(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 748 609**

(51) Int. CI.:

A61K 31/137 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)
A61K 8/41 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2014 PCT/GB2014/050686**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2014 WO14135896**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2014 E 14716626 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019 EP 2964206**

(54) Título: **Agonista de receptor β2-adrenérgico para igualar el color de las cicatrices de la piel**

(30) Prioridad:

08.03.2013 GB 201304234

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.03.2020

(73) Titular/es:

UNIVERSITY OF LEICESTER (100.0%)
University Road
Leicester LE1 7RH, GB

(72) Inventor/es:

PULLAR, CHRISTINE ELAINE

(74) Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

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

Agonista de receptor β2-adrenérgico para igualar el color de las cicatrices de la piel

La presente invención se refiere al campo de los medicamentos y los métodos de tratamiento no terapéuticos para la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel, por ejemplo, por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices.

Los fibroblastos están implicados en numerosos procesos en el cuerpo. La curación de heridas es un proceso complejo que requiere la activación combinada de numerosos procesos que incluyen la modulación de la actividad de fibroblastos. Durante el proceso de curación de heridas, los fibroblastos dérmicos migran al lecho de la herida donde el factor 1 de crecimiento transformante (TGF-β1) segregado por las células de la herida, moléculas de la matriz (por ejemplo, una variante de corte y empalme de fibronectina), y señales mecánicas (es decir, la tensión de la matriz) inician su diferenciación en miofibroblastos. Los miofibroblastos se pueden distinguir de los fibroblastos dérmicos dado que expresan α-actina de músculo liso, contienen haces de microfilamentos contráctiles, y tienen extensos sitios de unión de célula a matriz. Los miofibroblastos sintetizan, depositan y remodelan la matriz extracelular para formar tejido de granulación, y de ese modo contraen la herida. El tejido conectivo que se forma durante el proceso de curación es a menudo de naturaleza fibrosa, y se forma habitualmente en una cicatriz de tejido conectivo mediante un proceso conocido como fibrosis.

En el embrión, los procesos de curación se activan y detienen para regenerar perfectamente el tejido, y de ese modo puede no producirse la cicatrización. Sin embargo, en el adulto, la evolución ha optimizado los procesos de curación de heridas para conseguir el cierre de heridas rápidamente, minimizar el riesgo de infección, pero dando como resultado la formación de cicatrices. Vistas macroscópicamente, las cicatrices pueden estar por debajo del nivel de la superficie del tejido circundante, o elevarse sobre la superficie de la piel no dañada. Las cicatrices pueden tener un color relativamente más oscuro que el tejido no herido (hiperpigmentación) o pueden tener un color más pálido (hipopigmentación) que sus alrededores. Las cicatrices hiperpigmentadas o hipopigmentadas constituyen un defecto fácilmente visible, y 100 millones de pacientes desarrollan cicatrices de heridas cada año debido a operaciones selectivas, traumatismos, lesiones por quemaduras y queloides. Se ha mostrado que la aparición de una cicatriz es uno de los factores principales que contribuyen al impacto psicológico de las heridas en la víctima, y que estos efectos pueden permanecer durante largo tiempo después de que se haya curado la propia herida.

El documento de Patente WO 2006/108176 se refiere a agonistas y antagonistas de β2 AR para la modulación de la curación de heridas, contracción de heridas y/o epitelización. Se desvelan diversos usos u observaciones de los agonistas de β2 AR en los documentos de Patente EP 1 719 507; WO 01/94319; WO 2007/137204; US 5.958.432; WO 03/097073; WO 2006/027579; Eggleston *et al*. (1991) Chest 99, 1088-1092; Barzon *et al*. (1991) Eur. Resp. J. 19, 2307-2311; Skipsii *et al*. (1991) Terapevtiicheski Arkhiv 63, 125-127; Pullar & Isseroff (2005) Wound Rep. & Regen. 13, 405-411; Pullar *et al*. (2006) FASEB J. 20, 76-86; y Akutsu *et al*. (2006) Br. J. Pharmacol. 147, 412-421.

El documento de Patente WO 2009/118541 también se refiere a agonistas y antagonistas de β2 AR para la modulación de respuestas de fibroblastos, para la modulación de la deposición de colágeno o para combatir un trastorno fibrótico, o para combatir la cicatrización.

El sistema de tipificación de piel de Fitzpatrick se creó en 1975 para la predicción de la reactividad de la piel en la fotoquimioterapia oral con metoxaleno (PUVA), un tratamiento para la psoriasis [1]. Desde entonces, la clasificación de Fitzpatrick se ha usado en todo el mundo para estimar el riesgo de carcinoma de células basales [2] y melanoma maligno cutáneo [3]. El sistema de tipificación de la piel de autoinforme o dirigido por entrevistas se basó en un cuestionario que la persona usó para calificar su tendencia a quemarse y su capacidad para broncearse 24 horas y 7 días después de la primera exposición al sol sin protección a principios del verano. Definida por Fitzpatrick, la exposición solar inicial es 3 veces la dosis mínima de eritema (MED), que es la dosis UV que provocará eritema perceptible 24 horas después de la exposición solar [1]. Esto es equivalente a aproximadamente 45 a 60 minutos de exposición solar en las latitudes del norte (20° a 45°) el mediodía del mes de mayo (90 mJ/cm^2).

Hay 4 clasificaciones para la piel blanca (I a IV), la piel marrón se clasifica como tipo V y la piel negra de tipo VI [1, 4], véase la Tabla 1 [1]. La clasificación del tipo de piel está compuesta por dos componentes, el eritema o quemadura inducido inicial y la pigmentación resultante. Tabla 1.

Tipo de piel	Eritema y reacciones de bronceado en una primera exposición solar
I	Siempre quemadura, nunca bronceado
II	Habitualmente quemadura, bronceado menor que la media (con dificultad)
III	En ocasiones quemadura suave, bronceado medio
IV	Raras veces quemadura, bronceado mayor que la media (con facilidad)

V	Personas de piel marrón
VI	Personas de piel negra

La clasificación inicial se basó en las respuestas en la piel blanca y la escala se mejoró posteriormente para incluir las clasificaciones IV a VI para la piel marrón clara, marrón y negra, respectivamente [4].

El color de la piel está determinado principalmente por el tipo y la cantidad de melanina en la piel. La formación de pigmentos es altamente compleja. Los melanocitos en cooperación con la tirosinasa son responsables de la producción y conversión de dopa en melanina y los melanosomas que contienen el pigmento de melanina son absorbidos por los queratinocitos en la epidermis. La hiperpigmentación se produce habitualmente en los tipos de piel III a VI de Fitzpatrick [5].

Las mediciones del color de la cicatriz a menudo son parte de la evaluación de la cicatriz, de modo que la vascularización (eritema/enrojecimiento) y la pigmentación (melanina) son parámetros de resultados de rutina (junto con otros parámetros) en la investigación de las cicatrices [6]. El color de la cicatriz se puede evaluar subjetivamente usando una escala de evaluación de cicatrices [7, 8, 9] (véase posteriormente) u objetivamente usando un dispositivo de medición, que puede proporcionar una medida de la hiperpigmentación. Los niveles de melanina se pueden medir con el Mexámetro (*Mexameter*) (proporciona un índice de eritema y melanina basado en el principio de la espectrofotometría de banda estrecha) o el Colorímetro DSM II (combina la espectrofotometría de banda estrecha con la colorimetría de reflectancia de triestímulo) [6].

Se puede observar hiperpigmentación de heridas en dermatosis inflamatorias menores [5], cicatrices por acné [10] y en heridas y lesiones fibróticas [11, 12, 13, 14, 15]. La hiperpigmentación se observa con mayor frecuencia en personas con la tez oscura, los tipos de piel III a VI de Fitzpatrick [5]. De hecho, tanto la hiperpigmentación como los queloides se producen en tasas significativamente más altas en personas con pigmentación oscura [12, 13]. La hiperpigmentación es un problema clínico importante que puede causar angustia psicológica considerable [11, 12, 13, 14, 15]. También hay un cuerpo de evidencia que demuestra un vínculo entre las lesiones melanocíticas y el melanoma [14, 16].

Las terapias actuales para la hiperpigmentación incluyen la retirada del pigmento de la capa superficial con exfoliaciones ácidas, el aumento de la transferencia de melanosomas y la regulación negativa de tirosinasa con tretinoína, la reducción de inflamación, proliferación y secreción de melanocitos con corticosteroides y la inhibición de tirosinasa y disminución de melanogénesis con hidroquinona [5]. Además, hay algunos tratamientos tópicos nuevos tales como soja, regaliz, rucinol y resveratrol que están ganando popularidad [15].

En la actualidad, se sabe poco de las células y las señales moleculares que impulsan la hiperpigmentación de heridas/cicatrices. En el pez cebra, la inflamación de la herida parece impulsar la hiperpigmentación de la herida. Las heridas relativamente grandes o crónicas desencadenan el reclutamiento de células pigmentarias, tanto melanoblastos precursores indiferenciados como melanocitos diferenciados, tanto en larvas como en adultos, lo que conduce a la hiperpigmentación [17]. Cuando se agotaron las células inmunes innatas, no se produjo el reclutamiento de melanocitos y la hiperpigmentación resultante, y por lo tanto la inflamación fue esencial para la hiperpigmentación de la herida en el pez cebra [17]. Este documento indica que el modelo de pez cebra puede ser útil como aquel en el que someter a ensayo posibles agentes terapéuticos. En las larvas de *Drosophila*, las heridas por punción se pigmentan rápidamente a las pocas horas de la lesión y la pigmentación podría tener un papel protector frente a UV y bacterias invasoras [18].

Grando *et al*. (2006) Journal of Investigative Dermatology (2006) 126, 1948-1965 señala que el agonista específico del receptor adrenérgico β2, salbutamol, aumenta los niveles de AMPc así como las densidades de receptores en asociación con un aumento de la melanogénesis (Gillbro *et al*., 2004) ["Autocrine catecholamine biosynthesis and the beta-adrenoceptor signal promote pigmentation in human epidermal melanocytes". J Invest Dermatol 123:346-53]. Véase también Raja K. Sivamani "An Epine-phrine-Dependent Mechanism for the Control of UV-Induced Pigmentation" Journal of Investigative Dermatology (2009) 129, 784-787, que informa que la epinefrina aumenta la síntesis de melanina en los melanocitos; y Wang *et al*. Gene 446 (2009) 18-27 "Zebrafish β-adrenergic receptor mRNA expression and control of pigmentation", que señala que los autores clonaron y caracterizaron cinco ortólogos de genes de β-AR de pez cebra que representan homólogos de tres subtipos de β-AR. El análisis de la pérdida de función reveló un papel importante para el adrb2a de pez cebra en la regulación de la pigmentación, consistente con β2-AR de mamíferos.

De forma consistente con estos hallazgos, se conocen antagonistas de β2 AR como agentes blanqueadores de la piel. Véase, por ejemplo, J. M. Gillbro y M. J. Olsson "The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents - existing and new approaches" International Journal of Cosmetic Science, 2011, 33, 210-221. Véase también el artículo de revisión Osborne *et al*. (2012) BJ Dermatol 166 (Supl. 2), pág. 16-19 "Application of genomics to breakthroughs in the cosmetic treatment of skin ageing and discoloration", que informa sobre los papeles en favor de la pigmentación para los receptores β adrenérgicos.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que un agonista de β2 AR es útil en la mejora de la igualación del color de cicatrices de la piel, por ejemplo reduciendo la hiperpigmentación de la cicatriz. De ese modo, se considera que un agonista de β2 AR es útil en la mejora de la similitud de la pigmentación de la cicatriz con respecto a la pigmentación de la piel circundante.

Un primer aspecto de la invención proporciona un método cosmético no terapéutico para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de salbutamol a un sujeto con necesidad de la misma.

Un segundo aspecto de la invención proporciona salbutamol para su uso en mejorar terapéuticamente la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, en un sujeto con necesidad de la misma.

Además, la invención puede tener el efecto de tratar o ayudar en la prevención de lesiones melanocíticas y/o melanoma en el sujeto.

En el presente documento también se desvela un método para tratar o prevenir lesiones melanocíticas y/o melanoma en un sujeto, comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente, que modula positivamente la conformación del receptor β2-adrenérgico, o la actividad del receptor, o la activación del mismo, en un sujeto con necesidad del mismo.

En una realización, se considera que la invención se refiere a una intervención terapéutica. En la alternativa, la invención también proporciona un tratamiento cosmético no terapéutico para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel, por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, en un sujeto deseoso del mismo. Se exponen preferencias en relación con otros aspectos de la invención.

Antes de la presente invención, no se había comprendido que la modulación del β2-AR podría alterar la pigmentación de las cicatrices para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel o reducir la hiperpigmentación de las cicatrices.

Los descubrimientos del inventor de que un agente que modula positivamente β2-AR (tal como un agonista de β2-AR) mejora la igualación del color de las cicatrices de la piel, por ejemplo reduce la hiperpigmentación de las cicatrices, fueron inesperados por al menos la siguiente razón. La activación del receptor adrenérgico beta, por ejemplo β2-AR, se había asociado a melanogénesis y bronceado en respuesta a la exposición a UVB. Se había informado que los antagonistas del receptor adrenérgico beta, por ejemplo β2-AR, eran útiles en el blanqueamiento de la piel. Por lo tanto, fue sorprendente descubrir que, en su lugar, en la formación de cicatrices, los agonistas de β2-AR fueron útiles en la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel, por ejemplo en la reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices. De ese modo, en lugar de conducir al oscurecimiento de la piel (como cabría esperar en vista del papel de la activación de β2-AR en el bronceado y el efecto de los antagonistas de β2-AR en el blanqueamiento del tono de la piel), en su lugar, los agonistas de β2-AR reducen la hiperpigmentación de las cicatrices. Véase el Ejemplo 2 posterior para una discusión adicional del papel del receptor adrenérgico beta en la melanogénesis.

El sujeto puede ser un sujeto con necesidad de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel, por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, debido a que el sujeto tiene o se encuentra en riesgo de hiperpigmentación. Se puede seleccionar que un sujeto (por lo general un sujeto humano) se encuentra en riesgo de hiperpigmentación basándose en uno o más de los siguientes factores:

- el sujeto ha desarrollado previamente hiperpigmentación de una cicatriz (que se puede determinar por interrogación o examen del sujeto o un representante del sujeto);
- el sujeto se broncea fácilmente al exponerse a la luz solar o la radiación ultravioleta (UV), en lugar de quemarse (que se puede determinar por interrogación o examen del sujeto o un representante del sujeto);
- el sujeto tiene un origen racial no caucásico (que se puede determinar por interrogación o examen del sujeto o un representante del sujeto);
- el color de la piel del sujeto (por ejemplo, en un área que no está bronceada) se considera que es más oscuro que el habitual de una persona caucásica naturalmente rubia.

