

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 662**

51 Int. Cl.:
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 39/08 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03786972 .4**
96 Fecha de presentación: **20.11.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1565210**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.08.2005**

54 Título: **Neurotoxina clostridial para su uso en el tratamiento de congestión nasal**

30 Prioridad:
21.11.2002 US 427749 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.05.2012

73 Titular/es:
SANDERS, IRA
607 72ND STREET
NORTH BERGEN, NJ 67047, US

72 Inventor/es:
Sanders, Ira

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 380 662 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

Neurotoxina clostridial para su uso en el tratamiento de congestión nasal

Campo de la invención

5 Se describe un procedimiento para bloquear o reducir una reacción fisiológica en un mamífero contra la interacción de anticuerpos de IgE presentes en dicho mamífero después de ponerse en contacto con el correspondiente antígeno, administrando a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de una neurotoxina (CnT) derivada de *Clostridia sp.*

10 Más exactamente, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una neurotoxina (CnT) derivada de una especie de *Clostridia* seleccionada del grupo que consiste en *C. botulinum*, *C. butyricum* y *C. baratii* en una cantidad terapéutica eficaz, para su uso en el tratamiento de congestión nasal debido a inflamación de la mucosa y a pólipos nasales, asma, rinitis alérgica, sinusitis, enfermedad pulmonar alérgica, alergias alimentarias, dermatitis alérgica y estornudo, tos y escozor relacionados con reacciones alérgicas en un mamífero, en la que la cantidad de CnT administrada es entre 0,1 y 1.000 unidades por administración.

Antecedentes de la invención

15 En presente solicitud se hace referencia a diversas publicaciones entre paréntesis o como nota a pié de página.

Introducción

20 La reacción fisiológica en un mamífero contra la interacción de anticuerpos de IgE presentes en dicho mamífero después de ponerse en contacto con el correspondiente antígeno generalmente se denomina alergia. Se cree que la respuesta alérgica se desarrolla para combatir infecciones con parásitos. Dado que las infecciones parasitarias son poco frecuentes en países industrializados este mecanismo se hace patológico en algunos individuos susceptibles (atópicos). Es característico de las alergias que el antígeno, denominado también alérgeno, sea normalmente inocuo, y que la reacción corporal sea inapropiada.

25 Las reacciones alérgicas pueden implicar todos los tejidos corporales pero son más prominentes en las barreras con el medio externo: vías respiratorias, ojos, tracto gastrointestinal y piel. En la nariz las afecciones se conocen como rinitis alérgica (alergia al polen), asma alérgica en pulmones, alergias alimentarias en el tracto GI e hipersensibilidad alérgica (habones) o dermatitis en la piel. La anafilaxis se refiere a la reacción sistémica que se produce cuando un alérgeno se introduce directamente en la circulación, tal y como ocurre con la inyección de fármacos y picaduras de insectos. Se produce una reacción masiva de fase temprana en todo el cuerpo. Los síntomas incluyen inflamación e hipotensión extendida de las vías respiratorias que pueden ser letales.

30 Cada año más de 50 millones de americanos padecen enfermedades alérgicas, lo que supone anualmente un coste de 18 mil millones de \$ al sistema de asistencia sanitario (American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI). The Allergy Report: Science Based Findings on the Diagnosis & Treatment of Allergic Disorders, 1996-2001).

35 De manera alarmante, en los Estados Unidos, la frecuencia y la gravedad de los trastornos alérgicos ha aumentado rápidamente en los últimos veinte años, de manera que se necesitan nuevas terapias para estas afecciones.

40 Se estima que 15 millones de americanos, o el 6,4% de la población, padecieron asma, siendo niños 5 millones. Los niños representan 4,8 millones de americanos con asma. Cada año, 1,8 millones de visitas de urgencia son por asma, aproximadamente 500.000 americanos requieren hospitalización y más de 5.000 mueren debido a esta enfermedad. Aunque la muerte por asma es poco frecuente, a aumentado significativamente durante las dos últimas décadas. Desde 1975-1979, el índice de mortalidad fue de 8,2 por 100.000 personas. Este índice aumentó en 1993-1995 a 17,9 por 100.000. En 1994, el asma ha supuesto un coste estimado, para la economía de los Estados Unidos, de 10,7 mil millones de \$, incluyendo costes directos sanitarios por 6,1 mil millones de \$ y costes indirectos, tales como bajas laborales, por 4,6 mil millones de \$.

45 Cada año, solo por rinitis alérgica, se atribuyen aproximadamente 16,7 mil millones de visitas al consultorio médico (CDC. Fast Stats A-Z, Vital and Health Statistics, Series 10, no. 13. 1999).

Una afección relacionada, la sinusitis crónica, es la enfermedad crónica más normalmente declarada, que afecta a un porcentaje de 12,6 personas (aproximadamente 38 millones) en los Estados Unidos en 1996. Otra afección relacionada, la otitis serosa media, es la afección más común en niños que requiere visita médica en consultorio.

50 La dermatitis atópica es una de las enfermedades cutáneas más comunes, particularmente en bebés y niños. La frecuencia estimada en los Estados Unidos es del 9 por ciento¹ Rudikoff D y Lebwohl M. "Atopic dermatitis". Lancet 351 (9117): 1715-21. 1998¹.

Los expertos estiman que la alergia alimentaria se produce en el 8 por ciento de niños de 6 años de edad o menores y en el 1 al 2 por ciento de los adultos, Sampson HA. en Allergy, Principles and Practice, 5ª Ed., E. Middleton y col,

ed. Mosby, St. Louis, pág. 1162. 1998ⁱⁱ.

Patofisiología de la alergia

La alergia es una dolencia que afecta a millones de individuos en todo el mundo. Intentos realizados para insensibilizar a un individuo contra un material que produce una respuesta alérgica (en lo sucesivo en el presente documento denominado "alérgeno") por inyección de dosificaciones medidas del alérgeno hasta ahora han fracasado para conseguir el alivio completo de la reproducibilidad de los síntomas alérgicos en todos los individuos alérgicos. Una respuesta alérgica es un término utilizado en la técnica y posee un significado bien definido. Dentro del contexto de la presente invención, una respuesta alérgica o reagénica incluye, en particular, al menos una de las siguientes características 1.) producción de un anormalmente alto de IgE en el suero de un individuo, 2.) interacción inmunológica entre un alérgeno, una IgE de un individuo y liberación de histaminas derivadas de leucocitos, 3.) producción de habones, exantemas, ronchas y eritema y manifestaciones dermatológicas de hipersensibilidad similares y 4.) anafilaxis.

Una respuesta alérgica es un estado de hipersensibilidad en el que se induce una respuesta inmune exagerada por la exposición a un antígeno o alérgeno particular. Las reacciones de hipersensibilidad pueden clasificarse como inmediatas o retardadas. La hipersensibilidad inmediata o de tipo I (o respuesta anafiláctica) es una reacción alérgica que se desarrolla muy rápidamente, es decir, en segundos o minutos de exposición del paciente al alérgeno causante y está mediada por anticuerpos IgE producidos por linfocitos B. En pacientes no alérgicos, no hay anticuerpos IgE de relevancia clínica. Sin embargo, en una persona que padece enfermedades alérgicas, los anticuerpos IgE median la hipersensibilidad inmediata sensibilizando a mastocitos que son abundantes en la piel, membranas oculares, nariz y boca y en el tracto respiratorio e intestinos.

