiological characteristics of inflammatory demyelinating neuropathies, *Acta Neurol Taiwan* 1997; 6: 283-288; Wu T., *et al.*, Demonstration of human papillomavirus (HPV) genomic amplification and viral-like particles from CaSki cell line in SCID mice, *J Virol Methods* 1997; 65:287-298; Hsieh S., *et al.*, Epidermal denervation and its effects on keratinocytes and Langerhans cells, *J Neurocytol* 1996; 25:513-524; McCarthy B., *et al.*, Cutaneous innervation in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy, *Neurol* 1995; 45:1848-1855; Griffin J., *et al.*, Axonal degeneration and disorders of the axonal cytoskeleton. In: Waxman S., *et al.*, *The Axon.* New York: Oxford University Press, 1995:375-390.

Así, puede postularse que puede usarse una toxina botulínica para inducir denervación y, con ello, tratar una estría, evitando (es decir, regulando a la baja) la liberación de diversos neuropeptidos liberados por los nervios que innervan la piel. Entre estos neuropeptidos se encuentran las taquíninas, la sustancia P y la neuroquinina A, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (cGRP), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la somatostatina, de todos los cuales se ha documentado que modulan las funciones celulares de la piel, como la proliferación celular. Tal como se ha indicado previamente, la liberación de la mayor parte de los neurotransmisores y de los neuropeptidos relacionados puede ser bloqueada por la toxina botulínica. Véanse, por ejemplo, Hokfelt T., Neuropeptides in perspective: The last ten years, *Neuron* 1991; 7: 867-879; Xu Z-QD *et al.*, Galanin/GMAP- and NPY-like immunoreactivities in locus coeruleus and noradrenergic nerve terminals in the hippocampal formation and cortex with notes on the galanin-R1 and -R2 receptors, *J. Comp. Neurol.* 1998; 392: 227-252; Xu ZQD *et al.*, Galanin-5-hydroxytryptamine interactions: Electrophysiological, immunohistochemical and *in situ* hybridization studies on rat dorsal raphe neurons with a note

on galanin R1 and R2 receptors. *Neuroscience* 1998; 87: 79-94; Johnson M., Synaptic glutamate release by postnatal rat serotonergic neurons in microculture, *Neuron* 1994; 12: 433-442; Sneddon P., *et al.*, Pharmacological evidence that adenosine triphosphate and noradrenaline are cotransmitters in the guinea-pig vas deferens. *J. Physiol.* 1984; 347: 561-580; Kaneko T., *et al.*, Immunohistochemical demonstration of glutaminase in catecholaminergic and serotonergic neurons of rat brain, *Brain Res.* 1990; 507: 141-154; Kasakov L., *et al.*, Direct evidence for concomitant release of noradrenaline, adenosine 5'-triphosphate and neuropeptide Y from sympathetic nerve supplying the guinea-pig vas deferens. *J. Auton. Nerv. Syst.* 1988; 22: 75-82; Nicholas A. *et al.*, Glutamate-like immunoreactivity in medulla oblongata catecholamine substance P neurons, *NeuroReport* 1990; 1: 235-238; Nicholas A. *et al.*, Kupfermann I., Functional studies of cotransmission. *Physiol. Rev.* 1991; 71: 683-732.48: 545-59; Lundberg J., Pharmacology of cotransmission in the autonomic nervous system: Integrative aspects on amines, neuropeptides, adenosine triphosphate, amino acids and nitric oxide, *Pharmacol. Rev.* 1996; 48: 113-178; Hsieh S., *et al.*, Skin Innervation and Its Effects on the Epidermis, *J Biomed Sci.* 1997;4 (5):264-268; Legat F., *et al.*, Repeated subinflammatory ultraviolet B irradiation increases substance P and calcitonin gene-related peptide content and augments mustard oil-induced neurogenic inflammation in the skin of rats, *Neurosci Lett.* 2002 Sep 6;329(3):309-13; White S., *et al.*, Asahina A., *et al.*, Specific induction of cAMP in Langerhans cells by calcitonin gene-related peptide: relevance to functional effects, *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 Aug 29;92(18):8323-7; Inaba N., *et al.*, Capsaicin-induced calcitonin gene-related peptide release from isolated rat stomach measured with a new chemiluminescent enzyme immunoassay, *Jpn J Pharmacol.* 1996 Nov; 72(3):223-9; Hosoi J., *et al.*, Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide, *Nature.* 1993 May 13; 363(6425):159-63.