De ese modo, por ejemplo, se puede seleccionar que el sujeto humano se encuentra en riesgo de hiperpigmentación debido a que es, al menos principalmente, de origen racial chino, africano de raza negra, asiático o europeo meridional, lo que por lo general se puede determinar por examen (por ejemplo, basado en el aspecto general) y/o interrogación o investigación/información genética. Se puede seleccionar que el sujeto se encuentra en riesgo de hiperpigmentación basándose en su clasificación de acuerdo con la Escala de Fitzpatrick (también conocida como ensayo de tipificación de piel de Fitzpatrick o escala de fototipaje de Fitzpatrick), que es un esquema de clasificación numérico para el color de la piel, como se ha indicado anteriormente. Se desarrolló en 1975 por Thomas B. Fitzpatrick, un dermatólogo de Harvard, como una forma de clasificar la respuesta de diferentes tipos de piel a la luz UV, y sigue siendo una herramienta reconocida para la investigación dermatológica en el color de la piel. Como se ha indicado anteriormente,

la escala de Fitzpatrick tiene los siguientes tipos de piel:

- **Tipo I** (puntuaciones 0-7) Blanco claro, pálido.
  Siempre se quema, nunca se broncea.
- **Tipo II** (puntuaciones 8-16) Blanco; rubio.
  Habitualmente se quema, se broncea con dificultad.
- **Tipo III** (puntuaciones 17-24) Medio, de blanco a marrón claro.
  A veces se quema débilmente, se broncea gradualmente hasta marrón claro.
- **Tipo IV** (puntuaciones 25-30) Oliva, moderadamente marrón.
  Rara vez se quema, se broncea con facilidad hasta marrón moderado.
- **Tipo V** (puntuaciones mayores de 30) Marrón, marrón oscuro.
  Se quema muy raras veces, se broncea con mucha facilidad.
- **Tipo VI** Negro, marrón muy oscuro a negro.
  Nunca se quema, se broncea con mucha facilidad, se pigmenta profundamente.

De ese modo, se puede seleccionar que el sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) se encuentra en riesgo de hiperpigmentación si su tipo de piel se puede evaluar como de Tipo III o superior (es decir, Tipo, III, IV, V o VI) en la escala de Fitzpatrick (si se expresa formalmente o no en términos de la escala de Fitzpatrick).

Un "sujeto" puede ser un ser humano o, en modelos experimentales, un sujeto porcino. Se reconoce que la piel porcina se reconoce es un modelo animal adecuado para la piel humana. Anatómica y fisiológicamente, la piel porcina es muy similar a la piel humana (Montagna W, Yun JS (1964) The Skin of the Domestic Pig. The Journal of investigative dermatology 42: 11-21. Por lo general, el sujeto es un ser humano.

El técnico experto entenderá lo que significan las expresiones "receptor beta adrenérgico" y "receptor β2-adrenérgico" o "β2-AR". Estos receptores se conocen en la técnica y se han revisado en Johnson M, (J Allergy Clin. Immunol. (2006) 117, 18-24). Sin embargo, para evitar dudas, los receptores adrenérgicos son una clase de receptores acoplados a proteína G que a los que se unen y activan sus ligandos endógenos, las catecolaminas, adrenalina y noradrenalina. Los receptores adrenérgicos se dividen en 5 tipos: α1, α2, β1, β2 y β3, y la presente invención se refiere a los receptores beta adrenérgicos, que incluyen el receptor β2-adrenérgico (es decir, β2-AR). Las secuencias de ADN y proteínas para los receptores beta adrenérgicos humanos, por ejemplo el receptor β2-adrenérgico, están disponibles en bases de datos de libre acceso y se discuten en Kobilka *et al*. (1987 PNAS 84, 46-50). La ubicación cromosómica para el gen que codifica el receptor β2-adrenérgico es el cromosoma Sq 31-32. Además, se encuentra disponible la estructura cristalina para el β2-AR (Rasmussen S *et al*. Nature (2007) 450, 383-387).

Mediante la expresión "modula positivamente la conformación de receptor β2-adrenérgico", se pretende indicar que el agente (o modulador) es capaz de alterar la forma tridimensional y la configuración del receptor de su conformación inactiva a activa.

En una divulgación, el agente que modula positivamente β2-AR es capaz de modular selectivamente la conformación del receptor β2-adrenérgico, o la actividad del receptor, o la activación del mismo. Por lo tanto, el agente es un modulador positivo selectivo de β2-AR.

Mediante la expresión "modula selectivamente", se pretende indicar que el agente altera la conformación de β2-AR, o aumenta la actividad de β2-AR, o la activación del mismo en mayor medida, o a dosis inferiores, que otros tipos de receptores adrenérgicos, es decir, los receptores α1-, α2-, β1- o β3-adrenérgicos. Por lo tanto, es preferente que el agente sea selectivo para los receptores beta adrenérgicos, en particular para el receptor β2-adrenérgico.

En una divulgación, el modulador positivo selectivo de β2-AR elegido se puede usar, sin embargo, a una concentración a la que también tiene lugar la modulación positiva de otros receptores beta adrenérgicos o receptores. Por ejemplo, para una concentración de salbutamol que se considera que es adecuada para tratamiento tópico (5 mM), se espera que se activen los β1-AR así como los β2-AR. Se ha informado que el salbutamol 5 mM activa todos los pAR en Baker JG (2010) The selectivity of beta-adrenoceptor agonists at human beta1-, beta2- and beta3-adrenoceptors. British journal of pharmacology 160: 1048-1061.

Un agente que modula positivamente β2-AR, puede ser capaz de:

(i) alterar el estado conformacional del receptor, por ejemplo por estabilización de la conformación activa del receptor y/o manteniendo el receptor en su conformación activa para permitir de ese modo que el receptor se una a su ligando natural, es decir, las catecolaminas;
(ii) unirse al receptor β2-adrenérgico, e incrementar, estimular o aumentar la transmisión en el receptor;
(iii) estimular o activar las rutas de señalización corriente abajo activadas por la unión del modulador al receptor;
(iv) incrementar, estimular o aumentar la transcripción, traducción o expresión del receptor β2-adrenérgico;
(v) incrementar la síntesis o liberación del receptor β2-adrenérgico, o los agonistas del mismo, de los almacenes intracelulares; o
(vi) disminuir la velocidad de degradación del receptor β2-adrenérgico, o los agonistas del mismo.

Se ha de entender que cada uno de los mecanismos (i) a (vi) da como resultado la alteración de la transmisión en el receptor, y por lo tanto la actividad del mismo, para de ese modo modular positivamente el receptor β2-adrenérgico.

Adecuadamente, el valor de afinidad de unión (valor de Ki) del modulador positivo para el receptor adrenérgico β2 es menos de aproximadamente 100 nM, más adecuadamente menos de 80 nM y más adecuadamente menos de 50 nM. Preferentemente, el valor de Ki del modulador positivo para el receptor β2-adrenérgico es menos de 30 nM, más preferentemente menos de 15 nM y más preferentemente en menos de 10 nM. Como se ha indicado anteriormente, el modulador positivo para el receptor β2-adrenérgico se puede usar a concentraciones considerablemente superiores a estos valores de Ki, por ejemplo en el intervalo de mM.

El agente, que modula positivamente β2-AR, es un agonista del receptor β2-adrenérgico.

Mediante el término "agonista", se pretende indicar una molécula que se une selectivamente al receptor β2-adrenérgico para iniciar la reacción de transducción de señales.

En una divulgación, se puede seleccionar un agonista adecuado de una lista de agonistas que consiste en un compuesto químico orgánico o inorgánico sencillo; un péptido; una proteína; un ácido nucleico; un azúcar; un anticuerpo (o un fragmento activo del mismo); o cualquier otro agente biológico o químico; cada uno de los cuales es capaz de alterar la conformación/estabilidad del receptor, o inducir la actividad del receptor.

La expresión agonista de receptor β2-adrenérgico, y numerosos ejemplos de la misma, se conoce bien por los expertos en la materia. Como también se conoce bien por los expertos en la materia, los ejemplos de agonistas de receptores β2-adrenérgicos pueden incluir Levosalbutamol, Isoproterenol (β1 y β2), Metaproterenol, Terbutalina, Isoetarina, pirbuterol, procaterol, ritodrina, epinefrina, fenoterol, butoxamina, salbutamol, clenbuterol, formoterol o salmeterol. Todos ellos, así como otros agonistas del receptor β2-adrenérgico, se consideran adecuados para su uso en la presente divulgación. Sin embargo, en la invención, el agonista selectivo del receptor adrenérgico β2 es salbutamol, como se describe en los Ejemplos. El salbutamol es un agonista de β2-AR altamente selectivo, y será conocido por el técnico experto.

El log K_d (constante de disociación) del salbutamol para β1 es -4,66, para β3 es -4,33 y para β2 es -6,12. Por lo tanto, el log K_d es mucho más bajo para el receptor β2-adrenérgico que para el β1- o el β3-AR. Por consiguiente, el salbutamol es al menos 29 veces más selectivo para β2-AR que para β1-AR, y 62 veces más selectivo para β2-AR que para β3-AR, y por consiguiente se puede describir que es un agonista selectivo de β2-AR. Como se ha indicado anteriormente, el salbutamol (por ejemplo) se puede usar a concentraciones a las que se puede unir a todos los subtipos de receptores beta adrenérgicos. Para los valores de K_d, véase, por ejemplo, Baker JG (2005) The selectivity of beta-adrenoceptor antagonists at the human beta1, beta2 and beta3 adrenoceptors. British journal of pharmacology 144: 317-322.

Se ha de entender que la capacidad de los usos y métodos de la invención que implican un agente que modula positivamente β2-AR como se establece en las reivindicaciones para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, significa que estos métodos y usos son valiosos en una amplia diversidad de escenarios clínicos. Los métodos y los usos de acuerdo con la invención se pueden usar para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, en el contexto de numerosos tipos de lesiones diferentes. Por ejemplo, los métodos y los medicamentos de la invención se pueden usar para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, en cicatrices que surgen de heridas penetrantes o heridas no penetrantes formadas como resultado de agresiones o lesiones físicas que incluyen (pero no se limitan a): rasguños, abrasiones, incisiones quirúrgicas y otros procedimientos quirúrgicos (en particular injertos de tejidos de grosor parcial tales como la piel), "quemaduras" (que, excepto cuando el contexto lo requiera de otro modo, se puede considerar que incluyen daño tisular como resultado de la exposición a temperatura alta o baja, agentes químicos o radiación), hiperpigmentación postinflamatoria (por ejemplo, después de eccema, psoriasis o acné; véase, por ejemplo, http://www.patient.co.uk/doctor/Post-inflammatory-Hyperpigmentation-of-Skin.htm), y otras formas de traumatismo, yatrogénesis o susceptibilidad genética.

Por "traumatismo" se pretende indicar el resultado de un incidente de lesión aguda accidental o intencionada en un tejido (por ejemplo, incisiones quirúrgicas).

Por "yatrogénico" se pretende indicar el resultado de un tratamiento o terapia médicos (por ejemplo, radioterapia; tratamiento con láser).

Puede ser deseable restringir la aplicación del agente al propio tejido de la cicatriz (y al tejido inmediatamente adyacente a la cicatriz) con el fin de minimizar cualquier oscurecimiento potencial de la piel que rodea a la cicatriz. Por lo general, el agente se aplica a la herida inicial para tener el efecto deseado, dado que este puede mejorar la reducción de la hiperpigmentación al alterar activamente los comportamientos celulares durante el proceso de curación de la herida.

El agente se puede aplicar por lo general por vía tópica pero también se considera que es eficaz cuando se usa de forma sistémica. Se considera que no existe ninguna evidencia de que el salbutamol sistémico, por ejemplo, por vía inyectada, oral o inhalada, estimule la pigmentación de la piel, incluso aunque se considere que la aplicación tópica de salbutamol a la piel (no dañada) estimula la pigmentación de la piel, como se ha indicado anteriormente. Se considera que el salbutamol sistémico en la sangre es eficaz en la presente invención, debido a que se suministra por los capilares al sitio de la herida y es capaz de actuar para reducir la hiperpigmentación de la herida, por ejemplo por reducción del reclutamiento de melanocitos por parte de la herida.

Puede ser útil proteger la herida de la radiación UV. Esto se puede conseguir mediante una venda o vendaje (o similar), por ejemplo cuando la herida está abierta. Cuando no existe ninguna herida abierta y ninguna venda ni vendaje (o similar), por ejemplo cuando se trata una cicatriz que experimenta remodelación, por ejemplo una cicatriz recién curada, puede ser útil la aplicación de un protector solar, como conocen bien los expertos en la materia.

La presente invención puede ser particularmente útil en relación con heridas más graves (por ejemplo, por lo general de mayor tamaño y/o mayor profundidad), que puede ser más probable que desarrollen hiperpigmentación. Por lo general, la cicatrización se produce cuando se ha producido un daño en la dermis, pero se considera que la hiperpigmentación se puede producir incluso sin daño en la dermis (por ejemplo, en una lesión de "arañazo").

La utilidad de los medicamentos y los métodos de la invención es particularmente adecuada para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, en heridas dérmicas, es decir, heridas en la piel.

La presente invención también puede ser útil en la reducción de la hiperpigmentación en otras heridas, por ejemplo heridas o cicatrices de la córnea. Véase, por ejemplo, la siguiente referencia, que indica que se encuentran melanocitos en regiones de la córnea: Rohrbach JM, Susskind D, Grub M (2012) [The melanocyte and the eye: a review with special emphasis on the cornea]. Klinische Monatsblatter fur Augenheilkunde 229: 42-47. La presente invención puede ser útil en la prevención o reducción de la migración de melanocitos a una herida o cicatriz de la córnea, es decir, útil en la reducción de la pigmentación (hiperpigmentación) de cicatrices en la córnea.

Los usos y métodos de acuerdo con la invención se pueden usar para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de una cicatriz que se puede seleccionar entre un grupo de cicatrices que consisten en cicatrices por acné, cicatrices normales, cicatrices de hiperpigmentación postinflamatoria, cicatrices de queloides, cicatrices hipertróficas y pterigión.

