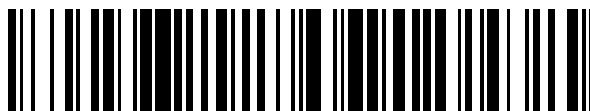


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 961**

51 Int. Cl.:

A61K 38/43 (2006.01)
A61K 38/48 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61P 13/08 (2006.01)
A61P 13/10 (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 08743476 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2013 EP 2117584**

54 Título: **Composiciones de toxina botulínica y métodos**

30 Prioridad:

15.02.2007 US 890052 P

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

07.02.2014

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 2 441 961 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

Composiciones de toxina botulínica y métodos

Referencia cruzada

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de los EE.UU. n.º 60/890.052, registrada el 15 de febrero de 2007.

Antecedentes

10 La presente invención se refiere al uso de enzimas que digieren la matriz extracelular y de neurotoxinas para tratar diferentes afecciones/trastornos de la vejiga, tal como la vejiga hiperactiva, incontinencia urinaria debido a la vejiga hiperactiva o a esfínter detrusor inestable, retención urinaria que aparece tras un esfínter espástico o una hipertrofia del cuello vesical y disfunción de vejiga neurógena (p. ej., debido a la enfermedad de Parkinson, a lesión de la médula espinal, a accidente cerebrovascular o a esclerosis múltiple).

15 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 dificultoso administrar el tratamiento debido a complicaciones por la penetración de la aguja, a problemas del paciente tales como belenefobia, dolor y problemas de formación del médico. Las neurotoxinas, tales como la toxina botulínica, son cada vez más importantes 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 micción imperiosa, poliaquiuria en exceso 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 esta memoria, 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 total de toxina y de la dilución de la toxina utilizada, tal y como se detalla en la presente memoria y se conoce en la técnica.

25 La incontinencia, un síntoma de distintos trastornos urológicos, incluye la incontinencia impulsiva y la incontinencia por esfuerzo. La incontinencia impulsiva implica una súbita e 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 enfermo, 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 impulsiva 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 vesicales, inflamación de la vejiga u obstrucción de la uretra, por ejemplo. Aunque estas afecciones pueden encontrarse tanto en los hombres como en las mujeres, los hombres tienen una carga adicional ya que la incontinencia impulsiva puede deberse también a una enfermedad neurológica o a cambios de la vejiga ocasionados por la hipertrofia benigna de la próstata (HBP) o la obstrucción de la uretra debido al aumento de tamaño de la próstata, por ejemplo.

30 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 impulsiva son idiopáticos, lo que significa que no se les puede identificar una causa específica. La incontinencia impulsiva puede aparecer en cualquier persona a cualquier edad, y es más frecuente en las mujeres y en las personas de edad avanzada.

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

50 Se cree que la toxina botulínica ejerce su efecto sobre la hiperactividad de la vejiga mediante la paralización del músculo detrusor de 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, ambas incorporadas en la presente memoria por referencia, 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, incorporada en la presente memoria por referencia en su totalidad).

- 5 Hasta la fecha, los primeros resultados con la toxina botulínica han sido 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 del aparato reproductor masculino que en parte es glandular y en parte es fibromuscular. Durante el envejecimiento, la próstata tiende a aumentar de tamaño (hipertrofia). Este aumento de tamaño de la próstata puede
10 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 inervación) en la solicitud publicada de patente de los EE.UU. 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 A1, incorporada
15 en la presente memoria mediante referencia en su totalidad, en adición a 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. Los primeros resultados sugieren que la toxina botulínica podría ser importante para el tratamiento del cáncer de próstata, posiblemente porque inhibe la inflamación y reprime la expresión de
20 COX-2.

El gran tamaño de la molécula de la toxina botulínica limita su capacidad de difusión, por lo que no consigue alcanzar las fibras del nervio aferente ni del eferente. Como resultado, los métodos actuales de administración para la VHA, por ejemplo, requiere 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
25 migraña crónica con toxina botulínica, lo que necesita aproximadamente 30 inyecciones en la musculatura de la cabeza y del cuello, y en la hiperhidrosis axilar, que requiere muchas inyecciones en la dermis de las axilas (típicamente entre 10 y 40 inyecciones por axila, según la intensidad de la afección, la región hiperproductora de sudor, el 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 neurona polipeptídica potente, la toxina botulínica, que ocasiona una enfermedad neuroparalizante 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 que no están esterilizados ni cerrados adecuadamente 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 de comer alimentos
30 infectados con un cultivo o esporas de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica parece ser capaz de atravesar sin atenuar la mucosa del intestino y atacar las neuronas motoras periféricas. Los síntomas de la intoxicación con la toxina botulínica progresan desde la dificultad para caminar, deglutir y hablar, a la parálisis de los músculos respiratorios y la muerte.

Una DL₅₀ en los ratones (es decir, 1 unidad) es unos 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). Una unidad de BOTOX® contiene aproximadamente 50 pg (aproximadamente 56 attomol) del complejo de toxina botulínica de tipo A. Resulta interesante que, si se piensa en moles, 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 cobra, y aproximadamente 12 millones de veces más mortal que el cólera. Singh,
45 «Critical aspects of bacteria/protein toxins», páginas 63-84 (capítulo 4) de *Natural Toxins II*, editado por B. R. Singh et al., Plenum Press, Nueva York (1976) (donde la mencionada DL₅₀ de 0,3 ng del tipo A de la toxina botulínica equivalente a 1 unidad está corregido 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
50 Swiss Webster que pesan de 18 a 20 g cada una.

Se han caracterizado 7 neurotoxinas botulínicas diferentes desde el punto de vista inmunitario, que son los serotipos de neurotoxina botulínica A, B, C₁, D, E, F y G, respectivamente, cada uno de los cuales se distingue mediante la neutralización con anticuerpos específicos del tipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían según la especie animal a la que afectan y en la intensidad y duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha
55 determinado que la toxina botulínica de tipo A es 500 veces más potente que la toxina botulínica de tipo B, medido por la velocidad a la que provoca la parálisis en las ratas. 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 manifiestamente 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.

5 Sin tener en cuenta el 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, es importante para el envío de la toxina a la superficie de la
10 célula.