La IgE secretada de linfocitos B activados puede atacar a receptores de Fc localizados en la superficie de mastocitos y granulocitos basófilos, que contienen numerosos gránulos citoplásmicos compactados con mediadores químicos, por ejemplo, histamina (J. Klein, "Immunology", Blackwell Sci. Pub., Londres, 1990; E. Benjamini & S. Leskowitz, "Immunology", Wiley-Liss, N.Y. 1991). Este receptor se une a la IgE en circulación con una afinidad muy alta y la conserva en la superficie del mastocito durante periodos de tiempo prolongados. La activación se consigue uniendo un alérgeno simultáneamente con más de una molécula polivalente de IgE unida al receptor de Fc. Este "entrecruzamiento" de al menos dos moléculas de IgE unidas en la superficie lleva a las proteínas receptoras Fc en estrecha asociación entre sí en el plano de la membrana plasmática del mastocito. Cuando la IgE unida se pone en contacto con el alérgeno apropiado, el mastocito se activa. Como resultado de esta proximidad, se activan las quininas asociadas con estos receptores. Inician la segunda cascada mensajera, que da como resultado la fusión de los gránulos con la membrana de la superficie celular, lo que conduce a la exocitosis del contenido de los gránulos, tal como histamina, citocinas y leucotrienos en los tejidos circundantes y la inducción conjunta de síntomas alérgicos. La actividad de estas sustancias es la responsable de los síntomas clínicos típicos de la hipersensibilidad inmediata. Estas incluyen contracción del músculo liso en las vías respiratorias o intestino, la dilatación de pequeños vasos sanguíneos y el aumento en su permeabilidad al agua y a proteínas plasmáticas, la secreción de mucosidad densa pegajosa, inflamación en la piel y estimulación de terminaciones nerviosas que dan como resultado el prurito.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo retardada (HTR) están mediadas por linfocitos T y macrófagos y se manifiestan solo después de 1 ó 2 días y persisten desde varios días a algunas semanas. La HTR también se denomina hipersensibilidad mediada por células (es decir, mediada por linfocitos T) y forma parte de un gran grupo de reacciones denominadas inmunidad mediada por células.

La anafilaxis o el choque anafiláctico es un tipo de reacción alérgica sistémica aguda (de todo el cuerpo). Se produce cuando una persona se ha sensibilizado a una determinada sustancia o alérgeno (es decir, el sistema inmune se ha desencadenado anómalamente para reconocer que el alérgeno es una amenaza para el cuerpo). En la segunda o posterior exposición a la sustancia, se produce una reacción alérgica. Esta reacción es repentina, grave e implica a todo el cuerpo. La anafilaxis es letal y puede producirse en cualquier momento.

Terapéuticamente, se usan muchos agentes para tratar de impedir la liberación de mediadores de los mastocitos y basófilos y/o para tratar los episodios posteriores bloqueando o mejorando los efectos de los mediadores sobre tejidos diana. Los agentes terapéuticos normalmente empleados están dentro de los siguientes grupos principales.

Las antihistaminas bloquean y eliminan la histamina liberada, es decir el mediador principal de la respuesta alérgica.

Los agonistas β_1 β_2 , por ejemplo Epinefrina, Salbutamol doblegan indirectamente los efectos posteriores sobre la vasculatura y el músculo liso.

El cromoglicato es útil para la prevención primaria de la desgranulación de mastocitos/basófilos. Este profiláctico debe tomarse de manera continuada. No impide el entrecruzamiento de IgE pero de algún modo interfiere con episodios posteriores. La teofilina y otros inhibidores de fosfodiesterasa de nuevo ejercen influencia en episodios bioquímicos posteriores particularmente asociados con nucleótidos cíclicos. Los esteroides poseen sitios de actividades múltiples contra la respuesta alérgica. Se administran sistemáticamente de forma local y/o sistémica.

Ninguno de los tratamientos anteriores son ideales para modular las respuestas alérgicas porque cada uno de ellos

posee problemas específicos tales como efectos secundarios incluyendo somnolencia, también carecen de especificidad en el sistema inmune lo que conduce a inmunosupresión global. Además muchos de estos agentes terapéuticos requieren administrarse de manera continuada. Por lo tanto, constantemente se están investigando nuevos tratamientos mejorados para controlar la respuesta alérgica profiláctica y/o terapéuticamente sin las limitaciones anteriormente mencionadas.

Los individuos que desean insensibilizarse contra un alérgeno a menudo deben someterse a inyecciones de dosis medidas del alérgeno, inicialmente administradas a intervalos semanales o bisemanales, que después disminuyen gradualmente a intervalos bimensuales o mensuales a lo largo del año. Tales inyecciones comienzan generalmente con una pequeña dosis del alérgeno y aumentando después gradualmente la dosificación hasta conseguir una dosis de mantenimiento máximamente tolerada. Después, el individuo continúa con una dosis de mantenimiento del alérgeno durante largos periodos de tiempo o hasta que el individuo ya no presente ninguna reacción alérgica frente al alérgeno.

Se han diseñado otros regímenes de tratamiento para reducir o eliminar una respuesta alérgica.

Se sabe que la terapia de inyección con alérgenos (inmunoterapia con alérgenos también conocida como inmunoterapia subcutánea (ITSC)) reduce la gravedad de la rinitis alérgica. Se ha establecido la hipótesis de que este tratamiento implica la producción de una forma de anticuerpo diferente, un anticuerpo protector que se denomina "anticuerpo bloqueante" (Cooke, RA y col., Serologic Evidence of Immunity with Coexisting Sensitization in a Type of Human Allergy, Exp. Med. 1935; 62:733). Se han desarrollado agentes químicos que inhiben las interacciones entre la IgE y su receptor (Cheng y col., Patente de Estados Unidos Nº 5.965.605 y Ra y col., Patente de Estados Unidos Nº 6.090.034). También se han usado antagonistas de IgE para tratar enfermedades alérgicas (Presta y col., Patente de Estados Unidos Nº 5.965.709) y compuestos que presentan actividad inmunosupresora e inhiben la liberación de histamina (Bycroft y col., Patente de Estados Unidos Nº 5.969.158). St. Remy y col., en la Patente de Estados Unidos Nº 4.740.371, desvelan un complejo inmune de un alérgeno para el tratamiento de alergias que implica una combinación del alérgeno específico y el correspondiente anticuerpo contra este alérgeno. Se dice que la inyección del complejo en un paciente reduce una reacción alérgica del paciente contra este alérgeno específico. Otros autores han sugerido que algunas proteínas humanas pueden neutralizar la IgE bloqueándola de la interacción con los mastocitos, pero no se ha establecido claramente como una terapia clínicamente eficaz (Stanworth, y col., Allergy Treatment with a Peptide Vaccine, Lancet 1990; 336:1279-81). Patterson y col., en la Patente de Estados Unidos Nº 5.314.690, desvelan un procedimiento y preparaciones para reducir anticuerpos IgE contra alérgenos en sujetos alérgicos en los que la sustancia P (un neuropéptido) y un alérgeno, o fragmentos de alérgenos o haptenos que actúan como alérgenos, se administran juntos a los sujetos alérgicos mediante una vía no oral.