Los métodos y usos de la invención relativos a agentes que modulan positivamente β2-AR, como se expone en las reivindicaciones, se pueden usar en el uso para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel, por ejemplo reduciendo la hiperpigmentación, que puede estar asociado a procedimientos de injerto. El tratamiento usando los métodos y medicamentos de la invención será beneficioso tanto en un sitio donador de injerto (donde puede ayudar a la reducción de la hiperpigmentación y estimular la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel), como en los sitios receptores de injerto (donde también puede ayudar a la reducción de la hiperpigmentación y estimular la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel). El inventor cree que los métodos y medicamentos de la invención confieren ventajas en los contextos de injertos que utilizan piel, piel artificial, o sustitutos de la piel.

Los usos de acuerdo con la invención relativos a agentes que modulan positivamente β2-AR, como se expone en las reivindicaciones, se pueden aplicar a un sitio de una herida o un sitio que puede dar como resultado cicatrización, tal como un injerto o parche al lado, debajo o encima del área afectada y adyacente al tejido sano, como se describe ampliamente en la bibliografía publicada. Por lo tanto, se ha de entender que el agente, que modula positivamente β2-AR (por ejemplo, un agonista), como se expone en las reivindicaciones, se puede aplicar directamente al sitio que se trata. Alternativamente, el modulador positivo se puede procesar en una composición terapéuticamente aceptable adecuada para su aplicación posterior, tal como un aceite, crema, aerosol, hidrogel o líquido, dependiendo del sitio de tratamiento, como se describe en el presente documento.

Los usos relativos a agentes que modulan positivamente β2-AR, como se expone en las reivindicaciones, se pueden usar durante el trasplante de piel, o como un vendaje biológico para piel quemada, heridas de la piel, o como un tejido adjunto en la reconstrucción quirúrgica de partes artificiales del cuerpo.

La mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción en la hiperpigmentación dentro del contexto de la presente invención se debería entender que incluye cualquier mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción en la hiperpigmentación en comparación con el nivel de la desigualdad de color de las cicatrices de la piel o hiperpigmentación que se produce en una herida tratada con control o sin tratar, es decir, una a la que no se ha administrado un agente que modula positivamente β2-AR, como se expone en las reivindicaciones. Por lo general, se usan para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, en la piel de un paciente que se ha seleccionado que se encuentra en riesgo de hiperpigmentación debido a que su tipo de piel se puede evaluar como de Tipo III o superior (es decir, Tipo III, IV, V o VI) en la escala de Fitzpatrick. La reducción de la hiperpigmentación o la mejora en la igualación del color de las cicatrices de la piel conseguida usando los métodos y usos de la invención se puede evaluar por referencia a su

aspecto microscópico y/o preferentemente macroscópico de una cicatriz tratada en comparación con el aspecto de una cicatriz sin tratar. Más preferentemente, la reducción en la hiperpigmentación o la mejora en la igualación del color de las cicatrices de la piel se puede evaluar por referencia al aspecto tanto macroscópico como microscópico de una cicatriz tratada. Mediante la expresión "cicatriz tratada", se pretende indicar una cicatriz formada por la curación de una herida tratada, mientras que una "cicatriz sin tratar" significa la cicatriz formada en la curación de una herida sin tratar, o una herida tratada con un placebo o un cuidado convencional. Las cicatrices de comparación adecuadas se pueden emparejar preferentemente con la cicatriz tratada por referencia a la edad, sitio, tamaño y paciente de la cicatriz.

Los métodos para evaluar la igualación del color de las cicatrices de la piel y la hiperpigmentación de cicatrices se conocerá por los expertos en la materia, como se ha indicado anteriormente. Se puede usar cualquier método adecuado, por ejemplo como se ha expuesto anteriormente en las referencias [6], [7], [8], [9]. Por ejemplo, se puede usar una escala de evaluación de cicatrices, o un dispositivo de medición, que puede dar una medida de la hiperpigmentación. Algunos ejemplos incluyen un Mexámetro o un Colorímetro DSM II, como se ha mencionado anteriormente. Se puede usar una escala para cicatrices tal como las que se describe en el Ejemplo 1 y la Figura 2, que evalúa la pigmentación de la cicatriz (nivel de hiperpigmentación); la igualación del color con el tejido circundante; y el brillo.

Se considera que los métodos o usos de la invención tendrán otros efectos beneficiosos en la cicatriz (por ejemplo, como se expone en el documento de Patente WO 2009/118541 y como se informa en el Ejemplo 1). Los parámetros para la evaluación macroscópica de cicatrices pueden incluir: (i) altura de la cicatriz; (ii) área de la cicatriz; y (iii) la rigidez de la cicatriz. Una cicatriz tratada puede demostrar una reducción en la cicatrización según se evalúa por referencia a al menos uno de los parámetros para la evaluación macroscópica expuestos anteriormente. Una cicatriz tratada puede demostrar una reducción de la cicatrización por referencia a al menos dos de los parámetros o los tres parámetros (además de la mejora de la igualación del color de la cicatriz de la piel, por ejemplo una reducción de la hiperpigmentación).

Los parámetros adecuados para la evaluación microscópica de cicatrices pueden incluir: (i) grosor de las fibras de la matriz extracelular (ECM); (ii) orientación de las fibras de la ECM; (iii) composición de la ECM de la cicatriz; y (iv) la celularidad de la cicatriz. Una cicatriz tratada puede demostrar una reducción en la cicatrización según se evalúa por referencia a al menos uno de los parámetros para la evaluación microscópica expuestos anteriormente. Una cicatriz tratada puede demostrar una reducción de la cicatrización por referencia a al menos dos de los parámetros, al menos tres de los parámetros, o los cuatro parámetros (además de una mejora de la evaluación macroscópica microscópica de la igualación del color de la cicatriz de la piel o la hiperpigmentación). Una evaluación microscópica de la igualación del color de las cicatrices de la piel o la hiperpigmentación se puede basar en el número, tamaño o color o distribución de los melanocitos en el área de la cicatriz. Una reducción o una mejora en la cicatrización de una herida tratada se puede evaluar además por referencia a parámetros adecuados usados en: i) la evaluación clínica macroscópica de cicatrices, en particular la evaluación de cicatrices en un sujeto; ii) la evaluación de imágenes fotográficas de las cicatrices; y iii) la evaluación microscópica de cicatrices, por ejemplo mediante análisis histológico de la estructura microscópica de las cicatrices.

Se ha de entender que una mejora en la cicatrización de una herida tratada se puede indicar mediante la mejora de uno o más de tales parámetros adecuados, y que en el caso de una mejora según se evalúa por referencia a cierto número de parámetros, esos parámetros se pueden combinar de diferentes esquemas de evaluación (por ejemplo, la mejora en al menos un parámetro usado en la evaluación macroscópica y al menos un parámetro usado en la evaluación microscópica). Una reducción o mejora en la cicatrización se puede demostrar mediante una mejora en uno o más parámetros que indican que una cicatriz tratada se parezca mucho más a una piel sin cicatrizar por referencia al parámetro o parámetros seleccionados que lo que lo hace una cicatriz sin tratar o de control.

Los parámetros adecuados para la medición y evaluación clínica de cicatrices se pueden seleccionar basándose en una diversidad de medidas o evaluaciones que incluyen las que se describen en Beausang *et al*. (1998, Plast. Reconstr. Surg. 102(6): 1954-1961) y van Zuijlen *et al*. (2002, Plast. Reconstr. Surg. 109(3): 1108-22). Se puede realizar una evaluación general de la cicatrización usando, por ejemplo, una escala análoga visual o una escala de evaluación digital. De ese modo, los parámetros pueden incluir, por lo general: evaluación con respecto a una escala análoga visual (VAS) de puntuación de la cicatriz, altura de la cicatriz, ancho de la cicatriz, perímetro de la cicatriz, área de la cicatriz o volumen de la cicatriz, aspecto y/o color de la cicatriz en comparación con la piel sin cicatriz circundante, distorsión y rendimiento mecánico de la cicatriz, contorno de la cicatriz y textura de la cicatriz, organización del colágeno, grosor de las fibras y densidad de las fibras. Cada uno de estos parámetros será conocido por el técnico experto. Una reducción o la mejora en la cicatrización se puede demostrar mediante un cambio en cualquiera de estos parámetros de un modo tal que un sitio de herida potencial o una cicatriz tratada con el modulador positivo de β2-AR se parezca mucho más a una piel sin cicatriz de lo que lo hace una cicatriz de control o sin tratar.

Es preferente que el sujeto o individuo sea uno que no padezca de lupus eritematoso, por ejemplo lupus eritematoso discoide (DLE).

El inventor cree que los métodos y usos de la invención relativos a agentes que modulan positivamente β2-AR, como

se expone en las reivindicaciones, son capaces de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel o la reducción de la hiperpigmentación cuando se administra antes de la formación de la herida, o una vez que ya se ha formado la herida. Los métodos o usos de la invención se pueden usar de forma profiláctica, es decir, en sitios en los que no existe ninguna herida, pero donde se puede formar una herida que podría dar lugar de otro modo a una cicatriz o herida crónica. A modo de ejemplo, los usos de acuerdo con la invención se pueden administrar a sitios que van a experimentar la formación de una herida como resultado de procedimientos electivos (tales como cirugía, por ejemplo cirugía plástica), o a sitios que se cree que se encuentran en un riesgo elevado de formación de heridas. Puede ser preferente que los usos de la invención se administren al sitio inmediatamente antes de la formación de una herida (por ejemplo, en un período de hasta una hora, o hasta seis horas, antes de la formación de la herida).

El técnico experto entenderá que la mayoría de las veces preferentes de administración antes de la formación de una herida se determinarán por referencia a una diversidad de factores, que incluyen la formulación y la ruta de administración del medicamento seleccionado, la dosificación del medicamento que se administra, el tamaño y la naturaleza de la herida que se forma, y el estado biológico del paciente (que se puede determinar por referencia a factores tales como la edad, salud y predisposición del paciente a complicaciones en la curación o cicatrización adversa). El uso profiláctico de los métodos y usos de acuerdo con la invención es una realización preferente de la invención, y es particularmente preferente en la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel o la reducción de la hiperpigmentación en el contexto de las heridas quirúrgicas.

Los métodos y usos de la invención también son útiles para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel o la reducción de la hiperpigmentación si se administran después de que se haya formado una herida. Es preferente que tal administración se produzca tan pronto como sea posible después de la formación de la herida, pero los agentes de la invención son capaces de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel o reducir la hiperpigmentación en cualquier momento hasta que se haya completado el proceso de curación (es decir, incluso en el caso de que una herida ya se haya curado parcialmente, los métodos y usos de la invención se pueden usar para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación con respecto a cualquier parte sin curar remanente). Se ha de entender que el marco temporal en el que los métodos y usos de la invención se pueden usar para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación depende de la naturaleza de la herida en cuestión (que incluye el grado de daño que se ha producido, y el tamaño del área de la herida). De ese modo, en el caso de una herida de gran tamaño, los métodos y usos de la invención se pueden administrar relativamente después de que la respuesta de curación ya haya sido capaz de mejorar la igualación del color de la cicatriz de la piel por reducción de la hiperpigmentación. Los métodos y usos de la invención se pueden administrar preferentemente, por ejemplo, en las primeras 24 horas después de que se forme una herida, pero aún pueden mejorar la igualación del color de la cicatriz de la piel o reducir la hiperpigmentación si se administran hasta dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez, o más, días después de la formación de la herida.

Los métodos y usos de la invención se pueden administrar en una o más ocasiones según sea necesario con el fin de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación. Por ejemplo, se pueden administrar cantidades terapéuticamente eficaces de los usos a una herida de forma tan frecuente como sea necesaria hasta que se haya completado el proceso de curación para mejorar la igualación de color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación. Las cicatrices se pueden remodelar durante un período tan largo como dos años después de la curación. A modo de ejemplo, los usos de la invención se pueden administrar diariamente o dos veces al día a una herida durante al menos los primeros 14 días después de la formación de la herida. Los usos de la invención se pueden usar durante hasta dos meses y posiblemente incluso períodos más prolongados para cicatrices de mayor tamaño, por ejemplo durante uno o dos años, mientras que continúa la remodelación de la cicatriz. Esto se puede determinar mediante examen histológico a lo largo del tiempo para observar los cambios en la arquitectura de colágeno en el lecho de la herida.

De la forma más preferente, los métodos o usos de la invención se pueden administrar después de la formación de una herida. Se ha de entender que la cantidad de una composición de la invención que se debería aplicar a una herida depende de una diversidad de factores tales como la actividad biológica y la biodisponibilidad del agente presente en la composición, que a su vez depende, entre otros factores, de la naturaleza del agonista del receptor β2-adrenérgico, y el modo de administración de la composición.

Generalmente, cuando los usos o las composiciones de acuerdo con la invención se usan para tratar heridas existentes, la composición se debería administrar tan pronto como se haya producido o se haya advertido la herida (o, en el caso de heridas que no son evidentes inmediatamente, tales como aquellas en sitios internos del cuerpo, tan pronto como se haya diagnosticado la herida). La terapia con los métodos o usos de acuerdo con la invención debería continuar hasta que se haya completado el proceso de curación, y mejore la igualación del color de las cicatrices de la piel o la hiperpigmentación, hasta la satisfacción del médico clínico y el paciente.

Se ha de entender que el agente, que modula positivamente β2-AR, como se expone en las reivindicaciones, y los usos de acuerdo con la invención se puede usar en una monoterapia (es decir, el uso de solo un agente, que modula positivamente la conformación de β2-AR, o la actividad del receptor o la activación del receptor, como se expone en las reivindicaciones), para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación. Alternativamente, el agente, que modula positivamente β2-AR como se expone en las

reivindicaciones, y los usos de acuerdo con la invención se puede usar adjunto a, o en combinación con, terapias conocidas para reducir la cicatrización. Por ejemplo, cuando el agente o el uso se usa para mejorar la igualación de color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación, se puede usar en combinación con sustancias terapéuticas anticicatrización conocidas, tales como inyecciones de corticosteroides, crioterapia, láminas de silicona tópicas, radiación, prendas de presión e Imiquimod (Meier K y Nanney L, B, Expert Opinion in Emerging Drugs (2006) 11(1), 39). Se puede usar en combinación con un hidratante, cuyos ejemplos serán bien conocidos por los expertos en la materia.

