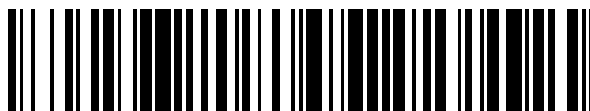


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 538 835**

51 Int. Cl.:

A61K 31/728 (2006.01)

A61P 19/04 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2010** **E 10729069 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015** **EP 2381956**

54 Título: **Tratamiento de lesiones de tejidos blandos utilizando el ácido hialurónico y la toxina botulínica**

30 Prioridad:

07.01.2009 US 142941 P

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

24.06.2015

73 Titular/es:

PETRELLA, ROBERT JOHN (100.0%)
87 Carriage Hill Drive
London, Ontario N5X 3W7, CA

72 Inventor/es:

PETRELLA, ROBERT JOHN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 538 835 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de lesiones de tejidos blandos utilizando el ácido hialurónico y la toxina botulínica

Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento de los tejidos blandos, y más particularmente al uso combinado del ácido hialurónico y la toxina botulínica en el tratamiento de lesiones de tejidos blandos en animales y seres humanos.

Antecedentes

Cada año, millones de personas buscan tratamientos médicos para las lesiones agudas o por uso excesivo de los tejidos blandos, por ejemplo, lesión en los ligamentos (esguinces), o estructuras músculo-tendinosas (distensión muscular).

En el ejemplo de esguince, la lesión de esguince de tejido blando puede variar de primer grado (leve desgarro de ligamentos) a segundo grado (mayor desgarro con la formación de coágulos de sangre y deterioro funcional moderado) a tercer grado (separación total del ligamento asociado con la pérdida de la función y la estabilidad mecánica). Los síntomas incluyen dolor, calor, enrojecimiento, hinchazón y pérdida funcional. Las terapias para el esguince se dirigen a disminuir la inflamación y el dolor. El tratamiento de esguince leve a moderado (primer y segundo grado) por lo general se hace en casa con reposo, hielo, compresión y elevación (el denominado tratamiento RICE, reposo-hielo-compresión-elevación), el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) que incluyen la aspirina, el ibuprofeno y el naproxeno, o la inmovilización con varios dispositivos, incluyendo dispositivos ortopédicos o moldes de yeso. La lesión más grave puede requerir una férula, yeso, o estabilización incluso quirúrgica.

Las lesiones de tejidos blandos también pueden incluir distensiones musculares que resultan de una lesión traumática o del uso inadecuado o excesivo de una unidad músculo-tendón que se caracteriza por dolor, hinchazón y movimiento alterado cuando se utilizan los músculos lesionados. El tratamiento incluye compresas frías o de calor, inmovilización, y/o el uso de los NSAID.

Las lesiones de tejidos blandos, tales como distensiones musculares y esguinces, pueden afectar a cualquier estructura de ligamentos o músculo-tendón e incluyen, pero no están limitadas a los ligamentos y los tendones asociados con las siguientes articulaciones y estructuras: pie, fascia plantar, tobillo, rodilla, estructura rotuliana-femoral, cadera, banda ilio-tibial, espalda, hombro, codo, muñeca, mano, mandíbula y cuello.

El ácido hialurónico (a partir de ahora, "HA"), también conocido como hialuronano, hialuronato o hialuronato sódico, es un glicosaminoglicano no sulfatado abundante que está presente en todos los tejidos de las articulaciones. El HA es un polisacárido lineal de origen compuesto de unidades de disacárido del ácido D-glucurónico-(β -1,3)-N-acetil-D-glucosamina unidas por el enlace β -1,4. En su forma nativa, el HA existe como un polímero de alto peso molecular (alrededor de 10^6 - 10^7 Da). En el líquido sinovial humano normal, el peso molecular del HA es de entre aproximadamente $6 \cdot 7 \times 10^6$ Da, y la concentración es de aproximadamente 2-4 mg/ml. El HA sintetizado por los sinoviocitos es responsable de las propiedades viscoelásticas del líquido sinovial y juega un papel fundamental en el mantenimiento del estado trófico del cartílago. En enfermedades de las articulaciones hay una reducción tanto en la concentración como en el peso molecular de HA.

Se encontró que la inyección intra-articular del HA de alto peso molecular exógeno ($> 5 \times 10^6$ Da) mejora la función en seres humanos con osteoartritis o artritis reumatoide (Maheu et al., Int. J. Clin. Pract. 56:804-813, 2002; Matsuno et al., Inflamm. Res. 48:154-159, 1999). Se requieren de tres a cinco inyecciones intraarticulares semanales para mejorar significativamente el dolor y el estado funcional de los pacientes con osteoartritis, el efecto dura al menos seis meses y hasta un año después de la interrupción del tratamiento (Maheu et al., Int. J. Clin. Pract. 56:804-813, 2002). Se cree que la administración intraarticular de HA puede invertir la degradación de HA observada en la osteoartritis y restaurar la viscosidad del líquido sinovial (viscosuplementación) (Balazs and Denlinger, J. Rheumatol. 20:3-9, 1993). También se encontró que la administración intra-articular de HA mejora la función en los seres humanos con lesión aguda de la rodilla (Zattono et al., Eur. J. Rheumatol. Inflamm. 15:53-69, 1995). Si bien se ha propuesto la administración intra-articular de HA para diversas condiciones, es un proceso complejo ya que la localización de la cavidad de la articulación durante un procedimiento intra-articular es relativamente difícil. Una inyección inapropiada puede conducir a una variedad de complicaciones.

La administración periarticular para el tratamiento de lesión de la articulación se ha descrito en la Patente Europea No. 1677806 expedida el 19 de noviembre de 2008. Se demostró la eficacia de la administración periarticular de HA a los pacientes con esguince de tobillo al compararse favorablemente con la eficacia obtenida con celecoxib, un inhibidor de la ciclooxigenasa-2, o naproxeno, un NSAID.

Otro estudio (Petrella RJ, Petrella MJ, Coglian A. Periarticular hyaluronic acid in acute ankle sprain. Clinical Journal of Sports Medicine 2007;17(4):251-257) describe mejoras significativas en el dolor y la función con inyecciones de HA en esguinces de tobillo laterales en 158 atletas asignados al azar al tratamiento activo frente al placebo. No sólo el efecto fue mayor que con el placebo, sino que se asoció con un alto grado de satisfacción entre los pacientes, tanto a corto como a largo plazo (3 meses), así como la reducción del dolor y regreso más rápido al deporte. Sin embargo, el efecto de HA peri-articular tiene un tiempo de inicio de aproximadamente 4 días.

Existe una ausencia de evidencia clara para apoyar el uso de la toxina botulínica en el tratamiento de lesiones de tejidos blandos. La toxina botulínica se ha usado en el tratamiento de muchas condiciones, incluyendo la inestabilidad del detrusor, síndromes de dolor miofascial, distonía, y calambre del escritor. El impacto directo de la toxina botulínica en las vías del dolor en muchas de estas condiciones sugiere que puede ser útil inmediatamente sobre el dolor del tejido blando. Sin embargo, los resultados de su uso reportado para el tratamiento de la epicondilitis lateral no han sido alentadores. En un estudio (Hayton MJ, Santini AJ, Hughes PJ, Frostick SP, Trail IA, Stanley JK. Botulinum toxin injection in the treatment of tennis elbow. A double-blind, randomized, controlled, pilot study. J Bone Joint Surg Am 2005; 87:503-507.), no se observó diferencia entre la inyección de toxina botulínica y el placebo de solución salina normal en el dolor y la fuerza de agarre. Un efecto secundario de la toxina botulínica puede ser reducir la función del tejido blando en el sitio de administración. Un informe anterior (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment of lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797) describe los efectos secundarios no deseados de paresia menor y debilidad. Otras fuentes de debilidad pueden ser secundarias a la disfunción de liberación de neurotransmisores en la terminal sináptica. El HA, por el contrario, inyectado localmente en el sitio de la lesión no ha aparecido tener ninguna precipitación de riesgo sistémico de episodios adversos, así como ningún efecto adverso local reportado.

Hay muchos informes de uso de NSAID para el tratamiento de la lesión de la articulación. Los NSAID reducen eficazmente el dolor y la hinchazón y la discapacidad asociada con una lesión de la articulación, pero esto puede no alterar el curso clínico del esguince de tobillo con respecto al regreso al deporte y también pueden causar efectos adversos significativos, incluyendo la intolerancia gastrointestinal y episodios graves, tales como úlceras y sangrado.

Las terapias médicas más conocidas para el esguince y distensión muscular, ya sean dirigidas a disminuir la inflamación y/o el dolor, han demostrado ser menos que adecuadas. Existe una necesidad continua de nuevas composiciones y métodos para tratar los tejidos blandos y, en particular una lesión del tejido blando tal como el esguince y la distensión muscular.

Resumen de la invención

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del HA y la toxina botulínica, para uso en el tratamiento del tejido blando lesionado como resultado de un esguince y/o una distensión muscular, en donde dicho tejido blando lesionado se selecciona del grupo que consiste en músculo, fascia, tendón y ligamento.

Se revela en este documento un método para proveer soporte físico interno para el tejido blando en un mamífero, el método que comprende el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y toxina botulínica alrededor del sitio de dicho tejido blando. En aspectos, el tejido blando se lesiona de forma aguda o crónica. La lesión puede ser de un esguince y/o una distensión muscular. En aspectos el HA y la toxina botulínica forman un refuerzo interno para apoyar internamente el tejido blando lesionado para que pueda sanar y prevenir un mayor movimiento, mientras la curación se produce.

La composición de la invención se puede utilizar para el tratamiento de tejidos blando sub-dérmicos en un animal, el método que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una cantidad terapéuticamente eficaz de la toxina botulínica en el sitio de dicho tejido blando lesionado.

También se revela en el presente documento el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una cantidad terapéuticamente eficaz de la toxina botulínica para la preparación de un medicamento, para el tratamiento localizado de tejido blando subdérmico lesionado en un animal.

Se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una cantidad terapéuticamente eficaz de la toxina botulínica para el tratamiento del tejido blando subdérmico lesionado.

Se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una toxina botulínica para el tratamiento de tejidos blandos.

También se revela en este documento un kit que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una cantidad terapéuticamente eficaz de la toxina botulínica para el tratamiento de tejidos blandos subdérmicos lesionados. El kit puede comprender además instrucciones de uso y regímenes de dosificación.

5 En aspectos, el HA y la toxina botulínica son administrados mediante administración periarticular (peri-ligamentosa, peri-fascial y/o perimusculotendinosa). El HA y la toxina botulínica se proveen como una composición.

10 La composición puede proveer un refuerzo interno o andamio para los tejidos blandos, en donde la composición comprende el HA y la toxina botulínica. En aspectos, la composición se proporciona en una manera que rodea el tejido blando para formar un andamio físico y apoyar el tejido. En aspectos, el tejido blando se lesiona de forma aguda o crónica. En otros aspectos, el tejido blando puede haber sufrido degradación, tal como en la piel y la composición de la invención se puede utilizar para apoyar y rellenar la degradación.