La Figura 1 ilustra un mecanismo de acción de una toxina botulínica ("Btx" en la Figura 1). Una toxina botulínica puede inhibir la liberación de cGRP, SP y glutamato de los nervios sensitivos de la piel e inhibir también la liberación directa de estos mediadores de las células queratinocíticas cutáneas, endoteliales y melanocíticas. Se sabe que los neuropeptidos liberados por los nervios sensitivos que inervan la piel y están en contacto con células epidérmicas y dérmicas pueden modular directamente las funciones de los queratinocitos, de las células de Langerhans (LC), los mastocitos, las células endoteliales microvasculares dérmicas e infiltrar las células inmunológicas. En la Figura 1 ON es óxido nítrico, cGRP es el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, Ach es acetilcolina, cGRP-R es el receptor de la molécula de cGRP, v-dil significa vasodilatación y SP es la sustancia P.

Además, se ha demostrado que la denervación de la piel puede provocar que la epidermis empiece a degenerar o se vuelva más fina. Hsieh S., *et al.*, Modulation of keratinocyte proliferation by skin innervation, *J Invest Dermatol.* 1999 Oct; 113(4):579-86; Hsieh S., *et al.*, Epidermal denervation and its effects on keratinocytes and Langerhans cells, *J Neurocytol.* 1996 Sep;25 (9):513-24.; Chiang, *et al.*, Regional difference in epidermal thinning after skin denervation, *Exp Neurol* 1998 Nov;154(1):137-45; U Y., *et al.*, Sensory and motor denervation influence epidermal thickness in rat foot glabrous skin, *Exp Neurol.* 1997 Oct;147(2):452-62 (el bloqueo de la toxina botulínica hizo que el espesor epidérmico se redujera significativamente en la zona plantar central de la pata de la rata).

La cantidad de toxina clostridial administrada conforme a un uso dentro del ámbito de la invención dada a conocer puede variar conforme a las características particulares de la estría que esté tratando, incluyendo su gravedad y otras variables diversas del paciente, incluyendo la talla, el peso, la edad y la respuesta a la terapia. Para guiar al profesional, típicamente, se administra no menos de aproximadamente 1 unidad y no más de aproximadamente 50 unidades de una toxina botulínica de tipo A (como el BOTOX®) por sitio de inyección (es decir, a cada emplazamiento con estría en el que se inyecta) por sesión de tratamiento del paciente. Para una toxina botulínica de tipo A como DYSPORT®, se administran no menos de aproximadamente 2 unidades y no más de aproximadamente 200 unidades de la toxina botulínica de tipo A por administración o sitio de inyección por sesión de tratamiento del paciente. Para una toxina botulínica de tipo B como MYOBLOC®, se administran no menos de aproximadamente 40 unidades y no más de aproximadamente 2500 unidades de la toxina botulínica de tipo B por administración o sitio de inyección por sesión de tratamiento del paciente. Menos de aproximadamente 1, 2 o 40 unidades (de BOTOX®, DYSPORT® y MYOBLOC®, respectivamente) puede no lograr un efecto terapéutico deseado, mientras que más de aproximadamente 50, 200 o 2500 unidades (de BOTOX®, DYSPORT® y MYOBLOC®, respectivamente) puede dar como resultado hipotonicidad muscular, debilidad y/o parálisis clínicamente observables e indeseables.

Más preferentemente: para BOTOX®, no menos de aproximadamente 2 unidades y no más de aproximadamente 20 unidades de una toxina botulínica de tipo A; para DYSPORT®, no menos de aproximadamente 4 unidades y no más de aproximadamente 100 unidades; y, para MYOBLOC®, no menos de aproximadamente 80 unidades y no más de aproximadamente 1000 unidades son administradas, respectivamente, por sitio de inyección por sesión de tratamiento del paciente.

Lo más preferente: para BOTOX®, no menos de aproximadamente 5 unidades y no más de aproximadamente 15 unidades de una toxina botulínica de tipo A; para DYSPORT®, no menos de aproximadamente 20 unidades y no más de aproximadamente 75 unidades; y, para MYOBLOC®, no menos de aproximadamente 200 unidades y no más de aproximadamente 750 unidades son administradas, respectivamente, por sitio de inyección por sesión de tratamiento del paciente. Es importante hacer notar que puede haber múltiples sitios de inyección (es decir, un patrón de inyecciones) para cada sesión de tratamiento del paciente.