En la segunda etapa, la toxina atraviesa la membrana plasmática de la célula envenenada. La célula engulle primero la toxina mediante endocitosis mediada por receptor, y se forma un endosoma que contiene la toxina. A continuación, la toxina se sale del endosoma y llega al citoplasma celular. 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
15 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 desde la membrana del endosoma al citoplasma.

En la última etapa del mecanismo de la actividad de la toxina botulínica interviene la reducción del puente disulfuro
20 que une la cadena pesada, cadena H, y la cadena ligera, cadena L. Toda la actividad tóxica de la toxina botulínica y de la 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 con 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
25 degradación de la sinaptobrevina (también denominada proteína membranaria asociada a las vesículas [VAMP, por su nombre en inglés]), 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 alguna de estas escisiones. La toxina botulínica de serotipo A y E cortan la SNAP-25. La toxina botulínica de serotipo C₁ se pensaba originalmente que cortaba la sintaxina, pero se halló que cortaba la sintaxina y la SNAP-25. Cada una de las toxinas botulínicas corta
30 específicamente un enlace distinto, excepto la toxina botulínica de tipo B (y la toxina tetánica), que rompen el mismo enlace. Cada uno de estos cortes bloquea el proceso de acoplamiento de la vesícula a la membrana, mediante lo cual se impide la exocitosis del contenido de la vesícula.

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,
35 en 1989, la Agencia Estadounidense del Medicamento (FDA) autorizó un complejo de la toxina botulínica de tipo A para el tratamiento del blefaroespanto, estrabismo y espanto 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 aparentan tener una actividad menos potente y/o que dura menos que el
40 tipo A de la toxina botulínica. Los efectos clínicos de la toxina botulínica de tipo A intramuscular periférica se suelen observar a la semana de la inyección. La media de la duración típica del alivio sintomático a partir de una única inyección intramuscular de la toxina botulínica de tipo A es de 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
45 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 de 25 kDa asociada al sinaptosoma (SNAP-25), pero actúan selectivamente sobre secuencias aminoacídicas diferentes dentro de esta proteína. Los tipos B, D, F y G de la toxina botulínica actúan sobre la proteína asociada a las vesículas (VAMP, también denominada sinaptobrevina), en donde cada serotipo escinde la
50 proteína en un sitio diferente. Finalmente, el tipo C₁ de la toxina botulínica ha demostrado que escinde tanto la sintaxina 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 diferentes serotipos de la toxina botulínica. Al parecer, en muchos tipos celulares diferentes se puede encontrar un sustrato para una toxina botulínica. Véase, p. ej., *Biochem J* 1; 339 (pt 1): 159-65. 1999, y *MovDisord*, 10(3): 376:1995 (las células B de los islotes pancreáticos contienen al menos SNAP-25 y
55 sinaptobrevina).

La masa molecular de la molécula de la proteína de la toxina botulínica, para los siete serotipos conocidos de la toxina botulínica, es de aproximadamente 150 kDa. Resulta interesante que las toxinas botulínicas liberen los clostridios como complejos que comprenden la molécula proteica de la toxina botulínica de 150 kDa junto con las

proteínas asociadas, que no son toxinas. Así pues, el complejo del tipo A de la toxina botulínica puede ser producido por los clostridios como formas de 900 kDa, 500 kDa y 300 kDa. Los tipos B y C₁ de la toxina botulínica sólo se producen 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 (a saber, 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 a la molécula de toxina botulínica frente a la desnaturalización, y protegiendo frente a los ácidos digestivos cuando se ingiere la toxina. Adicionalmente, es posible que cuanto más grandes (una masa molecular de más de aproximadamente 150 kDa) sean los complejos de toxina botulínica, más se enlentezca la velocidad de difusión de la toxina botulínica desde el 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 la acetilcolina y de la noradrenalina en los cultivos primarios de células del tejido del tronco encefálico. Adicionalmente, se ha descrito que la toxina botulínica inhibe la provocación de la liberación de la glicina y del glutamato en los cultivos primarios de neuronas de la médula espinal y que, en las preparaciones de sinaptosomas encefálicos, la toxina botulínica inhibe la liberación de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, noradrenalina (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 (Sanchez-Prieto, J, et al, «Botulinum Toxin A Blocks Glutamate Exocytosis From Guinea Pig Cerebral Cortical Synaptosomes», *Eur. J. Biochem.* 165; 675-681; 1897). Así pues, cuando se utiliza la concentración adecuada, la toxina botulínica inhibe la liberación, provocada por un estímulo, de la mayoría de los neurotransmisores. Véase, p. ej., Pearce, L. B., «Pharmacologic Characterization of Botulinum Toxin For Basic Science and Medicine», *Toxicon* 35(9); 1 373-1 412 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», *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 31, 6; 244-251; 1 981, 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, están típicamente inactivas cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F los producen cepas tanto proteolíticas como no proteolíticas y, por tanto, pueden recuperarse tanto en su 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 explica que la potencia conocida para el tipo B de la toxina botulínica sea significativamente más baja que la del tipo A de la toxina botulínica (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 inactivas de la toxina botulínica en una preparación clínica contribuirá a la carga total de la proteína de la preparación, que se ha relacionado con el incremento de la antigenicidad, sin contribuir a su eficacia clínica. Adicionalmente, se sabe que la actividad el tipo B de la toxina botulínica, tras la inyección intramuscular, dura menos 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 procesos 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.

5 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), Metabologics (Madison, Wisconsin) así como de Sigma Chemicals de San Louis, Missouri. La toxina botulínica pura también puede utilizarse para preparar una composición farmacéutica a utilizar de acuerdo con la presente descripción.

10 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. Se sabe además que cuando el complejo de toxina obtenido mediante los conocidos cultivo, fermentación y purificación se diluye a concentraciones de toxina mucho más bajas para utilizarla en la formulación de la composición farmacéutica, da lugar a la rápida pérdida de toxicidad de la toxina a menos que esté presente un
15 estabilizante adecuado. La dilución de la toxina desde cantidades del orden de miligramos a 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 estabilizante tal como albúmina y gelatina.

20 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 el complejo de la toxina botulínica de tipo A purificada, albúmina y cloruro de sodio envasado en una forma estéril y secado 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 se purifica de la
25 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 µm) antes de secarla al vacío. El producto secado al vacío se conserva en un congelador o por debajo de -5 °C. El BOTOX® puede reconstituirse con solución salina estéril sin conservantes antes de la inyección intramuscular. Cada vial de
30 BOTOX® contiene aproximadamente 100 U del complejo purificado de la neurotoxina de tipo A de la toxina de *Clostridium botulinum*, 0,5 mg de seroalbúmina humana y 0,9 mg de cloruro de sodio en una forma secada al vacío y estéril sin conservantes.