La composición utilizada para el tratamiento de esguince o distensión muscular es mínimamente tóxica para el receptor.

15 El HA y la toxina botulínica forman un andamio físico para apoyar dichos tejidos blandos lesionados e inmovilizar dicho tejido blando lesionado de tal manera que un mayor daño es mínimo y dicho tejido blando lesionado puede sanar.

La invención se refiere a un tratamiento sinérgico de HA y toxina botulínica de esguince o distensión muscular en un animal, incluyendo un ser humano.

La composición potencia la rehabilitación de una lesión de los tejidos blandos, tal como un esguince o una distensión muscular.

20 La composición potencia los tratamientos físicos de una lesión de los tejidos blandos, tal como un esguince o una distensión muscular.

La composición potencia el efecto curativo del calor o del frío en el tratamiento de una lesión de los tejidos blandos, tales como el esguince o la distensión muscular.

25 La composición potencia el efecto curativo del ultrasonido en el tratamiento de una lesión de los tejidos blandos, como el esguince o la distensión muscular.

La composición potencia el efecto curativo de la estimulación eléctrica en el tratamiento de una lesión de los tejidos blandos, tal como esguince o distensión muscular.

La composición potencia el efecto curativo de la cirugía en el tratamiento de una lesión de tejidos blandos, tales como el esguince o la distensión muscular.

30 Estos y otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes después de una revisión de la siguiente descripción detallada de la realización revelada y las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

Las realizaciones se describirán ahora, a modo de único ejemplo, con referencia a las Figuras adjuntas, en donde:

La Figura 1 es un diagrama que muestra los puntos de inyección para el tratamiento del esguince de tobillo;

35 La Figura 2 es un diagrama que muestra los puntos de inyección para el tratamiento de la epicondilitis lateral.

Descripción detallada

40 La invención describe una composición para el tratamiento del tejido blando con el uso del HA y la toxina botulínica juntos para formar un andamio físico de apoyo alrededor del tejido blando deseado. El tejido blando se inmoviliza de este modo. En el tejido blando lesionado acompañado de dolor, la toxina botulínica puede trabajar directamente sobre los receptores del dolor aferente en el tejido lesionado, así como paralizar el tejido por lo que no sufrirá daños adicionales incluso después. Así, la combinación de HA y la toxina botulínica es sinónimo de un reparto interno con el alivio del dolor adicional.

La toxina botulínica y el ácido hialurónico se administran alrededor del tejido blando a tratar. El tejido blando se puede seleccionar, pero no limitar a, músculo, fascia, tendón y ligamento. El tejido blando también puede incluir la

fascia, tejidos fibrosos, la grasa y los músculos. En aspectos, la composición se utiliza en un modo de administración seleccionado del grupo que consiste de la administración periarticular, la administración peri-ligamentosa, la administración peri-fascial, la administración peri-musculotendinosa y combinaciones de las mismas.

El tratamiento de la lesión de tejidos blandos tal como los esguinces y las distensiones musculares se puede hacer usando el HA y la toxina botulínica alrededor (es decir, "peri") del tejido blando lesionado. Sin desear estar limitado por la teoría, la administración peri-articular, peri-ligamentosa, peri-fascial o peri-musculo-tendinosa del HA al tejido blando lesionado o el tejido blando susceptible a las lesiones, tales como lesiones o tejido músculo-tendinoso o ligamentoso susceptible, crea un andamio interno o soporte interno biocompatible (es decir, un andamio o refuerzo físico interno), que proporciona estructura y estabilidad de forma y función al tejido lesionado permitiendo así, que se produzca la curación del tejido lesionado. Este tipo de soporte provee protección al sitio de la lesión, restringiendo aún más el movimiento no deseado o perjudicial en el sitio, y/o previniendo una nueva lesión adicional, mientras que permite que se produzca la curación. Se ha demostrado que los tratamientos dirigidos a la reducción de la inflamación y/o dolor asociado con lesiones de tejidos blandos tienen una eficacia limitada o efectos secundarios significativos. El HA puede proveer apoyo para tratar el trauma de un tejido blando lesionado, sin afectar directamente las vías inflamatorias o el dolor. La toxina botulínica puede actuar directamente sobre los receptores del dolor aferente en el tejido lesionado, así como la paralización de los tejidos a tal grado que no sufrirá más daños después del evento agudo, de tal manera que es como si fuera una verdadera inmovilización con yeso sin el yeso. La combinación de los dos juntos (HA y la toxina botulínica) provee más apoyo para que ya sea sola la curación se produzca.

Las composiciones descritas en el presente documento son relativamente fáciles de preparar y administrar. El HA se mantiene estable con el tiempo y puede ser eficaz en regímenes de dosis que están asociados con toxicidad mínima. La toxina botulínica se puede preparar y administrar de acuerdo con informes anteriores, por ejemplo como se describe en la patente de EE.UU. No 6,955,813 publicada el 18 de octubre de 2005, la Publicación de la Solicitud de la patente de EE.UU. No 2004/0151741 publicada el 5 de agosto de 2004, o la Publicación de la Solicitud de la patente de EE.UU. No 2008/0292612 publicada el 27 de noviembre de 2008. Cualquiera de los tipos de toxina botulínica puede ser utilizada, tales como A, B, C1, C2, C3, D, E, F, G y combinaciones de los mismos. La toxina botulínica también está comercialmente disponible de Allergan Inc. bajo la marca comercial Botox™, de Ipsen Ltd. bajo la marca comercial DYSPORT™, y de Solstice Neurosciences bajo la marca comercial MYOBLOC®™.

Las composiciones descritas en este documento proporcionan el tratamiento de un tejido blando de animal o humano y, en particular, lesión de tejidos blandos de animales o humanos, como un esguince o una distensión muscular utilizando una combinación de HA y toxina botulínica.

En aspectos, el HA y la toxina botulínica se pueden proveer como una composición que comprende un vehículo farmacéutico apropiado como se entiende por un experto en la técnica.

La composición descrita en el presente documento es para el tratamiento del tejido blando lesionado tal como, pero no limitando a músculo, fascia, tendones y ligamentos. La lesión de tejidos blandos se trata mediante la administración de HA en una cantidad terapéuticamente eficaz y la toxina botulínica en una cantidad terapéuticamente eficaz para aliviar la lesión. La lesión puede ser aguda o crónica. La lesión puede implicar cualquier tejido blando, tales como estructuras ligamentosas o músculo-tendón incluyendo, pero no limitando a, los ligamentos y los tendones asociados con las siguientes articulaciones y estructuras: pie, fascia plantar, tobillo, rodilla, estructura rotuliana-femoral, cadera, banda ilio-tibial, espalda, hombro, codo, muñeca, mano, mandíbula, la piel y cuello. En ciertos ejemplos, la lesión puede ser un esguince de tobillo, epicondilitis lateral, o una espinilla férula donde el músculo tibial anterior se desgarró del hueso. El método descrito en este documento en aspectos se puede utilizar para el tratamiento de tejidos blandos subdérmicos, donde no se pretende el tratamiento de la piel, lesiones de la piel o trastornos de la piel. En otros aspectos, la degradación de colágeno en la piel debido a diversas razones, tal como por ejemplo el uso de cortisol o lesión, se pueden tratar con las composiciones de la invención, el tratamiento dérmico.

Las composiciones descritas en este documento se pueden usar de forma concomitante con tratamientos conocidos para un esguince y/o una distensión muscular comúnmente utilizados por un experto normal en la técnica. Dichos tratamientos incluyen, pero no se limitan a, el uso de fármacos no esteroides antiinflamatorios (NSAID), RICE, molde de escayola, aparatos ortopédicos, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, corticosteroides, la rehabilitación, terapias físicas, tratamientos con calor y/o frío, ultrasonido, tratamientos eléctricos, cirugía y combinaciones de los mismos.

El HA y la toxina botulínica se pueden administrar en el exterior (es decir, alrededor de, "peri") del tejido blando lesionado, de esta manera se puede administrar por vía peri-articular, peri-ligamentosa y/o peri-musculotendinosa. Los métodos de fabricación de inyecciones periarticulares son conocidos por un experto normal en la técnica. Un ejemplo de un método de administración peri se muestra en la Figura 1. Dichas inyecciones son generalmente subcutáneas y se dirigen a las proximidades de una articulación, especialmente cerca de las inserciones u orígenes de tendones y ligamentos de los músculos (peri-ligamentosa y/o peri-musculotendinosa). Aunque no se desea estar ligado por los siguientes enunciados, se cree que el HA se infiltra alrededor y entre los tejidos, en su interfase,

apoyando así estos tejidos en un andamio y actuando como una forma de un refuerzo interno que ayuda durante el proceso de curación.

Tal como se usa en el presente documento el "ácido hialurónico (HA)" incluye pero no se limita a hialuronano, hialuronato, sales del HA, homólogos, análogos, derivados, complejos, ésteres, fragmentos, y subunidades de HA que son efectivos para formar un refuerzo interno proporcionando una estructura lo que permite que la curación se produzca, después de la administración a un tejido blando lesionado y potencia la actividad de otros agentes terapéuticos utilizados para un esguince y/o una distensión muscular.

El HA se puede utilizar en cualquier variedad de formas que tienen diferentes pesos moleculares como se entiende por un experto en la técnica. En aspectos, el HA puede tener un peso molecular medio de aproximadamente 30-750 kDa, aproximadamente 50-750 kDa, aproximadamente 500-750 kDa, aproximadamente 30 a más de 750 kDa, más de aproximadamente 750 kDa, aproximadamente 750-1200 kDa, más de aproximadamente 500 kDa, o aproximadamente 500-2000 kDa. Estas formas de HA pueden ser libres de especies de HA por debajo de aproximadamente 30 kDa. Otras formas de HA que se pueden usar incluyen aquellas formas que tienen un peso molecular medio de aproximadamente 30-750 kDa, aproximadamente 50-750 kDa, aproximadamente 500-750 kDa, aproximadamente 30 a más de 750 kDa, más de aproximadamente 750 kDa, aproximadamente 750-1200 kDa, más de aproximadamente 500 kDa, o aproximadamente 500-2000 kDa, y también incluyen HA de peso molecular por debajo de aproximadamente 30 kDa. En una realización, el HA que se puede utilizar tiene un peso molecular medio de aproximadamente 30-750 kDa, aproximadamente 50-750 kDa, aproximadamente 500-750 kDa, aproximadamente 30 a más de 750 kDa, más de aproximadamente 750 kDa, aproximadamente 750-1200 kDa, más de aproximadamente 500 kDa, o aproximadamente 500-2000 kDa., y también incluye especies de HA que tienen aproximadamente 24 kDa.

En ciertos ejemplos, la forma de HA que se puede utilizar tiene un peso molecular promedio inferior a 50 kDa, o por debajo de 30 kDa. En una realización, el HA que se puede utilizar tiene un peso molecular medio de aproximadamente 24 kDa. En otra realización, se puede utilizar el HA con un peso molecular medio entre aproximadamente 0.3 kDa y 30 kDa. En otra realización, se puede utilizar el HA con un peso molecular medio entre aproximadamente 10 kDa y 30 kDa.