Aunque se proporcionan ejemplos de vías de administración y de dosis, la vía de administración y la dosis apropiadas son determinadas generalmente caso a caso por el médico responsable. Tales determinaciones son rutinarias para una persona con un dominio normal de la técnica (véase, por ejemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine

(1998), editado por Anthony Fauci *et al.*, 14ª edición, publicado por McGraw Hill). Por ejemplo, la vía y la dosis de administración de una neurotoxina clostridial conforme a la presente invención dada a conocer pueden seleccionarse en base a criterios como las características de solubilidad de la neurotoxina elegida, así como a la intensidad y el alcance de una estría.

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la administración local de una toxina clostridial puede proporcionar un alivio significativo y de larga duración de una estría. Una toxina clostridial usada conforme a la invención dada a conocer en el presente documento puede inhibir la transmisión de señales químicas o eléctricas entre grupos neuronales seleccionados que están implicados en la generación de una estría. Preferentemente, las toxinas clostridiales no son citotóxicas para las células que están expuestas a la toxina clostridial. La toxina clostridial puede inhibir la neurotransmisión reduciendo o impidiendo la exocitosis del neurotransmisor de las neuronas expuestas a la toxina clostridial. O la toxina clostridial aplicada puede reducir la neurotransmisión inhibiendo la generación de los potenciales de acción de las neuronas expuestas a la toxina. El efecto de alivio de la estría proporcionado por la toxina clostridial puede persistir durante un periodo de tiempo relativamente prolongado, por ejemplo durante más de dos meses, y, potencialmente, durante varios años.

Ejemplos de toxinas clostridiales dentro del ámbito de la presente invención incluyen las neurotoxinas fabricadas por el *Clostridium botulinum*. Además, las toxinas botulínicas usadas en los procedimientos de la invención pueden ser una toxina botulínica seleccionada de un grupo de toxinas botulínicas de los tipos A, B, C, D, E, F y G. En una realización de la invención, la neurotoxina botulínica administrada al paciente es la toxina botulínica de tipo A. La toxina botulínica de tipo A es deseable debido a su elevada potencia en los seres humanos, su fácil disponibilidad y su uso conocido para el tratamiento de trastornos esqueléticos y de los músculos lisos cuando se administra localmente mediante inyección intramuscular. La presente invención también incluye el uso de (a) neurotoxinas clostridiales obtenidas o tratadas mediante cultivo bacteriano, extracción de la toxina, concentración, conservación, secado por congelación y/o reconstitución; y/o b) neurotoxinas modificadas o recombinantes, es decir, neurotoxinas uno o más de cuyos aminoácidos o de cuyas secuencias de aminoácidos han sido deliberadamente eliminados, modificados o sustituidos mediante procedimientos químicos/bioquímicos conocidos de modificación de aminoácidos o mediante el uso de tecnologías recombinantes conocidas de vectores de células/recombinantes huéspedes, así como de los derivados o los fragmentos de las neurotoxinas así fabricadas. Estas variantes de la neurotoxina retienen la capacidad de inhibir la neurotransmisión entre las neuronas, y algunas de estas variantes pueden proporcionar duraciones aumentadas de los efectos inhibidores en comparación con las neurotoxinas nativas, o pueden proporcionar una especificidad de enlace potenciada con las neuronas expuestas a las neurotoxinas. Estas variantes de la neurotoxina pueden ser seleccionadas cribando las variantes usando ensayos convencionales para identificar las neurotoxinas que tienen los efectos fisiológicos deseados de inhibición de la neurotransmisión.

Las toxinas botulínicas para el uso conforme a la presente invención pueden almacenarse en forma liofilizada, secada al vacío, en recipientes bajo presión por vacío o como líquidos estables. Antes de la liofilización, la toxina botulínica puede combinarse con excipientes, estabilizantes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, como la albúmina. El material liofilizado puede ser reconstituido con suero fisiológico o agua para crear una solución o una composición que contiene la toxina botulínica que ha de administrarse al paciente.