Los usos de la invención se pueden administrar mediante cualquier ruta adecuada capaz de conseguir el efecto deseado de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación. Es preferente que los usos se administren localmente en el sitio de la herida. Por lo tanto, el agente, que modula β2-AR como se expone en las reivindicaciones, y los usos de acuerdo con la invención se pueden combinar en composiciones farmacéuticas que tienen una diversidad de formas diferentes dependiendo, en particular, de la forma en la que se va a usar la composición. De ese modo, por ejemplo, la composición puede estar en forma de un polvo, comprimido, cápsula, líquido, pomada, crema, gel, hidrogel, aerosol, pulverización, solución micelar, parche transdérmico, suspensión de liposomas o cualquier otra forma adecuada que se pueda administrar a un sujeto con necesidad de tratamiento. Se ha de entender que el vehículo de los medicamentos de acuerdo con la invención sería el que sea bien tolerado por el sujeto al que se administra. El vehículo o agente puede ser o puede estar incorporado a una tirita, venda, vendaje de herida u otro producto protector oclusivo usado en la curación de heridas convencional.

Además, o alternativamente, los medicamentos de la invención se pueden administrar en forma tópica. Tal administración se puede efectuar como parte del cuidado inicial y/o del seguimiento del área de la herida. Los inventores creen que la mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel o la reducción de la hiperpigmentación mejora de forma particular por aplicación tópica de un modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones a una herida (o, en el caso de aplicación profiláctica, a un tejido o sitio donde se puede formar una herida). De ese modo, por ejemplo, los medicamentos adecuados pueden estar en forma de un líquido, pomada, crema, gel, hidrogel, polvo o aerosol. La totalidad de tales composiciones es adecuada para la aplicación tópica a una herida, que es un medio preferente de administración del modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones a un sujeto (por ejemplo, una persona o animal) con necesidad de tratamiento. Es preferente que tales formulaciones se apliquen directamente al sitio de una herida (o al menos adyacente al sitio de la herida). De ese modo, la formulación se puede aplicar en y alrededor de un sitio de una herida.

Alternativamente, el modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones o el medicamento se puede proporcionar en un vehículo (tal como un vendaje o parche estéril), que se puede usar para cubrir el sitio de la herida. De ese modo, el modulador positivo de β2-AR se puede incorporar, por ejemplo, a una tirita, venda, vendaje de herida u otro producto protector oclusivo usado en la curación de heridas y cicatrices convencional. Se ha de entender que el vehículo sería uno que sea bien tolerado por el paciente y permita la liberación del agente activo en la herida. Tal vehículo es preferentemente biodegradable, biorresoluble, biorreabsorbible y/o no inflamatorio.

El modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones usado de acuerdo con la invención también se puede incorporar a un dispositivo de liberación lenta o retrasada, tales dispositivos se pueden insertar, por ejemplo, sobre o debajo de la piel, y el medicamento se puede liberar durante días, semanas o incluso meses. El dispositivo se puede situar al menos adyacente al sitio de tratamiento, por ejemplo directamente en el sitio de la herida. Preferentemente, el medicamento se aplica en y/o alrededor de una herida con el fin de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel o reducir la hiperpigmentación. Tales dispositivos pueden ser particularmente ventajosos cuando se requiere un tratamiento a largo plazo con el modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones y que normalmente requeriría administración frecuente (por ejemplo, al menos inyección diaria).

En una realización, un vehículo farmacéutico para la administración de un modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones puede ser un líquido, y una composición farmacéutica adecuada estaría en forma de una solución. En otra realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un sólido, y una composición adecuada del medicamento de acuerdo con la invención está en forma de un polvo o comprimido. En una realización adicional, el modulador positivo de β2-AR se puede formular como parte de un parche transdérmico farmacéuticamente aceptable.

Los inventores creen que la mejora óptima en la igualación del color de las cicatrices de la piel o la reducción en la hiperpigmentación se puede efectuar mediante la administración de un agente, que modula positivamente β2-AR como se expone en las reivindicaciones, por inyección a o alrededor del sitio de la herida. Por ejemplo, en el caso de heridas dérmicas, el modulador positivo de β2-AR se puede administrar por medio de inyección intradérmica. De ese modo, un medicamento preferente de acuerdo con la invención comprende una solución de un agente, que modula positivamente β2-AR, que es inyectable directamente en un sitio que requiere tratamiento (por ejemplo, para inyección alrededor de los márgenes de un sitio con un daño epitelial o un sitio que es probable que sea dañado). Por lo tanto, en una realización preferente, el medicamento se puede inyectar en una herida, o en el sitio de una incisión quirúrgica inminente. Las inyecciones pueden ser intravenosas (bolo o infusión) o subcutáneas (bolo o infusión), o intradérmicas (bolo o infusión). También se prevé que los medicamentos de acuerdo con la invención se puedan administrar de forma sistémica a un sujeto por inyección en la corriente sanguínea.

Aunque la utilidad de los usos y métodos de la invención es particularmente adecuada para reducir la hiperpigmentación en heridas dérmicas, se ha de entender que también se puede usar para reducir la hiperpigmentación de heridas en otros tejidos. La hiperpigmentación de cicatrices producidas por la curación de heridas en tejidos distintos de la piel también puede tener efectos perjudiciales. La cicatriz puede ser interna o externa, y puede estar en cualquier parte del cuerpo del sujeto. Algunos ejemplos específicos de tales tejidos incluyen (pero no se limitan a) cicatrices que se producen como resultado de la curación de heridas en el sistema nervioso central (por ejemplo, después de neurocirugía o lesiones penetrantes del cerebro); cicatrices que se producen como resultado de curación de heridas en el ojo; cicatrización que se produce como resultado de acné; cicatrización en el corazón (por ejemplo, después de cirugía o infarto de miocardio); cicatrices que se producen como resultado de la curación de heridas que implican el abdomen o la pelvis; cicatrización que surge como resultado de la curación de heridas en la pelvis y en la región de las trompas de Falopio; cicatrización después de lesión en los músculos; y cicatrización o fibrosis después de lesión en los tendones y ligamentos.

La reducción de la hiperpigmentación puede ser particularmente importante cuando se tratan afecciones oftálmicas tales como una cicatriz en el ojo, que a menudo puede dar como resultado la pérdida de la calidad de visión. Por lo tanto, los medicamentos de la invención se pueden usar en el tratamiento de afecciones oftálmicas, tales como defectos epiteliales persistentes, queratitis neurotrófica, queratopatía ampollosa, escisión de lesiones, tales como tumor de la conjuntiva, y en asociación con cirugía de trasplante de células madre.

Los usos de la invención que comprenden el modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones son adecuados para usarse para la reducción de la hiperpigmentación en la córnea. Las heridas de la córnea pueden resultar de traumatismos en el ojo que surgen como resultado de una lesión accidental, o como resultado de operaciones quirúrgicas (por ejemplo, cirugía con láser en la córnea). En este caso, un uso preferente de la invención puede ser en forma de una gota ocular.

Los medicamentos que comprenden el agente que modula positivamente β2-AR como se expone en las reivindicaciones se pueden usar para tratar heridas externas, es decir, en una superficie externa. Sin embargo, los medicamentos que comprenden el modulador positivo de β2-AR también se pueden usar para tratar heridas internas, es decir, heridas que se producen dentro del cuerpo en una superficie interna. De ese modo, por ejemplo, los medicamentos de acuerdo con la invención se pueden formular para inhalación (por ejemplo, un aerosol) para su uso en heridas que surgen en los pulmones u otros epitelios respiratorios.

Se ha de entender que la cantidad del modulador positivo de β2-AR como se expone en las reivindicaciones que se requiere se determina mediante su actividad biológica y biodisponibilidad, que a su vez depende del modo de administración, las propiedades fisicoquímicas del agente y si el agente se usa como monoterapia o en una terapia combinada. La frecuencia de administración también se verá influida por los factores mencionados anteriormente y, en particular, la semivida del agente en el sujeto que se trata. Las dosificaciones óptimas que se administran se pueden determinar por parte del experto en la materia, y variarán con el agente particular en uso, la concentración de la composición farmacéutica, el modo de administración, y el avance de la enfermedad cicatricial. Factores adicionales que dependen del sujeto particular que se trata darán como resultado la necesidad de ajustar las dosificaciones, incluyendo la edad del sujeto, peso, género, dieta, y momento de administración.

Por lo general, la cantidad de un modulador de β2-AR como se expone en las reivindicaciones requerida para su uso en el individuo para efectuar el tratamiento estará en el intervalo de 0,001 ng a 100 mg de agente para 24 horas, aunque esta cifra se puede modificar hacia arriba o hacia abajo en respuesta a los factores indicados anteriormente. Para el tratamiento de un sitio de una herida, la cantidad del modulador positivo de β2-AR que se administra puedes ser preferentemente de 50 a 500 ng por centímetro lineal de daño epitelial en el sitio de la herida. Generalmente, se puede usar una dosis diaria entre 0,001 µg/kg de peso corporal y 10 mg/kg de peso corporal del modulador positivo de β2-AR para mejorar la igualación del color de la piel o la reducción de la hiperpigmentación dependiendo del modulador que se use. Más preferentemente, la dosis diaria del modulador positivo de β2-AR está entre 0,1 mg/kg de peso corporal y 4 mg/kg de peso corporal, más preferentemente entre 0,3 mg/kg y 2 mg/kg de peso corporal, y lo más preferentemente entre aproximadamente 0,5 mg/kg y 1 mg/kg de peso corporal. Por ejemplo, en los ejemplos se usa aproximadamente 0,7 mg/kg/día en el estudio con cerdos. La dosis oral humana máxima se considera que es aproximadamente 0,65 mg/kg/día (como se indica, por ejemplo, en la hoja de datos del Ventolín (salbutamol inhalado)). Véase también, por ejemplo, Hutchings *et al.* (1987) Br J Clin PHarmacol 24, 69-75 y Morgan *et al.* (1986) Br J Clin Pharmacol 22, 587-593, que consideró la dosificación oral. Por ejemplo, 4 mg por vía oral cada 8 horas o intravenoso a 400 µg/min, dieron ambos concentraciones en plasma de nivel estable de aproximadamente el 10 ng/ml.

La frecuencia de administración dependerá de la semivida biológica del medicamento usado. Por lo general, se administraría una crema o pomada que contiene el modulador positivo de β2-AR a un tejido diana de un modo tal que la concentración del modulador en el sitio de tratamiento, tal como una herida, se mantenga a un nivel adecuado para tener efecto terapéutico. Esto puede requerir la administración diaria, o incluso varias veces al día. Se pueden administrar dosis diarias en forma de una administración individual (por ejemplo, una inyección diaria individual o una aplicación de un volumen de gel). Alternativamente, el modulador positivo de β2-AR puede requerir la administración dos veces o más veces al día. A modo de ejemplo, el modulador positivo de β2-AR se puede administrar en forma de

dos dosis diarias (o más, dependiendo de la gravedad de la afección que se trata) de entre 0,07 µg y 700 mg (es decir, suponiendo un peso corporal de 70 kg). Un paciente que recibe el tratamiento puede tomar una primera dosis después de despertarse a continuación una segunda dosis por la noche (si se encuentra en un régimen de dos dosis), o dosis a intervalos de 3 o 4 horas.

Alternativamente, se puede usar un dispositivo de liberación lenta o retrasada para proporcionar dosis óptimas del modulador positivo de β2-AR a un paciente sin la necesidad de administrar dosis repetidas. Tales dispositivos, por ejemplo, se pueden situar en o insertar bajo la piel y el modulador positivo de β2-AR se puede liberar a lo largo de días, semanas o incluso meses. Tal dispositivo puede ser particularmente útil para pacientes que requieren la reducción a largo plazo de cicatrización o hiperpigmentación, por ejemplo en una cicatriz de remodelación (puede no ser tan útil para pacientes con una herida crónica). Los dispositivos pueden ser particularmente ventajosos cuando se usan para la administración de un modulador positivo de β2-AR que normalmente requeriría administración frecuente (por ejemplo, al menos administración diaria mediante otras rutas).

Se pueden usar procedimientos conocidos, tales como los empleados convencionalmente por la industria farmacéutica (por ejemplo, experimentación *in vivo*, ensayos clínicos, etc.), para formar formulaciones específicas de los agentes de acuerdo con la invención y regímenes terapéuticos precisos (tales como dosis diarias de los agentes y la frecuencia de administración).

Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición antihiperpigmentación de cicatrices que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente, que modula positivamente la conformación de β2-AR, o la actividad del receptor, o la activación del mismo como se expone en las reivindicaciones, y opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente un agente absorbente de UV (por lo general un agente absorbente de UV dérmicamente aceptable, tal como el usado en una composición de protección solar). La composición puede ser por lo general para administración tópica y puede comprender un hidratante y/o otros componentes presentes por lo general en una composición de protección solar, por ejemplo. Se describen composiciones de protección solar, por ejemplo, en los documentos de Patente WO2012170695, EP2529724, EP1928401.

Mediante la expresión "composición antihiperpigmentación de cicatrices", se pretende indicar un compuesto farmacéutico usado en la prevención terapéutica, reducción o inhibición de hiperpigmentación de cicatrices en un paciente. La composición puede ser una composición cosmética. Es preferente que la composición sea una composición terapéutica. Se pretende proporcionar, en un aspecto, un proceso para la preparación de la composición de acuerdo con los aspectos anteriores, comprendiendo el proceso combinar una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente, que modula positiva o negativamente la conformación de β2-AR, o la actividad del receptor, o la activación del mismo (como puede ser el caso), con un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente otros agentes tales como un agente absorbente de UV.

El agente, que modula positivamente β2-AR, en la composición de acuerdo con los aspectos anteriores es salbutamol. En otras divulgaciones, el agonista se puede seleccionar entre una lista de agonistas que consiste en un compuesto químico orgánico o inorgánico sencillo; un péptido; una proteína; un ácido nucleico; un azúcar; un anticuerpo (o un fragmento activo del mismo); cada uno de los cuales es capaz de alterar la conformación/estabilidad del receptor, o inducir la actividad del receptor. El agonista selectivo de β2-AR puede ser Levosalbutamol, Isoproterenol (β_1 y β_2), Metaproterenol, Terbutalina, Isoetarina, pirbuterol, procaterol, ritodrina, epinefrina, fenoterol, butoxamina, salbutamol, clenbuterol, formoterol o salmeterol, por ejemplo. Sin embargo, un agonista selectivo de β2-AR preferente en la composición es salbutamol.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de agente es cualquier cantidad que, cuando se administra a un sujeto, da como resultado una mejora de la igualación del color de las cicatrices de la piel o una reducción en la hiperpigmentación de las cicatrices en el sujeto.

Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de agente usada puede ser de aproximadamente 0,07 µg a aproximadamente 700 mg, y preferentemente de aproximadamente 0,7 µg a aproximadamente 70 mg. Es preferente que la cantidad de agente sea una cantidad de aproximadamente 7 µg a aproximadamente 15 mg para aplicación tópica, y de aproximadamente 7 µg a aproximadamente 700 µg para aplicación intravenosa.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable", al que se hace referencia en el presente documento, es cualquier compuesto conocido o combinación de compuestos conocidos que conocen los expertos en la materia por ser útiles en la formulación de composiciones farmacéuticas.

En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un sólido, y la composición puede estar en forma de un polvo o comprimido. Un vehículo farmacéuticamente aceptable sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes, lubricantes, solubilizantes, agentes de suspensión, colorantes, cargas, sustancias de deslizamiento, adyuvantes de compresión, aglutinantes inertes, edulcorantes, conservantes, colorantes, revestimientos, o agentes de disgregación de comprimidos. El vehículo también puede ser un material de encapsulación. En los polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que está en una mezcla con

los agentes activos de acuerdo con la invención finamente divididos. En los comprimidos, el agente activo se puede mezclar con un vehículo que tiene las propiedades de compresión necesarias en unas proporciones adecuadas y compactar en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos contienen preferentemente hasta un 99 % de los agentes activos. Los vehículos sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico. En otra realización, el vehículo farmacéutico puede ser un gel y la composición puede estar en forma de una crema o similar.

En una realización preferente, el vehículo farmacéutico es un líquido o crema, y la composición farmacéutica está en forma de una solución o un gel. Se usan vehículos líquidos en la preparación de soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. El agente activo de acuerdo con la invención se puede disolver o suspender en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizantes, emulgentes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colorantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes o reguladores osmóticos. Algunos ejemplos adecuados de vehículos líquidos para administración oral y parenteral incluyen agua (que contiene parcialmente aditivos tales como los anteriores, por ejemplo derivados de celulosa, preferentemente una solución de carboximetilcelulosa de sodio), alcoholes (que incluyen alcoholes monohídricos y alcoholes polihídricos, por ejemplo glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de cacahuete). Para la administración parenteral, el vehículo también puede ser un éster graso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los vehículos líquidos estériles son útiles en las composiciones estériles en forma líquida para administración parenteral. El vehículo líquido para composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propelente farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas líquidas que son soluciones o suspensiones estériles se pueden utilizar, por ejemplo, mediante inyección intramuscular, intratecal, epidural, intraperitoneal, intravenosa y en particular subcutánea. El modulador positivo de β2-AR se puede preparar en forma de una composición sólida estéril que se puede disolver o suspender en el momento de la administración usando agua estéril, solución salina, u otro medio inyectable estéril apropiado.

Los agentes y las composiciones de la invención se puede administrar por vía oral en forma de una solución o suspensión estéril que contiene otros solutos o agentes de suspensión (por ejemplo, suficiente solución salina o glucosa para hacer la solución isotónica), sales biliares, goma arábiga, gelatina, monooleato de sorbitán, polisorbato 80 (ésteres de oleato de sorbitol y sus anhídridos copolimerizados con óxido de etileno) y similares. Los agentes usados de acuerdo con la invención también se pueden administrar por vía oral en forma de una composición líquida o sólida. Las composiciones adecuadas para administración oral incluyen formas sólidas, tales como píldoras, cápsulas, gránulos, comprimidos, y polvos, y formas líquidas, tales como soluciones, jarabes, elixires, y suspensiones. Las formas útiles para administración parenteral incluyen soluciones, emulsiones, y suspensiones estériles.

Una formulación tópica puede ser particularmente útil. Un gel de un hidrocoloide u otra composición adecuada, por ejemplo, puede ser útil, ya que puede permanecer en la herida durante un período útil de tiempo y proporcionar la liberación del agente o agentes activos a lo largo del tiempo. Véanse, por ejemplo, los documentos de Patente EP0928206, EP0567311. Como se ha indicado anteriormente, una formulación de vendaje también puede ser particularmente útil.

Para una mejor comprensión de la invención, y para mostrar la forma en la que las reivindicaciones de la misma se pueden llevar a cabo, a continuación se hará referencia, a modo de ejemplo, a los siguientes Ejemplos y Figuras acompañantes.

Figuras

Figura 1: Posiciones de heridas, mostrando la posición T/10.
Figura 2: Aspecto de la cicatriz en el día 56- posición T/10. Imágenes a escala y recortadas a 8 cm de alto x 7,11 de ancho.
Figura 3: Día 56 - Cicatrices. Las cicatrices tratadas con salbutamol estaban menos hiperpigmentadas, el color de la cicatriz se igualaba mejor con el tejido circundante, eran más flexibles y menos firmes, elevadas y brillantes que las cicatrices de control en el día 56 después de la formación de la herida ($P < 0,0001$).
Figura 4: Posiciones de las heridas y programación de la toma de muestra de biopsia.
Figura 5: Aspecto de cicatriz.
Figura 6: Área de la cicatriz.
Figura 7: melanogénesis.

Ejemplo 1: El salbutamol reduce la hiperpigmentación de las cicatrices y mejora la igualación del color de las cicatrices de la piel en un modelo de herida porcina

Modelo de Red Duroc

Anatómica y fisiológicamente, la piel porcina es muy similar a la piel humana [19]. Las heridas en la piel de pequeños mamíferos, que no están en libertad, sanan principalmente por la contracción de la herida [20], mientras que las heridas de las pieles porcina y humana se cierran principalmente mediante la reepitelización de la herida [21]. El cerdo Red Duroc está bien establecido como un modelo reproducible de formación de cicatrices fibroproliferativas e hipertróficas [22, 23]. De forma similar a las cicatrices hipertróficas humanas, los cerdos Red Duroc curan las heridas con una cantidad excesiva de deposición de colágeno y un aumento de la contracción de la herida [23]. Además, las heridas se curan con hiperpigmentación en los márgenes de la herida [22] creando cicatrices hiperpigmentadas [24] y las cicatrices se elevan, de forma similar a las cicatrices humanas [25]. De hecho, el modelo de cicatriz de Red Duroc se ha evaluado y utilizado por múltiples grupos [26, 27, 28, 29] y es ideal para someter a ensayo intervenciones terapéuticas para reducir la cicatrización [22, 26]. Se llevó a cabo un estudio de cicatrices de heridas porcinas en el cerdo Red Duroc. Se crearon 4 filas de 5 heridas (2 x 2 cm) de grosor completo, a ambos lados de la columna vertebral, en los lomos afeitados de 10 cerdos Red Duroc (Figuras 1, 4). Se trataron 5 cerdos de control y 5 de tratamiento con 500 ml de Granugel solo, o conteniendo salbutamol 5 mM, por herida al día. Se biopsiaron dos heridas por animal (punzón de 6 mm) a los 7, 14, 21, 28 y 42 días después de la formación de la herida. Las 10 cicatrices de heridas restantes por animal se fotografiaron y recogieron en el día 56 después de la formación de la herida, dando un total de 5 heridas por posición, 50 heridas en total para cada grupo.
Se han desarrollado una diversidad de escalas para calificar la gravedad de las cicatrices humanas. La escala de cicatrices de Vancouver (VSS) [7], la escala de cicatrices de Manchester (MSS) [8] y la escala de evaluación de cicatrices de pacientes y observadores (POSAS) [9]. Desarrollamos nuestra propia escala para calificar la gravedad de las cicatrices de cerdos Red Duroc basada en VSS [7] y MSS [8]. La escala de evaluación de cicatrices de pacientes y observadores (POSAS) no se pudo utilizar, ya que requiere la participación del paciente [9].

La escala VSS mide cuatro parámetros: pigmentación, vascularización, flexibilidad y altura [7], mientras que la escala MSS mide color, contorno, distorsión y textura [8]. Nuestra escala de cicatrices se desarrolló para calificar una serie de características de las cicatrices que incluyen: pigmentación, igualación de color con el tejido circundante, brillo de la piel, flexibilidad, textura y contorno de altura. El tratamiento con salbutamol mejoró significativamente las calificaciones de pigmentación, igualación de color y brillo en un 48 %, 44 % y 53 %, respectivamente (Figura 2). Las calificaciones de flexibilidad, textura y contorno de altura mejoraron en un 22 %, 22 % y 34 %, respectivamente.

Se muestran las tres mejores cicatrices en la posición 10 (Figura 1) del control y de las heridas tratadas con salbutamol (Figura 3).

En conclusión, el tratamiento con salbutamol mejoró significativamente la hiperpigmentación de las cicatrices en un modelo bien conocido de hiperpigmentación de cicatrices/heridas.

Otros parámetros

Se presenta la cicatriz más próxima al área media de las cicatrices, en cada posición, tanto para el control como para las heridas tratadas con salbutamol (Figura 5b). El área de la cicatriz se redujo en un **47,1 %** con el tratamiento con salbutamol, 56 días después de la formación de la herida (Figura 6a). De hecho, para los días 28 y 42 después de la formación de la herida, el área de la cicatriz de las heridas tratadas con salbutamol ya era un 34,1 % y un 37,7 % menor que las heridas de control (Figura 6a; *** $P < 0,001$).

El área de la herida también se midió en puntos de tiempo tempranos. No se observó ninguna diferencia significativa en las tasas de reepitelización entre el control y las heridas tratadas con salbutamol (no se muestran los resultados). Las heridas tratadas con salbutamol se hincharon significativamente menos (un 11 % menos) después de 7 días, lo que indica una reducción en la inflamación de la herida, que se confirmará por inmunohistoquímica (IHC). Después de 14 días, las heridas tratadas con salbutamol se contrajeron significativamente menos (un 23 % mayores) que las heridas de control, lo que indica una reducción en la función de los fibroblastos, y en 28 días las heridas tratadas con salbutamol fueron ligeramente más pequeñas que las heridas de control (Figura 6b; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

Referencias

1. Fitzpatrick TB (1988) The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. Archives of dermatology 124: 869-871.
2. Lear JT, Tan BB, Smith AG, Bowers W, Jones PW, *et al.* (1997) Risk factors for basal cell carcinoma in the UK: case-control study in 806 patients. Journal of the Royal Society of Medicine 90: 371-374.
3. Elwood JM, Gallagher RP, Hill GB, Spinelli JJ, Pearson JC, *et al.* (1984) Pigmentation and skin reaction to sun as risk factors for cutaneous melanoma: Western Canada Melanoma Study. British medical journal 288: 99-102.
4. Pathac MaFT (1993) Preventative treatment of sun burn, dermatoheliosis, and skin cancer with sun protective agents. En: Fitzpatrick T, Eisen AZ, Wolff K, editor. Dermatology in general medicine. 4ª edición ed. Nueva York: McGraw-Hill Inc. pp. 1689-1717.
5. Nieuweboer-Krobotova L (2013) Hyperpigmentation: types, diagnostics and targeted treatment options. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV 27 Suppl 1: 2-4.
6. van der Wal M, Bloemen M, Verhaegen P, Tuinebreijer W, de Vet H, *et al.* (2012) Objective Color Measurements:

Clinimetric Performance of Three Devices on Normal Skin and Scar Tissue. Journal of burn care & research: official publication of the American Burn Association.
7. Sullivan T, Smith J, Kermode J, Mclver E, Courtemanche DJ (1990) Rating the burn scar. The Journal of burn care & rehabilitation 11: 256-260.
8. Beausang E, Floyd H, Dunn KW, Orton CI, Ferguson MW (1998) A new quantitative scale for clinical scar assessment. Plastic and reconstructive surgery 102: 1954-1961.
9. Draaijers LJ, Tempelman FR, Botman YA, Tuinebreijer WE, Middelkoop E, *et al.* (2004) The patient and observer scar assessment scale: a reliable and feasible tool for scar evaluation. Plastic and reconstructive surgery 113: 1960-1965; discussion 1966-1967.
10. Halder RM, Brooks HL, Callender VD (2003) Acne in ethnic skin. Dermatologic clinics 21: 609-615, vii.
11. Halder RM, Nandedkar MA, Neal KW (2003) Pigmentary disorders in ethnic skin. Dermatologic clinics 21: 617-628, vii.
12. Halder RM, Nootheti PK (2003) Ethnic skin disorders overview. Journal of the American Academy of Dermatology 48: S143-148.
13. Coley MK, Alexis AF (2009) Managing common dermatoses in skin of color. Seminars in cutaneous medicine and surgery 28: 63-70.
14. King R, Googe PB, Page RN, Mihm MC, Jr. (2005) Melanocytic lesions associated with dermatofibromas: a spectrum of lesions ranging from junctional nevus to malignant melanoma in situ. Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc 18: 1043-1047.
15. Konda S, Geria AN, Halder RM (2012) New horizons in treating disorders of hyperpigmentation in skin of color. Seminars in cutaneous medicine and surgery 31: 133-139.
16. Sina B, Goldner R (1990) Malignant melanoma and pigmented lesions: a diagnostic and management dilemma. Southern medical journal 83: 1218-1223.
17. Levesque M, Feng Y, Jones RA, Martin P (2013) Inflammation drives wound hyperpigmentation in zebrafish by recruiting pigment cells to sites of tissue damage. Disease models & mechanisms.
18. Galko MJ, Krasnow MA (2004) Cellular and genetic analysis of wound healing in Drosophila larvae. PLoS biology 2: E239.
19. Montagna W, Yun JS (1964) The Skin of the Domestic Pig. The Journal of investigative dermatology 42: 11-21.
20. Hayward PG, Robson MC (1991) Animal models of wound contraction. Progress in clinical and biological research 365: 301-312.
21. Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P (2001) The pig as a model for human wound healing. Wound Repair Regen 9: 66-76.
22. Gallant CL, Olson ME, Hart DA (2004) Molecular, histologic, and gross phenotype of skin wound healing in red Duroc pigs reveals an abnormal healing phenotype of hypercontracted, hyperpigmented scarring. Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society 12: 305-319.
23. Gallant-Behm CL, Hart DA (2006) Genetic analysis of skin wound healing and scarring in a porcine model. Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society 14: 46-54.
24. Gallant-Behm CL, Reno C, Tsao H, Hart DA (2007) Genetic involvement in skin wound healing and scarring in domestic pigs: assessment of molecular expression patterns in (Yorkshire x Red Duroc) x Yorkshire backcross animals. The Journal of investigative dermatology 127: 233-244.
25. Zhu KQ, Carrougher GJ, Gibran NS, Isik FF, Engrav LH (2007) Review of the female Duroc/Yorkshire pig model of human fibroproliferative scarring. Wound Repair Regen 15 Suppl 1: S32-39.
26. Gallant-Behm CL, Hildebrand KA, Hart DA (2008) The mast cell stabilizer ketotifen prevents development of excessive skin wound contraction and fibrosis in red Duroc pigs. Wound Repair Regen 16: 226-233.
27. Harunari N, Zhu KQ, Armendariz RT, Deubner H, Muangman P, *et al.* (2006) Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: final similarities to human hypertrophic scar. Burns 32: 669-677.
28. Gurtner GC, Dauskardt RH, Wong VW, Bhatt KA, Wu K, *et al.* (2011) Improving cutaneous scar formation by controlling the mechanical environment: large animal and phase I studies. Annals of surgery 254: 217-225.
29. Liang Z, Xie CY, Lin HB, Guo ZD, Yang WG (2006) [Pathomorphological observation of the hypertrophic scar induced by injury to conical structure in female red Duroc pig]. Zhonghua shao shang za zhi = Zhonghua shaoshang zazhi = Chinese journal of burns 22: 29-32.