El HA es altamente viscoso, electronegativo e hidrófilo. Varios métodos para el aislamiento, purificación, fraccionamiento o modificación del HA son conocidos por los expertos en la técnica. El HA en sus muchas formas también es fácilmente disponible a partir de muchos vendedores o fabricantes tal como es entendido por un experto en la técnica, tales como Bioniche Life Sciences Inc, Canada; Anika Therapeutics, USA; Chemedica, Switzerland; Fidia, Italy; Genzyme (Biomatrix), USA; Hyalogic, USA; Hyalose, USA; Lifecore, USA; Seigakaku, Japan; Società Prodotti Antibiotici, Italy and Tedec Meiji, Japan. Las composiciones específicas de hialuronano también están disponibles por ejemplo de los siguientes proveedores: BioMatrix Inc. Ridgefield, N.J. (Synvisc.TM., una mezcla 90:10 de un fluido hilano y un gel hilano.); Fidia S.p.A., Abano Terme, Italy (Hyalgan™, la sal sódica de un ácido hialurónico derivado de la cresta de gallo (aproximadamente 500,000 a aproximadamente 700,000 MW)); Kaken Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan (Artz™, una solución al 1% de un ácido hialurónico derivado de la cresta de gallo, aproximadamente 700,000 MW); Pharmacia AB, Stockholm, Sweden (Healon™, un ácido hialurónico derivado de la cresta de gallo, aproximadamente 4×10^6 MW); Genzyme Corporation, Cambridge, Mass. (Surgicoat™, un ácido hialurónico recombinante.); Pronova Biopolymer, Inc. Portsmouth, N.H. (ácido hialurónico FCH, un alto peso molecular (por ejemplo, aproximadamente $1.5 - 2.2 \times 10^6$ MW) de ácido hialurónico, preparado a partir de cultivos de Streptococcus zooepidemicus; hialuronato sódico MV, aproximadamente $1.0-1.6 \times 10^6$ MW y Hialuronato de sodio LV, aproximadamente $1.5 - 2.2 \times 10^6$ MW); Calbiochem- Novabiochem AB, Lautelfingen, Switzerland (ácido hialurónico, sal sódica (1997 company catalog number 385908) preparado a partir de Streptococcus sp.); Interger Company, Purchase, N.Y. (un ácido hialurónico derivado de la cresta de gallo, $> 1 \times 10^6$ MW); Diosynth Inc., Chicago, Ill; Amerchol Corp., Edison, N.J.; Hyaltec Ltd., Scotland, UK) y Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Tokyo, Japan.

La eficacia terapéutica del HA se puede incrementar por métodos que incluyen, pero no se limitan a, suplementar químicamente el HA, formar complejos de HA con portadores biológicos o químicos o acoplamiento de HA con anticuerpos o ligandos dirigidos al tipo de tejido o tipo de célula.

Como se usa en el presente documento, "toxina botulínica" incluye una molécula que posee la actividad biológica de una toxina de proteína aislada originalmente a partir de cepas de Clostridium botulinum, incluyendo varios inmunitipos tales como A, B, C1, C2, C3, D, E, F y G, e incluyendo análogos, derivados, complejos, fusiones, fragmentos y fuentes recombinantes de los mismos como se conoce en la técnica.

Como se utiliza en este documento, "actividad biológica de una toxina de proteína" incluye parálisis muscular o una inhibición de la exocitosis, en particular, la exocitosis de la acetilcolina u otro neurotransmisor.

La toxina botulínica se puede preparar y administrar de acuerdo con informes anteriores, por ejemplo como se describe en la patente de EE.UU. No. 6,955,813 publicada el 18 de octubre de 2005, la Publicación de la Solicitud de

la Patente de EE.UU. No 2004/0151741 publicada el 5 de agosto de 2004, o la Publicación de la Solicitud de la Patente de No. 2008/0292612 publicada el 27 de noviembre de 2008 (cuyas descripciones se incorporan en este documento por referencia en su totalidad). La toxina botulínica también está comercialmente disponible de Allergan Inc. bajo la marca comercial BOTOX™, de Ipsen Ltd. bajo la marca comercial DYSPORT™, y de Solstice Neurosciences bajo la marca comercial MYOBLOC™.

Aproximadamente 50 picogramos de la toxina botulínica (complejo de la neurotoxina purificada) serotipo A tiene una LD50 en ratones. Una unidad (U) de toxina botulínica se define como la LD50 tras inyección intraperitoneal en ratones Swiss Webster hembra con un peso de 18-20 gramos cada uno. Varias toxinas botulínicas inmunológicamente distintas han sido caracterizadas, incluyendo la toxina botulínica serotipos A, B, C1, C2, C3, D, E, F y G, cada uno de los cuales se distingue por neutralización con anticuerpos específicos del serotipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en las especies animales a las que afectan y en la gravedad y duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica serotipo A es 500 veces más potente, según se determina por la velocidad de parálisis producida en la rata, que la toxina botulínica de serotipo B. Además, se ha determinado que la toxina botulínica serotipo B es no tóxica en primates a una dosis de 480 U/kg que es aproximadamente 12 veces la LD50 en primates para la toxina botulínica serotipo A. Se cree que la toxina botulínica se une con alta afinidad a neuronas motoras colinérgicas, se transloca en la neurona y bloquea la liberación de acetilcolina.

Los estudios *in vitro* han indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por el catión potasio tanto de acetilcolina como de norepinefrina de cultivos celulares primarios de tejido del tronco encefálico. Además, se ha informado que la toxina botulínica inhibe la liberación provocada tanto de glicina como de glutamato en cultivos primarios de neuronas de la médula espinal y que en preparaciones de sinaptosomas de cerebro, la toxina botulínica inhibe la liberación de cada uno de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, norepinefrina, CGRP y glutamato.

El peso molecular de los serotipos de toxina botulínica conocidos, es de aproximadamente 150 kD. Las toxinas botulínicas de origen natural se liberan por la bacteria clostridial como complejos que comprenden la toxina botulínica de 150 kD junto con proteínas no toxinas asociadas. Por lo tanto, el complejo de toxina botulínica serotipo A puede ser producido por la bacteria clostridial como formas de 900 kD, 500 kD y 300 kD. La toxina botulínica de serotipo B y C1 se produce aparentemente como un complejo de 500 kD. Se ha demostrado que la toxina botulínica de serotipo D se produce como complejos tanto de 300 kD como de 500 kD. Finalmente, se ha demostrado que la toxina botulínica serotipo E y F se produce como complejos de aproximadamente 300 kD. Se cree que los complejos (i.e., peso molecular mayor que aproximadamente 150 kD) contienen una proteína hemaglutinina no toxina y una proteína no-hemaglutinina no toxina. Estas dos proteínas no toxinas (que junto con la molécula de toxina botulínica comprenden el complejo de neurotoxina relevante) pueden actuar para proporcionar estabilidad contra la desnaturalización de la molécula de toxina botulínica y protección contra los ácidos digestivos cuando se ingiere la toxina. Adicionalmente, es posible que los complejos de toxina botulínica (mayores de aproximadamente 150 kD del peso molecular) más grandes pueden resultar en una velocidad de difusión más lenta de la toxina botulínica lejos de un sitio de la inyección subcutánea de un complejo de toxina botulínica.

Tal como se usa en el presente documento, "lesión de tejidos blandos" se refiere al daño de los tejidos blandos del cuerpo. Estos tipos de lesiones son una importante fuente de dolor y discapacidad. Los cuatro tejidos fundamentales que se ven afectados son los tejidos epiteliales, musculares, nerviosos y conectivos. De estos cuatro tejidos, las composiciones y los métodos descritos en este documento están destinados principalmente para el tratamiento de los tejidos musculares y conjuntivos. Los tratamientos descritos en este documento están en aspectos destinados a lesiones de tejidos blandos subdérmicos donde la piel no está incluida. Las lesiones de tejidos blandos incluyen, pero no se limitan a, esguinces, distensiones, subluxación, lesiones por esfuerzo repetitivo, síndrome del túnel carpiano, y similares.

Como se utiliza en este documento, "estructura" se refiere a las estructuras asociadas a las articulaciones, incluyendo, pero no limitándose, a los ligamentos, fascia, tendones y músculos.

Tal como se usa en el presente documento, "potencia" se refiere a un grado de sinergismo que es mayor que aditivo.

Como se utiliza en este documento, "sinergia" se refiere a la acción coordinada de dos o más agentes.

Como se usa en el presente documento, "una cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para producir una respuesta terapéutica. Una cantidad eficaz se puede determinar con los estudios de escalado de dosis en ensayos clínicos marcados abiertos o estudios en grupos con ensayos cegados. La administración de una cantidad eficaz de HA y la toxina botulínica a un animal, incluyendo un humano, es un tratamiento terapéutico que previene, trata o elimina una condición aguda o crónica de los tejidos blandos, incluyendo, pero no limitando a, esguince, distensión y calambres en las piernas.

Las composiciones descritas en este documento proporcionan la administración del HA y la toxina botulínica para el tratamiento de heridas de tejidos blandos. El HA y la toxina botulínica se pueden administrar en diferentes momentos o simultáneamente. La toxina botulínica y el HA se pueden proporcionar cada uno solo o como una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertos ejemplos, el HA y la toxina botulínica se pueden administrar alrededor ("peri") de un tejido blando lesionado, por vía periarticular, peri-ligamentosa, peri-fascial y/o peri-musculotendinosa a un animal, incluyendo seres humanos.

La administración de composiciones de HA y toxina botulínica se puede utilizar sola o junto con otras modalidades terapéuticas usadas para el tratamiento de lesiones de tejidos blandos para potenciar su efecto. Dichos agentes y procedimientos incluyen, pero no se limitan a, los fármacos anti-inflamatorios, NSAID, corticosteroides, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, método RICE, tratamiento físico, rehabilitación, tratamiento con calor y/o frío, terapia de ultrasonido, tratamiento eléctrico, tal como piezoeléctrico y otras formas de tratamiento eléctrico transcutáneo utilizadas comúnmente para tratar lesiones musculoesqueléticas y de las articulaciones, la elevación, la compresión, la inmovilización, dispositivos de inmovilización, moldes de yeso y cirugía.

Preparación de composiciones

El HA y/o la toxina botulínica se pueden administrar solos o se pueden formular juntos o de forma independiente en una composición(es) (medicamentos) que comprende un portador farmacéuticamente aceptable incluyendo, pero no limitando a, un portador líquido, un portador sólido o ambos.