Aunque es posible que la composición contenga solamente un único tipo de neurotoxina, como la toxina botulínica de tipo A, como ingrediente activo para suprimir la neurotransmisión, otras composiciones terapéuticas pueden incluir dos o más tipos de neurotoxinas, que pueden proporcionar un tratamiento terapéutico potenciado de una estría. Por ejemplo, una composición administrada a un paciente puede incluir toxina botulínica de tipo A y toxina botulínica de tipo B. Administrar una única composición que contenga dos neurotoxinas diferentes puede permitir que la concentración efectiva de cada una de las neurotoxinas sea inferior que si se administra una única neurotoxina al paciente mientras que se siguen logrando los efectos terapéuticos deseados. La composición administrada al paciente puede también contener otros ingredientes farmacéuticamente activos, como moduladores de los receptores proteínicos o de los canales de iones, en combinación con la neurotoxina o las neurotoxinas. Estos moduladores pueden contribuir a la reducción de la neurotransmisión entre las diversas neuronas. Por ejemplo, una composición puede contener moduladores de los receptores de tipo A del ácido gamma-aminobutírico (GABA), que potencian los efectos inhibidores mediados por el receptor GABAA. El receptor GABAA inhibe la actividad neuronal derivando de forma efectiva el flujo de corriente que atraviesa la membrana celular. Los moduladores del receptor GABAA pueden potenciar los efectos inhibidores del receptor GABAA y reducir la transmisión de señales eléctricas o químicas procedentes de las neuronas. Ejemplos de moduladores del receptor GABAA incluyen las benzodiazepinas, como diazepam, oxazepam, lorazepam, prazepam, alprazolam, halazepam, clordiazepóxido y cloracepato. Las composiciones también pueden contener moduladores del receptor de glutamato que disminuyen los efectos excitadores mediados por el receptor de glutamato. Ejemplos de moduladores del receptor de glutamato incluyen agentes que inhiben el flujo de corriente a través de los receptores de glutamato de los tipos AMPA, NMDA y/o kainato. Las composiciones también pueden incluir agentes que modulan los receptores de dopamina, como los antipsicóticos, los receptores de norepinefrina y/o los receptores de serotonina. Las composiciones pueden también incluir agentes que afectan el flujo de iones a través de los canales de calcio, los canales de potasio y/o los canales de sodio abiertos por voltaje. Así, las composiciones usadas para tratar una estría pueden incluir una o más neurotoxinas, como las toxinas botulínicas, además de moduladores de los receptores de los canales de iones que pueden reducir la neurotransmisión.

La neurotoxina puede administrarse mediante cualquier procedimiento adecuado según lo determine el médico responsable. Los procedimientos de administración permiten que la neurotoxina se administre localmente a un tejido

diana seleccionado. Los procedimientos de administración incluyen la inyección de una solución o una composición que contienen la neurotoxina, tal como se ha descrito anteriormente, e incluyen la implantación de un sistema de liberación controlada que libera la neurotoxina de forma controlada al tejido diana. Tales sistemas de liberación controlada reducen la necesidad de inyecciones reiteradas. La difusión de la actividad biológica de una toxina botulínica dentro de un tejido parece ser una función de la dosis y puede graduarse. Jankovic J., *et al.*, Therapy With Botulinum Toxin, Marcel Dekker, Inc., (1994), página 150. Así, la difusión de la toxina botulínica puede ser controlada para reducir los efectos secundarios potencialmente indeseables que pueden afectar la capacidad cognitiva del paciente. Por ejemplo, la neurotoxina puede administrarse de modo que la neurotoxina afecte fundamentalmente los sistemas neuronales que se cree que están implicados en la generación de una estría.

Se ha usado un polímero polianhídrido, Gliadel® (Stolle R & D, Inc., Cincinnati, Ohio), copolímero de policarboxifenoxipropano y ácido sebácico en una proporción de 20:80, para hacer implantes y se ha implantado intracranalmente para tratar gliomas malignos. El polímero y la BCNU pueden codisolverse en cloruro de metileno y ser deshidratados por aspersión en microesferas. Acto seguido, las microesferas pueden prensarse para formar discos de 1,4 cm de diámetro y 1,0 mm de espesor mediante moldeo por compresión, se envasan en bolsitas de papel de aluminio bajo atmósfera de nitrógeno y se esterilizan mediante radiación gamma de $2,2 \times 10^4$ Grays. El polímero permite la liberación de carmustina a lo largo de un periodo de 2-3 semanas, aunque puede llevar más de un año que la mayor parte del polímero se degrade. Brem, H., *et al.*, Placebo-Controlled Trial of Safety and Efficacy of Intraoperative Controlled Delivery by Biodegradable Polymers of Chemotherapy for Recurrent Gliomas, *Lancet* 345:1008-1012: 1995.