Se sabe que la Toxina del Cólera y la Subunidad B, como adyuvante de la Toxina del Cólera (TC), y la toxina termolábil (TL) de *Escherichia coli*, estrechamente relacionada, son inmunoadyuvantes excepcionalmente fuertes cuando se co-administran con antígenos por diversas vías mucosas (Elson y col., J. humunol. 1984; 133:2892-2897; Hohngren y col., Vaccine 1973; 1 1:1 179-1184; Lycke y col., Eur. J. Immunol. 1992; 22:2277-228 1). Tanto la TC como la TL se reconocen como toxinas "AB" porque están compuestas por dos componentes estructurales y funcionales distintos: un componente de subunidad A tóxico-activa sencillo y una subunidad B de unión a célula no tóxica. La última es un componente homopentamérico con fuerte afinidad de unión por receptores gangliósidos GMI (Hohngren y col., Nature 19 8 1; 292:413-417). Se sabe que tales receptores están presentes en la mayoría de las células de mamíferos, por ejemplo, en la piel y en otras células epiteliales, en todas las células presentadoras de antígenos conocidas, incluyendo las células dendríticas (CD) y las células de Langerhan (CL), así como en linfocitos B y T. Recientemente, Gleim y col., Patente de Estados Unidos Nº 5.980.898, desvelaron un sistema para la inmunización transcutánea que inducía una respuesta inmune (por ejemplo, efectores humorales y/o celulares) en un animal o ser humano. El sistema proporcionaba una sola aplicación, en la piel intacta de roedores y seres humanos, de una formulación constituida por un antígeno y un adyuvante, que era la toxina del cólera completa.

Es común en las alergias la intervención de la clase de anticuerpo IgE. Los individuos no nacen con alergias, sino que las adquieren por exposición a alérgenos. Las etapas de la reacción alérgica IgE comprenden la sensibilización después de la primera exposición al alérgeno y después la respuesta alérgica a exposiciones posteriores. La respuesta alérgica consta de una respuesta inmediata y una respuesta retardada denominadas respuesta de fase temprana y tardía respectivamente. En individuos atópicos, propensos a alergias, la exposición inicial a un antígeno da como resultado la producción de anticuerpos IgE que reconocen específicamente al alérgeno. Este proceso se denomina sensibilización.

La respuesta de fase temprana (RFTE) es la reacción inmediata que se produce a los minutos de la exposición a un alérgeno. La IgE se une a la superficie de una célula neuroinmune denominada mastocito (en la circulación estas células se denominan basófilos). Suficientes cantidades de anticuerpos IgE unidos que reaccionan con un alérgeno hacen que el mastocito libere su contenido de las vesículas secretoras, un proceso conocido como desgranulación. Las vesículas secretoras contienen histamina y otras sustancias almacenadas tales como el factor de crecimiento nervioso (FCN). Además los mastocitos y los linfocitos T comienzan inmediatamente a fabricar leucotrienos, citocinas, enzimas y sustancias que activan a las plaquetas de la sangre y atraen a células secundarias tales como eosinófilos. Los síntomas varían dependiendo del sitio, pero son reacciones normales la contracción de la

musculatura lisa, la secreción de mucus, la permeabilidad vascular y la estimulación nerviosa sensorial.

5 La respuesta de fase tardía (RFTA) se desarrolla en un plazo de horas a días de exposición y eosinófilos y otras células se atraen al área. Los eosinófilos producen proteína básica mayor, proteína catiónica del eosinófilo, leucotrienos y factor de crecimiento nervioso. Los linfocitos TH2 liberan citocinas que promueven la producción de IgE posterior y la quimioatracción de eosinófilos, y cantidades de mastocitos aumentadas.

Implicación de los nervios en la alergia

10 La estimulación nerviosa sensorial produce reflejos que están destinados a ayudar en la defensa de los tejidos. Estos reflejos son frecuentemente un gran problema después de la respuesta local alérgica. Los reflejos pueden variar desde grandes acciones motoras brutas a arcos aferentes y eferentes regionales o incluso reflejos axón-axonales locales que implican una sola neurona.

Algunos reflejos incorporan acciones motoras principales bien reconocidas. El estornudo en la nariz es un reflejo que intenta expeler el material no deseado y la tos es la respuesta equivalente en los pulmones.

15 El arco reflejo regional implica la sensibilización del estímulo por las neuronas sensoriales, la transferencia del mensaje a los ganglios y al sistema nervioso central y una respuesta eferente mediante neuronas autónomas. El reflejo de excitación por el sistema nervioso autónomo produce directamente la desgranulación de mastocitos, propagando así la reacción. Además estos reflejos controlan otras funciones diversas. En la nariz estos reflejos ocasionan un aumento de la producción de mucus, aumento de movimientos ciliares, congestión nasal y estornudo. En los pulmones los reflejos ocasionan broncoespasmo, aumento de congestión mucosa, producción de secreciones en las vías respiratorias y tos. En el tracto GI los reflejos ocasionan dismotilidad, congestión y secreción mucosa. En la piel los reflejos ocasionan inflamación y prurito.

Finalmente existen reflejos axón-axonales locales en fibras nerviosas nociceptivas sensoriales. La estimulación alérgica de una sola neurona produce la liberación de mediadores de otros axones de la misma neurona (Barnes P y col. 1991 Neuropeptides in the respiratory tract. Am Rev Resp Dis 144:1187-1198, 1391-1399).

25 Durante la estimulación alérgica crónica, los mastocitos y los eosinófilos liberan factor de crecimiento nervioso lo que produce el crecimiento de nervios en la región. Permitiendo así el aumento de las respuestas neuronales y de la hiperreactividad. Esta hiperreactividad no se limita a reacciones alérgicas sino que se extiende a afecciones no alérgicas, tales como, infecciones del tracto respiratorio que incluyen infecciones virales y bacterianas. Específicamente rinitis viral, sinusitis viral y bacteriana, otitis media supurativa, bronquitis y neumonía. Por lo tanto los individuos se vuelven más susceptibles a estas afecciones y padecen infecciones más frecuentes y graves.

30 Adicionalmente las reacciones alérgicas repetidas producen cambios en la respuesta cualitativa de los reflejos neuronales de tal manera que se activan inapropiadamente. Esto influye negativamente en afecciones no alérgicas, tales como broncoespasmos, producción de mucus y tos en afecciones pulmonares no alérgicas tales como bronquitis y enfisema.

Las reacciones alérgicas son diferentes de las reacciones inflamatorias

35 Las reacciones alérgicas se diferencian de la inflamación. Las alergias representan la respuesta inapropiada del cuerpo contra lo que básicamente es un antígeno perjudicial. Se cree que las reacciones alérgicas IgE desarrolladas para combatir infecciones parasitarias son actualmente poco frecuentes en sociedades industrializadas. En cambio, la inflamación es la respuesta del cuerpo contra una lesión o infección tisular real. La inflamación se diferencia clínicamente por los síntomas clásicos de calor, rubor y dolor: "*heat, redness and pain*". La inflamación es un proceso que desencadena una cascada de mediadores con amplios efectos, tanto local como sistémicamente. Las reacciones locales incluyen dolor, vasodilatación y migración de macrófagos y neutrófilos. Las reacciones sistémicas incluyen fiebre. Algunas afecciones, tales como rinitis o asma, pueden desencadenarse por alergias, infecciones, productos químicos irritantes o pueden ser totalmente neurógenas, el resultado de la actividad nerviosa sin estimulación inflamatoria o alérgica previa.

45 **Afecciones alérgicas específicas**

Rinitis

Rinitis alérgica

50 El revestimiento interno de la nariz es una mucosa que contiene glándulas serosas y mucosas y una gran cantidad de mastocitos. Esta mucosa se extiende hacia las aberturas que conducen a los senos así como a la trompa de Eustaquio donde continúa con la mucosa de los senos y el oído medio, respectivamente. La RFTA de la mucosa nasal produce desgranulación de mastocitos. La liberación de histamina, heparina y neuropéptidos provoca vasodilatación e inflamación aguda de la mucosa y posee cierto efecto estimulador directo menor sobre las glándulas secretoras de mucus. La excitación reflejo produce el reflejo de estornudo, congestión y estimulación neuronal de las glándulas seromucinosas y congestión adicional. La RFTA atrae eosinófilos y prolonga la reacción.