35 Para reconstituir el BOTOX® secado al vacío se utiliza solución salina estéril normal sin conservantes (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 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 desde que el vial se extrajo del congelador y se reconstituyó. Durante estas cuatro horas, el BOTOX® reconstituido se puede conservar en un frigorífico de unos 2 °C a unos 8 °C. El BOTOX® refrigerado y reconstituido se ha descrito que conserva su potencia durante al menos dos semanas (*Neurology*, 48; 249-53, 1997).
40 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
45 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 blefaroespasmó por inyección en el músculo orbicular de los párpados pretarsal lateral del párpado superior y el músculo orbicular de los párpados pretarsal lateral del párpado inferior,
50
- (5) para tratar el estrabismo, en los músculos extraoculares se han inyectado por vía intramuscular entre aproximadamente 1 y 5 U de BOTOX®, en donde la cantidad inyectada varía según el tamaño del músculo en el que se inyecta y el alcance de la parálisis muscular deseada (a saber, cantidad de dioptrías que se desea corregir);
- 55 (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
- 5 (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 recibió una inyección en la misma sesión de tratamiento, por lo que el paciente recibe mediante inyección intramuscular en cada sesión de tratamiento de 90 U a 360 U de BOTOX® en el músculo flexor de la extremidad superior;
- 10 (7) para tratar la migraña, la inyección pericraneal (inyectada simétricamente en los músculos glabellar, frontal y temporal) de 25 U de BOTOX® ha mostrado un beneficio significativo como tratamiento preventivo de la migraña en comparación con el vehículo, tal y como se midió con 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.
- 15 Se sabe que el tipo A de la toxina botulínica puede tener una eficacia de hasta 12 meses (*European J. Neurology* 6 (supl. 4): S111-S1150: 1999), y en algunos casos puede alcanzar incluso los 27 meses, cuando se utilizó para el tratamiento glandular, tal como el tratamiento de la hiperhidrosis. Véase. p. ej., Bushara K., «Botulinum toxin and rhinorrhea», *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996; 114(3): 507, y *The Laryngoscope* 109: 1344-1346; 1999. No obstante, la duración usual del efecto de una inyección intramuscular de BOTOX® es típicamente de
- 20 aproximadamente 3 a 4 meses.

El éxito del tipo A de la toxina botulínica para tratar una serie de afecciones clínicas ha llevado a interesarse por los otros serotipos de la toxina botulínica. Dos preparaciones comerciales del tipo A la toxina botulínica para uso en los 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®) en

25 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

30 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), distintos 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 (véase, p. ej., patentes de los EE.UU. n.º 6.306.423 y 6.312.708) al igual que la administración transdérmica de la toxina botulínica (solicitud de

35 la patente de los EE.UU. de número de serie 10/194805).

Adicionalmente, una toxina botulínica podría tener el efecto de reducir la inducción del dolor inflamatorio en un modelo de rata con dolor inducido con formol. 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

40 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 que la administración de una toxina botulínica en el pie sirve 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.*

45 diciembre de 2002; 102 (4): 167-70), dedos 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)).

50 La toxina tetánica, así como los derivados (a saber, 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, la toxina tetánica y las toxinas botulínicas son polipéptidos fabricados por especies muy relacionadas de *Clostridium* (*Clostridium tetani* y *Clostridium botulinum*, respectivamente).

Adicionalmente, tanto la toxina tetánica como la toxinas botulínicas son proteínas bicatenarias compuestas por una

cadena ligera (masa molecular de unos 50 kDa) unida covalentemente mediante 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 alta afinidad específica por los receptores de gangliósidos de la superficie de las neuronas colinérgicas presinápticas. La endocitosis de la toxina tetánica mediada por el receptor en las 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, inhibición de la exocitosis de la acetilcolina desde las neuronas motoras periféricas intoxicadas y una parálisis flácida.

Finalmente, la toxina tetánica y las toxinas botulínicas se parecen entre sí en cómo se biosintetizan y en la estructura 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, sólo se libera un único tipo de molécula pequeña neurotransmisora en cada tipo de neurona del sistema nervioso de los mamíferos. El neurotransmisor acetilcolina es secretado por las neuronas en muchas regiones del cerebro, pero específicamente por las células piramidales grandes de la corteza motora, por varias neuronas diferentes de los ganglios basales, por las neuronas motoras que inervan los músculos esqueléticos, por las neuronas preganglionares del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático), por las neuronas posganglionares del sistema nervioso parasimpático y por algunas neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático. Esencialmente, sólo las fibras nerviosas simpáticas posganglionares que llegan a las glándulas sudoríparas, a los músculos piloerectores y a unos pocos vasos sanguíneos son colinérgicas, ya que la mayoría de las neuronas posganglionares del sistema nervioso simpático secretan el neurotransmisor noradrenalina. 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 de los nervios parasimpáticos periféricos, tal como la inhibición de la frecuencia cardíaca por el nervio vago.

Las señales eferentes del sistema nervioso autónomo se transmiten al cuerpo a través del sistema nervioso simpático o 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 o 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, y 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 se encuentran 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 y pequeñas se fusionan con la membrana de la célula neuronal presináptica. Una amplia gama 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 paratirina, 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 gran variedad de sustancias, denominadas enzimas proteolíticas, degradan o digieren las sustancias que se encuentran en la matriz extracelular. Éstas 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 hialuronato, que está ampliamente distribuido por los tejidos conjuntivo, epitelial y neural. Este efecto favorece la difusión o dispersión de otros fármacos como los anestésicos. La hialuronidasa se puede inyectar en el

5 tejido conjuntivo para potenciar los efectos de los fármacos que se inyectan concomitantemente.