Los implantes útiles para practicar los procedimientos dados a conocer en el presente documento pueden prepararse mezclando una cantidad deseada de una neurotoxina estabilizada (tal como un BOTOX® no reconstituido) en una solución de un polímero adecuado disuelto en cloruro de metileno. La solución puede prepararse a temperatura ambiente. Acto seguido, la solución puede ser transferida a una placa de Petri y el cloruro de metileno se evapora en un desecador de vacío. Dependiendo del tamaño de implante deseado y, por ende, de la cantidad de neurotoxina incorporada, se comprime una cantidad adecuada del implante que incorpora la neurotoxina seca a aproximadamente 55,16 MPa durante 5 segundos o a 20,68 MPa durante 17 segundos en un molde para formar discos de implante que encapsulan la neurotoxina. Véase, por ejemplo, Fung L. K. *et al.*, Pharmacokinetics of Interstitial Delivery of Carmustine 4-Hydroperoxycyclophosphamide and Paclitaxel From a Biodegradable Polymer Implant in the Monkey Brain, *Cancer Research* 58: 672-684: 1998.

La administración local de una toxina clostridial, como una toxina botulínica, puede proporcionar un nivel terapéutico local elevado de la toxina. Un polímero de liberación controlada capaz de una distribución local de larga duración de una toxina clostridial a un emplazamiento diana con estrías permite una dosificación efectiva del tejido diana. Un implante adecuado, según se expone en la patente estadounidense número 6.306.423, titulada "Neurotoxin Implant", permite la introducción directa de un agente quimioterapéutico a un tejido diana por medio de un polímero de liberación controlada. Preferentemente, los polímeros de implante usados son hidrófobos, para proteger la neurotoxina incorporada en el polímero de la descomposición inducida por el agua hasta que la toxina sea liberada en el entorno del tejido diana.

La administración local de una toxina botulínica, conforme a la presente invención, mediante inyección o implante en un tejido diana proporciona una alternativa superior a la administración sistémica de fármacos a los pacientes para aliviar una estría.

La cantidad de toxina clostridial seleccionada para la administración local a un tejido diana conforma a la presente invención dada a conocer puede variar en base a criterios tales como la severidad de la estría que se está tratando, las características de solubilidad de la toxina neurotóxica elegida, al igual que en la edad, el sexo, el peso y la salud del paciente. Por ejemplo, se creen que la extensión del área de piel influida es proporcional al volumen de neurotoxina inyectado, mientras que se cree que la cantidad del efecto supresor de la estría es, para la mayoría de los intervalos de dosis, proporcional a la concentración de la toxina clostridial administrada. Los procedimientos para determinar la vía de administración y la dosis apropiados son determinados generalmente caso a caso por el médico responsable. Tales determinaciones son rutinarias para una persona con un dominio normal de la técnica (véase, por ejemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine (1998), editado por Anthony Fauci *et al.*, 14ª edición, publicado por McGraw Hill).

Resulta significativo que un uso dentro del ámbito de la presente invención pueda proporcionar una función del paciente mejorada. La "función del paciente mejorada" puede definirse como una mejora medida por factores tales como un dolor reducido, una disminución del tiempo pasado en la cama, una ambulación incrementada, una actitud más sana, un estilo de vida más variado y/o la curación permitidos por el tono muscular normal. Función del paciente mejorada es sinónimo de una calidad de vida (CDV) mejorada. La CDV puede evaluarse usando, por ejemplo, los conocidos procedimientos SF-12 o SF-36 de puntuación de encuestas de salud. El SF-36 evalúa la salud física y mental de un paciente en ocho dominios del desempeño físico: las limitaciones de rol debidas a problemas físicos, el desempeño social, el dolor corporal, la salud mental general, las limitaciones de rol debidas a problemas emocionales, la vitalidad y percepciones generales de la salud. Las puntuaciones obtenidas pueden compararse con valores publicados disponibles para diversas poblaciones generales y de pacientes.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitadores proporcionan a las personas con un dominio normal de la técnica usos específicos preferidos para tratar estados dentro del ámbito de la presente invención, y no se plantea que limiten el ámbito de la invención. En los siguientes ejemplos, pueden llevarse a cabo diversos modos de administración no sistémica de una neurotoxina clostridial. Por ejemplo, mediante aplicación tópica (crema o parche transdérmico), inyección subcutánea o mediante la implantación de un implante de liberación controlada.