Los portadores líquidos son portadores acuosos, portadores no acuosos o ambos e incluyen, pero no se limitan a, suspensiones acuosas, dimetilsulfóxido, etanol, emulsiones de aceite, emulsiones agua en aceite, emulsiones agua-en-aceite-en-agua, emulsiones de sitio específico, emulsiones de larga residencia, emulsiones pegajosas, microemulsiones y nanoemulsiones. Los portadores sólidos son portadores biológicos, portadores químicos o ambos e incluyen, pero no se limitan a, partículas, micropartículas, nanopartículas, microesferas, nanoesferas, extractos de la pared celular bacteriana y polímeros naturales o sintéticos biodegradables o no biodegradables. Los métodos utilizados para el complejo de HA y/o la toxina botulínica con un vehículo sólido incluyen, pero no se limitan a, adsorción directa a la superficie del portador sólido, acoplamiento covalente a la superficie del soporte sólido, ya sea directamente o a través de una fracción de enlace, y el acoplamiento covalente o acoplamiento electrostático con el polímero utilizado para hacer el portador sólido. El HA y/o la toxina botulínica se pueden estabilizar, por ejemplo mediante la adición de polímeros no iónicos o iónicos tales como monooleatos de polioxietilensorbitán (Tween).

Los portadores acuosos incluyen, pero no se limitan a, agua, solución salina y soluciones reguladoras farmacéuticamente aceptables tales como soluciones reguladoras de fosfato. Los portadores no acuosos incluyen, pero no se limitan a, un aceite mineral o un aceite neutro, incluyendo, pero no limitando a, un diglicérido, un triglicérido, un fosfolípido, un lípido, un aceite y mezclas de los mismos, en donde el aceite contiene una mezcla apropiada de ácidos grasos poliinsaturados y saturados. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, aceite de soja, aceite de canola, aceite de palma, aceite de oliva y migliol, en donde los ácidos grasos pueden ser saturados o insaturados. Opcionalmente, los excipientes pueden ser incluidos independientemente del portador farmacéuticamente aceptable utilizado. Estos excipientes incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes, soluciones reguladoras, y bacteriostáticos, y pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

Kits

El HA y la toxina botulínica se pueden proveer juntos en un kit. El kit comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de HA y una cantidad terapéuticamente eficaz de toxina botulínica. El HA y la toxina botulínica se pueden proporcionar en recipientes separados como composiciones separadas o dentro del mismo contenedor como parte de una sola composición. Cada composición de HA y/o toxina botulínica proporcionada en el kit puede incluir un portador farmacéuticamente aceptable. El kit puede comprender además las instrucciones de uso del kit. Por ejemplo, el kit puede comprender instrucciones para la administración localizada del HA y la toxina botulínica para el tratamiento de tejidos blandos lesionados de forma aguda o crónica en un animal. Las instrucciones se pueden dirigir específicamente al tejido blando lesionado seleccionado del grupo constituido por músculo, fascia, tendón y ligamento. En otro ejemplo, el kit puede comprender instrucciones para administración peri-articular, peri-ligamentosa, peri-musculotendinosa o peri-fascial del HA y la toxina botulínica.

Terapia combinada

El HA y la toxina botulínica cada uno se puede administrar solo, en una composición y además en combinación con otras modalidades terapéuticas, incluyendo, pero no limitando a, los fármacos antiinflamatorios, NSAID, corticosteroides, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, el método RICE, tratamiento físico, rehabilitación, tratamiento con calor y/o frío, terapia de ultrasonido, tratamiento eléctrico, elevación, compresión, inmovilización, dispositivo de inmovilización, dispositivos ortopédicos, moldes de yeso y cirugía. Estos agentes terapéuticos tales como fármacos antiinflamatorios, NSAID, corticosteroides, e inhibidores de la ciclooxigenasa-2 se administran utilizando

dosificaciones y vías conocidas por un experto normal en la técnica. Por ejemplo, fármacos antiinflamatorios, NSAID, corticosteroides e inhibidores de la ciclooxigenasa-2 se pueden administrar por vía oral. Los corticosteroides también se pueden administrar por vía intravenosa, por vía tópica, en una articulación o a través de otras rutas conocidas por un experto normal en la técnica de administración de corticosteroides.

- 5 La vía de administración del HA y la toxina botulínica incluye, pero no se limita a, inyección periarticular, periligamentosa, peri-fascial o peri-musculotendinosa. Cualquier dispositivo apropiado, tal como una jeringa se puede utilizar para administrar el HA y la toxina botulínica, o la(s) composición(es) de HA y toxina botulínica como es conocido por un experto en la técnica.

- 10 El HA y la toxina botulínica se pueden dosificar de acuerdo con métodos conocidos. La cantidad de HA administrada por dosis es de aproximadamente 0.001 a 1000 mg, más específicamente de aproximadamente 0.1 a 100 mg, de aproximadamente 1 a 10 mg, y de aproximadamente 0.1 mg a 5 mg. El volumen por dosis puede ser de aproximadamente 0.01 a 5.0 ml por dosis, y en aspectos de aproximadamente 0.1 a 2.0 ml por dosis, aproximadamente 0.5 a 1.0 ml por dosis o 0.01 a 1.0 ml por dosis. La concentración del HA proporcionada en la composición puede estar en el intervalo de aproximadamente 5 a 100 mg/ml de la solución, en aspectos de 5 a 50 mg/ml de la solución y cualquier rango entre los mismos. La administración ocurre generalmente en las proximidades de una lesión de tejidos blandos, tal como un esguince, distensión muscular o calambres en la pierna.

- Un experto en la técnica puede determinar la(s) dosis y frecuencia(s) de administración apropiada(s) para lograr un resultado clínico óptimo. Es decir, un experto en medicina sería capaz de administrar la cantidad apropiada de la toxina botulínica en el(los) momento(s) apropiado(s) para tratar eficazmente el tejido(s) blando(s) lesionado(s). La dosis de la toxina a ser administrada depende de una variedad de factores, incluyendo el tamaño del tejido blando, la gravedad de la lesión de tejidos blandos, el tipo y/o la fuente de la toxina botulínica, y similares. Por ejemplo, de aproximadamente 0.1 U/kg a aproximadamente 15 U/kg, de toxina botulínica tipo A puede ser administrada al tejido blando lesionado. Como otro ejemplo, aproximadamente 1 U/kg a aproximadamente 20 U/kg de toxina botulínica tipo A se puede administrar al tejido blando lesionado. En otros ejemplos, el uso de aproximadamente 0.1 U/kg a aproximadamente 30 U/kg de una toxina botulínica tipo A y de aproximadamente 1 U/kg a aproximadamente 150 U/kg de una toxina botulínica tipo B se contempla para los métodos descritos en este documento. Con respecto a los otros serotipos de toxina botulínica (incluyendo los tipos de toxina E y F) ejemplos de la dosificación U/kg para ser utilizada entran en el intervalo de aproximadamente 0.1 U/kg a aproximadamente 150 U/kg.

- Desde su introducción como agente terapéutico, la medición farmacéutica de la denervación o la actividad biológica de la toxina botulínica ha sido la unidad LD50 usando un ratón Swiss-Webster de 18-22 gramos, cuantificada estadísticamente mediante la inyección de cohortes de ratones a diferentes diluciones a partir de la proteína de toxina botulínica purificada o sus complejos de proteínas. Esta medida tiene la ventaja de la simplicidad de una determinación del punto final claro (ratón vivo o muerto). Se sabe que la dosis unitaria de la LD50 varía dependiendo del inmunotipo de toxina botulínica en comparación en los estudios clínicos. Por ejemplo, una preparación de toxina botulínica tipo B (MYOBLOC®) requiere 5,000-15,000 unidades de LD50 para tratar la tortícolis mientras que otra preparación de toxina botulínica tipo A (BOTOX) requiere sólo 100 a 300 unidades de LD50. Del mismo modo, la unidad de LD50 puede variar entre diferentes fuentes del mismo inmunotipo de la toxina botulínica. Por ejemplo, aproximadamente 50 a 300 unidades de BOTOX™ se requiere para tratar el blefaroespasma y la distonía cervical en comparación con 200-1200 unidades de DYSPORT, otra preparación de la toxina botulínica tipo A. Un experto en la técnica puede tener en cuenta tales variables para la preparación de un régimen de dosificación.

- La administración del HA y la toxina botulínica o el HA y la toxina botulínica más otras modalidades terapéuticas, la cantidad por dosis, el horario de dosis y el método de administración se debe decidir por el practicante utilizando métodos conocidos por los expertos en la técnica y dependerá del tipo de lesión, la gravedad de la lesión, la localización de la lesión y otros factores clínicos tales como el tamaño, peso y condición física del receptor. Como tal, el HA y la toxina botulínica se pueden administrar juntos o de forma independiente una vez, dos veces o varias veces según lo indicado por el médico en cantidades y concentraciones como se indica por el médico. El HA y la toxina botulínica o HA y la toxina botulínica más otros agentes o métodos terapéuticos se pueden administrar o aplicar en un tratamiento de dosis única, en tratamientos de dosis múltiples o continuamente infundidos en un horario y durante un período de tiempo apropiado para la lesión que se está tratando, la condición del receptor y la vía de administración. Por otra parte, la toxina botulínica y HA se pueden administrar juntos o la toxina botulínica se pueden administrar o aplicar antes, a aproximadamente al mismo tiempo que, o después de la administración de HA. Del mismo modo, los agentes o métodos terapéuticos se pueden administrar o aplicar antes, al mismo tiempo que, o después de la administración de cada uno de HA y la toxina botulínica.

- Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar adicionalmente la presente invención no obstante, al mismo tiempo, sin constituir ninguna limitación de la misma.

EJEMPLO 1

Preparación del HA y la toxina botulínica

El ácido hialurónico se suministra en un vial de dosis única que contiene una solución al 1% de sal sódica del ácido hialurónico con un peso molecular medio de 500 - 2.000 kilodaltons (Hyaltec, Scotland, UK) en suficiente excipiente para hacer un volumen total de 1.5 cc. Los viales se almacenaron a temperatura ambiente (10-30 °C). La toxina botulínica se provee como 60 unidades (en 1 cc) de Botox (Allergan, US). El volumen total de ácido hialurónico y Botox fue de 2.5 cc.

EJEMPLO 2

Eficacia del HA y la toxina botulínica en el esguince de tobillo después de la administración periarticular

Los esguinces de tobillo están entre las más comunes de todas las lesiones deportivas, con aproximadamente 2 millones de personas al año en busca de tratamiento médico. Los datos de la lista resumida del servicio de urgencias de 2000 sondeos de Atención Médica Ambulatoria del Hospital Nacional de 1.375 millones de visitas a los servicios de emergencia en los Estados Unidos, solamente los esguinces de tobillo representan aproximadamente el 1.3% de todas las visitas atribuibles. Por lo tanto, el impacto económico de estas lesiones es alto. Los esguinces de tobillo están afectando con mayor frecuencia el complejo lateral del ligamento (talofibular anterior, talofibular posterior y calcaneofibular). Estos son secundarios a esguinces varo o de inversión, incluyendo un espectro de síntomas y la gravedad tal como dolor, hinchazón, sensibilidad, pérdida de la función normalmente definida como primer, segundo o tercer grado. La mayoría de los esguinces de tobillo son del primer o segundo grado o leve a moderado en intensidad de los síntomas.

