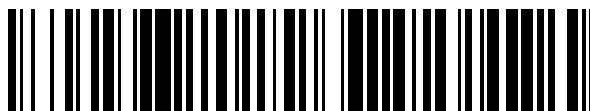


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 520 765**

51 Int. Cl.:

A61K 38/43 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2008** **E 13151292 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.08.2014** **EP 2583687**

54 Título: **Uso de toxina botulínica para el tratamiento de hiperhidrosis**

30 Prioridad:

15.02.2007 US 890052 P

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

11.11.2014

73 Titular/es:

ALLERGAN, INC. (50.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US y
GAYLIS, FRANKLIN DAVID (50.0%)

72 Inventor/es:

BLUMENFELD, ANDREW M. y
GAYLIS, FRANKLIN DAVID

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 520 765 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de toxina botulínica para el tratamiento de hiperhidrosis

Antecedentes

La presente invención se refiere al uso de enzimas que digieren la matriz extracelular y a toxinas botulínicas para el tratamiento de la hiperhidrosis.

Las neurotoxinas y en particular las toxinas botulínicas, se están usando cada vez más en el tratamiento de diferentes afecciones médicas. Tales tratamientos típicamente se administran de forma focal mediante inyecciones que penetran en la piel o en el revestimiento de un órgano. Esto puede conducir a que sea difícil administrar el tratamiento debido a complicaciones por la penetración de la aguja, a problemas del paciente tales como belonefobia, dolor y problemas de formación del médico. Las neurotoxinas tales como la toxina botulínica son cada vez más importantes en aplicación para el tratamiento de varias afecciones urológicas que incluyen la vejiga hiperactiva (VHA) y la hiperreflexia del detrusor (HD) que ocasionan síntomas molestos tales como urgencia miccional, frecuencia de micción excesiva e incontinencia, por ejemplo. Una explicación detallada del uso y de las técnicas para utilizar la toxina botulínica para tratar la vejiga hiperactiva se puede encontrar en «Botulinum toxin for the treatment of idiopathic and neurogenic overactive bladder: State of the art», Nitti Victor W. *Rev. Urol.* 2006; 8(4): 198-208. Tal y como se detalla en ese documento, la toxina botulínica se inyecta en la pared vesical y el número de inyecciones (entre 15 y 50 inyecciones de 100 a 1000 unidades de toxina botulínica de tipo A y 10 inyecciones de 5000 unidades de toxina botulínica de tipo B) depende de las bien conocidas diferencias de efecto y de potencia entre los serotipos utilizados de toxina botulínica, así como de la cantidad de toxina total y de la dilución de la toxina utilizada, tal y como se detalla en ese documento y se conoce en la técnica.

La incontinencia, un síntoma de distintos trastornos urológicos, incluye la incontinencia imperiosa y la incontinencia por esfuerzo. La incontinencia imperiosa implica una súbita, intensa necesidad de orinar, seguida de la contracción inapropiada de la vejiga, que luego da lugar a la fuga. Lo que es problemático es que a menudo ocurre que estas contracciones tienen lugar independientemente de la cantidad de orina que está en la vejiga del paciente, es decir, la vejiga no tiene necesariamente que estar tan llena de orina ni con presión por la orina contenida en ella para dar lugar a una fuga indeseable. La incontinencia imperiosa puede ser consecuencia de lesiones neurológicas (tal como lesión de la médula espinal o accidente cerebrovascular), enfermedades neurológicas (tales como esclerosis múltiple), infección, cáncer de vejiga, cálculos en la vejiga, inflamación de la vejiga u obstrucción de la salida de la vejiga, por ejemplo. Aunque estas afecciones pueden encontrarse tanto en los hombres como en las mujeres, los hombres tienen una carga adicional porque la incontinencia imperiosa puede deberse también a una enfermedad neurológica o a cambios de la vejiga ocasionados por la hipertrofia benigna de la próstata (HBP) o a la obstrucción de la salida de la vejiga debido a una próstata agrandada, por ejemplo.

La incontinencia por esfuerzo es una pérdida involuntaria de orina que se produce durante la actividad física, tal como al toser, al estornudar, al reír o al hacer ejercicio. Una persona puede padecer uno o ambos tipos de incontinencia y cuando padece ambos, se llama incontinencia mixta. A pesar de todo lo que se sabe de la incontinencia, la mayoría de los casos de incontinencia imperiosa son idiopáticos, lo que significa que no se les puede identificar una causa específica. La incontinencia imperiosa puede aparecer en cualquier persona a cualquier edad y es más frecuente en las mujeres y en las personas de edad avanzada.

El detrusor de la vejiga es el músculo que expelle la orina desde la vejiga. Las consecuencias de la hiperreflexia del detrusor incluyen escasa distensibilidad de la vejiga, presión intravesical alta y reducción de la capacidad de la vejiga, lo que puede dar lugar a deterioro de las vías urinarias superiores.

Se cree que la toxina botulínica ejerce su efecto sobre la hiperactividad de la vejiga mediante la paralización del músculo detrusor en la pared vesical o posiblemente por repercusiones en las vías aferentes de la vejiga y por reducción de los receptores sensoriales en los nervios suburoteliales. Estos efectos posiblemente expliquen la mejoría de la incontinencia urinaria, de la capacidad de la vejiga y de la reducción de la presión del detrusor de la vejiga que se observa cuando se inyectan las toxinas botulínicas en la pared vesical. En «Botulinum toxin treatment of spastic bladder» de Dott, C. et al., publicación de solicitud de la patente de los EE.UU. n.º US 2007/0275110A1 y en «Methods for the use of neurotoxin in the treatment of urologic disorders» de Doshi, R., publicación de la solicitud de patente de los EE.UU. n.º 2004/0067235A1, se pueden encontrar ejemplos del uso de la toxina botulínica para tratar distintos trastornos urológicos. Otras posibles aplicaciones conocidas de las neurotoxinas en urología incluyen el tratamiento de una serie de trastornos de la próstata, entre ellos la hiperplasia benigna de la próstata (HBP), prostatitis y cáncer de próstata (véase, p. ej., patente de los EE.UU. n.º 6.365.164).

Hasta la fecha, la toxina botulínica ha mostrado resultados iniciales prometedores para el tratamiento de los síntomas de las vías urinarias inferiores que incluyen los síntomas de micción obstructiva e irritante atribuidos a la HBP. Se han observado tanto las mejorías subjetivas (síntomas) como las objetivas (caudal miccionado). La

próstata es una glándula parcialmente glandular y parcialmente fibromuscular del aparato reproductor masculino. Durante el envejecimiento, la próstata tiende a aumentar de tamaño (hipertrofia). Este aumento de tamaño de la próstata puede conducir a la obstrucción uretral y a la disfunción miccional. Esto se debe a que la uretra atraviesa la próstata (uretra prostática) al dirigirse al orificio uretral externo. Se puede encontrar una explicación detallada de la anatomía de la próstata (que incluye lóbulos, estroma, tipos de fibra nerviosa e innervación) en la solicitud de patente de los EE.UU. publicada n.º 09/978.982, registrada el 15 de octubre de 2001 y titulada «Use of neurotoxin therapy for treatment of urologic and related disorders», en la solicitud publicada de patente de los EE.UU. n.º 20020025327, además de en los textos habituales de anatomía.

La toxina botulínica se cree que afecta a las terminaciones nerviosas de la próstata y a la liberación de los neurotransmisores, entre ellos acetilcolina, neuropéptidos sensitivos y noradrenalina. Estos efectos pueden alterar el control neural dentro de la próstata. Las primeras reseñas sugieren que la toxina botulínica también podría tener un papel en el tratamiento del cáncer de próstata, posiblemente inhibiendo la inflamación y la regulación a la baja de la expresión de COX-2.

El gran tamaño de la molécula de la toxina botulínica puede limitar su capacidad de difusión, y así excluir que alcance tanto las fibras nerviosas aferentes como las eferentes. Como resultado, los procedimientos actuales de administración para la VHA, por ejemplo, requieren muchas inyecciones (típicamente de 20 a 50) de toxina botulínica en la pared muscular de la vejiga o en la próstata. Otros ejemplos de uso de la toxina botulínica incluyen el tratamiento de la migraña crónica con toxina botulínica, lo que requiere aproximadamente 30 inyecciones en la musculatura de la cabeza y del cuello y de la hiperhidrosis de la axila, que requiere muchas inyecciones en la capa cutánea dérmica de la axila (típicamente entre 10 y 40 inyecciones por axila, dependiendo de la gravedad de la afección, del área hiperproductora de sudor, del tamaño del paciente y la concentración, cantidad y tipo de toxina botulínica utilizada).

El género *Clostridium* tiene más de 127 especies, que se agrupan según su morfología y funciones. La bacteria grampositiva anaeróbica *Clostridium botulinum* produce una neurotoxina polipeptídica potente, la toxina botulínica, que ocasiona una enfermedad neuromuscular en los humanos y en los animales, que se conoce como botulismo. Las esporas de *Clostridium botulinum* se encuentran en el suelo y son capaces de crecer en los envases de alimentos inapropiadamente esterilizados y sellados de las conservas hechas en casa, lo que provoca muchos de los casos de botulismo. Los efectos del botulismo suelen aparecer a las 18 a 36 horas después de comer los alimentos infectados con un cultivo o esporas de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica puede aparentemente pasar sin atenuarse a través del revestimiento del intestino y atacar las neuronas motoras periféricas. Los síntomas de la intoxicación con la toxina botulínica pueden progresar desde dificultad para caminar, deglutir y hablar hasta parálisis de los músculos respiratorios y muerte.