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 sólo un ejemplo de una hialuronidasa para inyección. VITRASE es un fármaco inyectable autorizado por Agencia Estadounidense del Medicamento (FDA) como complemento de

10 (en combinación con) otros fármacos inyectados para incrementar su absorción y dispersión. Como se mencionó 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 del tejido y favorece la diseminación o dispersión de otros fármacos, por ejemplo acelera el comienzo de la acción de un anestésico. VITRASE también ha sido autorizado para el uso como complemento de rehidratantes y para el uso con

15 determinados radiotrazadores. La hialuronidasa también está disponible como una preparación purificada recombinante de la enzima hialuronidasa humana recombinante, un ejemplo de lo cual es HYLENEX, que vende Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL, EE.UU. HYLENEX (una hialuronidasa recombinante) está disponible como una solución lista para utilizar, sin conservantes, incolora, transparente y 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

20 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 obtenida 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 inyección de soluciones

25 y la velocidad de la difusión es proporcional a la cantidad de enzima. La alcance de la difusión también es proporcional al volumen de la solución, como se conoce en la técnica.

Para tratar la hiperhidrosis axilar se han descrito investigaciones para el mantenimiento de la eficacia, para 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 Goodman G. *Dermatol. Surg.* mayo de 2003; 29

30 (5): 533-8. En este artículo se inyecta una formulación/mezcla que contiene una toxina botulínica y una hialuronidasa para tratar la hiperhidrosis, y también se administran la toxina botulínica y, superpuesta, la hialuronidasa.

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

35 una especificidad de sustrato considerable y que convierten el plasminógeno, el zimógeno inactivo, en plasmina. La plasmina es una proteasa general que es capaz de degradar muchas proteínas, entre ellas laminina, fibronectina, y de activar los restos de colagenasa latentes.

Por tanto, lo que se necesita es un modo de tratar distintos trastornos urológicos que reduzca la cantidad de toxina botulínica administrada a un paciente. Más en particular, se necesita un método que reduzca, o más preferiblemente

40 que incluso elimine, el número de inyecciones, o la necesidad de inyectar, neurotoxinas, tales como las toxinas botulínicas, para tratar diferentes trastornos.

Compendio

La presente descripción satisface la necesidad de un tratamiento de los trastornos de la vejiga mediante la reducción, o incluso la eliminación, del número de inyecciones, o incluso de la necesidad de inyectar, que tiene que sufrir un

45 paciente para tratar el trastorno que el paciente padece.

Definiciones

Tal y como se utiliza en la presente memoria, las palabras o terminología presentadas a continuación tienen las definiciones que siguen.

«Aproximadamente» significa que el elemento, parámetro o terminología así cualificado abarca un abanico de más o

50 menos el 10% por encima o por debajo del valor del elemento, parámetro o terminología mencionado.

«Diana» o «región diana» significa esa localización/región o tejido o glándula de la anatomía de un paciente en la cual la neurotoxina administrada ejerce el efecto deseado. Una diana puede incluir, pero sin limitarse a ellos, 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 5 pulgadas del sitio de administración de una composición de la presente invención, preferiblemente a menos de 3 pulgadas e incluso más preferiblemente a menos de 1 pulgada.

- 5 «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 la presente memoria 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).
- 10 «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 la presente memoria, engloba los serotipos A, B, C₁, D, E, F y G de la toxina botulínica. La toxina botulínica, tal y como se utiliza en la presente memoria, también abarca tanto un complejo de toxina botulínica (a saber, los complejos de 300, 600 y 900 kDa)
- 15 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, entre ellas las proteínas que forman un complejo de toxina botulínica. Una toxina botulínica purificada puede ser pura en más del 95% y preferiblemente es pura a más del 99%. Las citotoxinas botulínicas C₂ y C₃, al no ser neurotoxinas, quedan excluidas del alcance de la presente invención.
- 20 «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.

- «Toxina botulínica modificada» significa una toxina botulínica a la que se ha eliminado, modificado o reemplazado al menos uno de sus aminoácidos, en comparación con una toxina botulínica nativa. Adicionalmente, la toxina botulínica modificada puede ser una neurotoxina producida re 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 diferente de toxina botulínica (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.
- 25
- 30

- 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, más preferiblemente durante aproximadamente 6 a 9 meses o más, y hasta 5 años. La dosificación puede ser una dosis única o acumulativa (serie de dosis) y el experto en la técnica la puede determinar con facilidad. 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 intensidad del trastorno tratado y se mantienen los resultados beneficiosos. El experto en la técnica puede determinar con facilidad la posología de la dosis basándose en, p. ej., el tamaño del paciente, la neurotoxina seleccionada, la afección a tratar, la intensidad del trastorno y otras variables conocidas en la técnica.
- 35
- 40

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

- «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.
- 45

- «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 o innervado 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.
- 50

- Una enzima que digiere la matriz extracelular es una enzima que digiere o degrada al menos un componente de la matriz extracelular. Las enzimas de ejemplo que digieren la matriz extracelular incluyen la hialuronidasa, que digiere
- 55

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, mediante lo cual se mejora la difusión de las neurotoxinas, y reduce el número, o elimina la necesidad, de inyecciones de la neurotoxina, de acuerdo con un aspecto de las presentes enseñanzas.

Una superficie es simplemente un región particular sobre la superficie de un sujeto/paciente, tal como una superficie de la piel, en la cual se administran las composiciones de la presente descripción. Ejemplos no limitantes de superficies incluyen una superficie de la piel axilar, una superficie de la piel palmar y una superficie de la piel plantar.

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

15 «Administrado por vía intravesical» o «administración intravesical» significa la instilación de una composición en una luz para poner en contacto una superficie luminal, tal como una 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 vesical.

20 «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 métodos descritos en la presente memoria. 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.

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

30 El tratamiento de un paciente que tiene un trastorno de la vejiga, de acuerdo con la presente descripción, puede comprender las etapas de administrar una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular a una 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 la superficie, a continuación administrar una segunda composición que contiene una toxina botulínica a la superficie y, posteriormente, dejar que transcurra un tiempo suficiente para que la toxina botulínica se difunda por toda la superficie para aliviar al menos un síntoma asociado al trastorno y tratar al paciente que tiene el trastorno, en donde la superficie es una superficie luminal tal como una superficie luminal de la vejiga. 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.

40 Se pueden utilizar distintos métodos de administración para la administración de las composiciones útiles para poner en práctica los métodos descritos en la presente memoria. En un caso, la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular y de la toxina botulínica a una superficie luminal de la vejiga se consigue mediante instilación de una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, así como la instilación de una composición que contiene la toxina botulínica, en una vejiga, por ejemplo.