Las reacciones alérgicas también pueden ser crónicas, una afección conocida como rinitis perenne. En estos casos alérgenos transmitidos por el aire están constantemente en el ambiente. Las reacciones alérgicas crónicas de bajo nivel producen un espesamiento de la mucosa nasal debido a edema e hipertrofia de elementos glandulares. Como resultado los síntomas primarios de la rinitis perenne son congestión nasal y goteo postnasal. Después cada reacción alérgica la mucosa se inflama; reacciones alérgicas repetidas dilatan la mucosa permanentemente y pueden formar pólipos. El espesamiento de la mucosa puede causar obstrucción de las pequeñas aberturas que permiten el drenaje de los senos. La obstrucción de estas aberturas permite la acumulación de las secreciones nasales y comienzan a infectarse produciéndose así la sinusitis.

El tratamiento tópico de la rinitis alérgica incluye pulverizaciones con esteroides y cromalina sódica (Nasocrom®) o un producto químico que bloquea la desgranulación de mastocitos y/o descongestivos nasales (Neosinefrina). El tratamiento sistémico incluye anti-histaminas y anti-histaminas no sedantes orales (Allegra®, Zyrtec®, Claritin®). La terapia prolongada que requiere insensibilización inmune contra el alérgeno por inyecciones intradérmicas progresivas del alérgeno durante meses a años, puede conducir a rinitis.

La rinitis alérgica puede conducir a enfermedades pulmonares incluyendo, pero sin limitación, asma y enfisema, el asma se produce adecuadamente por hiperreactividad y/o los síntomas de broncoconstricción, edema mucoso, secreciones aumentadas y tos. Estos pueden tratarse aplicando CnT en la cavidad nasal de pacientes con rinitis alérgica. En la técnica se sabe bien que las afecciones alérgicas de la nariz pueden producir cambios de reflejos en los pulmones que imitan o agravan el asma (MC Cusker C et al 2002, Site-specific sensitization in a murine model of allergic rhinitis: Role of the upper airway in lower airway disease, J Allergy Clin Immunol, 110:891-898).

Rinitis alérgica perenne

La rinitis perenne es una afección crónica y algunos síntomas, tales como congestión nasal, son más prominentes que otros tales como el estornudo. Por lo tanto la terapia para esta afección requiere un periodo más prolongado, si no indefinido. Aunque pueden usarse de manera repetida los mismos tratamientos que los desvelados para la rinitis alérgica estacional, se desvelan determinados tratamientos que son más eficaces y convenientes para una terapia más prolongada.

Las neuronas parasimpáticas no se extienden desde el sistema nervioso central a sus órganos diana en la nariz. En lugar de ello, las neuronas pregangliónicas parasimpáticas poseen sus cuerpos celulares en el tronco encefálico y poseen un axón que se extiende parcialmente y establece sinapsis en cuerpo celular de una segunda neurona denominada postgangliónica. Los axones de las neuronas postgangliónicas se extienden hacia el interior de la nariz y senos y modulan muchas de las respuestas biológicas observadas durante las reacciones alérgicas. El cuerpo celular de las neuronas postgangliónicas parasimpáticas también recibe sinapsis aferente colateral de neuronas sensoriales que se estimulan durante las reacciones alérgicas. Por lo tanto gran parte del circuito neuronal implicado en las reacciones alérgicas converge sobre el cuerpo celular de la neurona postgangliónica.

Todos los cuerpos celulares de las neuronas postgangliónicas se concentran en una pequeña estructura denominada ganglio esfenopalatino. Además todas las conexiones sinápticas aferentes en estas neuronas son colinérgicas, el neurotransmisor más sensible a BoNT. Por lo tanto la aplicación de CnT al ganglio esfenopalatino es el modo más eficaz para bloquear la reacción neuronal alérgica.

El ganglio esfenopalatino es accesible a inyección con aguja mediante el canal esfenopalatino. Este canal pasa a través del paladar duro y es accesible aproximadamente un centímetro medial con respecto al segundo molar. Médicos expertos en la técnica de cirugía nasal realizan normalmente inyecciones de anestesia y de agentes vasoconstrictores.

Rinitis infecciosa

Aunque comparte algunos de los mismos síntomas, la rinitis alérgica se diferencia de la rinitis infecciosa. La causa más común de la rinitis infecciosa es una infección viral, conocida como resfriado común. Se producen infecciones bacterianas y fúngicas nasales pero son comparativamente poco frecuentes como episodios primarios. Durante las infecciones virales las células epiteliales liberan secreciones que desencadenan una respuesta inflamatoria. Los síntomas clásicos de calor, rubor y dolor; "*heat, redness and pain*" caracterizan la inflamación. Leucocitos, tales como macrófagos y neutrófilos, migran desde los vasos sanguíneos pequeños en el área hacia la mucosa infectada. Estas células a su vez liberan diversos mediadores químicos que aumentan la inflamación. La rinitis infecciosa se caracteriza por un goteo postnasal purulento o en forma de pus y congestión nasal. En muchas infecciones virales existen síntomas sistémicos tales como fiebre. El tratamiento de las infecciones virales es sintomático con descongestivos tópicos y sistémicos y fármacos antipiréticos y antiinflamatorios.

Rinitis vasomotora y otras causas de rinitis

La rinitis vasomotora es una hiperestimulación estrictamente neural de las glándulas secretoras serosas de la nariz. Esta afección se caracteriza por una secreción nasal acuosa con un contenido muy pequeño de muco. La rinitis vasomotora se produce directamente a partir de estimulación neural de cambios de temperatura o durante la comida y se asocia con otros síntomas no importantes tales como congestión y estornudo. El documento US 5.766.605

desvela un procedimiento para bloquear los síntomas de rinorrea en rinitis vasomotora usando neurotoxinas de clostridia.

Otitis serosa media

5 La reacción directa o indirecta de la mucosa del oído medio contra alérgenos, se efectúa por bloqueo de la trompa de Eustaquio, lo que conduce a otitis serosa media. En esta afección el oído medio se llena de líquido y la audición se deteriora. Como esta afección afecta más frecuente a niños pequeños estos corren el riesgo de presentar problemas de aprendizaje debido a una disminución de la agudeza auditiva.

Sinusitis, una complicación de rinitis.

10 La sinusitis es una infección de los senos. Los senos son cavidades llenas de aire que rodean y se abren en la cavidad nasal mediante pequeñas aberturas denominadas orificios. Los senos maxilares constituyen la masa de las mejillas y los orificios se encuentran entre el cornete inferior y central. Los senos centrales que están por encima de las cejas debajo de la piel de la frente, se abren en la cavidad nasal mediante un conducto que se introduce por debajo del cornete central. Los senos esfenoidales se encuentran en la nasofaringe y poseen orificios en su superficie anterior. Los senos etmoidales se localizan entre los ojos y están constituidos por numerosas células de
15 aire pequeñas. Las células anteriores y posteriores drenan independientemente. La región etmoidal anterior es especialmente importante debido a la confluencia de orificios de drenaje. El área se denomina infundíbulo y una pequeña cantidad de obstrucción puede ocasionar infecciones generalizadas de los senos.