Aproximadamente 50 pg de una toxina botulínica de tipo A disponible en el mercado (un complejo de neurotoxina purificada disponible de Allergan, Inc, de Irvine, California, con el nombre comercial BOTOX® en viales de 100 unidades) es una DL₅₀ en ratones (es decir 1 unidad). Una unidad de BOTOX® contiene aproximadamente 50 pg (aproximadamente 56 attomol) del complejo de toxina botulínica de tipo A. De forma interesante, en una base molar, la toxina botulínica de tipo A es aproximadamente 1.800 millones de veces más mortal que la difteria, aproximadamente 600 millones de veces más mortal que el cianuro de sodio, aproximadamente 30 millones de veces más mortal que la toxina de la cobra y aproximadamente 12 millones de veces más mortal que el cólera. Singh, «Critical aspects of bacteria/protein toxins», páginas 63-84 (capítulo 4) de *Natural Toxins II*, editado por B. R. Sing et al., Plenum Press, Nueva York (1976) (donde la mencionada DL₅₀ de 0,3 ng del tipo A de la toxina botulínica equivalente a 1 unidad está corregida por el hecho de que aproximadamente 0,05 ng de BOTOX® equivalen a 1 unidad). Una unidad (U) de toxina botulínica se define como la DL₅₀ tras la inyección intraperitoneal en las ratonas Swiss Webster que pesan de 18 a 20 g cada una.

Se han caracterizado 7 neurotoxinas botulínicas diferentes inmunológicamente, que son los serotipos de neurotoxina botulínica respectivos A, B, C₁, D, E, F y G, cada uno de los cuales se distingue mediante la neutralización con anticuerpos específicos del tipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en la especie animal a la que afectan y en la gravedad y duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo A es 500 veces más potente que la toxina botulínica de tipo B, según se mide por la velocidad de la parálisis producida en la rata. Adicionalmente, la toxina botulínica de tipo B se ha determinado que no es tóxica para los primates a una dosis de 480 U/kg, que es aproximadamente 12 veces la DL₅₀ de la toxina botulínica de tipo A para los primates. Moyer E. et al. *Botulinum toxin type 8: experimental and clinical experience*, que es el capítulo 6, páginas 71-85 de «Therapy with botulinum toxin», editado por Jankovic J. et al. (1994), Marcel Dekker, Inc. La toxina botulínica se fija aparentemente con elevada afinidad a las neuronas motoras colinérgicas, se transporta al interior de la neurona y bloquea la liberación de acetilcolina. La recaptación adicional puede ocurrir mediante receptores de baja afinidad, así como mediante fagocitosis y pinocitosis.

Independientemente del serotipo, el mecanismo molecular de intoxicación con la toxina es parecido y en él intervienen al menos tres etapas o pasos. En la primera etapa del proceso, la toxina se fija a la membrana presináptica de la neurona diana mediante una interacción específica entre la cadena pesada, cadena H y el receptor de la superficie celular; se piensa que el receptor es diferente para cada tipo de toxina botulínica y para la toxina tetánica. El segmento del extremo carboxilo de la cadena H, H_C, parece ser importante para el envío de

la toxina a la superficie celular.

En la segunda etapa, la toxina atraviesa la membrana plasmática de la célula envenenada. La toxina se envuelve primero por la célula mediante endocitosis mediada por receptor y se forma un endosoma que contiene la toxina. A continuación la toxina escapa del endosoma al citoplasma de la célula. Esta etapa se piensa que está mediada por el segmento del extremo amino de la cadena H, H_N, que desencadena un cambio conformacional de la toxina en respuesta a un pH de aproximadamente 5,5 o menor. Se sabe que los endosomas poseen una bomba de protones que hace disminuir el pH en el interior del endosoma. El cambio conformacional hace que los restos hidrófobos de la toxina queden expuestos, lo que permite que la toxina se incruste por sí sola en la membrana endosómica. La toxina (o al menos la cadena ligera) se traslada entonces a través de la membrana del endosoma al citoplasma.

La última etapa del mecanismo de la actividad de la toxina botulínica parece implicar la reducción del puente disulfuro que une la cadena pesada, cadena H y la cadena ligera, cadena L. Toda la actividad tóxica de las toxinas botulínica y tetánica está contenida en la cadena L de la holotoxina; la cadena L es una endopeptidasa de cinc (Zn²⁺) que escinde selectivamente las proteínas esenciales para el reconocimiento y acoplamiento de las vesículas que contienen neurotransmisores en la superficie citoplásmica de la membrana plasmática y la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La neurotoxina tetánica y la toxina botulínica de los tipos B, D, F y G ocasionan la degradación de la sinaptobrevina (también denominada proteína membranaria asociada a las vesículas (VAMP), una proteína de la membrana del sinaptosoma. La mayoría de la VAMP presente en la superficie citoplásmica de la vesícula sináptica se retira como resultado de una cualquiera de estas escisiones. La toxina botulínica de serotipo A y E escinden la SNAP-25. La toxina botulínica de serotipo C₁ se pensaba originalmente que escindía la syntaxina, pero se halló que escindía la syntaxina y la SNAP-25. Cada una de las toxinas botulínicas escinde específicamente un enlace distinto, salvo la toxina botulínica de tipo B (y la toxina tetánica), que escinden el mismo enlace. Cada una de estas escisiones bloquea el proceso de acoplamiento de vesículas a la membrana, mediante lo que se impide la exocitosis del contenido de vesículas.

Las toxinas botulínicas se han utilizado en el ámbito clínico para el tratamiento de los trastornos neuromusculares caracterizados por hiperactividad de los músculos esqueléticos (a saber, trastornos motores). Hace casi veinte años, en 1989, la Agencia Estadounidense del Medicamento (FDA) autorizó un complejo de la toxina botulínica de tipo A para el tratamiento del blefaroespasma, estrabismo y espasmo hemifacial. Posteriormente, 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 autorizó una toxina botulínica de tipo B para el tratamiento de la distonía cervical. Los serotipos de las toxinas botulínicas que no son de tipo A aparentemente tienen una menor potencia y/o una duración más corta de actividad comparados con la toxina botulínica de tipo A. Los efectos clínicos de la toxina botulínica de tipo A intramuscular periférica ven usualmente dentro de una semana después de la inyección. La duración típica del alivio sintomático a partir de una única inyección intramuscular de la toxina botulínica de tipo A promedia aproximadamente 3 meses, aunque se han descrito periodos de actividad terapéutica significativamente más largos.

Aunque todos los serotipos de la toxina botulínica inhiben aparentemente la liberación del neurotransmisor acetilcolina en la unión neuromuscular, lo hacen por afectación de diferentes proteínas neurosecretoras y/o por escisión de estas proteínas en diferentes sitios. Por ejemplo, los tipos A y E de la toxina botulínica escinden la proteína asociada al sinaptosoma de 25 kilodaltons (kDa) (SNAP-25), pero se dirigen a diferentes secuencias de aminoácidos dentro de esta proteína. Los tipos de toxina botulínica B, D, F y G actúan sobre la proteína asociada a las vesículas (VAMP, también denominada sinaptobrevina), con cada serotipo escindiendo la proteína en un sitio diferente. Finalmente, el tipo C₁ de la toxina botulínica ha mostrado escindir tanto la syntaxina como la SNAP-25. Estas diferencias en el mecanismo de acción pueden afectar a la potencia relativa y/o a la duración de la acción de los diversos serotipos de la toxina botulínica. Al parecer, en una diversidad de tipos celulares diferentes se puede encontrar un sustrato para una toxina botulínica. Véanse p. ej. los documentos *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).

La masa molecular de la molécula proteica de la toxina botulínica, para los siete serotipos conocidos de la toxina botulínica, es de aproximadamente 150 kDa. Interesantemente, las toxinas botulínicas se liberan por las bacterias clostridiales como complejos que comprenden la molécula proteica de la toxina botulínica de 150 kDa junto con las proteínas que no son toxinas asociadas. Así pues, el complejo del tipo A de la toxina botulínica puede ser producido por las bacterias clostridiales como formas de 900 kDa, 500 kDa y 300 kDa. Los tipos B y C₁ de la toxina botulínica solo se producen aparentemente como complejos de 700 kDa o 500 kDa. El tipo D de la toxina botulínica se produce en complejos tanto de 300 kDa como de 500 kDa. Finalmente, los tipos E y F de la toxina botulínica solo se producen como complejos de aproximadamente 300 kDa. Los complejos (es decir masa molecular de más de aproximadamente 150 kDa) se cree que contienen una proteína hemaglutinina que no es toxina y una proteína de que no es hemaglutinina ni es tóxica ni es una toxina. Estas dos proteínas que no son toxinas (que junto con la molécula de toxina botulínica comprenden el complejo de neurotoxina pertinente) pueden actuar proporcionando estabilidad frente a la desnaturalización a la molécula de toxina botulínica y proporcionando protección frente a los ácidos digestivos cuando se ingiere la toxina. Adicionalmente, es posible que los complejos mayores de toxina botulínica (masa molecular de más de aproximadamente 150 kDa) pueden

dar como resultado una velocidad de difusión más lenta de la toxina botulínica a partir de un sitio de inyección intramuscular de un complejo de toxina botulínica.