45 Adicionalmente, debido a los efectos sinérgicos proporcionados por los métodos practicados de acuerdo con las enseñanzas descritas en la presente memoria, la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular se puede llevar a cabo mediante inyección, por ejemplo, en una pared vesical, mientras que la administración de una segunda composición que contiene la neurotoxina se lleva a cabo por instilación en la vejiga, por lo que se evita la necesidad de inyectar 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 por instilación de la primera composición en una vejiga y la administración de la toxina botulínica se lleve a cabo mediante la inyección de la segunda composición (que contiene una neurotoxina, tal como una toxina botulínica) en una pared vesical.

50 En consecuencia, la administración de la toxina botulínica se puede conseguir con menos de 20 inyecciones en la pared vesical, más preferiblemente con menos de 10 inyecciones en la pared vesical y lo más preferiblemente con la introducción de entre 1 y 5 inyecciones en la pared vesical. Por ejemplo, se pueden administrar un total de 5 inyecciones de neurotoxina, tal como la toxina botulínica, tras la administración de la primera composición que tiene la enzima que digiere la matriz extracelular, del siguiente modo: 1 inyección en la cúpula vesical, 1 inyección a una pared ventral de la pared vesical, 1 inyección a una pared dorsal de la vejiga y 1 inyección en cada pared lateral

(paredes laterales izquierda y derecha de la vejiga) que en total son cinco inyecciones. La toxina botulínica particularmente útil incluye la toxina botulínica seleccionada del grupo que consiste en los tipos A, B, C₁, D, E, F y G de la toxina botulínica.

5 En determinadas realizaciones, los tratamientos descritos en la presente memoria pueden incluir más etapas de vaciado de la vejiga antes de la administración de una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular y, opcionalmente, de vaciado de la vejiga tras la administración de la composición que contiene la enzima que digiere la matriz extracelular, y, opcionalmente, de vaciado de la vejiga tras la administración de la segunda composición que contiene una neurotoxina, tal como una toxina botulínica. Tal y como se mencionó anteriormente, los métodos descritos en la presente memoria pueden incluir la retirada de la primera composición
10 (que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular) y la retirada de la segunda composición (que contiene al menos una neurotoxina, tal como una toxina botulínica).

Los trastornos de la vejiga de ejemplo incluyen vejiga hiperactiva, hipertrofia del cuello vesical e hiperreflexia del detrusor, por ejemplo.

15 En determinadas realizaciones, además de reducir el número de inyecciones utilizadas para tratar los trastornos de la vejiga, el método para administrar una neurotoxina a un paciente que necesita de ella puede excluir específicamente las inyecciones de la neurotoxina o de una enzima que digiere la matriz extracelular, en donde el método comprende las etapas de administrar una primera composición que contiene al menos una enzima que digiere la matriz extracelular sobre una región de superficie luminal del paciente y administrar la segunda
20 composición que contiene una neurotoxina sobre una región de superficie luminal del paciente, en donde la neurotoxina se difunde más 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. Una región de superficie luminal de ejemplo puede ser una superficie luminal de la vejiga.

Por ejemplo, en los métodos que específicamente excluyen la inyección de la neurotoxina o de una enzima que digiere la matriz extracelular, la administración de una enzima que digiere la matriz extracelular o de una toxina
25 botulínica, o de ambas, se consigue con la aplicación mediante al menos una pulverización o friega sobre la superficie luminal del paciente.

Se da a conocer otro método sin inyecciones de acuerdo con la presente descripción para tratar un trastorno de la vejiga en un paciente que lo necesita, que comprende las etapas de instilar una primera composición que contiene hialuronidasa en la vejiga del paciente para poner en contacto una superficie luminal de la vejiga (que tiene una capa
30 de glucosaminoglucano) con la primera composición y mantener la primera composición dentro de la vejiga para dejar que transcurra el tiempo suficiente de tal manera que la hialuronidasa introducida (e instilada) interaccione con la capa de glucosaminoglucano y difunda por la superficie luminal de la vejiga, drenar opcionalmente la primera composición desde la vejiga, instilar una segunda composición que contiene una toxina botulínica de tipo A a la vejiga para poner en contacto la superficie luminal de la vejiga previamente en contacto con la primera composición
35 anteriormente instilada y retirada, y mantener la segunda composición instilada durante un tiempo suficiente dentro de la vejiga de tal forma que difunda una cantidad suficiente de la toxina botulínica de tipo A por la superficie luminal de la vejiga a al menos una capa de la musculatura propia (al menos una de las capas interna longitudinal, circular media y longitudinal externa) y drenar opcionalmente la segunda composición desde la vejiga, por lo que se alivia al menos un síntoma asociado al trastorno y se trata el trastorno del paciente que lo necesita.

40 Los trastornos de la vejiga de ejemplo que se pueden tratar así, es decir, mediante los métodos que no requieren el uso de inyecciones, incluyen los trastornos seleccionados del grupo que consiste en vejiga hiperactiva, hipertrofia del cuello vesical e hiperreflexia del detrusor, por ejemplo.

Todas y cada una de las características descritas en la presente memoria y todas y cada una de las combinaciones de dos o varias de tales características están incluidas dentro del alcance de la presente invención siempre y cuando
45 las características incluidas en tal combinación no sean mutuamente incongruentes.

Descripción

La presente descripción da a conocer tratamientos para trastornos de la vejiga que incluyen vejiga hiperactiva, hipertrofia del cuello vesical e hiperreflexia del detrusor, por ejemplo, que se puede tratar con una enzima que digiere la matriz extracelular junto con una neurotoxina, tal como la toxina botulínica, tal y como se enseña en la
50 presente memoria. Tal uso potencia la difusión de la toxina botulínica y como tal puede reducir, e incluso eliminar, la necesidad de protocolos de inyección que se utilizan típicamente cuando se tratan estos trastornos con la toxina botulínica.

De acuerdo con la presente descripción, en la presente memoria se describen los tratamientos que se aprovechan del efecto sinérgico de utilizar al menos una enzima que digiere la matriz extracelular junto con una neurotoxina,
55 preferiblemente una toxina botulínica, para el tratamiento de una serie de trastornos, tal y como se describe con más

detalle a continuación. Un aspecto ventajoso de los métodos detallados en la presente memoria es la reducción del número, e incluso la eliminación, de inyecciones para administrar cantidades terapéuticamente eficaces de la neurotoxina al paciente, y de este modo se trata el trastorno.