Ejemplo comparativo 1: Papel del receptor adrenérgico Beta en la melanogénesis

Las catecolaminas noradrenalina y adrenalina se sintetizan mediante una serie de enzimas (Figura 7) en el sistema nervioso central, los nervios simpáticos y las células cromafines de la médula suprarrenal y actúan como neurotransmisores y hormonas endocrinas [1]. Además, varios informes han demostrado que las células de la epidermis, los queratinocitos, expresan las enzimas clave que convierten la L-tirosina en noradrenalina (tirosina hidroxilasa (TH)) y adrenalina (feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT)) [2, 3] y, de hecho, pueden secretar adrenalina [4]. Por el contrario, los melanocitos expresan las enzimas que sintetizan noradrenalina, incluyendo tirosina hidroxilasa, pero no adrenalina [5]. Las catecolaminas actúan a través de receptores adrenérgicos [6], clasificados en receptores adrenérgicos alfa y beta en función de su farmacología [7]. Los receptores beta-adrenérgicos (βAR; β1AR, β2AR, β3AR) son receptores acoplados a proteína G reconocidos como reguladores funcionales fundamentales de los sistemas cardíaco, pulmonar, vascular, endocrino y nervioso central [8]. Un trabajo reciente ha revelado que β2AR

también es un regulador funcional importante en la piel. β2AR se expresa altamente en todas las líneas celulares de la piel [9, 10, 11, 12, 13] (revisado en [14]), incluyendo queratinocitos [13, 15] y melanocitos [5] y, por lo tanto, existe una red funcional beta adrenérgica autocrina y paracrina en la epidermis y la dermis, respectivamente. La red beta adrenérgica desempeña un papel en la diferenciación de queratinocitos [16] vitíligo [2,17], eccema atópico [2] y reparación de heridas [4, 14, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 , 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

En particular, investigaciones recientes han revelado un papel para la red beta adrenérgica en la pigmentación de la piel. La adrenalina secretada por los queratinocitos aumentó específicamente la producción de melanina en los melanocitos a través de β2AR y la elevación corriente abajo de AMPc [5]. Además, la enzima de síntesis de catecolaminas TH actúa en concierto con la tirosinasa en los melanocitos para estimular la pigmentación [34]. De hecho, se conoce bien que la exposición a la radiación UV induce hiperpigmentación o bronceado de la piel. En condiciones experimentales, la exposición a UVB indujo la liberación de adrenalina de los queratinocitos, lo que activó la melanogénesis en los melanocitos [35], mediante la activación de β2AR [5], mientras que la noradrenalina no tuvo ningún efecto [35], apoyando un mecanismo beta adrenérgico paracrino para la melanogénesis inducida por UV en la piel. Además, el perfil de expresión de la respuesta a UVB en los melanocitos ha identificado el gen de β2AR (ADRB2) como un gen que se regulaba positivamente 2,8 veces tras la exposición a la radiación UV. Además, también se perdió la expresión de ADRB2 en melanomas, lo que sugiere un posible papel protector en el melanoma [36]. Finalmente, se han descubierto varios ortólogos de receptores adrenérgicos beta en el pez cebra, que diferían en sus patrones de expresión. Adrb2a, el ortólogo de β2AR, se expresó en el cerebro y la piel y la supresión génica de adrb2a reveló un papel funcional en la pigmentación [37]. De hecho, el perfil de expresión génica de las manchas de la edad (lentigo solar) reveló que la expresión de βAR fue elevada en las manchas de la edad en comparación con la piel no implicada [38]. En células de melanoma, la supresión génica de ARNip de β1AP o β2AR redujo la producción de melanina a solo un 31 % y un 39 % de la producción de control, respectivamente, mientras que los agonistas de βAR aumentaron la síntesis de melanina en un 150 % [38]. Por el contrario, un antagonista de βAR, undecilenoíl fenilalanina, suprimió la producción de melanina y tuvo un efecto aclarador de la piel {Gillbro, 2011 #5810}, cuando se añadió por vía tópica a mujeres chinas con manchas de la edad [38]. En resumen, la evidencia respalda la hipótesis de que la activación de β2AR estimula la melanogénesis, aumentando la pigmentación de la piel.

Referencias

1. Schulz C, Eisenhofer G, Lehnert H (2004) Principles of catecholamine biosynthesis, metabolism and release. Front Horm Res 31: 1-25.
2. Schallreuter KU (1997) Epidermal adrenergic signal transduction as part of the neuronal network in the human epidermis. J Investig Dermatol Symp Proc 2: 37-40.
3. Schallreuter KU, Wood JM, Lemke R, LePoole C, Das P, *et al.* (1992) Production of catecholamines in the human epidermis. Biochem Biophys Res Commun 189: 72-78.
4. Pullar CE, Rizzo A, Isseroff RR (2006) beta-Adrenergic receptor antagonists accelerate skin wound healing: evidence for a catecholamine synthesis network in the epidermis. J Biol Chem 281: 21225-21235.
5. Gillbro JM, Marles LK, Hibberts NA, Schallreuter KU (2004) Autocrine catecholamine biosynthesis and the beta-adrenoceptor signal promote pigmentation in human epidermal melanocytes. J Invest Dermatol 123: 346-353.
6. Cotecchia S, Stanasila L, Diviani D (2012) Protein-protein interactions at the adrenergic receptors. Current drug targets 13: 15-27.
7. Ahlquist RP (1948) A study of the adrenotropic receptors. The American journal of physiology 153: 586-600.
8. Wallukat G (2002) The beta-adrenergic receptors. Herz 27: 683-690.
9. de Coupade C, Gear RW, Dazin PF, Sroussi HY, Green PG, *et al.* (2004) Beta 2-adrenergic receptor regulation of human neutrophil function is sexually dimorphic. Br J Pharmacol 143: 1033-1041.
10. Iaccarino G, Cipolletta E, Fiorillo A, Annecchiarico M, Ciccarelli M, *et al.* (2002) Beta(2)-adrenergic receptor gene delivery to the endothelium corrects impaired adrenergic vasorelaxation in hypertension. Circulation 106: 349-355.
11. Izeboud CA, Mocking JA, Monshouwer M, van Miert AS, Witkamp RF (1999) Participation of beta-adrenergic receptors on macrophages in modulation of LPS-induced cytokine release. J Recept Signal Transduct Res 19: 191-202.
12. McSwigan JD, Hanson DR, Lubiniecki A, Heston LL, Sheppard JR (1981) Down syndrome fibroblasts are hyperresponsive to beta-adrenergic stimulation. Proc Natl Acad Sci U S A 78: 7670-7673.
13. Steinkraus V, Steinfath M, Korner C, Mensing H (1992) Binding of beta-adrenergic receptors in human skin. J Invest Dermatol 98: 475-480.
14. Pullar CE, Manabat-Hidalgo CG, Bolaji RS, Isseroff RR (2008) beta-Adrenergic receptor modulation of wound repair. Pharmacol Res 58: 158-164.
15. Steinkraus V, Korner C, Steinfath M, Mensing H (1991) High density of beta 2-adrenoceptors in a human keratinocyte cell line with complete epidermal differentiation capacity (HaCaT). Arch Dermatol Res 283: 328-332.
16. Schallreuter KU, Lemke KR, Pittelkow MR, Wood JM, Korner C, *et al.* (1995) Catecholamines in human keratinocyte differentiation. J Invest Dermatol 104: 953-957.
17. Schallreuter KU, Wood JM, Pittelkow MR, Swanson NN, Steinkraus V (1993) Increased in vitro expression of beta 2-adrenoceptors in differentiating lesional keratinocytes of vitiligo patients. Arch Dermatol Res 285: 216-220.
18. Pullar CE, Chen J, Isseroff RR (2003) PP2A activation by beta2-adrenergic receptor agonists: novel regulatory mechanism of keratinocyte migration. J Biol Chem 278: 22555-22562.

19. Pullar CE, Grahn JC, Liu W, Isseroff RR (2006) Beta2-adrenergic receptor activation delays wound healing. Faseb J 20: 76-86.
20. Pullar CE, Isseroff RR (2005) Cyclic AMP mediates keratinocyte directional migration in an electric field. J Cell Sci 118: 2023-2034.
21. Pullar CE, Isseroff RR (2005) Beta 2-adrenergic receptor activation delays dermal fibroblast-mediated contraction of collagen gels via a cAMP-dependent mechanism. Wound Repair Regen 13: 405-411.
22. Pullar CE, Isseroff RR (2006) The beta 2-adrenergic receptor activates pro-migratory and pro-proliferative pathways in dermal fibroblasts via divergent mechanisms. J Cell Sci 119: 592-602.
23. Pullar CE, Isseroff RR, Nuccitelli R (2001) Cyclic AMP-dependent protein kinase A plays a role in the directed migration of human keratinocytes in a DC electric field. Cell Motil Cytoskeleton 50: 207-217.
24. Pullar CE, Le Provost GS, O'Leary AP, Evans SE, Baier BS, *et al.* (2012) beta2AR Antagonists and beta2AR Gene Deletion Both Promote Skin Wound Repair Processes. The Journal of investigative dermatology 132: 2076-2084.
25. Romana-Souza B, Monte-Alto-Costa A (2009) Simultaneous blockade of alpha and beta adrenoceptors impairs cutaneous wound healing in rats. J Eur Acad Dermatol Venereol.
26. Romana-Souza B, Monte-Alto-Costa A (2010) Simultaneous blockade of alpha and beta adrenoceptors impairs cutaneous wound healing in rats. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV 24: 349-352.
27. Romana-Souza B, Nascimento AP, Monte-Alto-Costa A (2008) Low-dose propranolol improves cutaneous wound healing of burn-injured rats. Plast Reconstr Surg 122: 1690-1699.
28. Romana-Souza B, Nascimento AP, Monte-Alto-Costa A (2009) Propranolol improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur J Pharmacol 611: 77-84.
29. Romana-Souza B, Otranto M, Vieira AM, Filgueiras CC, Fierro IM, *et al.* (2010) Rotational stress-induced increase in epinephrine levels delays cutaneous wound healing in mice. Brain, behavior, and immunity 24: 427-437.
30. Romana-Souza B, Porto LC, Monte-Alto-Costa A (2010) Cutaneous wound healing of chronically stressed mice is improved through catecholamines blockade. Experimental dermatology 19: 821-829.
31. Romana-Souza B, Santos JS, Costa AM (2006) Blockade of β1- and β2-Adrenoceptors delays wound contraction and re-epithelialization in rats. Clinical and experimental pharmacology and physiology 33: pág. 421-430.
32. Romana-Souza B, Santos JS, Monte-Alto-Costa A (2009) beta-1 and beta-2, but not alpha-1 and alpha-2, adrenoceptor blockade delays rat cutaneous wound healing. Wound Repair Regen 17: 230-239.
33. Sivamani RK, Pullar CE, Manabat-Hidalgo CG, Rocke DM, Carlsen RC, *et al.* (2009) Stress-Mediated Increases in Systemic and Local Epinephrine Impair Skin Wound Healing: Potential New Indication for Beta Blockers. PLoS Med 6: e12.
34. Marles LK, Peters EM, Tobin DJ, Hibberts NA, Schallreuter KU (2003) Tyrosine hydroxylase isoenzyme I is present in human melanosomes: a possible novel function in pigmentation. Experimental dermatology 12: 61-70.
35. Sivamani RK, Porter SM, Isseroff RR (2009) An epinephrine-dependent mechanism for the control of UV-induced pigmentation. The Journal of investigative dermatology 129: 784-787.
36. Yang G, Zhang G, Pittelkow MR, Ramoni M, Tsao H (2006) Expression profiling of UVB response in melanocytes identifies a set of p53-target genes. The Journal of investigative dermatology 126: 2490-2506.
37. Wang Z, Nishimura Y, Shimada Y, Umemoto N, Hirano M, *et al.* (2009) Zebrafish beta-adrenergic receptor mRNA expression and control of pigmentation. Gene 446: 18-27.
38. Osborne R, Hakozaki T, Laughlin T, Finlay DR (2012) Application of genomics to breakthroughs in the cosmetic treatment of skin ageing and discoloration. The British journal of dermatology 166 Suppl 2: 16-19.
39. Whelan CJ, Johnson M, Vardey CJ (1993) Comparison of the anti-inflammatory properties of formoterol, salbutamol and salmeterol in guinea-pig skin and lung. British journal of pharmacology 110: 613-618.
40. Renshaw SA, Loynes CA, Elworthy S, Ingham PW, Whyte MK (2007) Modeling inflammation in the zebrafish: how a fish can help us understand lung disease. Exp Lung Res 33: 549-554.
41. Renshaw SA, Loynes CA, Trushell DM, Elworthy S, Ingham PW, *et al.* (2006) A transgenic zebrafish model of neutrophilic inflammation. Blood 108: 3976-3978.
42. Levesque M, Feng Y, Jones RA, Martin P (2013) Inflammation drives wound hyperpigmentation in zebrafish by recruiting pigment cells to sites of tissue damage. Disease models & mechanisms.
43. Galko MJ, Krasnow MA (2004) Cellular and genetic analysis of wound healing in Drosophila larvae. PLoS biology 2: E239.
44. Sugata K, Kitahara T, Takema Y (2008) Changes of human skin in subepidermal wound healing process. Skin research and technology: official journal of International Society for Bioengineering and the Skin 14: 436-439.