Los estudios *in vitro* han indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por el catión de potasio de tanto acetilcolina como norepinefrina de cultivos celulares primarios del tejido del tronco encefálico. Adicionalmente, se ha comunicado que la toxina botulínica inhibe la liberación provocada tanto de lecitina como de glutamato de los cultivos primarios de neuronas de la médula espinal y que en las preparaciones de sinaptosomas cerebrales la toxina botulínica inhibe la liberación 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: 1987). Así pues, cuando se utilizan las concentraciones adecuadas, la liberación provocada por un estímulo de la mayoría de los neurotransmisores se bloquea por la toxina botulínica. Véase, p. ej., Pearce, L. B., «Pharmacologic characterization of botulinum toxin for basic science and medicine», *Toxicon* 35(9); 1373-1412 en 1393; 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 release 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», *Naunym-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 31, 6; 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 haciendo crecer cultivos de *Clostridium botulinum* en un fermentador y luego recogiendo y purificando la mezcla fermentada de acuerdo con los procedimientos conocidos. Todos los serotipos de toxina botulínica se sintetizan inicialmente como proteínas monocatenarias inactivas que se deben escindir o cortar mediante proteasas para volverse neuroactivas. Las cepas bacterianas que fabrican los serotipos A y G de la toxina botulínica poseen proteasas endógenas y por tanto los serotipos A y G pueden recuperarse de los cultivos bacterianos predominantemente en su forma activa. Por el contrario, los serotipos C₁, D y E de la toxina botulínica se sintetizan en las cepas no proteolíticas y por lo tanto se inactivan típicamente cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F son producidos por en cepas tanto proteolíticas como no proteolíticas y por tanto pueden recuperarse tanto en la forma activa como en la inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen, por ejemplo, el serotipo de tipo B de la toxina botulínica, solo escinden una porción de la toxina producida. La proporción exacta entre moléculas cortadas e intactas depende de la duración de la incubación y de la temperatura del cultivo. Por lo tanto, un determinado porcentaje de cualquier preparación de, por ejemplo, la toxina de tipo B de la toxina botulínica, es probable que sea inactivo, lo que posiblemente da cuenta de la potencia significativamente más baja conocida de la toxina botulínica de tipo B, comparada con la toxina botulínica de tipo A (y por lo tanto el uso convencional de muchos miles de unidades de toxina botulínica de tipo B, como se conoce en la técnica, véase, p. ej., «Long-term safety, efficacy and dosing of botulinum toxin type B (MYOBLOC®) in cervical dystonia (CD) and other movement disorders» Kumar R. y Seeberger L. C. *Mov. Disord.* 2002; 17 (supl. 5): S292-S293). La presencia de moléculas de toxina botulínica inactivas en una preparación clínica contribuirá a la carga proteica total de la preparación, que se ha relacionado con la antigenicidad incrementada, sin contribuir a su eficacia clínica. Adicionalmente, se sabe que la actividad del tipo B de la toxina botulínica tiene, tras la inyección intramuscular, una duración más corta y que es también menos potente que la del tipo A de la toxina botulínica al mismo nivel de dosis.

El tipo A de la toxina botulínica cristalina de alta calidad se puede producir en la cepa Hall A de *Clostridium botulinum* con características de $\geq 3 \times 10^7$ U/mg, una A_{260}/A_{278} de menos de 0,60 y un patrón de bandas característico en la electroforesis en gel. El conocido proceso de Schantz puede utilizarse para obtener el tipo A de la toxina botulínica cristalina, tal y como se presenta en Schantz, E. J., et al., «Properties and use of botulinum toxin and other microbial neurotoxins in medicine», *Microbiol Rev.* 56, 80-99: 1992. Por lo general, el complejo del tipo A de la toxina botulínica puede aislarse y purificarse en una fermentación anaerobia mediante el cultivo del tipo A de *Clostridium botulinum* en un medio adecuado. También pueden utilizarse los procedimientos conocidos, tras la separación de las proteínas que no son toxinas, para obtener toxinas botulínicas puras, tales como por ejemplo: la toxina botulínica de tipo A purificada con una masa molecular de aproximadamente 150 kDa con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ U/mg de DL₅₀ o mayor; la toxina botulínica de tipo B purificada con una masa molecular de aproximadamente 156 kDa con una potencia específica de $1-2 \times 10^8$ U/mg de DL₅₀ o mayor; y la toxina botulínica de tipo F purificada con una masa molecular de aproximadamente 155 kDa con una potencia específica de $1-2 \times 10^7$ U/mg de DL₅₀ o mayor.

Las toxinas botulínicas y/o los complejos de toxina botulínica se pueden obtener de List Biological Laboratories, Inc., Campbell, California; Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, Reino Unido; Wako (Osaka, Japón), Metabionics (Madison, Wisconsin) así como de Sigma Chemicals de San Louis, Missouri. La toxina botulínica pura también puede utilizarse para preparar una composición farmacéutica para utilizar de acuerdo con la presente divulgación.

Al igual que ocurre en general con las enzimas, la actividad biológica de las toxinas botulínicas (que son peptidasas intracelulares) depende, al menos en parte, de su conformación tridimensional. Así pues, el tipo A de

toxina botulínica pierde la toxicidad por calentamiento, con diferentes sustancias químicas, por tensión superficial y por secado de la superficie. Adicionalmente, se sabe que la dilución del complejo de toxina obtenido mediante los conocidos cultivo, fermentación y purificación a las concentraciones de toxina mucho más bajas usadas para formulación de composición farmacéutica da como resultado la rápida detoxificación de la toxina a menos que

5 esté presente un agente estabilizante adecuado. La dilución de la toxina desde cantidades del orden de miligramos hasta una solución que contiene nanogramos por mililitro presenta dificultades importantes debido a la pérdida rápida de toxicidad específica tras dicha dilución considerable. Ya que la toxina puede utilizarse meses o años después de que se formule la composición farmacéutica que contiene la toxina, la toxina puede estabilizarse con un agente estabilizante tal como albúmina y gelatina.

10 Una composición farmacéutica que contiene la toxina botulínica disponible en el mercado se vende con la marca comercial BOTOX® (disponible de Allergan, Inc., de Irvine, California). BOTOX® consiste en un complejo de la toxina botulínica de tipo A purificada, albúmina y cloruro de sodio envasado en una forma estéril, secada al vacío. El tipo A de la toxina botulínica se fabrica a partir de un cultivo de la cepa Hall de *Clostridium botulinum* hecha crecer en un medio que contiene N-Z-amina y extracto de levadura. El complejo de la toxina botulínica de tipo A

15 se purifica a partir de la solución del cultivo mediante una serie de precipitaciones con ácido en un complejo cristalino que consiste en la proteína de la toxina de alta masa molecular activa y una proteína hemaglutinina asociada. El complejo cristalino se vuelve a disolver en una solución que contiene solución salina y albúmina y se esteriliza por filtración (0,2 micrómetros) antes de secarla al vacío. El producto secado al vacío se almacena en un congelador a o por debajo de -5 °C. El BOTOX® puede reconstituirse con solución salina estéril, sin conservantes antes de la inyección intramuscular. Cada vial de BOTOX® contiene aproximadamente 100 U del complejo de neurotoxina purificada de la toxina botulínica de tipo A de *Clostridium botulinum*, 0,5 mg de seroalbúmina humana y 0,9 mg de cloruro de sodio en una forma secada al vacío, estéril sin ningún conservante.

Para reconstituir el BOTOX® secado al vacío, se utiliza solución salina normal estéril ningún conservante (inyección de cloruro de sodio al 0,9%) mediante la extracción de la cantidad adecuada de diluyente en la jeringuilla de tamaño adecuado. Ya que el BOTOX® puede desnaturalizarse si se forman burbujas o con una

25 agitación violenta similar, el diluyente se inyecta despacio en el vial. Por razones de esterilidad, el BOTOX® se administra preferiblemente en el plazo de cuatro horas después de que el vial se extrajo del congelador y se reconstituyó. Durante estas cuatro horas, el BOTOX® reconstituido se puede almacenar en un frigorífico a aproximadamente 2 °C hasta aproximadamente 8 °C. El BOTOX® refrigerado, reconstituido se ha comunicado que conserva su potencia durante al menos dos semanas (*Neurology*, 48; 249-53, 1997). Se ha descrito que el tipo A de la toxina botulínica se ha utilizado en el entorno clínico como sigue:

- (1) aproximadamente 75-125 U de BOTOX® por inyección intramuscular (varios músculos) para tratar la distonía cervical;
- (2) 5-10 U de BOTOX® por inyección intramuscular para tratar las líneas glabellares (arrugas del ceño) (5 unidades inyectadas por vía intramuscular en el músculo piramidal de la nariz y 10 unidades inyectadas por vía intramuscular en cada músculo corrugador superciliar);
- (3) aproximadamente 30-80 U de BOTOX® para tratar el estreñimiento mediante una inyección intraesfínter del músculo puborrectal;
- (4) aproximadamente 1-5 U por músculo de BOTOX® inyectado por vía intramuscular para tratar el blefaroespasma inyectando en el músculo ocular orbicular pretarsal lateral del párpado superior y del músculo ocular orbicular pretarsal lateral del párpado inferior,
- (5) para tratar el estrabismo, los músculos extraoculares se han inyectado por vía intramuscular con entre aproximadamente 1 y 5 U de BOTOX®, variando la cantidad inyectada en base tanto al tamaño del músculo a inyectarse como al alcance de la parálisis muscular deseada (a saber, cantidad de corrección de dioptrías deseada);
- (6) para tratar la espasticidad de la extremidad superior tras un accidente cerebrovascular mediante inyecciones intramusculares de BOTOX® en cinco músculos flexores diferentes de la extremidad superior, como sigue:
 - (a) flexor profundo de los dedos: 7,5 U a 30 U
 - (b) flexor superficial de los dedos: 7,5 U a 30 U
 - (c) flexor cubital del carpo 10 U a 40 U
 - (d) flexor radial del carpo: 15 U a 60 U
 - (e) bíceps braquial: 50 U a 200 U. Cada uno de los cinco músculos indicados se inyectó en la misma sesión de tratamiento, por lo que el paciente recibe mediante inyección intramuscular en cada sesión de tratamiento desde 90 U hasta 360 U de BOTOX® en el músculo flexor de la extremidad

superior;

- (7) para tratar la migraña, la inyección pericraneal (inyectada simétricamente en los músculos glabellar, frontal y temporal) de 25 U de BOTOX® ha mostrado beneficio significativo como un tratamiento preventivo de la migraña en comparación con el vehículo, según se midió por la disminución de la frecuencia de migrañas, de la gravedad máxima, de los vómitos asociados y del uso de medicación aguda a lo largo de tres meses después de la inyección de 25 U.