5 La neurotoxina se puede formular en cualquier formulación/formulaciones farmacéuticamente aceptables tales como un líquido, polvo, crema, emulsión, suspensiones, soluciones y similares.

La cantidad de toxina clostridial, tal como la toxina botulínica administrada de acuerdo con un método dentro del alcance de lo descrito en la presente memoria, puede variar de acuerdo con las características concretas del trastorno que se quiere tratar, que incluyen la gravedad y otras variables más del paciente como son tamaño, peso, edad y 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 métodos que no utilizan la inyección de la toxina, tal como la instilación, aplicación con torunda o pulverización de las composiciones que contienen la neurotoxina en regiones a las cuales se ha administrado o se administrará una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular, bien sea mediante inyección o sin inyección. Por supuesto, la cantidad de neurotoxina y de enzima que digiere la matriz extracelular a utilizar en un paciente determinado para el tratamiento de un trastorno/afección concreto lo determinará el médico especialista, tal y como se conoce en el campo de la medicina. Al tratar un trastorno de la vejiga mediante la administración de una neurotoxina en la vejiga de un paciente, el volumen de la solución/dispersión y la concentración de la neurotoxina dependerá del tamaño del paciente, de la intensidad del trastorno, del grosor de la pared vesical, de la concentración o cantidad administrada de la enzima que digiere la matriz extracelular, y de la musculatura, de las enfermedades concurrentes y de otros factores.

En otro ejemplo, los métodos descritos en la presente memoria dan a conocer tratamientos para diversos trastornos de la vejiga, por ejemplo, mediante la administración de una neurotoxina tal como una toxina botulínica en la superficie luminal de la vejiga a la cual se ha administrado una composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular. El acceso a la luz de la vejiga se consigue con facilidad mediante la inserción de un catéter o cánula en la uretra y en la vejiga, tal y como se sabe en la técnica.

Una vez que se ha colocado así el catéter, se instila en la vejiga entre 1 y 1000 ml de una primera composición que contiene la enzima que digiere la matriz extracelular, tal como la hialuronidasa. La solución puede contener cualquier valor desde aproximadamente 25 a aproximadamente 50 unidades de hialuronidasa, el volumen de la composición (por ejemplo una solución) y la concentración de la hialuronidasa dependerán del tamaño del paciente, del grosor de la pared vesical y el músculo, de las enfermedades concomitantes, de la intensidad del trastorno urológico, del peso del paciente, entre otros factores estándares a considerar en el campo de la medicina cuando se determinan las dosis o parámetros apropiados para tratar a determinados pacientes. A continuación, la primera composición se puede drenar desde la vejiga tras dejar que transcurra una cantidad de tiempo suficiente, tal como de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 2 horas. En algunas realizaciones, donde, por ejemplo, se instilan en la vejiga de aproximadamente 10 ml a aproximadamente 50 ml de la primera composición, puede que no exista ninguna necesidad de drenar la vejiga, ya que la composición se puede absorber. Durante este tiempo, se puede cambiar de posición al paciente (girado sobre los costados, sobre el estómago y de espaldas) para que se establezca un contacto exhaustivo entre la primera composición y la superficie luminal de la vejiga. A continuación, la primera composición se puede drenar desde la vejiga (utilizando técnicas de drenaje conocidas, y que pueden incluir el descenso manual y externo de la vejiga, por ejemplo). Posteriormente, una segunda composición que contiene una neurotoxina, preferiblemente una toxina botulínica, lo más preferiblemente una toxina botulínica de tipo A, se administra luego en la vejiga mediante instilación para poner en contacto la superficie luminal de la vejiga que recibió previamente la primera composición que contenía la enzima que digiere la matriz extracelular. Se puede instilar así de aproximadamente 25 a aproximadamente 3000 unidades, más preferiblemente de aproximadamente 100 a aproximadamente 2500 unidades de una toxina botulínica de tipo A, y se pueden instilar así en la vejiga de aproximadamente 500 a aproximadamente 50.000 unidades, y más preferiblemente de aproximadamente 1000 a aproximadamente 25.000 unidades de una toxina botulínica de tipo B o una cantidad clínicamente equivalente para otros serotipos de la toxina botulínica, tal y como conoce el experto en la técnica.

55 La posología de una sustancia neurotóxica que se administra por vía intravesical al paciente es la terapéuticamente eficaz para conseguir el resultado deseado con el tratamiento. En el caso de la toxina botulínica, la dosis típica administrada al paciente puede ser cualquier dosis por debajo de una dosis tóxica (por ejemplo, menos de 3000 unidades de BOTOX®, una toxina botulínica de tipo A, para un hombre de 70 kg), por ejemplo, entre 1 y 1500 unidades y más preferiblemente entre 50 y 500 unidades por paciente y por tratamiento, aunque se pueden

administrar dosis más pequeñas o más grandes cuando sea necesario. Las dosis se pueden administrar como una dosis única, o como dosis divididas por un espacio de tiempo, tal como un periodo de días o semanas o meses, según la duración del efecto para una preparación de determinada neurotoxina.

De modo similar a la primera composición, se puede instilar en la vejiga entre aproximadamente 1 y 5 aproximadamente 1000 ml de la segunda composición que contiene la toxina botulínica y se colocará al paciente en diferentes posiciones como se detalla más arriba. Ya que el paciente probablemente reciba instrucciones de vaciar la vejiga antes del procedimiento, la vejiga probablemente no estará total o marcadamente distendida. En determinadas realizaciones, la instilación de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 ml de solución/dispersión, y más preferiblemente de 10-50 ml de una solución/dispersión, puede ser suficiente para revestir el interior de la 10 vejiga (superficie luminal de la vejiga). Adicionalmente, después de que haya transcurrido una cantidad de tiempo suficiente (p. ej., de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 2 horas) desde la instilación de la segunda composición en la vejiga, la segunda composición que contiene la toxina botulínica se puede drenar desde la vejiga, aunque si se instila un volumen más pequeño de la segunda composición (p. ej., de aproximadamente 1 a 15 aproximadamente 10 ml), el médico especialista puede no desear el drenaje de la vejiga, sino más bien permitir que el paciente drene la segunda composición de forma natural (micción). Una composición (que contiene una toxina botulínica o una enzima que digiere la matriz extracelular o ambas) para la infusión en la vejiga de acuerdo con las enseñanzas de la presente descripción típicamente es de un volumen de aproximadamente 80 a aproximadamente 20 100 ml, y más preferiblemente 80 ml. Por supuesto, el médico especialista puede incrementar o disminuir la concentración de la composición que contiene la neurotoxina y la composición con la enzima que digiere la matriz extracelular, y un volumen de las composiciones instiladas, de acuerdo con el tamaño de la vejiga del paciente (los niños y los adultos jóvenes tienen vejigas más pequeñas que los adultos) y la intensidad del trastorno tratado.