REIVINDICACIONES

1. Un método cosmético no terapéutico para mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de salbutamol a un sujeto con necesidad del mismo.

2. Salbutamol para su uso para mejorar terapéuticamente la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices en un sujeto con necesidad del mismo.

3. El método o el salbutamol para el uso en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el sujeto tiene la necesidad de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices debido a que el sujeto tiene o se encuentra en riesgo de hiperpigmentación.

4. El método o el salbutamol para el uso de la reivindicación 3 en el que se selecciona que el sujeto se encuentra en riesgo de hiperpigmentación basándose en uno o más de los siguientes factores:

- el sujeto ha desarrollado previamente hiperpigmentación de una cicatriz
- el sujeto se broncea con facilidad tras la exposición a radiación solar o ultravioleta (UV), en lugar de quemarse
- el sujeto tiene un origen racial no caucásico
- el color de la piel del sujeto (por ejemplo en un área que no está bronceada) se considera que es más oscuro que el habitual de una persona caucásica naturalmente rubia.

5. El método o el salbutamol para el uso de la reivindicación 3 o 4 en el que se selecciona que el sujeto se encuentra en riesgo de hiperpigmentación debido a que es al menos principalmente de origen racial chino, africano de raza negra, asiático o europeo meridional, y/o si su tipo de piel se puede evaluar con la Escala de Fitzpatrick como de Tipo III, IV, V o VI.

6. El método o el salbutamol para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el sujeto tiene la necesidad de mejorar la igualación del color de las cicatrices de la piel por reducción de la hiperpigmentación de las cicatrices, para una cicatriz que surge de una o más de heridas penetrantes o heridas no penetrantes formadas como resultado de agresiones o lesiones físicas que incluyen: rasguños, abrasiones, incisiones quirúrgicas y otros procedimientos quirúrgicos, quemaduras, hiperpigmentación postinflamatoria (por ejemplo después de eccema, psoriasis o acné), y otras formas de traumatismo, yatrogénesis o susceptibilidad genética.

7. El método o el salbutamol para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el salbutamol es para administrar tópica o sistémicamente.

8. El método o el salbutamol para el uso de la reivindicación 6 en el que la herida se protege de la radiación UV.

9. El método o el salbutamol para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el salbutamol se incorpora a una tirita, venda, vendaje de herida u otro producto protector oclusivo usado en el cuidado convencional de heridas, o un parche transdérmico farmacéuticamente aceptable, o un gel de hidrocoloide u otra composición adecuada.

10. Una composición antihiperpigmentación de cicatrices que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de salbutamol para su uso en la prevención terapéutica de hiperpigmentación de cicatrices o para su uso en la reducción terapéutica de hiperpigmentación de cicatrices, opcionalmente en la que la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente un agente absorbente de UV.

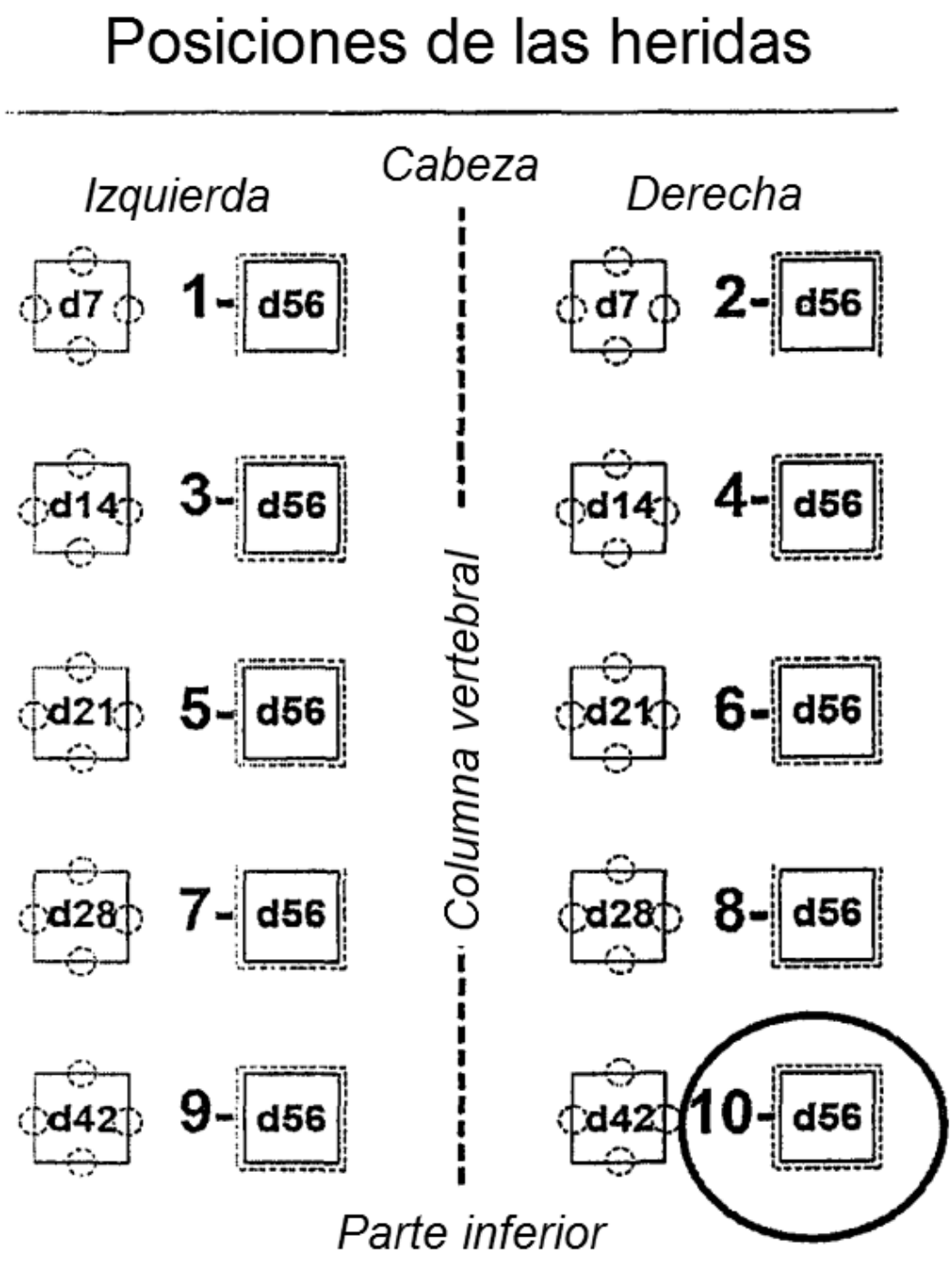
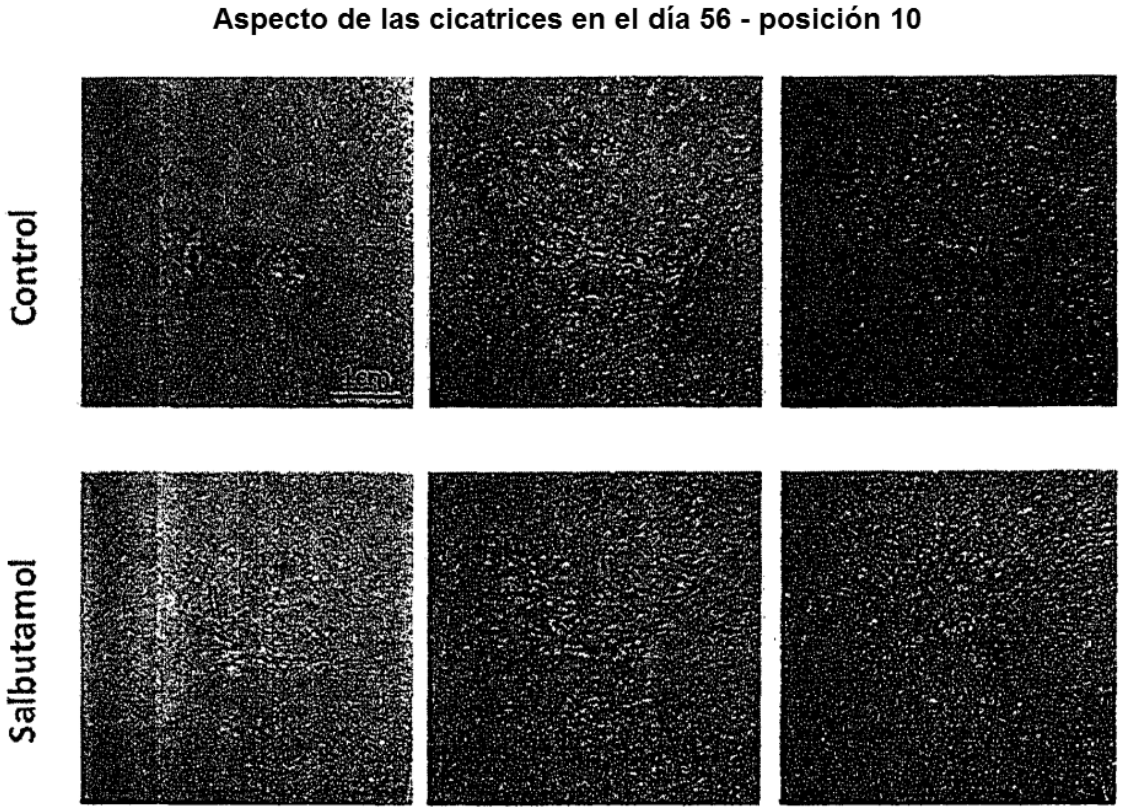
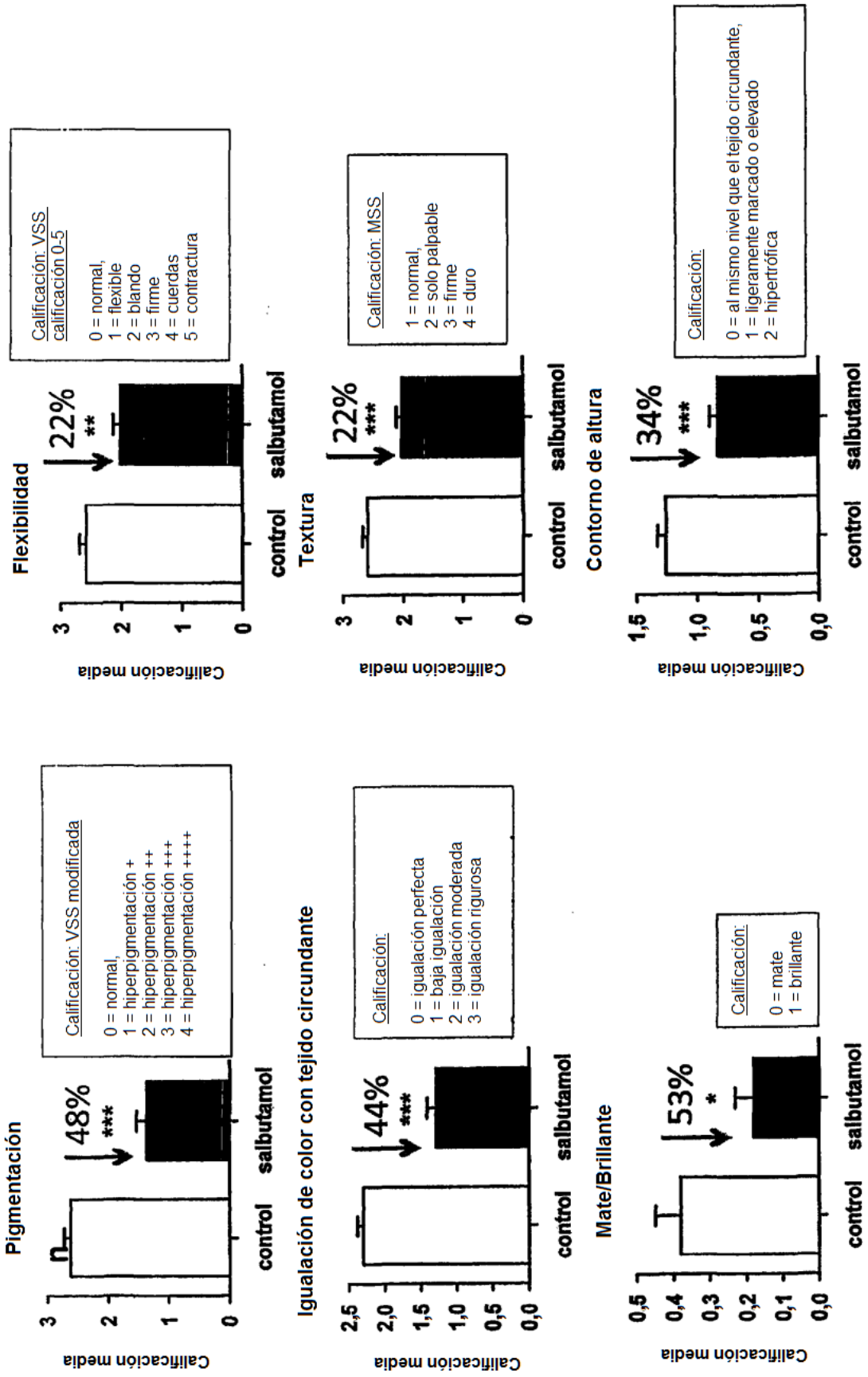

Posiciones de las heridas
Cabeza
Izquierda
Derecha
d7
1-
d56
d7
2-
d56
d14
3-
d56
d14
4-
d56
d21
5-
d56
d21
6-
d56
d28
7-
d56
d28
8-
d56
d42
9-
d56
d42
10-
d56
Columna vertebral
Parte inferior

Figura 1

Figura 2


Aspecto de las cicatrices en el día 56 - posición 10
Control
Salbutamol
1cm


Pigmentación
Calificación media
control
salbutamol
48%
***
Calificación: VSS modificada
0 = normal,
1 = hiperpigmentación +
2 = hiperpigmentación ++
3 = hiperpigmentación +++
4 = hiperpigmentación ++++
Flexibilidad
22%
**
Calificación: VSS
calificación 0-5
0 = normal,
1 = flexible
2 = blando
3 = firme
4 = cuerdas
5 = contractura
Textura
22%
***
Calificación: MSS
1 = normal,
2 = solo palpable
3 = firme
4 = duro
Contorno de altura
34%
***
Calificación:
0 = al mismo nivel que el tejido circundante,
1 = ligeramente marcado o elevado
2 = hipertrófica
Igualación de color con tejido circundante
44%
***
Calificación:
0 = igualación perfecta
1 = baja igualación
2 = igualación moderada
3 = igualación rigurosa
Mate/Brillante
53%
*
Calificación:
0 = mate
1 = brillante