20 Las infecciones de los senos son agudas o crónicas. En la sinusitis aguda después de una infección viral del tracto respiratorio superior se produce una infección bacteriana Sin embargo, la sinusitis puede producirse por obstrucción de los orificios de drenaje de los senos por inflamación o lesión masiva. Para tratar la sinusitis aguda se usan descongestivos nasales tópicos y antibióticos sistémicos. Infecciones graves o complicadas puede requerir drenaje quirúrgico de los senos implicados. La sinusitis crónica es una infección corriente o recurrente de grado bajo de los senos. En estos casos la mucosa de los senos se ha espesado y dilatado debido a edema y a elementos glandulares secretores aumentados. En estos casos pueden persistir pequeños abscesos y estímulos inflamatorios
25 relativamente leves pueden ocasionar una obstrucción de los orificios de los senos estrechados. El tratamiento de la sinusitis crónica incluye pulverizaciones tópicas con esteroides, antihistaminas sistémicas y descongestivos y/o extirpación quirúrgica de la mucosa enferma con dilatación de los orificios.

Asma

30 El asma un término general que se da una constelación de síntomas similares: broncoespasmo, inflamación mucosa y secreciones aumentadas. Una estimulación alérgica, infecciones, productos químicos irritantes, aire frío o ejercicio pueden desencadenar el asma.

El asma alérgica es un subgrupo específico de asma que se inicia por alérgenos e implica la reacción mediada por IgE. Reacciones locales y orgánicas incluyen constricción de la musculatura lisa bronquial, inflamación de la mucosa y secreciones aumentadas.

35 **Otras afecciones alérgicas**

Otras afecciones alérgicas incluyen alergias alimentarias y dermatitis alérgica.

Neurotoxinas clostridiales (CnT)

40 El *Clostridium (C.) botulinum* y las especies estrechamente relacionadas *C. butyricum* y *beratti* producen una neurotoxina extremadamente poderosa que produce la afección de parálisis conocida como botulismo. La proteína de neurotoxina botulínica (BoNT) consta de una cadena ligera y pesada que juntas pesan aproximadamente 150 kD. En el botulismo la diana principal es la sinapsis de la neurona motora con la fibra muscular. En este caso la membrana de la neurona motora absorbe la BoNT y se internaliza. El efecto de la BoNT es inhibir la liberación de neurotransmisores y neuropéptidos por las neuronas. Durante el uso clínico cada serotipo parece diferir en cuanto a su potencia en el bloqueo de diferentes clases de neuronas.

45 La BoNT actúa mediante un mecanismo en dos etapas, captación y acción molecular. Las terminaciones nerviosas periféricas captan la BoNT. Después de la translocación a través de la membrana la BoNT interfiere con el mecanismo de neurosecreción molecular. Específicamente, la BoNT escinde a las proteínas implicadas en el acoplamiento de las vesículas sinápticas y libera el complejo denominado SNARE. El resultado es bloquear señales neurales.

50 *C. tetani* produce la neurotoxina tetánica (TeNT). La TeNT es similar a las BoNT ya que interfiere con la liberación vesicular por escisión de VAMP, una de la familia de proteínas SNARE. Sin embargo la actividad biológica *in vivo* de la TeNT es normalmente muy diferente de la de la BoNT. El trastorno sistémico tetánico se produce por TeNT producida en un sitio de herida y se disemina por todo el cuerpo a través de la corriente sanguínea. Las neuronas motoras periféricas captan la TeNT y se transportan al sistema nervioso central. Después la TeNT bloquea

preferentemente neuronas inhibitoras que se conectan a las neuronas motoras, permitiendo de esta manera una entrada excitatoria sin resistencia. Sin embargo, a dosis más elevadas de TeNT y cuando se introduce directamente en la neurona también bloquea todas las neuronas de la misma manera que la BoNT. En esta solicitud se supone que cuando se analiza la BoNT se incluye la TeNT cuando se usa a dosis de bloqueo más altas.

5 Actualmente se conocen siete serotipos de BoNT inmunológicamente distintos, denominados A, B, C, D, E, F y G. Ahora se sabe que el serotipo de tipo C se divide en tres toxinas diferentes con distintos efectos biológicos. Solo C1 es una neurotoxina, mientras que C2 y C3 no lo son. C2 es único para bloquear la formación de actina, que puede impedir la desgranulación de mastocitos. Aunque todos los serotipos de BoNT interfieren con proteínas que producen la liberación de vesículas sinápticas de las células cada uno de ellos interfiere con proteínas diferentes o
10 con partes diferentes de la misma proteína:

BoNT A y E escinden SNAP-25 (proteína asociada con la sinapsis)

BoNT C escinde SNAP-25 y sintaxina

BoNT B, D, F y G (y TeNT) escinden VAMP (proteína de membrana asociada a vesículas)

15 La mayoría de, si no todos, los tipos de células utilizan el sistema vesicular para la secreción, sin embargo, en cada tipo de célula, las moléculas que se encuentran dentro de estas vesículas son diferentes. Si se introduce experimentalmente en cualquier célula, la BoNT parece ser capaz de bloquear la liberación de sus vesículas. Sin embargo, en la naturaleza, la BoNT parece estar internalizada en neuronas, particularmente en las neuronas eferentes. Las vesículas dentro de las neuronas contienen neurotransmisores clásicos (acetilcolina, epinefrina, norepinefrina, dopamina, serotonina, glutamato, GABA y otros) y/o neuropéptidos (sustancia P, neuroquinina A,
20 péptido relacionado con el gen de la calcitonina (PRGC), neuropéptido Y, interleucinas, factores de crecimiento y otros). Aunque la afinidad más alta de la BoNT es por neuronas colinérgicas, en diversas preparaciones la BoNT ha demostrado bloquear la secreción de todas estas moléculas.

Efectos clínicos de la toxina botulínica en diferentes clases de neuronas

Nervios motores voluntarios

25 El primer y aún principal uso de la BoNT es bloquear la comunicación nerviosa motora con fibras musculares. La BT se inyecta dentro del músculo diana. La BoNT se internaliza después en neuronas motoras donde disminuye o detiene la liberación del neurotransmisor acetilcolina (AChE), produciendo así paresia o parálisis muscular. Scott introdujo el concepto de inyecciones de BoNT musculares localizadas en la afección específica de estrabismo (bizquera, ojos cruzados). Posteriormente se descubrió que la BoNT era particularmente útil para discinexias tales
30 como tics, espasmos, contracturas, calambres y temblores. Más recientemente, se ha observado que la inyección de BoNT en músculos faciales atenúa arrugas y líneas de la piel relacionadas con el envejecimiento. Otra aplicación reciente de inyecciones de BoNT es la disminución del dolor que acompaña a la tensión muscular en afecciones tales como cefaleas y síndrome articular temporomandibular.

Neuronas motoras autónomas

35 Las neuronas eefectoras del sistema autónomo inervan y controlan la contracción de músculos lisos usando AChE como neurotransmisor. Se han usado inyecciones de BoNT para disminuir el tono en los músculos lisos del esfínter esofágico inferior, esófago, la pared del estómago y esfínter pilórico, esfínter de Odi, esfínter anal y vejiga urinaria.

Neuronas secretoras autónomas

40 Las neuronas eefectoras del sistema autónomo controlan o modulan la secreción de diversos líquidos acuosos y mucosos en todo el cuerpo. Se han usado inyecciones de BoNT para disminuir la transpiración, el flujo de las glándulas salivares, las secreciones gástricas, incluyendo la producción de ácido, secreciones nasales y otras secreciones respiratorias y la producción de lágrimas.