Se sabe que el tipo A de la toxina botulínica puede tener una eficacia de hasta 12 meses (documento *European J. Neurology* 6 (supl. 4): S111-S1150: 1999) y en algunas circunstancias durante tanto tiempo como 27 meses, cuando se utilizó para tratar glándulas, tal como en el tratamiento de la hiperhidrosis. Véanse, p. ej., Bushara K., «Botulinum toxin and rhinorrhea», *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996; 114(3): 507 y el documento *The Laryngoscope* 109: 1344-1346; 1999. No obstante, la duración usual del efecto de una inyección intramuscular de BOTOX® es típicamente de aproximadamente 3 a 4 meses.

El éxito del tipo A de la toxina botulínica para tratar una diversidad de afecciones clínicas ha llevado a interesarse por los otros serotipos de la toxina botulínica. Dos preparaciones del tipo A de la toxina botulínica disponibles en el mercado para uso en seres humanos son BOTOX®, disponible de Allergan, Inc., de Irvine, California y DYSPORT®, disponible de Beaufour Ipsen, Porton Down, Inglaterra. Está disponible una preparación del tipo B de la toxina botulínica (MYOBLOC®) de Elan Pharmaceuticals de San Francisco, California.

También se ha propuesto o se ha utilizado una toxina botulínica para tratar la otitis media del oído (patente de los EE.UU. n.º 5.766.605), trastornos del oído interno (patentes de los EE.UU. n.º 6.265.379; 6.358.926), cefalea tensional, (patente de los EE.UU. n.º 6.458.365), dolor por jaqueca migrañosa (patente de los EE.UU. n.º 5.714.468), dolor tras intervención quirúrgica y dolor visceral (patente de los EE.UU. n.º 6.464.986), crecimiento del cabello y contra la caída del cabello (patente de los EE.UU. n.º 6.299.893), psoriasis y dermatitis (patente de los EE.UU. n.º 5.670.484), lesiones musculares (patente de los EE.UU. n.º 6.423.319), diversos cánceres (patente de los EE.UU. n.º 6.139.845), trastornos del músculo liso (patente de los EE.UU. n.º 5.437.291) e inflamación neurógena (patente de los EE.UU. n.º 6.063.768). Se conocen los implantes de toxina de liberación controlada (véanse p. ej. patentes de los EE.UU. n.ºs 6.306.423 y 6.312.708) al igual que la administración de la toxina botulínica transdérmica (solicitud de la patente de los EE.UU. de número de serie 10/194805).

Adicionalmente, una toxina botulínica podría tener un efecto de reducir la inducción del dolor inflamatorio en un modelo de formalina de rata. Aoki K et al. «Mechanisms of the antinociceptive effect of subcutaneous BOTOX®: Inhibition of peripheral and central nociceptive processing». *Cephalalgia*, septiembre de 2003, 23 (7): 649. Además, se ha descrito que el bloqueo nervioso de la toxina botulínica puede ocasionar una reducción del grosor de la epidermis. 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). Finalmente, se sabe administrar una toxina botulínica al pie para tratar el exceso de sudoración del pie (Katsambas A. et al., «Cutaneous diseases of the foot: unapproved treatments», *Clin. Dermatol.* 2002 noviembre-diciembre; 20(6): 689-699; Sevim, S. et al., «Botulinum toxin-A therapy for palmar and plantar hyperhidrosis», *Acta Neurol. Belg.* diciembre de 2002; 102 (4): 167-70), dedos del pie espásticos (Suputtitada, A., «Local botulinum toxin type A injections in the treatment of spastic toes», *Am J Phys. Med. Rehabil.* octubre de 2002, 81 (10): 770-5), marcha digital idiopática (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*, abril de 1993; 43 (4 supl. 2)).

La toxina tetánica, así como los derivados (es decir con un resto diana no nativo), fragmentos, híbridos y quimeras de la misma, también pueden tener una utilidad terapéutica. La toxina tetánica tiene muchas similitudes con las toxinas botulínicas. Así pues, tanto la toxina tetánica como las toxinas botulínicas son polipéptidos fabricados por especies muy relacionadas de *Clostridium* (*Clostridium tetani* y *Clostridium botulinum*, respectivamente).

Adicionalmente, tanto la toxina tetánica como las toxinas botulínicas son proteínas bicatenarias compuestas por una cadena ligera (masa molecular de unos 50 kDa) unida covalentemente por un único enlace disulfuro a una cadena pesada (masa molecular de unos 100 kDa). Así pues, la masa molecular de la toxina tetánica y de cada una de las siete toxinas botulínicas (sin formar complejo) es de aproximadamente 150 kDa. Además, tanto para la toxina tetánica como para las toxinas botulínicas, la cadena ligera lleva el dominio que muestra actividad biológica intracelular (proteasa), mientras que la cadena pesada comprende el dominio de unión al receptor (inmunógeno) y el dominio de transporte para la membrana celular.

Adicionalmente, tanto la toxina tetánica como las toxinas botulínicas muestran una afinidad específica, alta por los receptores de gangliósidos de la superficie de las neuronas colinérgicas presinápticas. La endocitosis mediada por receptor de la toxina tetánica por neuronas colinérgicas periféricas da lugar a un transporte axonal retrógrado, bloqueo de la liberación de los neurotransmisores inhibidores desde las sinapsis centrales y una parálisis espástica. Por el contrario, la endocitosis de la toxina botulínica mediada por receptor en las neuronas colinérgicas periféricas da lugar a poco, si es que lo hay, transporte retrógrado, a inhibición de la exocitosis de la

acetilcolina desde las neuronas motoras periféricas intoxicadas y a una parálisis flácida.

Finalmente, la toxina tetánica y las toxinas botulínicas se parecen entre sí tanto en biosíntesis como en arquitectura molecular. Así pues, hay una identidad global del 34% entre las secuencias proteicas de la toxina tetánica y de la toxina botulínica de tipo A y una identidad de secuencia que llega al 62% en 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, solo se libera un único tipo de molécula pequeña neurotransmisora en cada tipo de neurona del sistema nervioso de los mamíferos. El neurotransmisor acetilcolina se secreta por las neuronas en muchas regiones del cerebro, pero específicamente por las células piramidales grandes 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 simpático como parasimpático), por las neuronas posganglionares del sistema nervioso parasimpático y por algunas de las neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático. Esencialmente, solo las fibras nerviosas simpáticas posganglionares para las glándulas sudoríparas, los músculos piloerectores y unos pocos vasos sanguíneos son colinérgicas ya que la mayoría de las neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático secretan el neurotransmisor norepinefrina. En la mayoría de 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, tales como inhibición de la frecuencia cardíaca por el nervio vago.

Las señales eferentes del sistema nervioso autónomo se transmiten al cuerpo a través bien del sistema nervioso simpático o bien del sistema nervioso parasimpático. Las neuronas preganglionares del sistema nervioso simpático se extienden desde los cuerpos celulares de las neuronas simpáticas preganglionares localizadas en el asta intermediolateral de la médula espinal. Las fibras de los nervios simpáticos preganglionares, que se extienden desde el cuerpo celular, forman sinapsis con las neuronas posganglionares ubicadas bien en un ganglio simpático paravertebral o bien en un ganglio prevertebral. Por lo tanto, las neuronas preganglionares del sistema nervioso simpático y del parasimpático son colinérgicas, la aplicación de la acetilcolina a los ganglios excitará tanto las neuronas posganglionares simpáticas como las 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 así como en las estimuladas por las neuronas colinérgicas posganglionares del sistema nervioso simpático. Los receptores nicotínicos se encuentran en las sinapsis entre las neuronas preganglionares y posganglionares, tanto del simpático como del parasimpático. Los receptores nicotínicos también están presentes en muchas membranas de las fibras del músculo esquelético en la unión neuromuscular.

La acetilcolina se libera de las neuronas colinérgicas cuando las vesículas intracelulares, transparentes, pequeñas se fusionan con la membrana de la célula neuronal presináptica. Una amplia diversidad de células secretoras no neuronales, tales como las células de la médula suprarrenal (así como la línea celular PC12) y las células de los islotes pancreáticos liberan catecolaminas y la hormona paratiroidea, respectivamente, desde vesículas grandes con núcleo denso. La línea celular PC12 es un clon de las células de feocromocitoma de la rata que se utilizan ampliamente como modelo de cultivo de tejido para los estudios del desarrollo simpaticosuprarrenal. La toxina botulínica inhibe la liberación de ambos tipos de compuestos desde ambos tipos de células *in vitro*, permeabilizados (como mediante electroporación) o mediante inyección directa de la toxina en la célula denervada. También se sabe que la toxina botulínica bloquea la liberación del neurotransmisor glutamato en los cultivos celulares de sinaptosomas corticales.