Ejemplo 1

Uso de una toxina botulínica para tratar una estría consecuencia de un embarazo

Puede presentarse en una clínica de dermatología una mujer de 29 años que haya dado a luz recientemente por la persistencia de estrías en la región abdominal y de los pechos y puede desear un tratamiento para mejorar las estrías. Puede sugerirse un tratamiento de tipo toxina botulínica y la paciente puede aceptar una inyección intradérmica de una toxina botulínica de tipo A. El clínico puede aplicar 25 unidades de la toxina botulínica de tipo A a cada una de las 5 zonas afectadas: la región bilateral de los pechos y las zonas del flanco lateral y abdominal, lo que hace un total de 125 unidades U (~1 unidad/cm²) dispersas a lo largo de las estrías. Pueden administrarse aproximadamente 10 inyecciones por región, o 50 inyecciones en total. Tras un seguimiento 30 días después, aproximadamente el 65% de las estrías pueden haberse resuelto, quedando presentes solamente líneas tenues. La paciente puede volver por otra serie de inyecciones 3 meses después de sus primeras inyecciones y recibir la misma cantidad de toxina botulínica de tipo A. Tras un seguimiento subsiguiente 60 días más tarde, todas las estrías pueden haberse resuelto, quedando únicamente un 5% presentes tenuemente en la región abdominal.

Ejemplo 2

Uso de una toxina botulínica para tratar una estría consecuencia de un ejercicio

Puede presentarse en una clínica de dermatología un fisiculturista de 39 años y 82 kilos de peso buscando tratamiento para resolver estrías en su región abdominal. Dos años antes, el paciente podía haber pesado 122 kilos y quizá se le sugirió que, por razones de salud, redujese su peso mediante un régimen dietético estricto y ejercicios. Durante este tiempo, el paciente puede haberse sentido interesado en el fisiculturismo y puede haber reducido su peso en 41 kilos. Como consecuencia de la pérdida de peso en la zona abdominal, que llevaba años distendida, pueden haber cobrado gran prominencia las estrías. Para ser competitivo en una competición de fisiculturismo, el paciente puede querer encontrar una manera de eliminar las antiestéticas estrías. Es posible que se acuerde un tratamiento intradérmico con toxina botulínica de tipo A y que se inyecten 100 U siguiendo el curso de las estrías. Pueden aplicarse 40 inyecciones (2,5 U/0,1 ml) siguiendo la longitud de las estrías. Cuarenta y cinco días más tarde, el paciente puede presentar una reducción significativa (aproximadamente el 55% de las estrías puede haber desaparecido, y el 45% restante puede ser evidente únicamente de forma débil. Tres meses después puede aplicarse otra sesión de inyecciones usando el mismo protocolo. Dos meses después de la 2ª sesión de inyecciones, el paciente puede presentar una resolución completa de las estrías.

Ejemplo 3

Uso de una toxina botulínica para tratar una estría consecuencia de la obesidad

Puede presentarse en la clínica una mujer de 21 años buscando tratamiento para las estrías en las zonas de los muslos. La paciente puede señalar que, durante la adolescencia, tuvo un aumento de peso significativo en la zona de los muslos, con la formación subsiguiente de estrías. Cuando cumplió 20 años, la paciente puede haber empezado a reducir su peso global desde un máximo de 73 kilos hasta estar en forma, con 48 kilos. Puede aplicarse un tratamiento de 100 U de tipo toxina botulínica por medio de inyecciones intradérmicas de 5 U/0,1 ml siguiendo la superficie de las estrías, seguido de inyecciones de colágeno Zyderm I (suspensión al 25% de dermis bovina purificada en suero fisiológico con lidocaína al 0,3%) para afirmar la zona de los muslos y rellenar las arrugas en forma de líneas delgadas. Tras un seguimiento 2 meses después, solamente pueden observarse líneas tenues en la zona del muslo izquierdo y, tras una segunda aplicación cuatro meses después, la paciente puede presentar una resolución completa de las estrías y firmeza en la zona de los muslos.