Las guías de tratamiento no son consistentes, sin embargo, la Academia Americana de Cirujanos Ortopédicos recomienda que un programa de rehabilitación inicial de hasta tres semanas comienza con medicamentos no esteroideos anti-inflamatorios, reposo, hielo, compresión y elevación (RICE), resistencia al peso protegida, movilización temprana y el ejercicio isométrico. Este régimen de tratamiento, que es la conservación, puede limitar la discapacidad a un promedio de 8 - 10 días para los esguinces de primer grado y 2-3 semanas para un esguince de segundo grado. Sin embargo, este enfoque no puede modificar el grado de la discapacidad o el período de recuperación. En un estudio de esguince de tobillo, se encontró que el dolor y la disfunción persiste hasta 16 a 18 meses después del esguince inicial en el 73% de los pacientes con, además un 40% que reportó una incapacidad para caminar y el 11% continúa utilizando medicamentos para los síntomas de dolor en el tobillo. En un largo plazo de seguimiento del estudio, el 40% de los pacientes reportó síntomas a largo plazo residuales y disfunción incluso 6.5 años después del esguince de tobillo inicial.

Los NSAID reducen eficazmente el dolor y la hinchazón y la discapacidad asociada con esguince de tobillo, pero esto puede no alterar el curso clínico del esguince de tobillo con respecto al retorno de un deporte y también puede causar episodios adversos significativos, incluyendo la intolerancia gastrointestinal y episodios graves como úlceras y sangrado.

Métodos:

Se llevó a cabo un estudio doble ciego, controlado con placebo de HA combinado con toxina botulínica en comparación con HA solo, toxina botulínica sola, y placebo.

Se obtuvo la aprobación del Comité de Evaluación de Ética y todos los pacientes dieron el consentimiento y por escrito. El estudio se realizó entre marzo de 2004 hasta diciembre de 2007, donde los pacientes consecutivos fueron reclutados de tres instalaciones de medicina deportiva de atención primaria en Ontario, Canadá. El número total de los esguinces de tobillo en estas instalaciones durante los dos años anteriores a este estudio fue 1,174. Los médicos y el personal del estudio asistieron a una reunión de investigación previa al estudio para garantizar la estandarización de los procedimientos de estudio, la recopilación de datos y la gestión. El estudio se realizó de acuerdo con Declaration of Helsinki Good Clinical Practice Guidelines.

Los pacientes fueron examinados en la clínica, de acuerdo con los criterios de inclusión/exclusión seleccionados. Los criterios de inclusión de elegibilidad incluyeron: 18 años de edad y mayores, esguince de tobillo lateral de primer y segundo grado dentro de las 48 horas antes de la inscripción en el estudio, un dolor en el tobillo moderado reportado o > 4.5 cm. en la resistencia al peso completa en una evaluación del paciente de dolor del tobillo usando una Escala Visual Analógica (VAS) de 10 cm., y la disponibilidad para la duración del estudio (12 meses). Los criterios de exclusión fueron: esguince de tobillo bilateral, lesión en la rodilla ipsilateral, esguince de tobillo de tercer grado, esguince de tobillo anterior dentro de los seis meses, los pacientes que habían utilizado recientemente fármacos antiinflamatorios, relajantes musculares, medicamentos psicotrópicos que podrían confundir los resultados, los pacientes con antecedentes de enfermedad gastrointestinal, renal o hepática grave, los pacientes con enfermedades reumáticas (incluyendo osteoartritis), historial de abuso de drogas o alcohol, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia con potencial de maternidad no estar dispuesto a utilizar una forma aceptable de anticoncepción durante el estudio, o haber recibido un producto en investigación dentro de los 30 días de la primera visita del estudio.

Detección del esguince de tobillo:

- El diagnóstico de esguince de tobillo de primer o segundo grado fue hecho por los entrenadores de atletismo afiliado a los Programas de Atletismo de la Universidad, médicos de urgencias en los hospitales locales afiliados, y los médicos de familia en la base de referencia que luego remitieron a los pacientes dentro de las 48 horas para las clínicas de medicina deportiva. Se pidió a los pacientes que participaran en el estudio y la obligación de informar dentro de las 48 horas de su lesión. Esta visita fue seguida de la prestación del consentimiento dado por el paciente y luego una evaluación de detección y reconocimiento físico por un médico del estudio. El dolor en la inscripción, según lo evaluado por la Escala Analógica Visual, para la elegibilidad requerida > 4.5 cm., en una escala de 0-10 cm.. Los pacientes fueron aleatorizados 1: 4 a uno de los cuatro grupos de tratamiento utilizando un programa de aleatorización generado por ordenador: 1) HA rango de peso molecular 500-2000 kilodaltons periarticular (20 mg) más la toxina botulínica (Botox 60 unidades), 2) HA rango de peso molecular 500-2000 kilodaltons periarticular (20 mg.) solo, 3) la toxina botulínica (Botox 60 unidades) sola, y 4) solución salina normal. Se aconseja también a todos los pacientes en relación con las medidas de apoyo estándar, incluyendo RICE (reposo, hielo, compresión y elevación).
- Las evaluaciones se realizaron al inicio del estudio y en los Días 4, 8, 30, 90, y 12 meses como se resume en la Tabla 1. Las mediciones de eficacia para la VAS del paciente incluido en esguince de tobillo de dolor en la resistencia al peso (0-10 cm) y caminar 20 metros (0-10 cm), la evaluación global del paciente de lesión en el tobillo (escala categórica 5.), la evaluación del paciente del regreso a la función/actividad y deporte normal (escala categórica 5.), la evaluación de la satisfacción del paciente (escala categórica 10.), número de días de un regreso absoluto a la actividad deportiva (días), los episodios adversos según la definición de la Organización Mundial de la Salud. En el inicio del estudio (dentro de las 48 horas del esguince de tobillo), los pacientes tuvieron un examen completo, así como una radiografía para excluir otras patologías.

Tabla 1. Horario del Tiempo y Episodios en Esguince de tobillo

Evaluaciones	Inicio del estudio/Día 1	Día 4	Día 8	Día 30	Día 90	Día 356
Consentimiento Informado	X					
Antecedentes médicos	X					
Signos Vitales y Examen Físico	X					X
Evaluación de Rayos X	X					
VAS del paciente de dolor en resistencia al peso	X		X	X	X	X
VAS del paciente de dolor al caminar (20 m)	X		X	X	X	X
Evaluación global del paciente de lesión en el tobillo	X		X	X	X	X
Evaluación del paciente de función/actividad normal	X		X	X	X	X
Evaluación de satisfacción de los pacientes			X	X	X	X
Número de días para volver al deporte			X	X	X	X
Administración del Tratamiento	X					
Medicamentos concomitantes	X	X	X	X	X	X
Episodios Adversos		X	X	X	X	X

Después de la evaluación de los resultados, los asignados al azar al tratamiento recibieron una sola inyección de: HA + Botox (1.5 cc de HA + Botox 60 unidades 1.0 cc), HA solo (1.5 cc), Botox solo (60 unidades, 1.0 cc), o placebo (2.5 cc de solución salina normal).

- 5 Las inyecciones peri-articulares para el tratamiento del esguince de tobillo se realizaron con la técnica descrita anteriormente (Petrella RJ, Petrella MJ, Coglianò A. Periarticular hyaluronic acid in acute ankle sprain. Clinical Journal de Sports Medicine 2007;17(4):251-257). En resumen, se administró una inyección usando una sola penetración a lo largo de tres planos en el punto de interés de los ligamentos anterior-posterior, medial, y lateral a proximal (Figura 1). Todas las evaluaciones y las inyecciones se repitieron en el Día 4 ($\pm$ un día). Se permitió una medicación de rescate (tabletas de acetaminofén de 500 mg. hasta 4 comprimidos al día) en todos los grupos, pero se detuvo durante las 24 horas anteriores a cada visita del estudio. Las jeringas se ocultaban mediante una cinta, así como una jeringa modificada para aproximar las presiones similares ejercidas sobre el acto de inyección. Esto se ha descrito previamente (Petrella RJ, Petrella MJ, Coglianò A. Periarticular hyaluronic acid in acute ankle sprain. Clinical Journal de Sports Medicine 2007;17(4):251-257). Los pacientes eran libres de retirarse del ensayo en cualquier momento.
- 10
- 15 El seguimiento de las evaluaciones se realizó en los Días 8, 30, 90 y 12 meses. El Día 8 ($\pm$ dos días), el Día 30 ($\pm$ siete días), el Día 90 ($\pm$ siete días) y 12 meses ($\pm$ siete días). Los episodios adversos y medicaciones concomitantes se evaluaron a través de la participación del paciente en el estudio.

Mediciones del Resultado:

- 20 El resultado principal de eficacia fue VAS de dolor en resistencia al peso en esguince de tobillo en el Día 8. Los resultados de eficacia secundarios incluyeron: VAS con dolor caminando 20 metros, la evaluación global del paciente de la lesión en el tobillo, la evaluación del regreso a función/actividad normal del paciente en el deporte, la evaluación de la satisfacción del paciente, y el número de días para el regreso absoluto al deporte.

A los pacientes también se les prescribió medicación de rescate (tabletas de acetaminofén de 500 mg. hasta cuatro comprimidos al día), pero que se detuvo 24 horas antes de cada visita del estudio.

- 25 Materiales de estudio:

El ácido hialurónico se suministra en un vial de dosis única que contiene solución al 1% de sal de sodio del ácido hialurónico con un peso molecular promedio de 500-2000 kilodaltons en suficiente excipiente para hacer un volumen total de 1.5 cc. Los viales se almacenaron a temperatura ambiente (10-30 °C). La solución salina normal se provee en 2.5 cc. La toxina botulínica se provee como Botox 60 unidades (Allergan, EE.UU.) en 1 cc.

- 30 Evaluación de la seguridad:

Durante el tratamiento - el seguimiento de las fases para evaluar la seguridad, la evaluación de los episodios adversos (a lo largo del estudio) y los signos vitales se realizaron en todos los pacientes que recibieron al menos una dosis de los productos del estudio.

Análisis Estadístico:

- 35 El tamaño de la muestra para el esguince de tobillo se determinó para permitir la detección de la diferencia de 20 mm en resistencia al peso VAS en el Día 8 asumiendo una desviación estándar de menos o igual a 10 mm de la distribución media de peso, α de 5% y un nivel β de 10%, dando una potencia estadística del 90%. Con una velocidad de abandono potencial de aproximadamente 10%, se estimó un tamaño de muestra de 150 pacientes.

- 40 Los datos demográficos y del inicio del estudio fueron comparados dentro de los cuatro grupos utilizando la prueba t de student para las variables continuas y estadísticas de chi cuadrado para las variables no continuas. El análisis estadístico se basa en la población (ITT) con el objetivo de tratar. Se analizaron las variables de eficacia y seguridad entre los grupos que utilizan métodos estadísticos apropiados, incluyendo la prueba t de student para las variables cuantitativas, prueba de chi cuadrado para las variables nominales, prueba de Mann-Whitney para las variables ordinales. Se realizó el análisis de datos utilizando una versión SAS 8.0 (SAS Institute, Carey, North Carolina).
- 45 Todas las pruebas estadísticas fueron de dos colas con un nivel al 5% de significancia.