Neuronas sensoriales

45 Las neuronas sensoriales liberan una amplia diversidad de neuropéptidos, citocinas, factores de crecimiento y otras sustancias que actúan en las células parenquimales, vasos sanguíneos y células inmunes. Cabe destacar que estas sustancias puedan activar mastocitos directamente prolongando así la reacción alérgica. Salvo el óxido nitroso estas sustancias se liberan mediante el mecanismo SNARE y puede bloquearlas la CnT.

Sumario de la invención

50 Como se usa en el presente documento, "administración local" incluye, pero sin limitación, inyección por aguja y catéter permanente (incluyendo inyectoros de chorro a presión), administración tópica en polvo liofilizado, soluciones líquidas, cremas, pomadas, vectores aerosolizados o introducidos por liposomas (niosomas) o como ácido nucleico introducido por vectores virales u otros. La CnT también puede incluirse en biopolímeros o administrarse por bombas implantadas para liberar la CnT en solución durante periodos prolongados.

Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende, para los fines de la presente invención, que la CnT se administra en una cantidad suficiente, no tóxica, para producir la reducción en cuanto a la aparición o a la magnitud de los síntomas objeto de tratamiento.

5 Por "unidad" se entiende el equivalente biológico de la medida unitaria actual usada para la toxina botulínica A comercializada como Botox. Actualmente la BoNT se mide mediante ensayo biológico: una unidad de BoNT es la cantidad que produce la muerte al 50% de los ratones cuando se les inyecta por vía intraperitoneal. La BoNT-A se comercializa como Botox por Allergan Corp, Irvine Ca, y como Dysport por Ipsen Ltd, Berks Reino Unido. Aunque el ensayo biológico se realiza de la misma manera, el efecto *in vivo* de Botox y de Dysport varía. La BoNT-B se comercializa como Myobloc por Elan Pharmaceuticals, Dublín, Irlanda. La TeNT no se encuentra disponible en el mercado pero otros ensayos han comparado la fuerza del efecto bloqueante de TeNT con respecto a BoNT. Todos los serotipos de BoNT, así como de TeNT, se encuentran disponibles en el mercado de List Biological laboratories). Una cantidad terapéuticamente eficaz de BoNT variará dependiendo del órgano que vaya a tratarse, del tamaño del órgano que vaya a tratarse, del procedimiento de aplicación y de la preparación exacta de BoNT usada. Una cantidad terapéuticamente eficaz variará desde una fracción de una unidad a cientos de unidades como ocurre actualmente con inyecciones intramusculares. La dosificación exacta no requerirá una excesiva experimentación por los expertos en la materia.

Quando se hace referencia a soluciones o suspensiones de BoNT o de CnT, salvo que se especifique lo contrario, esto significa el número de unidades indicado en 1 ml de solución salina Normal.

20 Por "CnT" se entiende cualquier sustancia biológica que posea básicamente el mismo efecto biológico en las células que el de los tipos silvestres de neurotoxinas clostridiales. Específicamente, bloquear o disminuir la actividad de la familia de proteínas SNARE implicadas en la secreción de neurohumores relacionados con la alergia. Se han descrito numerosas sustituciones para las partes principales de CnT y estas se incluyen en la presente memoria descriptiva. Esto incluiría fragmentos, formas modificadas y formas recombinantes de CnT. También se incluyen quimeras, híbridos y conjugados. También se incluye el uso de secuencias de ADN y de ARN que se aplican directamente y se traducen en los sitios alérgicos. También se incluyen "vectores", diversas composiciones que administran una cadena ligera de la toxina botulínica o tetánica o su equivalente tal como proteasa A a través de las membranas celulares. Estos vectores incluyen, pero sin limitación, virus, liposomas, niosomas y dominios de transducción de proteínas.

25 Los "neurohumores" alérgicos son neurotransmisores, neuropéptidos y citocinas que participan en reacciones alérgicas y cuya secreción o acción puede bloquear la CnT. Estos incluyen acetilcolina, noradrenalina, neuropéptido Y, sustancia P, péptido relacionado con el gen de calcitonina (PRGC), histamina, factor de crecimiento nervioso e interleucinas.

30 La invención se refiere a un método para bloquear o reducir una reacción fisiológica en un mamífero, adecuadamente pero sin limitación, en *Homo sapiens*, contra la interacción de anticuerpos IgE presentes en dicho mamífero después de ponerse en contacto con el correspondiente antígeno. Este bloqueo se consigue administrando a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de una neurotoxina (CnT) derivada de *Clostridia* sp. Adecuadamente, la CnT deriva de especies de *Clostridia* seleccionadas del grupo que consiste en *C. botulinum*, *C. butyricum*, *C. beratti*, *C. tetani*. Las neurotoxinas (BoNT), derivadas de *C. botulinum*, derivan de los serotipos A, B, C1, D, E, F y G, mientras que la neurotoxina (TeNT) deriva de *C. tetani*.

35 BoNT/A se comercializa como Botox® por Allergan Inc y como Dysport® por Ipsen Ltd como un polvo liofilizado que, antes de su uso, se reconstituye con solución salina normal sin conservantes. BoNT/B se comercializa como Myobloc® por Elan Pharmaceuticals en solución salina normal. Las cadenas ligeras y las holotoxinas de cada uno de los serotipos de BoNT y de TeNT pueden obtenerse en List Biological Labs y/o Metabologics Inc.

40 Las composiciones de CnT para su uso en la presente invención se preparan de diversas formas dependiendo de si la composición se inyecta o se implanta, se aplica tópicamente a la mucosa respiratoria de la cavidad nasal o a los pulmones, mucosa gastrointestinal o a la piel.

45 Para todas las composiciones de CnT inyectables las formas de dosificación líquidas se preparan utilizando el compuesto y un vehículo estéril apirógeno. El compuesto, dependiendo del vehículo y de la concentración utilizada, puede disolverse o suspenderse en el vehículo. Durante la preparación de las soluciones el compuesto puede disolverse en el vehículo, haciéndose isotónica la solución, si fuera necesario, añadiendo cloruro de sodio y esterilizándose por filtración, a través de un filtro estéril, usando técnicas asépticas antes de introducirlo en viales o ampollas estériles adecuados y cerrar herméticamente. Como alternativa, si estabilidad de la solución es adecuada, la solución puede esterilizarse, mediante autoclave, en los envases cerrados herméticamente. Ventajosamente, en el vehículo pueden disolverse aditivos tales como agentes tampones, solubilizantes, estabilizantes, conservantes o bactericidas, agentes de suspensión o emulsionantes y/o agentes anestésicos locales.

Pueden prepararse polvos secos que, antes del uso, se disuelven o se suspenden en un vehículo adecuado, introduciendo la sustancia farmacológica previamente esterilizada y otros principios en un envase estéril usando técnicas asépticas en un área estéril. Como alternativa al fármaco y otros principios pueden disolverse en envases

adecuados usando técnicas asépticas en un área estéril. Después, el producto se liofiliza y los envases se cierran herméticamente de manera aséptica.

5 En los sistemas respiratorio y gastrointestinal, la CnT se une a células epiteliales de la mucosa y se transporta por transcitosis activamente a través de la mucosa. Las composiciones adecuadas para la administración al tracto respiratorio incluyen aerosoles, soluciones nebulizadoras o polvos microfinos para insuflación. En el último caso, se prefiere un tamaño de partícula menor de 50 micrómetros, especialmente menor de 10 micrómetros.

Las composiciones adecuadas para la aplicación tópica en la mucosa incluyen soluciones salinas normales, como se describe anteriormente, para inyecciones. Otras composiciones adecuadas incluyen geles y cremas.