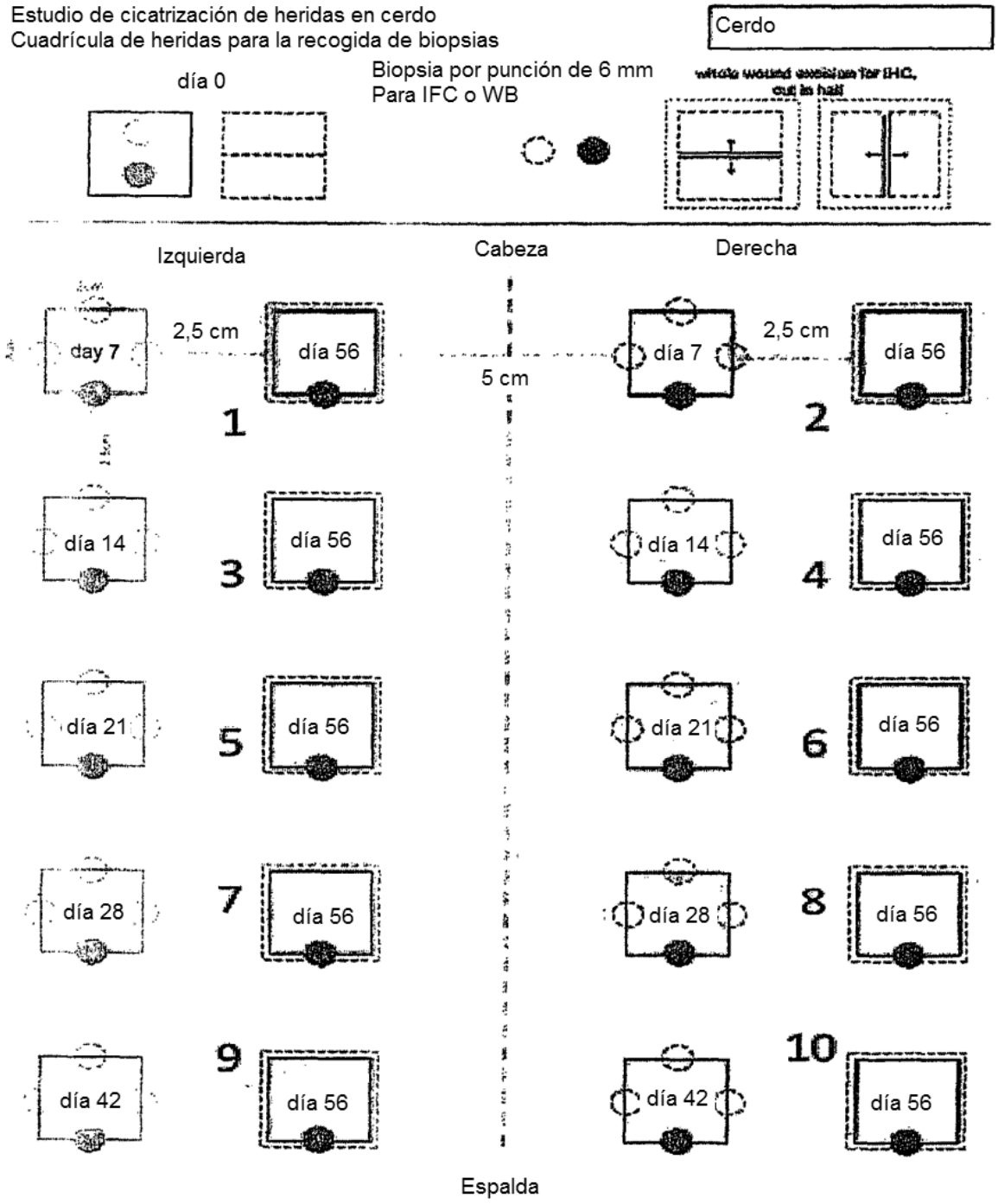

Estudio de cicatrización de heridas en cerdo
Cuadrícula de heridas para la recogida de biopsias
Cerdo
día 0
Biopsia por punción de 6 mm
Para IFC o WB
Izquierda
Cabeza
Derecha
day 7
2,5 cm
día 56
5 cm
día 7
2,5 cm
día 56
1
2
día 14
día 56
3
día 14
día 56
4
día 21
día 56
5
día 21
día 56
6
día 28
día 56
7
día 28
día 56
8
día 42
día 56
9
día 42
día 56
10
Espalda

Figura 4

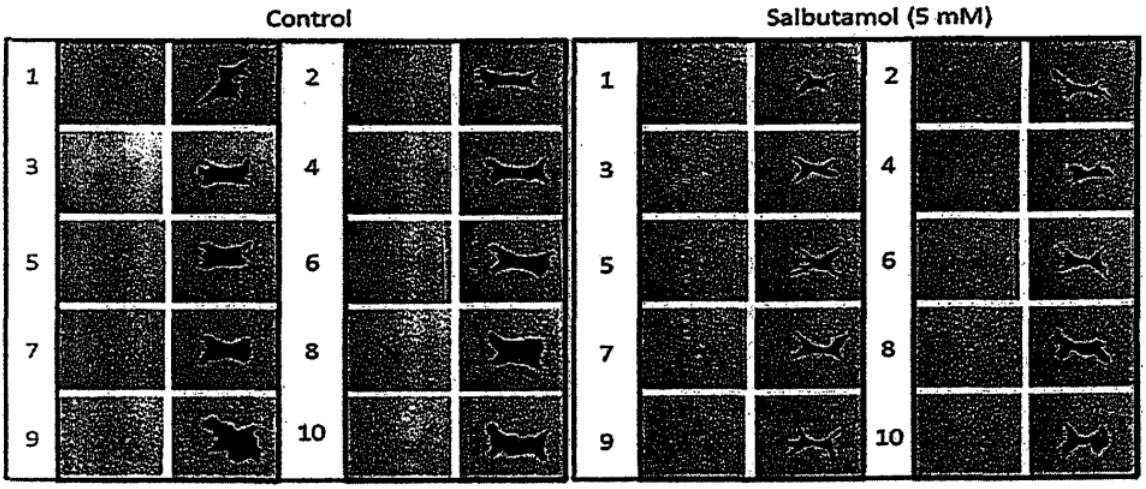


Figura 5

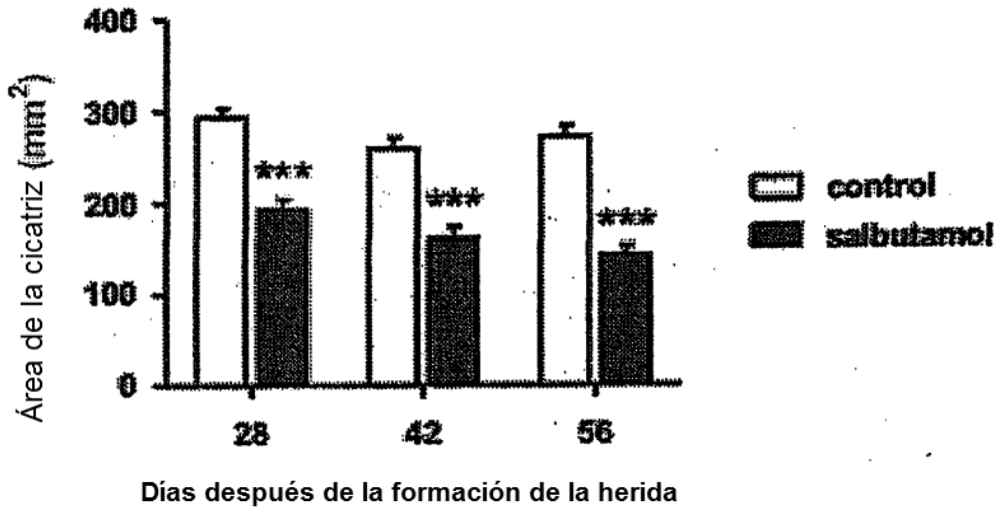


Figura 6a

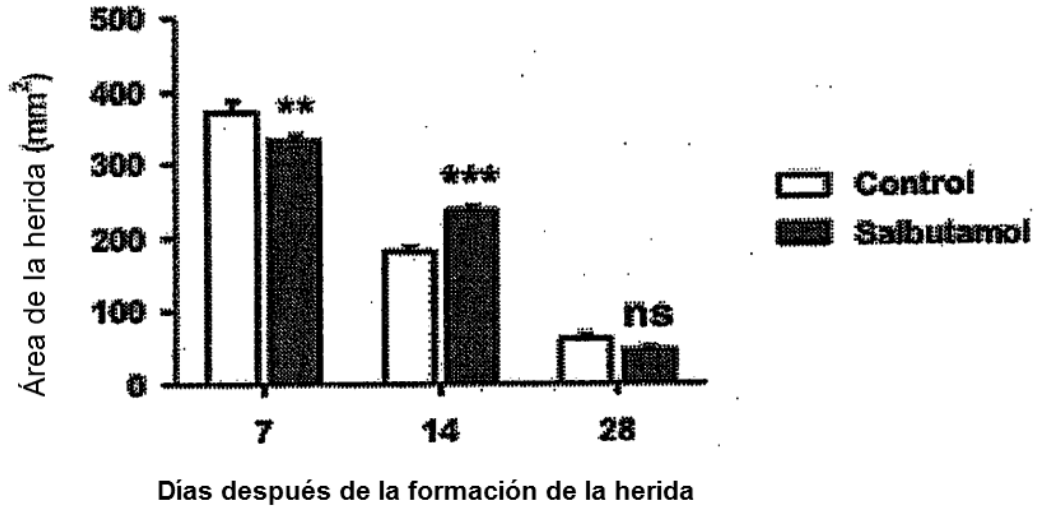


Figura 6b

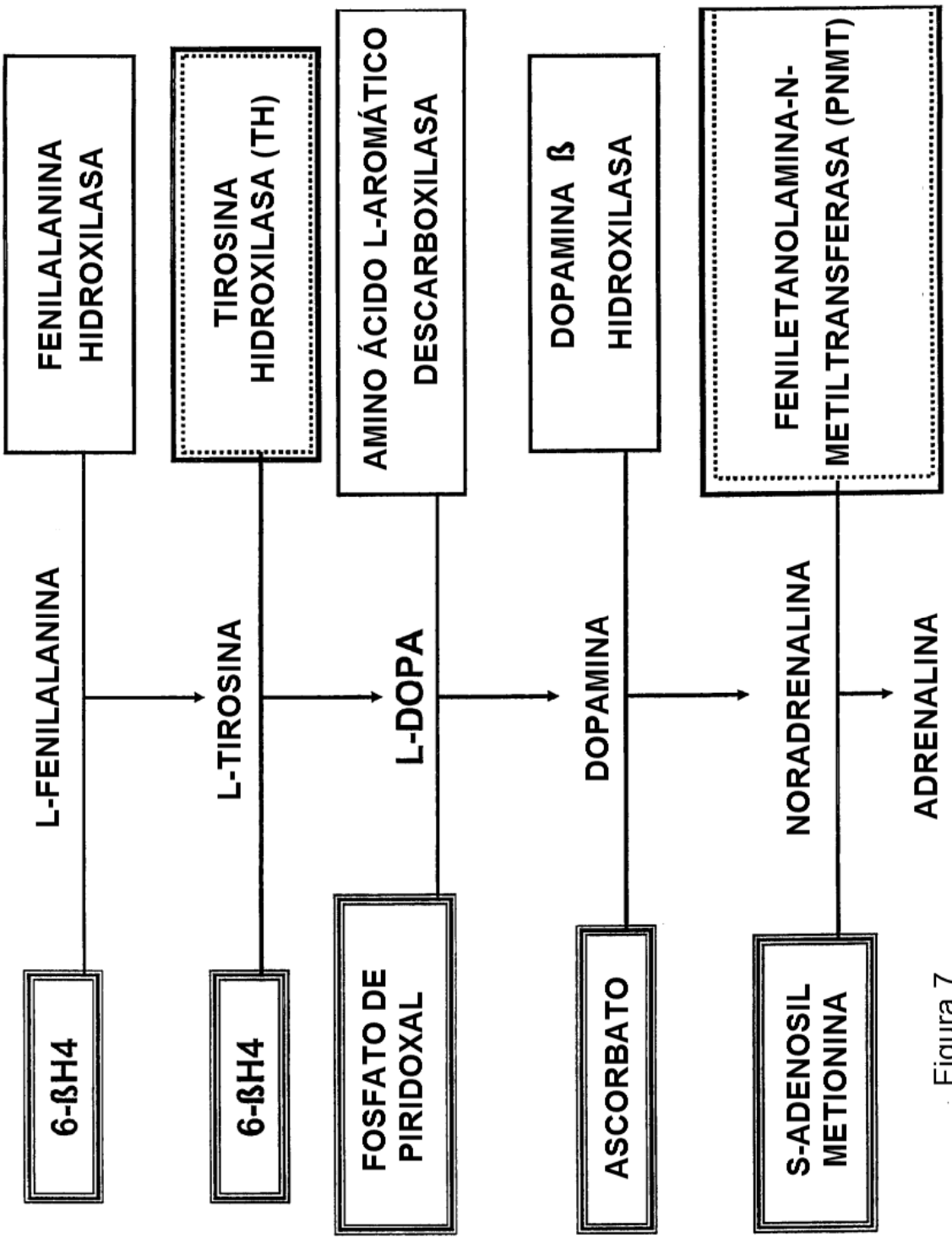

L-FENILALANINA
FENILALANINA HIDROXILASA
6-ßH4
L-TIROSINA
TIROSINA HIDROXILASA (TH)
6-ßH4
L-DOPA
AMINO ÁCIDO L-AROMÁTICO DESCARBOXILASA
FOSFATO DE PIRIDOXAL
DOPAMINA
DOPAMINA ß HIDROXILASA
ASCORBATO
NORADRENALINA
FENILETANOLAMINA-N-METILTRANSFERASA (PNMT)
S-ADENOSIL METIONINA
ADRENALINA

Figura 7