El punto final de eficacia principal para el esguince de tobillo fue la disminución del dolor en la resistencia al peso del Día 8. Los episodios adversos se enumeraron individualmente y se resumen por sistema corporal.

Resultados:

Un total de 500 pacientes fueron seleccionados y la población con el objetivo de tratar fue 258 pacientes. Las razones para la no participación en el estudio incluyeron no estar disponibles para el período de estudio, lesiones concomitantes, el uso de los NSAID, esguince de tobillo anterior dentro de los seis meses, y la aversión a las inyecciones. La edad media de la población del estudio para esguince de tobillo fue de 26 (± 7 años). Hubo igualdad en las representaciones hombre/mujer entre los grupos en el estudio de esguince de tobillo. No hubo diferencias entre los grupos al inicio del estudio de las condiciones concomitantes ni hubo diferencias en la administración de inyecciones entre los grupos. Durante todas las fases del tratamiento se obtuvo un 100% de cumplimiento para la serie de la inyección. El tiempo para la intervención en el estudio de esguince de tobillo fue de 38 (± 4 horas). Siete pacientes del estudio de esguince de tobillo no lograron un seguimiento a los 90 días y 21 pacientes a los 12 meses. Las razones de la falta de seguimiento fueron la no-eficacia del tratamiento, el desplazamiento fuera del sitio de estudio, y el fracaso para volver por razones desconocidas. Todos los que no regresaron eran estudiantes en la población universitaria (transitorios).

Respuesta terapéutica Global:

La satisfacción del paciente con las puntuaciones del tratamiento entre los sujetos mostró 92% frente al 48% que favorece el HA + Botox vs placebo, 77% contra 57% para HA frente al placebo, 74% contra 57% para Botox vs placebo. Hubo una diferencia estadística entre HA + Botox vs todos los otros grupos. Esto fue consistente durante los Días 4, 8, 30, 90 y 12 meses de seguimiento (prueba de chi cuadrado, $p < 0.0001$) (Tabla 2).

Tolerancia:

Se observaron seis episodios adversos entre todos los sujetos incluidos dos en el HA + Botox, dos en el Botox, uno en el placebo, y uno de los grupos de HA. Los episodios adversos incluyeron eritema leve, parestesia leve en el tobillo en el Día 4 sin efectos residuales más allá del Día 8. El dolor de episodios adversos en los cuatro grupos no difiere en intensidad. No se informaron episodios adversos para las visitas de estudio restantes en el Día 8, 30, 90 y 12 meses. No hubo episodios adversos graves.

Eficacia:

Criterio principal para el descenso desde el inicio hasta la Visita 2 (Día 8 - ± 1) en la que lleva el dolor calculado en la población con el objetivo de tratar, se muestran en la Tabla 2. Los cambios desde el inicio del estudio a la Visita 1 (día 4) en el dolor de resistencia al peso fueron:

- -7.1 (± 1.1) para HA + Botox;

- -2.4 (± 1.18) para HA solo;

- -2.4 (± 1.2) para Botox solo; y

- -1.3 (± 1) para el placebo.

Dolor para caminar en la visita 1 (Día 4):

- -6.6 (± 1.4) para HA + Botox;

- -4.3 (± 2.0) para HA solo;

- -3.5 (± 1.8) para Botox solo; y

- -1.76 (± 2.4) para el placebo.

Para la Visita 2 (Día 8), Visita 3 (Día 30), Visita 4 (Día 90), y Visita 5 (Día 356), se logró la significancia estadística ($p < 0.001$) para HA + Botox contra el placebo, así como frente a todos los otros tratamientos para tanto la VAS de resistencia al peso como la VAS de caminar.

Tabla 2: Características del sujeto con esguince de tobillo, los resultados de eficacia y seguridad.

Fase de tratamiento doble ciego						Día 356 (n = 250)
características	inicio del estudio (n = 258)	Día 4 (n = 256)	Día 8 (n = 256)	Día 30 (n = 255)	Día 90 (n = 252)	
VAS Dolor de carga de peso (cambio en cm desde el inicio del estudio), media (SD)						
HA + Botox	8.3 (1.1)	-7.1 (1.1) ⁺⁺	-7.2 (1.5) ⁺⁺	-7.7 (1.0) ⁺⁺	-8.2 (1.1) ⁺⁺	-8.3 (1.2) ⁺⁺
Botox	8.1 (1.4)	-2.4 (1.2)	-2.5 (1.1)	-2.8 (1.1)	-3.0 (2.1)	-6.4 (2.0)
HA	7.9 (1.1)	-2.46 (1.18) ⁺⁺	-3.0 (1.7)	-3.41 (1.62) ⁺⁺	-3.7 (1.22) ⁺⁺	-6.01 (2.31) ⁺⁺
PL	8.0 (1.5)	-1.13 (0.17)	-1.5 (2.0)	-2.38 (1.72) [*]	-2.42 (1.09) [*]	-6.1 (1.222) [*]
VAS Dolor al caminar (cambio en cm desde el inicio del estudio), media (SD)						
HA + Botox	8.9 (1.1)	-6.6 (1.4) ⁺⁺	-8.6 (1.0) ⁺⁺	-8.9 (0.1) ⁺⁺	-8.8 (0.1) ⁺⁺	[-8.8 (0.1) ⁺⁺
Botox	9.1 (0.9)	-3.5 (1.8)	-3.2 (1.8)	-3.4 (0.4)	-3.6 (1.1)	-2.9 (1.1)
HA	8.8 (1.0)	-4.33 (2.02)	-3.9 (1.9)	-5.62 (2.54)	-5.68 (2.55) [*]	-5.10 (1.92) [*]
PL	9.0 (0.5)	-1.76 (2.43) [*]	-1.1 (2.3)	-1.2 (1.16) [*]	-2.67 (1.89) [*]	-3.78 (1.99) [*]

Todos los parámetros de eficacia secundarios mejoraron durante el estudio en todos los grupos. Sin embargo, las comparaciones intergrupales mostraron una diferencia estadísticamente significativa a favor de HA + Botox en comparación con otros tratamientos después de la Visita 1, en todos los parámetros de eficacia. Por lo tanto, las variables secundarias de eficacia fueron globalmente coherentes con las que se refieren al resultado primario.

En el estudio actual, los resultados para HA + Botox son inesperados. El grupo HA + Botox había mejorado significativamente los resultados primarios y secundarios a los 4 días, 8 días, 30 días, 90 días y 12 meses en comparación con todos los demás grupos. La magnitud de la mejora supera la suma de cualquiera de los tratamientos solos. Además, la satisfacción del paciente también fue significativamente mayor en el grupo HA + Botox a los 4 días y 8 días. Los hallazgos en el grupo HA fueron similares a los reportados previamente (Petrella RJ, Petrella MJ, Cogliano A. Periarticular hyaluronic acid in acute ankle sprain. Clinical Journal de Sports Medicine 2007;17(4):251-257), mostrando consistencia de la metodología. Por lo tanto, se ha desarrollado y validado una terapia novedosa, alternativa, para el esguince agudo de tobillo. Este tratamiento resultó en un mejor regreso al deporte y tenía pocos y similares efectos adversos menores al placebo, mientras que los resultados primarios y secundarios mejoraron más que cualquier tratamiento descrito en la literatura hasta la fecha.

Los resultados mostraron no sólo una mejora positiva, sino inesperadamente superior con HA y Botox en comparación con cualquiera de los tratamientos solos. Además, esta nueva terapia mostró muy pocos efectos adversos que fueron similares al placebo. Un regreso al deporte más rápido con HA + Botox es sin duda de importancia para aquellos que se enfrentan con el regreso a niveles competitivos al deporte antes en su rehabilitación. Los resultados hasta 12 meses sugieren que la mejora superior con HA + Botox continúa superior a las de otros tratamientos y puede resultar en un menor número de lesiones en el largo plazo. El seguimiento a largo plazo sugiere que se observa la seguridad crónica de este tratamiento y se está realizando una investigación adicional incluyendo combinaciones de HA y Botox en otros modelos de trauma de tejidos blandos. La investigación adicional también debe incluir aquellos pacientes que se presentan con naturaleza más crónica de su discapacidad, incluyendo esguince de tobillo crónico, recurrente.

EJEMPLO 3

Eficacia del HA y la toxina botulínica en la epicondilitis lateral después de la administración periarticular

El codo de tenista (epicondilitis lateral) es una causa común de dolor en el codo y disfunción extensora de la muñeca en los adultos, afectando aproximadamente al 1-3% de la población general anual. El dolor con la palpación localizado alrededor del epicóndilo lateral generalmente caracteriza la condición mientras que el dolor se reproduce por extensión resistente de la muñeca o el dedo medio con el codo en una posición extendida recta. El codo de tenista o la epicondilitis lateral es común en las actividades deportivas de las extremidades superiores, como golf y tenis. Esto da lugar al tiempo y morbilidad significativos lejos del deporte. Actualmente no existe un consenso sobre el tratamiento óptimo, sin embargo, los NSAID tópicos u orales a menudo se recomiendan para el alivio del dolor a corto plazo. Las inyecciones de corticosteroides han demostrado ser beneficiosos, al menos temporalmente, pero conllevan el riesgo de episodios adversos. Estos también se corresponden con episodios adversos como resultado del uso tanto tópico como oral de NSAID.

Métodos:

Se llevó a cabo un estudio doble ciego, controlado con placebo de HA combinado con toxina botulínica en comparación con HA solo, toxina botulínica sola, y placebo.

Se obtuvo la aprobación del Comité de Evaluación de Ética y todos los pacientes dieron el consentimiento y por escrito. El estudio se realizó en marzo de 2004 hasta diciembre de 2007, donde los pacientes consecutivos fueron reclutados de tres instalaciones de medicina deportiva de atención primaria en Ontario, Canadá. El número total de presentaciones epicondilitis lateral en estas instalaciones durante los dos años anteriores a este estudio fue 310. Los médicos del estudio y el personal asistieron a una reunión de investigación previa al estudio para garantizar la estandarización de los procedimientos de estudio, recopilación de datos y la gestión. El estudio se realizó de acuerdo con the Declaration of Helsinki Good Clinical Practice Guidelines.

Los criterios de inclusión del estudio de epicondilitis lateral incluyen: dolor en el lado lateral del codo que había persistido > 4.5 cm. sobre un 10 cm. VAS con la muñeca y el codo en extensión completa más de dos semanas, pero menos de tres meses. Los criterios de exclusión fueron: inyecciones locales anteriores, incluyendo los corticosteroides o la acupuntura o HA, atrapamiento del nervio, el embarazo, la lactancia, trastornos neuromusculares sistémicos, o el uso actual de medicamentos antiinflamatorios, relajantes musculares o medicamentos psicotrópicos, pacientes con antecedentes graves de enfermedad gastrointestinal, renal o hepática, los pacientes con enfermedades reumáticas (incluyendo la osteoartritis), historial de abuso de drogas o alcohol. También se excluyeron los pacientes si habían participado en un producto en fase de investigación previa dentro de los 30 días de la primera visita del estudio.