10 La piel presenta una gran barrera para la aplicación de la CnT. La CnT puede impulsarse mecánicamente a través de la barrera dérmica con inyectores de presión de aire o de agua o en asociación con micro-gránulos. Otras formas adecuadas de administración transdérmica incluyen la iontoforesis. La CnT puede encapsularse en liposomas o en niosomas para formar composiciones transdérmicas adecuadas.

15 El procedimiento de administración puede adoptar muchas formas, incluyendo la administración tópica, intradérmica, subcutánea, transcutánea, intracavitaria y por inhalación de la CnT en un vehículo adecuado. Los ejemplos de tales administraciones incluyen, pero sin limitación, la puesta en contacto con parches absorbentes que poseen en su interior la CnT absorbida, la puesta en contacto con microgránulos biodegradables que poseen la CnT incorporada en su interior. También se incluyen inyecciones, por ejemplo, inyección en la mucosa nasal o inyección en el espacio pterigopalatino a través del paladar o inyección en las áreas afectadas de la superficie de la piel. De manera más invasiva, por miringotomía e inyección en el espacio del oído medio, membranas timpánicas. Como alternativa, los procedimientos menos invasivos incluyen gotas en el párpado interno e inhalación de una nebulización acuosa que la contenga.

Las reacciones fisiológicas tratadas en el presente documento incluyen congestión nasal debido a rinitis alérgica, alergia, sinusitis, asma, alergias alimentarias y dermatitis alérgica.

25 La cantidad de CnT administrada por administración se encuentra entre 0,1 y 1.000 unidades, adecuadamente entre 1 y 100 unidades por administración, preferentemente entre 1 y 20 unidades.

30 La invención también se refiere al uso de una neurotoxina (CnT) derivada de *Clostridia sp* para la producción de un medicamento para bloquear o reducir una reacción fisiológica en un mamífero contra la interacción de anticuerpos IgE presentes en dicho mamífero después de ponerse en contacto con el correspondiente antígeno. Las formulaciones de CnT, incluyen BoNT y TeNT, que se sabe bien que son adecuadas para los propósitos indicados en el presente documento, aunque previamente no se han diseñado para este propósito.

35 Existe una gran necesidad de un tratamiento eficaz para trastornos alérgicos. Durante mucho tiempo se ha considerado que la reacción alérgica solo implicaba la liberación de histamina por los mastocitos. Por lo tanto, las antihistaminas fueron la terapia de primera línea o más recientemente las antihistaminas no sedantes. Otras terapias se dirigen a bloquear los efectos de las secreciones de los mastocitos con agonistas adrenérgicos. No es obvio para los expertos en la materia que una función central en trastornos alérgicos implique el sistema nervioso autónomo y que esta actividad nerviosa pueda bloquearse por la CnT para conseguir un efecto beneficioso.

40 Es un objeto de la invención proporcionar un tratamiento para la congestión nasal debido a rinitis relacionada con alergia, asma, sinusitis y dermatitis y sus afecciones relacionadas que se producen secundarias a la inflamación de la mucosa inducida por alergia. El tratamiento es por aplicación local de cantidades terapéuticamente eficaces de CnT a la estructura corporal y/o a los nervios y ganglios nerviosos distribuidos en estas estructura. La CnT interfiere con el proceso alérgico:

- 1) Bloqueando directamente secreciones neuroinmunes por los mastocitos u otros tipos de células inmunes incluyendo pero sin limitación eosinófilos ()
- 2) Bloqueando la liberación de neurohumores por mastocitos inducida por actividad nerviosa autónoma.
- 45 3) Disminuyendo la liberación neurohumoral durante reflejos axonales.
- 4) Disminuyendo la rama eefectora parasimpática de respuestas alérgicas reflejas.
- 5) Disminuyendo la actividad tónica aumentada del sistema autónomo que está relacionada con reacciones alérgicas anteriores.
- 50 6) Disminuyendo la dilatación e hipersensibilidad de nervios sensoriales inducido por el factor de crecimiento nervioso y otros neurohumores liberados durante las reacciones alérgicas.
- 7) Invirtiendo determinadas complicaciones de las reacciones alérgicas tales como espesamiento de la mucosa disminuyendo la actividad nerviosa autónoma.

El efecto beneficioso de este tratamiento en:

1) el área nasal, consiste en disminuir los síntomas de estornudo, prurito, congestión nasal y goteo postnasal así como afecciones relacionadas incluyendo pólipos nasales y espesamiento de la mucosa y complicaciones tales como sinusitis y otitis serosa.

5 2) los pulmones, consiste en disminuir la tos y la sibilancia (broncoconstricción, edema) y la hipersensibilidad sensorial no específica relacionada con reacciones alérgicas crónicas.

3) los ojos, consiste en disminuir el picor, el lagrimeo y el enrojecimiento.

4) en la piel, consiste en disminuir el prurito y la inflamación.

5) el tracto gastrointestinal, consiste en disminuir la dismotilidad gastrointestinal.

10 Ejemplos

Ejemplo 1. Rinitis alérgica estacional

15 1a) Un hombre de 30 años padece rinitis alérgica estacional. En mayo, antes de la formación del polen, en cada narina se aplicaron, por vía tópica, 30 unidades de BoNT. Específicamente, la cavidad nasal se pulverizó con una solución de lidocaína al 1% y neosinefrina al 1/2% para anestesiarse y descongestionar la mucosa nasal, respectivamente. Después, en cada cavidad nasal, se pulverizó 1 cc de solución salina normal que contenía 30 unidades de BoNT. Este procedimiento de administración, aunque se usa normalmente para la aplicación de medicación nasal, no es por naturaleza eficaz ya que un porcentaje significativo de la medicación pulverizada se saldrá de la cavidad nasal posterior y se exhalará o se deglutirá.

20 1b) En otra realización, el paciente se trata poniendo, sobre la superficie media de los cornetes nasales, parches de algodón de 1x3 cm² impregnados con 20 unidades de BoNT y se dejándolos durante una hora, después el médico los retira. Este procedimiento de administración es más eficaz que un pulverizador, sin embargo, un porcentaje significativo de BoNT no se difundirá desde los parches a la mucosa.

25 1c) Como alternativa, al paciente se le aplica anestesia tópica sólo en un área localizada, preferentemente el extremo anterior del cornete nasal inferior. Después, al paciente se le pone un parche de algodón de 1 cm² impregnado con 10 unidades de BoNT sobre la mucosa del cornete nasal anterior durante una hora y después se retira. Dentro de la cavidad nasal una capa mucociliar transporta líquidos y partículas posteriormente, distribuyendo de esta manera la BoNT. Este es un ejemplo de aplicación de una BoNT a una región localizada de la cavidad nasal y usando la fisiología normal de la cavidad nasal para la distribución. Se conocen las vías de espacios libres mucociliares de la nariz y de las cavidades de los senos de manera que para los expertos en la materia son obvias otras variaciones de este procedimiento.

30 1d) En otra realización, para tratar al paciente, se utiliza un depósito tópico biodegradable que administra la BoNT durante un período de tiempo prolongado a la mucosa nasal. En la técnica se conocen diversos compuestos biodegradables que varían en cuanto a consistencia y velocidad de disolución.