En cada uno de los ejemplos anteriores, la toxina botulínica de tipo A, usada anteriormente, puede sustituirse con las de tipos B, C, D, E, F o G, por ejemplo mediante el uso de 250 unidades de una toxina botulínica de tipo B. La cantidad específica de una toxina botulínica administrada (como, por ejemplo, el BOTOX®) depende de una variedad de factores que deben ser sopesados y considerados a discreción del médico responsable y en cada uno de los ejemplos cantidades insignificantes de la toxina botulínica introducida aparecen sistémicamente sin ningún efecto secundario significativo.

Un uso para tratar una estría conforme a la invención dada a conocer en el presente documento tiene muchos beneficios y ventajas, incluyendo los siguientes:

1. las estrías pueden reducirse de forma espectacular o eliminarse.
2. la estría puede reducirse o eliminarse entre al menos aproximadamente dos semanas y aproximadamente seis meses por inyección de neurotoxina y entre aproximadamente un año y aproximadamente cinco años tras el uso de un implante de neurotoxina de liberación controlada.
3. la neurotoxina clostridial inyectada o implantada muestra poca tendencia o ninguna a difundirse o a ser transportada alejándose del sitio de la inyección intramuscular (o intradérmica o subdérmica) o de la implantación.
4. se dan pocos efectos secundarios indeseables significativos, o ninguno, resultante de la inyección intramuscular (o intradérmica o subdérmica) o de la implantación de la neurotoxina clostridial.
5. el presente uso puede dar como resultado los efectos secundarios deseables de mayor movilidad del paciente, una actitud más positiva y una calidad de vida mejorada.

Aunque se ha descrito la presente invención con detalle con respecto a ciertos procedimientos preferidos, son posibles otras realizaciones, versiones y modificaciones dentro del ámbito de la presente invención. Por ejemplo, puede usarse de forma efectiva una amplia variedad de neurotoxinas en la presente invención. Además, la presente invención incluye procedimientos de administración local para aliviar una estría en los que se administran de forma concurrente o consecutiva dos o más neurotoxinas, como dos o más toxinas botulínicas. Por ejemplo, puede administrarse toxina botulínica de tipo A hasta que se desarrollen una pérdida de respuesta clínica o anticuerpos neutralizantes, seguido por la administración de toxina botulínica de tipo B. De forma alternativa, puede administrarse localmente una combinación de cualesquiera dos o más de los serotipos botulínicos A-G para controlar el inicio y la duración del resultado terapéutico deseado. Además, pueden administrarse compuestos que no son neurotoxinas antes, a la vez o de forma subsiguiente a la administración de la neurotoxina por el efecto adjunto demostrado, tal como un inicio de la denervación potenciado o más rápido antes de que la neurotoxina, como una toxina botulínica, comience a ejercer su efecto terapéutico.

Una toxina botulínica puede administrarse sola o en combinación de uno o más de los otros serotipos de toxinas botulínicas. La toxina botulínica puede ser una toxina botulínica fabricada de forma recombinante o ser híbrida.

La invención del solicitante también incluye dentro de su ámbito el uso de una neurotoxina, como una toxina botulínica, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una estría, mediante la administración local de la neurotoxina.

En consecuencia, el ámbito de las siguientes reivindicaciones no debería estar limitado a las descripciones de las realizaciones preferidas, expuestas anteriormente.

REIVINDICACIONES

5 1. El uso de una toxina botulínica para la fabricación de un medicamento para tratar una estría en el que dicha toxina botulínica es para ser administrada a una estría o a las inmediaciones de una estría de un paciente, tratando con ello la estría.

2. El uso de la reivindicación 1 en el que la toxina botulínica se selecciona del grupo constituido por los tipos de toxina botulínica A, B, C, D, E, F y G.

10 3. El uso de la reivindicación 1 en el que la toxina botulínica es una toxina botulínica de tipo A.

4. El uso de la reivindicación 1 en el que la toxina botulínica se administra en una cantidad de entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 3.000 unidades.

15 5. El uso de la reivindicación 1 en el que la administración es mediante administración intradérmica de la toxina botulínica.

6. El uso de la reivindicación 1 en el que el tratamiento de la estría reduce el tamaño o la visibilidad de la estría.

20 7. La toxina botulínica para el tratamiento de una estría en la que dicha toxina botulínica es para usarse administrada a una estría o a las inmediaciones de una estría de un paciente.

Figura 1