Detección de epicondilitis lateral:

En el grupo de la epicondilitis lateral, los pacientes fueron remitidos por los médicos de familia y auto-referencia a las clínicas de medicina deportiva. La detección incluyó la evaluación por un médico del estudio que confirma el dolor lateral en el codo más de dos semanas y menos de tres meses, particularmente exacerbado durante la dorsiflexión resistida de la muñeca con el codo en extensión completa con una puntuación VAS > 4.5 cm sobre una VAS de 0-10 cm. A continuación, los pacientes fueron aleatorizados 1: 4 a uno de los cuatro grupos de tratamiento utilizando un programa de aleatorización generado por ordenador: 1) HA rango de peso molecular 500-2000 kilodaltons periarticular (20 mg) más la toxina botulínica (Botox 60 unidades), 2) HA rango de peso molecular 500-2000 kilodaltons periarticular (20 mg.) solo, 3) toxina botulínica (Botox 60 unidades) sola, y 4) solución salina normal. Se aconseja también a todos los pacientes en relación con las medidas de apoyo estándar, incluyendo RICE (reposo, hielo, compresión y elevación).

Las evaluaciones se realizaron al inicio del estudio y en los días 8, 30, 90, y 12 meses que se resumen en la Tabla 3. Las medidas de eficacia para la epicondilitis lateral incluído VAS del paciente de dolor en el agarre (0-10 cm), la fuerza de agarre, de la evaluación global del paciente de la lesión (escala categórica 5.), la evaluación del paciente del regreso a la función/actividad normal y el deporte (escala categórica 5.), la evaluación de la satisfacción del paciente (escala categórica 10.), los episodios adversos según la definición de la Organización Mundial de la Salud.

Tabla 3: Horario del Tiempo y Episodios en epicondilitis lateral

Evaluaciones	Inicio del estudio / Día 1	Día 8	Día 30	Día 90	Día 356
Consentimiento Informado	X				
Antecedentes médicos	X				

Evaluaciones	Inicio del estudio / Día 1	Día 8	Día 30	Día 90	Día 356
Signos Vitales y Examen Físico	X				X
Evaluación de Rayos X	X				
VAS Pacientes de dolor en el agarre	X	X	X	X	X
Fuerza de agarre (N)	X	X	X	X	X
Evaluación global de pacientes de lesiones	X		X	X	X
Evaluación de los pacientes de la función/actividad normal	X		X	X	X
Evaluación de la satisfacción de los pacientes			X	X	X
Administración del Tratamiento	X				
Medicamentos concomitantes	X	X	X	X	X
Episodios Adversos		X	X	X	X

Fases de Tratamiento:

Después de la evaluación de resultados, los asignados al azar al tratamiento recibieron una sola inyección de: HA + botox (1.5 cc de HA + Botox 60 unidades, 1,0 cc), HA solo (2.0 cc), Botox solo (60 unidades, 1.0 cc), o placebo (solución salina normal 2.5 cc).

Para las inyecciones de la epicondilitis lateral, los pacientes flexionaron el brazo afectado en reposo sobre una superficie firme con el investigador administrando la inyección profundamente en el músculo y tejido subcutánea 1 cm., desde el epicóndilo lateral hacia el punto principal de dolor (Figura 2). Las jeringas se ocultaban poniéndoles cinta, así como una jeringa modificada para aproximar presiones similares ejercidas sobre el acto de inyección. Esto ha sido descrito previamente (Petrella RJ, Petrella MJ, Coglian A. Periarticular hyaluronic acid in acute ankle sprain. Clinical Journal de Sports Medicine 2007;17(4):251-257).

El seguimiento de las evaluaciones se realizó en los días 8, 30, 90 y 12 meses. El Día 8 ($\pm$ dos días), el Día 30 ($\pm$ siete días), el Día 90 ($\pm$ siete días) y 12 meses ($\pm$ siete días). Los episodios adversos y medicaciones concomitantes se evaluaron a través de la participación del paciente en el estudio.

Mediciones del Resultado:

En la epicondilitis lateral, el criterio principal de valoración fue la intensidad del dolor utilizando VAS de 10 cm que oscila de 0-10 cm en reposo. Los resultados secundarios incluyeron: la fuerza de agarre utilizando un dinamómetro de mano hidráulico Jamar (Sammons Preston, Bolingbrook, Illinois), evaluación global del paciente de lesión codo de tenista, la satisfacción del paciente, el número de días para volver al deporte completo. La evaluación se llevó a cabo con el codo del paciente completamente extendido y la manija del dinamómetro en la posición media. Los pacientes realizaron tres pruebas de agarre en el brazo afectado con una puntuación media calculada y utilizada para el análisis. Las puntuaciones de fuerza de agarre y VAS se registraron al inicio del estudio, 8 días, 30 días, 90 días y 12 meses. A los pacientes también se les prescribió medicación de rescate (Tabletas de acetaminofen de 500 mg., hasta cuatro comprimidos al día), pero que se detuvo 24 horas antes de cada visita del estudio.

Materiales de estudio:

El ácido hialurónico se suministró en un vial de dosis única que contiene solución al 1% de sal sódica del ácido hialurónico con un peso molecular promedio de 500-2000 kilodaltons en suficiente excipiente para hacer un volumen total de 1.5 cc. Los viales se almacenaron a temperatura ambiente (10-30 °C). La solución salina normal se provee en 2.5 cc. El Botox se provee como 60 unidades (Allergan, US) en 1 cc.

Evaluación de la seguridad:

Durante el tratamiento - se realizaron el seguimiento de las fases para evaluar la seguridad, la evaluación de los episodios adversos (a lo largo del estudio) y los signos vitales, en todos los pacientes que recibieron al menos una dosis de los productos del estudio.

Análisis Estadístico:

- 5 Para el estudio de epicondilitis lateral, se estimó que se necesita un tamaño de muestra de 60, para lograr un poder estadístico del 80% para detectar una diferencia del 40% en los valores de la VAS entre el tratamiento combinado de HA y Botox y de cualquiera de los tratamientos solos en grupos de tratamiento a un nivel de significación estadística de 0.05, α de 5% a 8 días. Las estimaciones se basan en los resultados de un estudio anterior (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment de lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797) que comparó los corticosteroides con el placebo, el cual informó una diferencia del 40% en las puntuaciones de la VAS. El poder estadístico se basa también en el estudio anterior por Wong et al. (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment de lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797).
- 10
- 15 Los datos demográficos y de inicio del estudio se compararon dentro de los cuatro grupos utilizando la prueba t de student para las variables continuas y estadísticas de chi cuadrado para las variables no continuas. El análisis estadístico se basa en la población (ITT) con el objetivo de tratar. Se analizaron las variables de eficacia y seguridad entre los grupos que utilizan métodos estadísticos apropiados, incluyendo la prueba t de student para las variables cuantitativas, prueba de chi cuadrado para las variables nominales, prueba de Mann-Whitney para las variables ordinales. Se realizó el análisis de datos utilizando una versión SAS 8.0 (SAS Institute, Carey, North Carolina). Todas las pruebas estadísticas fueron de dos colas con un nivel de 5% de significancia.
- 20

Resultados:

- 25 Un total de 100 pacientes fueron seleccionados y la población con el objetivo de tratar fue de 88 pacientes. Las razones para la no participación en el estudio incluyeron no estar disponible para el período de estudio, lesiones concomitantes, el uso de NSAID, y la aversión a las inyecciones. La edad promedio de la población de estudio para el estudio de epicondilitis lateral fue de 49 años (± 12 años). Había más mujeres que hombres en el estudio de epicondilitis lateral, pero la diferencia no fue significativa, según lo determinado estadísticamente usando las características iniciales. No hubo diferencias entre los grupos al inicio del estudio de las condiciones concomitantes ni hubo diferencias en la administración de inyecciones entre los grupos. Se obtuvo un 100% de cumplimiento con la serie de inyecciones a través de las fases de tratamiento. El tiempo para la intervención en el estudio de la epicondilitis lateral fue de 32 días (± 18 días). Seis pacientes en el estudio de epicondilitis lateral fallaron en el seguimiento a los 90 días y 18 pacientes a los 12 meses. Las razones de la falta de seguimiento fueron, la no-eficacia del tratamiento, el desplazamiento fuera del sitio de estudio, y el fracaso para volver por razones desconocidas. Todos los que no regresaron eran estudiantes en la población universitaria (transitorio).
- 30

- 35 Respuesta terapéutica global:

La satisfacción del paciente con las puntuaciones de tratamiento entre los sujetos mostró que el 88% frente al 21% favoreciendo HA + Botox vs placebo, 53% vs 20% para HA frente a placebo, 49% frente a 18% para el Botox vs placebo. Hubo una diferencia estadística entre HA + Botox vs todos los otros grupos. Esto fue consistente durante los días 8, 30, 90 y 12 meses de seguimiento (prueba de chi cuadrado, $p < 0.0001$) (Tabla 4).

- 40 Tolerancia:

En el estudio de la epicondilitis lateral, cuatro pacientes en el grupo HA + Botox tenían parestesia leve en el sitio de la inyección a los 8 días, mientras que tres pacientes tenían síntomas similares a los 8 días en el Botox. No hubo Episodios Adversos reportados en los otros grupos. No había debilidad persistente o parestesia más allá del Día 8.

Eficacia:

- 45 Los resultados de eficacia principal fue la VAS del dolor en el agarre con la mano en la Visita 2 (día 8), Tabla 4. El cambio en el agarre con la mano desde el inicio del estudio a la Visita 2 fue:

- -6.7 (± 2.0) para HA + Botox;
- -3.1 (± 1.5) para HA solo;
- -2.7 (± 2.0) para Botox solo;

- -1.0 (+ 1.9) para el placebo.

La VAS mejoró en la Visita 3 a la Visita 5 sólo en el grupo HA + Botox. El agarre total también aumentó en el HA + Botox en cada visita al igual que la satisfacción del paciente. Hubo una mejora significativa en el grupo HA en todos los parámetros, pero la diferencia fue mayor en el grupo HA + Botox. No se observaron diferencias en los grupos de Botox solo o con placebo frente al inicio del estudio.

Tabla 4: Características y Resultados de los sujetos con epicondilitis lateral

Fase de tratamiento doble ciego					Día 356 (n = 88)
Características	Inicio del estudio (n-88)	Día 8 (n = 88)	Día 30 (n = 88)	Día 90 (n = 88)	
VAS del dolor en el agarre, media (SD)					
HA + Botox	7.8(2.2)	-6.7(2)	-7.8 (1.2)	-7.8 (1.1)	-6.7 (1.3)
Botox	8.1 (2.3)	-2.7 (2)	-3.1(1.1)	-2.2 (1.1)	-1.1 (0.9)
HA	7.9(2.3)	-3.10 (1.5) ^{*+}	-3.81 (1.5) ^{*+}	- 4.0 (1.8) ^{*+}	-1.27 (0.8) ^{*+}
Placebo	8.2(2.7)	- 1.12 (1.9)	-1.1 (1.72) [*]	-1.09 (0.8)*	-1.47 (1.0) [*]

En el estudio actual, los resultados para HA + Botox son inesperados.