Una diversidad de sustancias, denominadas enzimas proteolíticas, degradan o digieren las sustancias que se encuentran en la matriz extracelular. Estas incluyen la familia de las hialuronidasas, los activadores del plasminógeno y la colagenasa, por ejemplo. La hialuronidasa provoca la hidrólisis del ácido hialurónico, un polisacárido (glucosaminoglucano sin sulfatar) encontrado en la matriz intercelular del tejido conjuntivo. La hialuronidasa reduce temporalmente la viscosidad de la matriz extracelular (cemento del tejido) al digerir el ácido hialurónico o el hialuronato, que está ampliamente distribuido por los tejidos conjuntivo, epitelial y neural. Este efecto favorece la difusión o dispersión de otros fármacos como los agentes anestésicos. La hialuronidasa se puede inyectar en el tejido conjuntivo para potenciar los efectos de los fármacos co-inyectados.

La hialuronidasa se puede obtener de muy distintas fuentes y procede típicamente de los extractos de tejido testicular. Por ejemplo, ISTA Pharmaceuticals de Irvine, CA, EE.UU. fabrica y distribuye VITRASE (una forma de hialuronidasa procedente de ovejas [ovina]), que es solo un ejemplo de una hialuronidasa para inyección. VITRASE es un fármaco inyectable autorizado por la FDA de los EE.UU. como un adjunto a (en combinación con) otros fármacos inyectados para incrementar su absorción y dispersión. Como se estableció anteriormente, la hialuronidasa se ha utilizado con más frecuencia en combinación con anestésicos locales en el ámbito de la cirugía oftálmica (del ojo). La hialuronidasa incrementa la permeabilidad tisular y promueve la diseminación o dispersión de otros fármacos, por ejemplo acelerando el comienzo de la acción de un anestésico. VITRASE

también está autorizado para uso como un adjunto a rehidratantes y para uso con ciertos agentes de formación de imágenes. La hialuronidasa también está disponible como una preparación purificada recombinante de la enzima hialuronidasa humana recombinante, un ejemplo de lo cual es HYLENEX, que está comercializado por Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL, EE.UU. HYLENEX (una hialuronidasa recombinante) está disponible como una solución lista para utilizar no preservada, incolora, transparente estéril (cada mililitro contiene 150 unidades USP de hialuronidasa humana recombinante con 8.f mg de cloruro de sodio, 1,4 mg de fosfato de sodio bibásico, 1,0 mg de albúmina humana, 0,9 mg de edetato, 0,3 mg de cloruro de calcio e hidróxido de sodio para el ajuste del pH. Otra hialuronidasa de ejemplo producida a partir de testículos de oveja se denomina HYALASE, de Aventis Pharma, Lane Cove, NSW, Australia.

La hialuronidasa incrementa la dispersión en la matriz intersticial siempre que la presión local sea adecuada para proporcionar el impulso mecánico necesario. Tal impulso se inicia normalmente mediante la soluciones inyectadas y la velocidad de la difusión es proporcional a la cantidad de enzima. El alcance de la difusión también es proporcional al volumen de la solución, como se conoce en la técnica.

Para tratar la hiperhidrosis de la axila se ha comunicado investigación para el mantenimiento de la eficacia, la dispersión del efecto y para la disminución de la dosis requerida de toxina botulínica administrada junto con la hialuronidasa («Diffusion and short-term efficacy of botulinum toxin A after the addition of hyaluronidase and its possible application for the treatment of axillary hyperhidrosis» de Goodam G. *Dermatol. Surg.* mayo de 2003; 29 (5): 533-8). En este artículo se inyecta una formulación/mezcla que contiene una toxina botulínica y una hialuronidasa para tratar la hiperhidrosis, así como la administración de toxina botulínica e hialuronidasa agregada,

Otras enzimas proteolíticas incluyen la colagenasa y los activadores del plasminógeno que digieren las proteínas de la matriz extracelular. Los activadores del plasminógeno (AP) pertenecen a una clase de serina proteasas que tienen una especificidad de sustrato considerable y que convierten el plasminógeno de zimógeno inactivo en plasmina. La plasmina es una proteasa general que es capaz de degradar muchas proteínas, incluyendo laminina, fibronectina y de activar los restos de colagenasa latentes.

Por tanto, lo que se necesita es un modo de tratar la hiperhidrosis que reduzca la cantidad de toxina botulínica administrada a un paciente. Más en particular se necesita un procedimiento que reduzca, o más preferiblemente que incluso elimine, el número de, o la necesidad de, inyecciones de toxinas botulínicas.

Sumario

La presente divulgación satisface la necesidad de un tratamiento de hiperhidrosis que implica reducir o incluso eliminar el número de, o incluso de la necesidad de, inyecciones sufridas por un paciente para tratar la hiperhidrosis que padece el paciente.

Definiciones

Tal y como se utilizan en el presente documento, las palabras o términos expuestos más adelante tienen las siguientes definiciones.

«Aproximadamente» significa que el artículo, parámetro o término así cualificado abarca un abanico de más o menos el 10% por encima o por debajo del valor del artículo, parámetro o término mencionado.

«Diana» o «área diana» significa esa localización/área o tejido o glándula de la anatomía de un paciente en la que la neurotoxina administrada ejerce el efecto deseado. Una diana puede incluir, pero sin limitarse a un músculo, tal como el músculo detrusor de la vejiga, o las neuronas que inervan una glándula o músculo que está hiperactivo, tal como las neuronas que controlan la producción de sudor en las glándulas sudoríparas de la dermis de un paciente que tiene hiperhidrosis, o la contracción del músculo deseado, tal como un músculo detrusor y/o un esfínter uretral, por ejemplo. Típicamente, la diana está a menos de 12,74 cm del sitio de administración de una composición de la presente invención, preferiblemente a menos de 7,62 cm e incluso más preferiblemente a menos de 2,54 cm.

«Administración», «que administra» o «administrar» significa la etapa de dar (a saber, administrar) una composición a un sujeto, tal como una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se «administran localmente» mediante, p. ej., las vías de administración intramuscular (i.m.), intradérmica, subcutánea, intraperitoneal (i.p.), tópica (transdérmica), instilación (p. ej., instilación intravesicular) e implantación (p. ej., un dispositivo de liberación lenta tal como un implante polimérico).

«Toxina botulínica» significa un neurotoxina producida por *Clostridium botulinum*, así como una toxina botulínica (o la cadena ligera o la cadena pesada de la misma) fabricada de manera recombinante mediante una especie de bacteria no clostridial. La frase «toxina botulínica», tal y como se utiliza en el presente documento, engloba los serotipos A, B, C₁, D, E, F y G de la toxina botulínica. La toxina botulínica, tal y como se utiliza en el presente documento, también abarca tanto un complejo de toxina botulínica (a saber, los complejos de 300, 600 y 900 kDa) como la toxina botulínica purificada (a saber, de aproximadamente 150 kDa). «Toxina botulínica purificada» se

define como una toxina botulínica que está aislada, o sustancialmente aislada, de otras proteínas, incluyendo las proteínas que forman un complejo de toxina botulínica. Una toxina botulínica purificada puede ser pura en más del 95% y preferiblemente es pura en más del 99%. Las citotoxinas botulínicas C₂ y C₃, al no ser neurotoxinas, quedan excluidas del alcance de la presente invención.

- 5 «Neurotoxina clostridial» significa una neurotoxina producida en, o nativa de, una bacteria clostridial, tal como *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum* o *Clostridium beratti*, así como una neurotoxina clostridial fabricada con tecnología recombinante por una especie no clostridial.

- 10 «Toxina botulínica modificada» significa una toxina botulínica que tiene al menos uno de sus aminoácidos eliminado, modificado o reemplazado, en comparación con una toxina botulínica nativa. Adicionalmente, la toxina botulínica modificada puede ser una neurotoxina producida de manera recombinante, o un derivado o fragmento de una neurotoxina fabricada con tecnología recombinante. Una toxina botulínica modificada conserva al menos una actividad biológica de la toxina botulínica nativa, tal como la capacidad de fijarse a un receptor de la toxina botulínica, o la capacidad de inhibir la liberación del neurotransmisor de una neurona. Un ejemplo de una toxina botulínica modificada es una toxina botulínica que tiene una cadena ligera de un serotipo de toxina botulínica (tal como el serotipo A) y una cadena pesada de un serotipo de toxina botulínica diferente (tal como el serotipo B). Otro ejemplo de una toxina botulínica modificada es una toxina botulínica conjugada a un neurotransmisor, tal como la sustancia P.

- 20 Una cantidad «terapéuticamente eficaz» de la neurotoxina es la dosis suficiente para inhibir la actividad neuronal durante al menos una semana, más preferiblemente un mes, lo más preferiblemente durante aproximadamente 6 a 9 meses o más y hasta 5 años. La dosificación puede ser una dosis única o acumulativa (dosificación en serie) y puede determinarse fácilmente por un experto en la técnica. La neurotoxina, tal como una toxina botulínica, se puede administrar de forma seriada (a saber, una vez al mes, una vez cada seis meses) de tal forma que una cantidad óptima de la toxina se administra de acuerdo con la gravedad del trastorno tratado y se mantienen los resultados beneficiosos. Tal programa de dosificación puede determinarse fácilmente por alguien experto en la técnica basándose en, p. ej., el tamaño del paciente, la neurotoxina seleccionada, la afección a tratar, la gravedad del trastorno y otras variables conocidas en la técnica.

«Paciente» significa un sujeto humano o no humano que recibe cuidados médicos o veterinarios. En consecuencia, tal y como se describe en el presente documento, las composiciones pueden utilizarse para tratar cualquier animal, tal como los mamíferos.

- 30 «Cantidad suficiente» significa la cantidad de una sustancia, la composición de elementos de una composición que es suficiente para satisfacer las necesidades de la situación o del fin propuesto. Por ejemplo, al tratar un trastorno particular, es esa cantidad de toxina botulínica la que da lugar a un resultado deseado, p. ej., una disminución del espasmo del músculo detrusor o una disminución del exceso de producción de sudor.