El drenaje de las composiciones instiladas se puede llevar a cabo mediante un catéter o miccionarse de forma natural, teniendo el cuidado apropiado, por supuesto, asociado a la eliminación las composiciones que contienen la neurotoxina. En el plazo de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 días, el paciente puede referir una mejoría 25 urológica e incluso un regreso al estado urológico normal que, para un adulto, es tener una velocidad de flujo de aproximadamente 25 cm³/s y un volumen miccional de aproximadamente 400 cm³.

El drenaje de la primera composición (que contiene la enzima que digiere la matriz extracelular) y de la segunda composición se describen más arriba para la instilación en una vejiga.

Un método de ejemplo para administrar por vía intravesical la primera y la segunda composiciones utiliza un catéter 30 urinario que se extiende por la uretra hasta el interior de la vejiga. El catéter puede ser un «catéter recto» con una sola luz (simplemente un conducto recto) o alternativamente podría ser un catéter que en algunos casos utiliza un balón u otro mecanismo para fijar el catéter dentro de la vejiga (tal como un catéter de Foley). Los tamaños estándares para tales catéteres se conocen en la técnica, tal como 10-16 French (3-5 mm), aunque se podrían utilizar tamaños más grandes o más pequeños según el tamaño del paciente y su anatomía.

35 Una vez que el catéter está en su sitio, a través del catéter se puede instilar en la vejiga típicamente entre 1 y 1000 ml de solución o dispersión que contiene la neurotoxina y más preferiblemente en el margen de 10 a 50 ml de solución o dispersión que contiene la neurotoxina. El volumen de la solución o dispersión y la concentración de la neurotoxina dependerá del tamaño del paciente, del grosor de la pared vesical y del músculo, de las enfermedades concomitantes y de otros factores.

40 Otro medio representativo para administrar por vía intravesical la neurotoxina implica colocar una aguja o catéter suprapúbicos a través de la pared abdominal directamente en la vejiga del paciente. Se trata de un método más invasor y no es el método preferido de acceso a la vejiga; sin embargo, debido a las infecciones de la uretra, obstrucciones, etc., puede ser la mejor vía que el médico especialista tenga a su disposición para acceder a la superficie luminal de la vejiga. El volumen requerido de las composiciones que contienen la enzima que digiere la 45 matriz extracelular y la neurotoxina puede introducirse luego en la vejiga, bien utilizando la visión directa, la endoscópica o la guía fluoroscópica, como se conoce en la técnica. La administración intravesical de acuerdo con la presente descripción se puede llevar a cabo con un cistoscopio que facilita la visión de la administración intravesical de las composiciones. Aquí, las composiciones se pueden introducir en la luz de la vejiga a través del conducto de trabajo del cistoscopio o a través de un catéter u otra estructura tubular pasada por el interior del cistoscopio o junto a 50 él.

En algunos casos, la uretra o el catéter o aguja suprapúbicos puede tener un componente hinchable que se puede inflar dentro de la vejiga para «trabar» la uretra o el catéter o aguja suprapúbicos en el sitio e impedir su retirada. El inflado del balón o de otro dispositivo hinchable ocupa un volumen dentro de la vejiga y puede, por tanto, requerir la administración de menos cantidad de la composición de la enzima que digiere la matriz extracelular y de la 55 composición que contiene la neurotoxina.

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, caso por caso por el médico especialista. Tales determinaciones son

corrientes 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 de administración y la posología de una neurotoxina Clostridial, tal como la toxina botulínica, de acuerdo con la descripción de la presente invención, pueden seleccionarse basándose en criterios tales como las características de solubilidad de la neurotoxina elegida, así como de la intensidad del trastorno tratado.

Los ejemplos que vienen a continuación proporcionan a los expertos en la técnica los métodos preferidos específicos para poner en práctica los métodos que se encuentran dentro del alcance de la presente invención, con los que con ellos se limite el alcance de la invención.

Ejemplos

10 Ejemplo 1

Un paciente de 64 años tiene una vejiga hiperactiva y, como resultado, tiene incontinencia impulsiva y por estrés. 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, éste 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 cual se le introduce un catéter uretral por la uretra 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 sin conservantes (tal como HYLENEX) en 50 ml de solución salina sin conservantes. A continuación se retira el catéter y se inclina la superficie sobre la que reposa el paciente de modo que la cabeza esté más baja que los pies, para que la primera composición entre en contacto con la superficie luminal de la vejiga en la cúpula vesical. 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 (10 minutos en cada uno), 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 ya ha recuperado el control de la 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 la incontinencia por esfuerzo le había impedido practicar.

Ejemplo 2

Un hombre de 72 años padece incontinencia impulsiva debido a una disfunción de vejiga neurógena que es consecuencia de la enfermedad de Parkinson. Esta afección obliga al paciente a realizar, de media, más de 20 visitas al baño al día para miccionar. Le cuenta su situación al médico y éste se decide por la administración a las paredes de la vejiga de una enzima que digiere la matriz extracelular y de la toxina botulínica.

Primero se le pide al paciente que orine por sí mismo antes de introducirle un catéter del tamaño adecuado (3-5 mm) en la uretra. Se le instila en la vejiga una primera composición que contiene 300 unidades USP de hialuronidasa sin conservantes (tal como HYLENEX) en 2 ml de solución y que pase por las posiciones habituales, aunque el paciente ahora permanece en las diferentes 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 dorsal, ventral y lateral y en la cúpula 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), lo que supone una gran reducción de las típicas 20-40 inyecciones de los métodos anteriores en los que se utilizaba únicamente la toxina. La instilación de la enzima que digiere la matriz extracelular en la vejiga y en la superficie luminal de la vejiga facilita que la toxina se difunda mejor 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) al mismo tiempo que se reduce la cantidad de inyecciones que se tienen que realizar.