En el estudio de la epicondilitis lateral, se demostró que HA + Botox era superior a cualquiera de los otros grupos de tratamiento. Además, el efecto de HA + Botox en el resultado primario y secundario fue mayor que la suma de los grupos ya sea el HA solo, o el Botox solo. Los hallazgos con el grupo de control solo Botox, están en consonancia con los de algunos estudios presentados anteriormente (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment de lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797), pero en desacuerdo con estudios previos que no habían mostrado ningún cambio (Keizer SB, Rutten HP, Pilot P, Morre HH, van Os JJ, Verburg AD. Botulinum toxin injection contra surgical treatment for tennis elbow: a randomized pilot study. Clin Orthop Relat Res 2002; 125-131). Además, la duración del seguimiento fue considerablemente mayor que la reportada previamente en la literatura. Específicamente, la mejora aguda en los resultados primarios y secundarios no sólo fue encontrar en 8 días, pero estos hallazgos fueron persistentes hasta por lo menos 12 meses. Además, el número de sujetos estudiados es mayor que el reportado previamente y se suma a la capacidad de generalizar los resultados. Tamaños de efectos pequeños y los intervalos de confianza amplios descritos anteriormente pueden ser atribuibles a los tamaños pequeños de muestra.

La dosificación, en el estudio de la epicondilitis lateral, fue similar a la de estudios previos (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment de lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797; Keizer SB, Rutten HP, Pilot P, Morre HH, van Os JJ, Verburg AD. Botulinum toxin injection contra surgical treatment for tennis elbow: a randomized pilot study. Clin Orthop Relat Res 2002; 125-131; Morre HH, Keizer SB, van Os JJ. Treatment de chronic tennis elbow with botulinum toxin. Lancet 1997; 349:1746). Los puntos de referencia para la inyección fueron similares a los descritos anteriormente usando orientación electromiográfica (Morre HH, Keizer SB, van Os JJ. Treatment de chronic tennis elbow with botulinum toxin. Lancet 1997; 349:1746). Los métodos fueron similares a los de Wong et al. (2005) en el cual el uso del método clínico es más probable reflejar la práctica diaria, donde electromiografía puede no ser fácilmente factible (Molloy FM, Shill HA, Kaelin-Lang A, Karp BI. Accuracy of muscle localization without EMG: implications for treatment de limb dystonia. Neurology 2002; 58:806-807). Los sujetos en el estudio actual incluyen lesión más reciente, en comparación con los de estudios previos (Wong SM, Hui ACF, Tong PY, Poon DWF, Yu E, Wong LKS. Treatment de lateral epicondylitis with botulinum toxin. A randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 2005; 143:793-797; Hayton MJ, Santini AJ, Hughes PJ, Frostick SP, Trail IA, Stanley JK. Botulinum toxin injection in the treatment de tennis elbow. A double-blind, randomized, controlled, pilot study. J Bone Joint Surg Am 2005; 87:503-507).

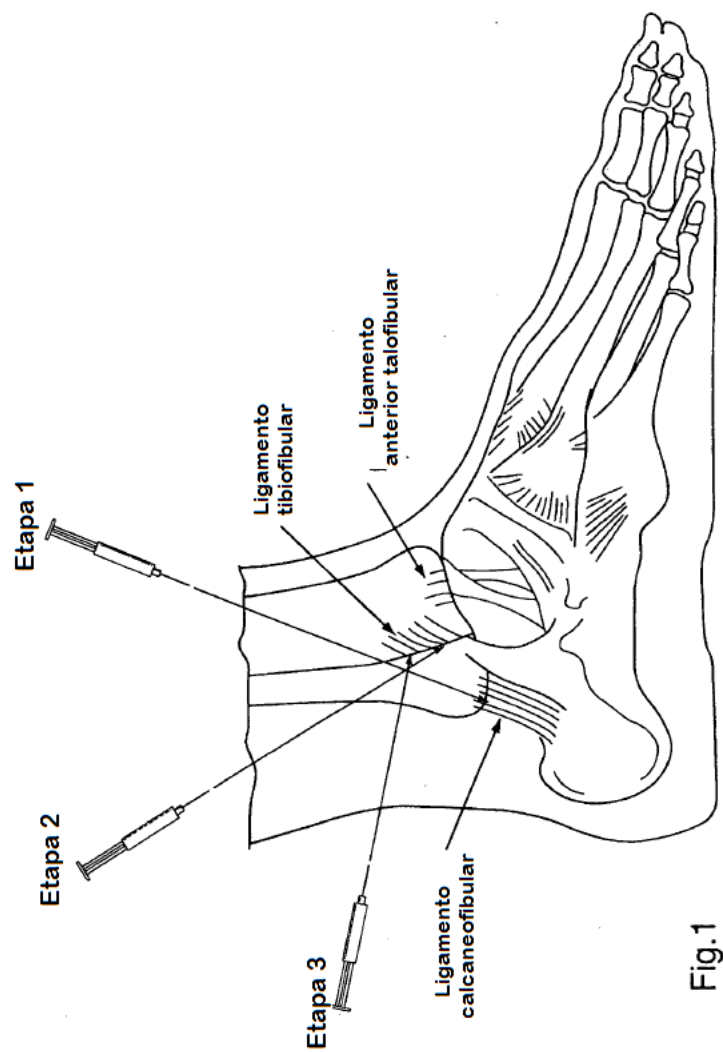
Los resultados de este estudio mostraron no sólo una mejora positiva sino inesperadamente superior en la epicondilitis lateral con HA y Botox en comparación con cualquiera de los tratamientos solos. Además, esta nueva terapia mostró unos efectos muy adversos que fueron similares al placebo. El regreso más rápido al deporte con HA + Botox es sin duda de importancia para aquellos que se enfrentan con el regreso a los niveles competitivos de

deporte antes en su rehabilitación. Los resultados hasta 12 meses sugieren que la mejora superior con HA + Botox continúan superiores a las de otros tratamientos y puede tener un impacto de menos lesiones en el largo plazo.

- 5 En la epicondilitis lateral, hay pocas terapias probadas o recomendadas disponibles. Los nuevos resultados de efectos mejorados mayores que cualquiera HA o Botox solos con pocos episodios adversos son ciertamente significativos en términos de relevancia para la práctica. Una investigación adicional debe incluir aquellos pacientes que se presentan con la naturaleza más crónica de su discapacidad, incluyendo codo de tenista crónico, recurrente.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del ácido hialurónico (HA) y la toxina botulínica, para uso en el tratamiento del tejido blando lesionado como resultado de un esguince y/o una distensión muscular,
- 5 en donde dicho tejido blando lesionado se selecciona de entre el grupo que consiste en músculo, fascia, tendón y ligamento.
2. Una composición para uso de la reivindicación 1, en donde dicho tejido blando se lesiona de forma aguda o crónica.
3. La composición para uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde dichos HA y toxina botulínica forman un andamio interno alrededor de dicho tejido blando para inmovilizar o restringir además el movimiento no deseado de los tejidos blandos.
- 10 4. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha toxina botulínica paraliza el tejido blando para ayudar a restringir el movimiento del tejido blando junto con el HA.
5. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho uso es para uso periarticular, periligamento, perimusculotendinosa, peri-fascial y/o combinaciones de los mismos.
- 15 6. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
7. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el HA tiene un peso molecular superior a 500 kDa y/o dicho HA está provisto de una combinación de pesos moleculares.
- 20 8. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en tipos A, B, C, D, E, F y G.
9. La composición para uso de la reivindicación 8, en donde la toxina botulínica es del tipo A o B.
10. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde dicho tejido blando es tejido sub-dérmico.
- 25 11. La composición para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el HA y la toxina botulínica se administran/suministran juntos o de forma concurrente.
12. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la administración del HA y la toxina botulínica se realiza por separado.
- 30 13. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde dicha composición se utiliza junto con uno o más de un NSAID, un corticosteroide, un inhibidor de la ciclooxigenasa-2, tratamiento por RICE, rehabilitación, tratamiento físico, tratamiento eléctrico, calor, frío, ultrasonido, compresión, elevación, inmovilización, dispositivo ortopédico, un molde de yeso o molde de escayola.



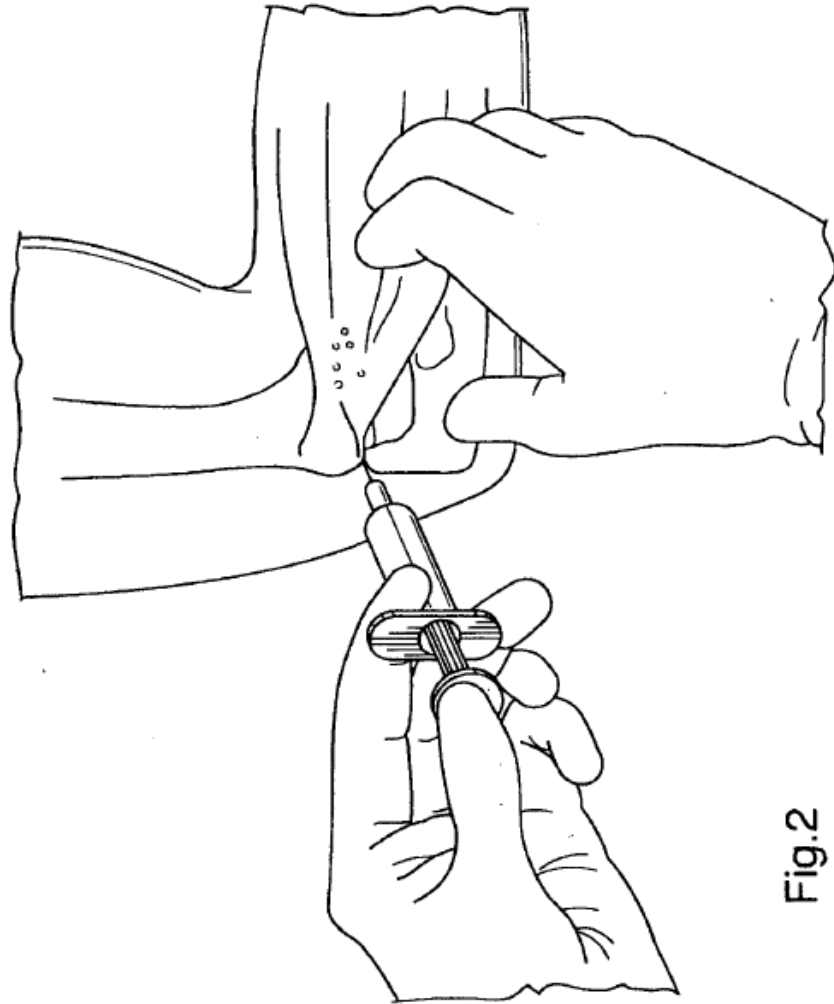


Fig.2