- 35 «Trastorno de influencia colinérgica» es un trastorno que se debe a la disfunción de una glándula, órgano o tejido que es el resultado de la hiper- o infraactividad de la glándula, órgano o tejido, o al aumento de tamaño anormal o disruptivo de la glándula, órgano o tejido, en donde la glándula, órgano o tejido está influido/inervado por las neuronas liberadoras de acetilcolina. Ejemplos no limitantes de trastornos de influencia colinérgica incluyen hiperhidrosis, vejiga hiperactiva e hiperplasia benigna de la próstata, por ejemplo. La terminología «trastorno urológico» incluye, pero sin limitarse a ellos, vejiga hiperactiva, hiperreflexia del detrusor, inestabilidad del detrusor, vejiga neurógena, vejiga idiopática, hiperplasia benigna de la próstata e incontinencia urinaria.

- 40 Una enzima que digiere la matriz extracelular es una enzima que digiere/degrada al menos un componente de la matriz extracelular. Las enzimas de ejemplo que digieren la matriz extracelular incluyen la hialuronidasa, que digiere el ácido hialurónico y tiene una posible aplicación en la vejiga y la próstata para trastornos tales como vejiga hiperactiva, vejiga neurógena, hiperplasia benigna de la próstata, prostatitis y cáncer de próstata. Otras enzimas que digieren la matriz extracelular incluyen la colagenasa y los activadores del plasminógeno tal como el activador tisular del plasminógeno y la urocinasa que pueden tener una aplicación parecida al digerir la matriz extracelular para de este modo potenciar la difusión de las neurotoxinas y reducen el número de o eliminan la necesidad de inyecciones de la neurotoxina, de acuerdo con un aspecto de las presentes enseñanzas.

- 50 Un área de superficie es simplemente un área particular sobre la superficie de un sujeto/paciente, tal como una superficie de la piel, a la que se administran las composiciones de la presente divulgación. Ejemplos no limitantes de un área de superficie incluyen un área de superficie de la piel de la axila, un área de superficie de la piel palmar y un área de superficie de la piel plantar.

- 55 Un «área de superficie luminal» de un paciente/sujeto es un área de cara a una luz, como se conoce bien en la técnica. Los ejemplos no limitantes incluyen un área de superficie luminal de la vejiga, un área de superficie luminal nasal, un área de superficie luminal de la próstata, un área de superficie luminal del esófago, un área de superficie luminal del estómago, un área de superficie luminal del intestino y un área de superficie luminal vascular, por ejemplo.

«Administrado por vía intravesical» o «administración intravesical» significa la instilación de una composición en

una luz para poner en contacto un área de superficie luminal, tal como un área de superficie luminal de la vejiga, por ejemplo, mediante cualquier medio adecuado y apropiado que se conozca. Sin embargo, la administración intravesical excluye la inyección en una pared que da a la luz, tal como la pared de la vejiga.

- «Que alivia» significa una reducción en la manifestación de un síntoma que está asociado a un trastorno de influencia colinérgica. Por ejemplo, que alivia incluye algo de reducción, reducción significativa, reducción casi total y reducción total de al menos un síntoma asociado a la hiperhidrosis, vejiga hiperactiva e hiperplasia benigna de la próstata, por ejemplo, o cualquier trastorno tratado de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento. Un síntoma ejemplar de la hiperhidrosis es el exceso de sudoración, para la vejiga hiperactiva y la hiperplasia benigna de la próstata, los síntomas de ejemplo pueden ser incontinencia o retención, por ejemplo. Un efecto que alivia podría no manifestarse de forma clínica entre los días 1 a 7 tras la administración de una toxina clostridial, tal como una toxina botulínica, a un paciente.

«Tratamiento» significa aliviar (o eliminar) al menos un síntoma de un trastorno de influencia colinérgica, tanto de forma temporal como permanente.

- El tratamiento de un paciente que tiene hiperhidrosis, de acuerdo con la presente divulgación, puede comprender las etapas de administrar una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular a un área de superficie del paciente, seguido de permitir que transcurra una cantidad de tiempo suficiente para que la enzima que digiere la matriz extracelular se difunda por toda el área de superficie, a continuación administrar una segunda composición que contiene una toxina botulínica al área de superficie y posteriormente dejar un tiempo suficiente para que la toxina botulínica se difunda por toda la superficie para aliviar de este modo al menos un síntoma asociado con la hiperhidrosis y tratar al paciente que tiene la hiperhidrosis, en donde el área de superficie es un área de superficie de la piel de la axila, un área de superficie de la piel palmar o un área de superficie de la piel plantar). La enzima que digiere la matriz extracelular es una hialuronidasa, activador tisular del plasminógeno y colagenasa, por ejemplo, mientras que la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en la toxina botulínica de tipo A, B, C, D, E, F y G.

- Se pueden utilizar distintos procedimientos de administración para la administración de las composiciones útiles para poner en práctica los procedimientos descritos en el presente documento.

- Adicionalmente, debido a los efectos sinérgicos proporcionados por los procedimientos practicados de acuerdo con las enseñanzas divulgadas en el presente documento, la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular se puede llevar a cabo mediante inyección, en un área de la superficie de la piel (tal como en un sobaco (axila), superficie palmar o plantar, por ejemplo), mientras que la administración de una segunda composición que contiene la toxina botulínica se lleva a cabo por pulverización, empapado o manchado sobre la superficie de la piel, por lo que se evita cualquier necesidad de inyección de la toxina botulínica. A la inversa, también se contempla que la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular (una primera composición) se pueda llevar a cabo pulverizándose, empapándose o manchándose sobre la superficie de la piel y que la administración de la toxina botulínica se lleve a cabo mediante la inyección de la segunda composición subdérmicamente en la superficie de la piel, respectivamente.

Tal y como se estableció anteriormente, los procedimientos divulgados en el presente documento pueden incluir la retirada de la primera composición (que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular) y la retirada de la segunda composición (que contiene una toxina botulínica).

- En realizaciones particulares, además de reducir el número de inyecciones utilizadas para tratar la hiperhidrosis, el procedimiento para administrar una toxina botulínica a un paciente que necesita de ella puede excluir específicamente cualquier inyección de la toxina botulínica o de una enzima que digiere la matriz extracelular, en donde el procedimiento comprende las etapas de administrar una primera composición que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular sobre el área de superficie de la piel del paciente y administrar la segunda composición que contiene una toxina botulínica sobre el área de superficie de la piel del paciente, en donde la toxina botulínica se difunde en un mayor grado que si se administra sin la primera composición que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular y además la administración excluye la inyección tanto de la primera como de la segunda composiciones. El área de superficie de la piel es un área de superficie de la piel de la axila, un área de superficie plantar o un área de superficie palmar.

- Por ejemplo, en los procedimientos que específicamente excluyen la inyección de la neurotoxina o de una enzima que digiere la matriz extracelular, la administración de una o ambas de la enzima que digiere la matriz extracelular y la toxina botulínica, se consigue por la aplicación mediante al menos una pulverización o fricción sobre el área de superficie de la piel. Un procedimiento puede incluir adicionalmente la etapa de secado de la superficie de la piel después de la administración de la primera composición (que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular) a la superficie de la piel. El secado de la superficie de la piel puede incluir la etapa de permitir que pase el tiempo suficiente para permitir la evaporación de la primera composición de la superficie de la piel, antes de comenzar con la administración de la segunda composición (que contiene una toxina botulínica seleccionada del grupo que consiste en toxina botulínica de tipo A, B, C₁, D, E, F o G), sobre el área de la superficie de la piel.

Descripción

La presente divulgación proporciona medios por los que se puede tratar la hiperhidrosis, que potencian la difusión de la toxina botulínica y como tales pueden reducir e incluso eliminar, la necesidad de protocolos de inyección que se utilizan típicamente cuando se tratan estos trastornos con la toxina botulínica.

- 5 De acuerdo con la presente divulgación, en el presente documento se describen los procedimientos que se aprovechan del efecto sinérgico de utilizar al menos una enzima que digiere la matriz extracelular junto con una toxina botulínica, tal y como se describe con más detalle a continuación. Un aspecto ventajoso de los procedimientos detallados en el presente documento es la reducción del número e incluso la eliminación de, inyecciones para administrar cantidades terapéuticamente eficaces de la toxina botulínica al paciente y de este modo tratar la hiperhidrosis.

La toxina botulínica se puede formular en cualquier/cualesquiera formulación/formulaciones farmacéuticamente aceptable(s) tal(es) como un líquido, polvo, crema, emulsión, suspensiones, soluciones y similares.

- 15 La cantidad de toxina botulínica administrada de acuerdo con un procedimiento dentro del alcance de lo descrito en el presente documento puede variar de acuerdo con las características particulares de la hiperhidrosis que se está tratando, que incluyen la gravedad y otras variables del paciente diversas que incluyen el tamaño, el peso, la edad y la capacidad de respuesta al tratamiento, como se conoce en la técnica. Para guiar al médico se administra, típicamente, no menos de aproximadamente 1 unidad y no más de aproximadamente 2500 unidades de una toxina botulínica de tipo A (tal como BOTOX®) por sitio de inyección si la toxina es inyectada, por sesión de tratamiento del paciente. Para una toxina botulínica de tipo A tal como DYSPORT®, se administran no menos de aproximadamente 2 unidades y no más de aproximadamente 4000 unidades de la toxina botulínica de tipo A por sitio de inyección si la toxina se inyecta, por sesión de tratamiento del paciente. Para la toxina botulínica de tipo B tal como MYOBLOC®, se administran no menos de aproximadamente 40 unidades y no más de aproximadamente 25000 unidades de la toxina botulínica de tipo B por sitio de inyección y por sesión del tratamiento del paciente. Se pueden utilizar cantidades similares de la toxina de acuerdo con los procedimientos que no utilizan la inyección de la toxina, tales como la instilación, aplicación con torunda o pulverización de las composiciones que contienen la neurotoxina a áreas a las que se ha administrado o se administra/administrará una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, bien sea mediante inyección o sin inyección. Por supuesto, la cantidad de toxina botulínica y de enzima que contiene la matriz extracelular a utilizar en un paciente en particular las determinará el médico que atiende, tal como se conoce en las técnicas médicas.