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 sólo orina de media 4 veces/día).

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

Ejemplo 3

10 Una mujer de 58 años padece retención urinaria que se debe a esfínter espástico y tiene una hipertrofia del cuello vesical. La paciente típicamente orina sólo 2 o 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 afecten a las vías urinarias superiores.

15 En consecuencia, el urólogo introduce un cistoscopio y una aguja endoscópica flexible en la uretra y en la vejiga. Una primera composición que comprende 100 unidades de hialuronidasa en total, tal como VITRASE, se inyecta en el músculo detrusor, en 10 sitios en total, 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 vesical, y se retira el cistoscopio. Al cabo de 10 minutos, una segunda composición de 100 ml de solución salina sin conservantes, 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 cual se vuela a introducir un catéter a la paciente y se evacua la segunda composición. En el plazo de 7 días, el cuidador refiere una mejoría de la polaquiuria (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 de referencia

25 Una estudiante universitaria de 23 años refiere al dermatólogo que el exceso de sudoración axilar 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 roll-on no surten ningún efecto sobre el exceso de sudoración.

30 Tras limpiar la axila de la paciente y secarla con una servilleta de papel, se realiza una prueba con yodo-almidón de Minor para demarcar la región 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 axilar 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) y que se aplica por fricción de la región demarcada con un aplicador, tal como una torunda de algodón. A continuación se deja secar al aire la región durante aproximadamente 10 minutos. En adelante, a la superficie de la piel axilar 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 menos de una semana, la paciente refiere que ya no experimenta la sudoración profusa que la dominaba los días anteriores, y que ya no hay exceso de hipotonicidad local ni efectos adversos sistémicos.

40 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 de referencia

45 Un hombre soltero de 42 años refiere al dermatólogo que el exceso de sudoración axilar 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 le sugiere que utilice una neurotoxina para tratar la hiperhidrosis, ya que todos los antitranspirantes tópicos que ha probado no han resultado eficaces.

50 Después de limpiar la axila del paciente y secarla con una servilleta de papel, se realiza una prueba con yodo-almidón de Minor para demarcar la región hiperhidrótica de la superficie de la piel a tratar (tal como utilizando una tinta de naturaleza vegetal). A esta región de la superficie de la piel axilar 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 la región demarcada con un pulverizador, tal como una bomba no aerosólica. Luego se deja secar al aire la región durante unos 10 minutos. En adelante, a la superficie de la piel axilar se le pulverizan 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 menos de 10 días, el paciente refiere que ya no experimenta la sudoración profusa que le dominaba sus días solitarios anteriores, y que además ya 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 cuales regresó al dermatólogo a por otra ronda de tratamiento.

5 Ejemplo 6 de referencia

Un estudiante de instituto de 15 años refiere al médico de cabecera que sus manos hiperhidróticas son una fuente de gran bochorno. Como consecuencia, el doctor procede a realizarle una prueba con yodo-almidón de Minor para demarcar las regiones a tratar. Parece que el exceso de sudoración se origina principalmente en la zona que de la muñeca a la base de los dedos del paciente.

- 10 En consonancia, 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 índice, y entre la base del dedo 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 cuales 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 un exceso de sudoración.

20 Ejemplo 7 de referencia

- Un hombre de 76 años padece retención urinaria crónica debido al aumento de tamaño de la próstata a causa de la hiperplasia benigna de la próstata. El médico decide 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. Para disminuir al mínimo el número de inyecciones de la toxina botulínica en la próstata, se le inyecta o instila una enzima que digiere la 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 23 galgas, 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 del tipo A de la toxina botulínica (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 la disminución del volumen residual y de la presión tras la micción. Estos efectos beneficiosos se mantienen durante unos 5 meses en este paciente concreto y no se describen efectos adversos. También puede utilizarse una toxina botulínica de tipo B, por ejemplo, de aproximadamente 250 unidades a 1000 unidades por sitio de inyección.

35

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una toxina botulínica para el uso en el tratamiento de un paciente que tiene un trastorno urológico, en donde la composición se administra:
 - a) administrando una primera composición que contiene una enzima que digiere la matriz extracelular a una superficie del paciente;
 - b) permitiendo que transcurra el tiempo suficiente para que la enzima que digiere la matriz extracelular se difunda por la superficie y hacia una diana;
 - d) administrando la composición que comprende la toxina botulínica a la superficie; y
 - e) permitiendo que transcurra el tiempo suficiente para la que la toxina botulínica se difunda por la superficie y hacia la diana, con lo que se alivia al menos un síntoma asociado al trastorno urológico;en donde el trastorno urológico es un trastorno de la vejiga y la superficie de la etapa b) es una superficie luminal.
2. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la superficie luminal es una superficie luminal de la vejiga.
3. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la diana incluye un músculo detrusor y en donde
 - (i) la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular y de la toxina botulínica en la superficie luminal de la vejiga se consigue mediante instilación de la enzima que digiere la matriz extracelular y de la toxina botulínica en una vejiga; o
 - (ii) la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular se lleva a cabo mediante la inyección de la primera composición en una pared vesical de una vejiga, y la administración de la composición que comprende la toxina botulínica es mediante instilación en la vejiga, o
 - (iii) la administración de la enzima que digiere la matriz extracelular se lleva a cabo mediante instilación de la primera composición en una vejiga, y la administración de la toxina botulínica se lleva a cabo mediante la inyección de la composición que comprende la toxina botulínica en una pared vesical de la vejiga.
4. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la administración de la composición que comprende la toxina botulínica se lleva a cabo mediante menos de 20 inyecciones en la pared vesical.
5. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en las toxinas botulínicas de tipo A, B, C₁, D, E, F y G.
6. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la administración de las composiciones comprende además el vaciado de la vejiga antes de la etapa (a), el vaciado de la vejiga después de la etapa (b) y el vaciado de la vejiga después de la etapa (e).
7. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el trastorno de la vejiga se selecciona del grupo que consiste en vejiga hiperactiva, hipertrofia del cuello vesicular e hiperreflexia del detrusor.
8. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enzima que digiere la matriz extracelular es una hialuronidasa, un activador tisular del plasminógeno o una colagenasa.