35 Un ejemplo es la celulosa oxidada (comercializada como Surgicel® por Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ). La celulosa oxidada puede fabricarse con BoNT como un componente integral, o la BoNT puede añadirse a la celulosa oxidada antes de su uso clínico. Surgicel existe en forma de una lámina fina flexible que por lo general se corta para adaptarse al área corporal al cual va a aplicarse. Para el uso intranasal el tamaño puede variar desde una lámina de escasos milímetros cuadrados a una de 4 por 8 cm² que se pondría en contacto con toda la mucosa de la cavidad nasal expuesta. La BoNT puede añadirse a Surgicel como un polvo liofilizado o después de reconstitución en solución. Si se añade como un polvo, este puede aplicarse homogéneamente sobre un lado del Surgicel y el material puede doblarse. Después, el material se humedece con solución salina normal para unir entre si el material e inmovilizar la BoNT antes de su uso clínico. Por el contrario, la BoNT puede constituirse primero en la solución y después absorberse en el material.

45 Como ejemplo un trozo de 2 x 6 cm² de celulosa oxidada se satura con 1 cm³ de solución salina normal que contiene un total de 10 unidades de BoNT. Usando un espejo nasal la narina se dilata, se visualiza la cavidad nasal y la celulosa saturada se coloca en su interior. La celulosa se disolverá gradualmente durante horas liberando al mismo tiempo una pequeña dosis constante de BoNT directamente sobre la mucosa nasal.

50 Como alternativa el paciente se trata con 0,5 cm³ de solución salina normal que contiene 5 unidades de BoNT que se aplican en la celulosa oxidada que se sujeta con pinzas de bayoneta y se coloca en plano sobre la superficie media del extremo anterior del cornete nasal inferior de cada cavidad nasal. Como se ha descrito anteriormente la acción mucociliar de la mucosa nasal transporta líquidos y partículas desde la cavidad nasal anterior a la posterior.

1e) En otra realización al paciente se le inyecta una solución de BoNT directamente en la mucosa nasal. Después de anestesiarse y descongestionar la mucosa, se inyectan 5 unidades de BoNT en 1 cc de solución salina por debajo de la mucosa a lo largo de la longitud del cornete nasal inferior con una aguja espinal de calibre 25 acoplada a una

jeringa de 1 cc.

1f) Como alternativa el paciente puede tratarse con TeNT. Para administrar por vía intranasal las composiciones de TeNT, la dosis puede variar de 1 a 1000 unidades en 0,1 cm³ a 10 cm³ de solución. Una composición preferente es una de 10 unidades de TeNT en 1 cm³ de solución salina normal.

- 5 Como ejemplo, el mismo paciente se trata pulverizando cada narina con 1 cm³ de solución salina normal que contiene 10 unidades de TeNT.

Como alternativa, si sólo se desea la descongestión, se aplican 10 unidades de TeNT por vía tópica.

En otra realización, para transfectar las células mucosas, a través de la mucosa nasal, se inyecta a presión 1 unidad de ADN recombinante que codifica la TeNT. Después, estas células expresan la TeNT durante meses.

10 **Ejemplo 2. Rinitis alérgica perenne**

2a) Inyección directa del ganglio esfenopalatino.

- 15 Una mujer de 40 años padece congestión nasal crónica debido a rinitis perenne. El ensayo cutáneo demuestra que es alérgica a numerosos antígenos ambientales y un examen intranasal muestra mucosa dilatada en los cornetes nasales y pólipos nasales. Ensayos de secreciones nasales realizados muestran eosinofilia. Se realiza una inyección de 20 unidades de BoNT en una solución de 1 cm³ de solución salina normal a través del canal esfenopalatino en el área del ganglio esfenopalatino.

En otra realización, 100 unidades de BoNT incluidas en gránulos biodegradables de 0,1 micrómetros suspendidos en solución se inyectan en la mucosa de cada cornete nasal para liberar lentamente su contenido durante 6 meses.

- 20 Como alternativa un vehículo biodegradable que contiene 5 unidades de BoNT se coloca por vía intranasal en la cara más superior y posterior de la pared nasal lateral. Esto permite difundir la BoNT a través de la pared nasal hacia el ganglio esfenopalatino subyacente.

Ejemplo 3. Sinusitis

Un hombre de cincuenta años posee un historial de rinitis alérgica y sinusitis recurrente. Diez unidades de BoNT se inyectan a través del paladar en el espacio pterigopalatino para bloquear el ganglio esfenopalatino.

25 **Ejemplo 4. Dermatitis alérgica.**

Un hombre de setenta años padece dermatitis alérgica grave de la piel del antebrazo. En cada antebrazo se inyectan 10 inyecciones de 0,3 unidades de BoNT en 0,1 cm³ de solución salina normal. Cada inyección se realiza por vía intradérmica a intervalos de 3 cm.

Ejemplo 5. Asma alérgica

- 30 Un niño de 13 años padece asma alérgica grave. Se trata bimensualmente con terapia por inhalación de una solución en aerosol de 5 unidades de toxina botulínica en 5 cm³ de solución salina normal.

- 35 Como alternativa la misma solución botulínica puede inyectarse directamente en la tráquea y en los bronquios. Después de inyectar anestesia local en la piel por encima de la membrana cricotiroidea se hace pasar una aguja directamente a través de la piel y la membrana cricotiroidea y la solución de BoNT se pulveriza en la tráquea. La solución gotea para llegar a la mucosa bronquial donde se absorbe por vía tópica y se absorbe.

Ejemplo 6. Rinitis alérgica

Un hombre de 40 años padece rinitis alérgica y un reflejo asociado de tos crónica. Para tratar la tos, se utiliza la aplicación de CnT a la cavidad nasal, como se ha descrito anteriormente, o como alternativa, la aplicación tópica de BoNT se inyecta o se administra en forma de aerosol a los pulmones.

40 **Ejemplo 7. Alergias alimentarias**

- 45 Un niño de 10 años con alergias alimentarias, puestas de manifiesto por distensión abdominal y diarrea, se trata con un supositorio rectal que contiene 50 unidades de BoNT. El supositorio se compone de material biocompatible que es sólido a temperatura ambiente pero se disuelve a temperatura corporal. Son materiales adecuados para la composición la manteca de cacao, la gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres grasos de polietilenglicol.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica que comprende una neurotoxina (CnT) derivada de una especie de Clostridia seleccionada del grupo que consiste en *C. botulinum*, *C. butyricum* y *C. baratii* en una cantidad terapéuticamente eficaz para su uso en el tratamiento de congestión nasal debido a inflamación de la mucosa y a pólipos nasales, asma, rinitis alérgica, sinusitis alérgica, enfermedad pulmonar alérgica, alergias alimentarias, dermatitis alérgica y estornudos, tos y prurito relacionados con reacciones alérgicas en un mamífero, en el que la cantidad de CnT administrada por administración está comprendida entre 0,1 y 1000 unidades por administración.
2. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la neurotoxina deriva de *C. botulinum*.
- 10 3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la neurotoxina (BoNT) derivada de *C. botulinum* deriva de los serotipos A, B, C1, D, E, F y G.
4. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende parches absorbentes en los que se absorbe la CnT.
- 15 5. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende un vehículo biodegradable que contiene la CnT.
6. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición que contiene la CnT es inyectable o dispersable como una nebulización acuosa inhalable que la contiene o está contenida en supositorios que la contienen.
- 20 7. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la enfermedad pulmonar se selecciona del grupo que consiste en bronquitis, enfisema y asma hiperreactivo.
8. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la cantidad de CnT administrada por administración está comprendida entre 1 y 100 unidades por administración.
9. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 - 8, para aplicación nasal y/o aplicación en el ganglio esfenopalatino.
- 25 10. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 - 9, en la que el mamífero es preferentemente un miembro de *H. sapiens*.
11. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad de CnT administrada por administración está comprendida entre 1 y 20 unidades por administración.
- 30 12. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, para el tratamiento de la sinusitis y del asma.