- 30 Al tratar a un paciente que padece hiperhidrosis, tal como hiperhidrosis de la axila, el área de superficie hiperhidrótica que se va a tratar (en el presente caso un sobaco) se determina primero mediante la realización de una prueba de yodo-almidón de Minor, para determinar el área que se va a tratar. Se delimita el área y se aplica al área hiperhidrótica una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, tal como una disolución que contiene hialuronidasa. Por ejemplo, la composición así aplicada puede contener aproximadamente 150 U de hialuronidasa y se deja en la superficie de la piel del paciente para permitir que la hialuronidasa se absorba. Tal aplicación puede estar lograrse simplemente por una fregada, pulverización o empapado de una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular sobre el área deseada. En algunos casos, se deja que pase el tiempo suficiente para permitir que se seque el área de superficie de la piel. Posteriormente, se aplica al área una composición que contiene una toxina botulínica. Tal composición puede contener, por ejemplo, de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 unidades de toxina botulínica. Preferiblemente, la composición que contiene la toxina botulínica se friega, se pulveriza o se empapa de forma similar en el área superficial que se va a tratar y el paciente puede presentar una disminución de la sudoración excesiva y una vuelta a la euhidrosis en aproximadamente 2 a aproximadamente 7 días.

- 45 Alternativamente, por ejemplo, la toxina botulínica se puede administrar por inyección, tal como inyección subdérmica. Sin embargo, debido a la aplicación tópica de la enzima que digiere la matriz extracelular, tal como hialuronidasa, el número de inyecciones necesarias se reduce enormemente en comparación con el número típico de inyecciones de toxina botulínica utilizadas para tratar la hiperhidrosis de la axila. Como ejemplo, entre aproximadamente 5 a aproximadamente 10 sitios de inyección, que tienen entre aproximadamente 5 a aproximadamente 25 unidades de BOTOX® (toxina botulínica de tipo A) en cada sitio, se pueden administrar al área a la que se administra la enzima que digiere la matriz extracelular. Preferiblemente, se administran hasta aproximadamente 5 inyecciones de toxina botulínica al área a la que se administra la enzima que digiere la matriz extracelular. Típicamente, las inyecciones se espacian uniformemente entre sí para cubrir la cantidad máxima de área hiperhidrótica.

- 55 De acuerdo con un aspecto, la enzima que digiere la matriz extracelular y una toxina botulínica se pueden administrar en serie o administrar en el mismo momento. Una mezcla ejemplar para extenderse sobre un área superficial puede, por ejemplo, contener 100 unidades de toxina botulínica de tipo A (BOTOX) diluida con 9 ml de solución salina con conservantes y 1 ml de hialuronidasa (1500 unidades, aquí HYALASE).

Aunque se dan a conocer ejemplos de vías de administración y posologías, la vía de administración y la posología adecuadas se determinan por lo general en una base caso por caso por el médico especialista. Tales

determinaciones son de rutina para el experto en la técnica (véase, por ejemplo, *Harrison's Principles of Internal Medicine* (1998), editado por Anthony Fauci et al., 14.^a edición y publicado por McGraw Hill). Por ejemplo, la vía y la dosificación de administración de una toxina botulínica, de acuerdo con la descripción de la presente invención pueden seleccionarse basándose en criterios tales como las características de solubilidad de la toxina botulínica elegida, así como de la intensidad del trastorno tratado.

Los ejemplos y ejemplos de referencia que vienen a continuación proporcionan a los expertos en la técnica con los procedimientos preferidos específicos para poner en práctica los procedimientos que se encuentran dentro del alcance de la presente invención y que no se desena para limitar el alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 (Referencia)

Un paciente de 64 años tiene una vejiga hiperactiva y como resultado tiene incontinencia imperiosa y por esfuerzo. Desgraciadamente, padece de aproximadamente 5 a 8 fugas al día, que requieren los cambios necesarios de los pañales de adultos que está obligado a llevar debido a su afección. Tras visitar al urólogo, este se decide por un tratamiento de instilación de la vejiga, con utilización de la toxina botulínica y de una enzima que digiere la matriz extracelular.

Se le pide al paciente que orine por sí mismo antes de colocarse de espaldas sobre una mesa o cama ajustable, tras lo que se le introduce un catéter uretral dentro de su uretra y hasta la vejiga del paciente. En la vejiga del hombre se instila una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, aquí 150 unidades USP de hialuronidasa no preservada (tal como HYLENEX) en 50 ml de solución salina no preservada. A continuación se retira el catéter y se inclina la superficie sobre la que reposa el paciente de modo que su cabeza esté más baja que sus pies, para que la primera composición entre en contacto con la superficie luminal de la vejiga en la cúpula de la vejiga. El paciente permanece en tal posición durante 10 minutos, transcurridos los cuales se le inclina hacia delante de tal forma que los pies estén más bajos que la cabeza para que la primera composición esté ahora en contacto completo con la base de la vejiga. El paciente permanece así durante 10 minutos más y entonces se le pide que se gire hacia el costado izquierdo y el costado derecho (durante 10 minutos en cada uno, respectivamente) y luego sobre su estómago, para exponer del todo toda la superficie luminal lateral de la vejiga a la primera composición que incluye la enzima que digiere la matriz extracelular. Después al paciente se le vuelve a introducir un catéter y se pone en pie para drenar la vejiga. Se instila entonces en la vejiga del paciente una segunda composición, que contiene 500 unidades de toxina botulínica de tipo A, tal como BOTOX® reconstituidas en 50 ml de solución salina sin conservantes y luego se somete al paciente al mismo régimen de posiciones que para la primera composición. Más tarde, se le drena la segunda composición al paciente y se le da el alta.

Las visitas de seguimiento semanales muestran que el paciente ahora tiene control sobre su micción y aunque todavía lleva pañales de adulto en abundancia como precaución y no tiene episodios de fuga accidentales desde el tratamiento de instilación y puede disfrutar de correr y de otras actividades físicas que su incontinencia por esfuerzo le había impedido practicar.

Ejemplo 2 (Referencia)

Un hombre de 72 años padece incontinencia imperiosa debido a una disfunción de vejiga neurógena que es consecuencia de su enfermedad de Parkinson. Su afección obliga al paciente a realizar, de media, más de 20 visitas al baño al día para aliviar su vejiga. Su situación e presenta a su médico y se decide después administración de una enzima que digiere la matriz extracelular y de toxina botulínica a las paredes de su vejiga.

Primero se le pide al paciente que se alivie por sí mismo antes de inserción de un catéter de tamaño apropiado (3-5 mm) en su uretra. Se instila en la vejiga una primera composición que contiene 300 unidades USP de hialuronidasa sin no preservada (tal como HYLENEX) en 2 ml de solución y se realiza un posicionamiento de rutina, aunque el paciente ahora permanece en las diversas posiciones durante 5 minutos. Tras el drenaje de la vejiga del paciente, se utiliza un cistoscopio para inyectar la toxina botulínica en un punto en cada una de las paredes cupular, dorsal, ventral y lateral de la vejiga, preservando el triángulo. De esta manera se administran cinco inyecciones en total, de aproximadamente 10 unidades de un complejo de toxina botulínica de tipo A en cada sitio de inyección para un total de aproximadamente 50 unidades de la toxina botulínica de tipo A (p. ej., BOTOX®, o aproximadamente 40 unidades de DYSPORT® en cada sitio, para un total de 200 unidades de la toxina botulínica de tipo A), una gran reducción de las típicamente 20-40 inyecciones de los procedimientos anteriores que utilizaban la toxina sola. La instilación de la enzima que digiere la matriz extracelular en la vejiga y en la superficie luminal de la vejiga facilita la mayor difusión de la toxina a través de la capa muscular propia (a saber, las tres capas; músculos longitudinal interno, circular medio y longitudinal externo de la capa muscular de la vejiga) reduciendo mientras la cantidad de inyecciones necesitan realizarse.

El paciente reposa tras haber completado el procedimiento y luego se le lleva a casa. Durante las visitas de seguimiento, el paciente no refiere ningún efecto secundario local ni sistémico indeseado y muestra una mejoría del funcionamiento de la vejiga, tanto desde el punto de vista subjetivo (reducción en la imperiosidad de orinar)

como del objetivo (ahora solo orina de media 4 veces/día).

También puede realizarse la inyección de hasta 5000 unidades de la toxina botulínica de tipo B, a 1000 unidades por sitio de inyección y tratar la disfunción de vejiga neurógena que se debe a la enfermedad de Parkinson, de igual forma.

5 Ejemplo 3 (Referencia)

Una mujer de 58 años padece retención urinaria que se debe a esfínter espástico y tiene un cuello de la vesícula hipertrofiado. La paciente típicamente orina solo 2-3 veces a la semana y cuando lo hace, solo consigue miccionar aproximadamente 50 ml de orina por visita al baño. Su cuidador teme que la resultante elevación de la presión intravesical y la reducción de la capacidad de la vejiga den como resultado deterioro del tracto urinario superior.

De acuerdo con ello, el urólogo introduce un cistoscopio y una aguja endoscópica flexible en uretra de la mujer y en su vejiga. Una primera composición que comprende un total de 100 unidades de hialuronidasa, tales como VITRASE, se inyecta en el músculo detrusor, en un total de 10 sitios, 2 sitios en cada una de las paredes dorsal, ventral y laterales de la vejiga (para un total de 8 inyecciones en las paredes de la vejiga) y 2 sitios en el cuello de la vesícula y se retira el cistoscopio. Al cabo de 10 minutos, una segunda composición de 100 ml de solución salina no preservada, que contiene 750 unidades de una toxina botulínica de tipo A (p. ej., DYSPORT®) se instila en la vejiga y se mantiene ahí durante 30 minutos, tras lo que se vuelve a introducir un catéter a la paciente y se evacua la segunda composición. En el plazo de 7 días, el cuidador refiere una frecuencia de micción mejorada (1 a 2 veces al día) y un incremento de la cantidad de la orina miccionada (aproximadamente 300 a 400 ml por visita al baño).

Ejemplo 4

Una estudiante universitaria de 23 años refiere al dermatólogo que su exceso de sudoración de la axila la está volviendo muy retraída y como consecuencia sus notas se están viendo afectadas y se ha vuelto cada vez más introvertida a medida que pasa el tiempo. El dermatólogo determina que la paciente padece hiperhidrosis y le sugiere que utilice una neurotoxina para tratar la hiperhidrosis ya que los desodorantes de bola no surten ningún efecto sobre su exceso de sudoración.

Tras limpiar la axila de la paciente y secarla con una servilleta de papel, se realiza una prueba de yodo-almidón de Minor para demarcar el área hiperhidrótica de la superficie de la piel a tratar (tal como utilizando una tinta de naturaleza vegetal). Se aplica a esta superficie de la piel de la axila una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, aquí 1 ml que contiene 150 unidades USP de hialuronidasa sin conservantes (tal como HYLENEX) que se aplica por frega del área demarcada con un aplicador, tal como una torunda de algodón. A continuación se deja secar al aire el área durante aproximadamente 10 minutos. En adelante y al área de superficie de la piel de la axila se le aplican aproximadamente 25 unidades de toxina botulínica de tipo A (tal como BOTOX®, o aproximadamente 100 unidades de DYSPORT®, o aproximadamente 1250 unidades de MYOBLOC®) mediante otra torunda de algodón y se deja secar. Se realiza el mismo procedimiento en la otra axila de la paciente.

En el plazo de una semana, la paciente refiere que ya no experimenta la sudoración excesiva que la dominaba los días anteriores y que no hay exceso de hipotonicidad local ni efectos adversos sistémicos.

Una estrategia parecida puede utilizarse para tratar otras superficies de la piel que pueden ser también hiperhidróticas, tal como las palmas de las manos (superficie de la piel palmar) y/o las plantas de los pies (superficie de la piel plantar).

Ejemplo 5

Un hombre soltero de 42 años refiere al dermatólogo que su exceso de sudoración de la axila le está avergonzando mucho hasta el punto de que ya no interacciona con el otro sexo. El dermatólogo determina que el paciente padece hiperhidrosis y sugiere utilizar una neurotoxina para tratar la hiperhidrosis, ya que todos los antitranspirantes tópicos que ha probado no han resultado eficaces.

Después de limpiar la axila del paciente y secarla con una servilleta de papel, se realiza una prueba de yodo-almidón de Minor para demarcar el área hiperhidrótica de la superficie de la piel a tratar (tal como utilizando una tinta de naturaleza vegetal). A este área de superficie de la piel de la axila se le aplica una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, aquí 2 ml que contienen 300 unidades USP de hialuronidasa sin conservantes (tal como HYLENEX), que se aplican por pulverización al área demarcada con un pulverizador, tal como una bomba no aerosólica. Luego se deja secar al aire el área durante unos 10 minutos. En adelante y a la superficie de la piel de la axila, se le pulverizan acto seguido unas 1000 unidades de toxina botulínica de tipo B (tal como MYOBLOC®), con un pulverizador y se deja secar. Se realiza el mismo procedimiento en la otra axila del paciente.

En el plazo de 10 días, el paciente refiere que ya no experimenta la sudoración profusa que le dominaba sus días solitarios anteriores y que además no hay exceso de hipotonicidad local ni efectos adversos sistémicos. El paciente refiere que el procedimiento fue eficaz durante aproximadamente 2 a aproximadamente 6 meses, al cabo de los que regresó al dermatólogo a por otra ronda de tratamiento.

5 Ejemplo 6

Un estudiante de instituto de 15 años refiere a su médico de cabecera que sus manos hiperhidróticas son una fuente de gran bochorno. De acuerdo con ello, el doctor procede a realizar una prueba de yodo-almidón de Minor para demarcar las regiones a tratar. Parece que la sudoración excesiva se origina principalmente en el área entre las muñecas y la base de los dedos de las manos del paciente.

- 10 De acuerdo con ello, se aplica 1 ml de hialuronidasa que contiene 150 unidades USP desde la muñeca hasta la base de los dedos (1 ml/150 unidades USP por mano) y se dejan secar. Tras el secado, en 4 puntos de inyección de la palma (en el centro de la base de la muñeca, en la base del dedo corazón y entre la base del pulgar y la base del dedo índice y entre la base del meñique y la base de la muñeca) se inyectan por vía intradérmica con aproximadamente 40 unidades de toxina botulínica de tipo A (tal como BOTOX®, o aproximadamente 80 unidades de DYSPORT® o 200 unidades de una toxina botulínica de tipo B, tal como MYOBLOC®) en cada uno de los cuatro puntos.

- 15 Al cabo de 5 días, el adolescente refiere que ya no le sudan las palmas de las manos y no refiere ni la hipotonicidad en exceso ni efectos sistémicos. La hiperhidrosis se calmó hasta incluso 8 meses, al cabo de los que el adolescente regresó para repetir el procedimiento. Sin fuera necesario, el tratamiento también se aplica a las porciones ventrales de los dedos del paciente, si mostraran sudoración excesiva.

20 Ejemplo 7 (Referencia)

- Un hombre de 76 años padece retención urinaria crónica debido al aumento de tamaño de su próstata a causa de la hiperplasia benigna de próstata. Se decide por el médico que el paciente se someta a la administración de una toxina botulínica en la próstata para aliviar la retención urinaria y tratar la hiperplasia benigna de la próstata.
- 25 Para disminuir al mínimo el número de inyecciones de la toxina botulínica en la próstata, se le inyecta o instila una enzima de matriz extracelular, tal como la hialuronidasa, en la zona de transición de los lóbulos laterales de la próstata y el lóbulo medio. Se realizan tres inyecciones de hialuronidasa (50 unidades en cada punto de inyección) mediante el uso de un cistoscopio de inyección y una aguja de calibre 23, una inyección en cada uno de los lóbulos laterales y una inyección en el lóbulo medio. Al cabo de 5 minutos se le administran de forma parecida tres inyecciones de una toxina botulínica de tipo A, en donde cada inyección contiene 50 unidades la toxina botulínica de tipo A (BOTOX®) para un total de 150 unidades.

- 30 Al cabo de aproximadamente 7 días, el paciente refiere una mejoría en la micción espontánea tras este tratamiento y el volumen residual y de presión tras la micción están disminuidas. Estos efectos beneficiosos se mantienen durante aproximadamente 5 meses en este paciente particular y no se describen efectos adversos.
- 35 También puede utilizarse una toxina botulínica de tipo B, por ejemplo, desde aproximadamente 250 unidades hasta 1000 unidades por sitio de inyección.

- Aunque la presente invención se ha descrito en detalle con relación a algunos procedimientos preferidos, son posibles otras realizaciones, versiones y modificaciones dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, la administración de una segunda composición particular que contiene toxina botulínica de tipo A al área superficial de la piel hiperhidrótica se puede administrar al paciente y si se aprecia una resistencia a la tolerancia aumentada a su efecto, en las aplicaciones posteriores se puede utilizar una toxina botulínica de un serotipo diferente, tal como toxina botulínica de tipo B o F, para tratar el trastorno. Aunque esta invención se ha descrito con respecto a diversos ejemplos y realizaciones específicas, debe entenderse que la invención no está limitada a ellos y que se puede poner en práctica de diversas formas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

45

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una toxina botulínica para el uso en el tratamiento de un paciente que tiene hiperhidrosis, en la que la composición se administra:

- 5 a) administrando una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular a un área superficial del paciente;
- b) permitiendo que transcurra el tiempo suficiente para que la enzima que digiere la matriz extracelular se difunda por el área superficial y hacia una diana;
- d) administrando la composición que comprende la toxina botulínica al área superficial; y
- 10 e) permitiendo que transcurra el tiempo suficiente para la que la toxina botulínica se difunda por el área superficial y hacia la diana, con lo que se alivia al menos un síntoma asociado a la hiperhidrosis;

en la que el área superficial en la etapa b) se selecciona del grupo que consiste en un área superficial de la piel de la axila, un área superficial de la piel palmar y un área superficial de la piel plantar.

- 15 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que la administración de las composiciones comprende además retirar la primera composición después de la etapa (b) y retirar la composición que comprende la toxina botulínica después de la etapa (e) y en donde la hiperhidrosis se trata y el área superficial del paciente se selecciona del grupo que consiste en un área superficial de la piel de la axila, un área superficial de la piel palmar y un área superficial de la piel plantar.

- 20 3. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que la enzima que digiere la matriz extracelular es una hialuronidasa, un activador tisular del plasminógeno o una colagenasa.