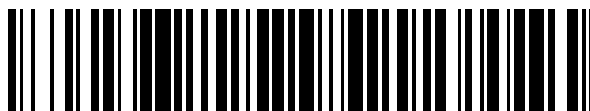


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 866**

51 Int. Cl.:

A61K 8/64 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

A61Q 19/04 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2012 PCT/IT2012/000336**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2013 WO13065078**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2012 E 12813535 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 2773318**

54 Título: **Preparación tópica que contiene NGF para inducir la pigmentación de la piel y para el tratamiento de discromías cutáneas y vitiligo**

30 Prioridad:

02.11.2011 IT RM20110574

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

18.03.2020

73 Titular/es:

**BIOMED VENTURE S.R.L. SOCIETA
UNIPERSONALE (100.0%)
Via Andrea Mantegna 121
00147 Rome (RM), IT**

72 Inventor/es:

LIOTTA, SILVANA

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 748 866 T3

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

DESCRIPCIÓN

Preparación tópica que contiene NGF para inducir la pigmentación de la piel y para el tratamiento de discromías cutáneas y vitiligo.

5 Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a una preparación tópica para inducir la pigmentación de la piel y para el tratamiento de discromías cutáneas y vitiligo. Más específicamente, la invención se refiere a un método para aumentar la pigmentación de la piel con fines terapéuticos, con el fin de obtener una intensificación del color de la piel o la repigmentación de las áreas de la piel que están despigmentadas debido al vitiligo u otros trastornos cutáneos hipopigmentarios. El método se basa en la administración de un producto tópico que contiene NGF (factor de crecimiento nervioso).

15 Antecedentes de la invención

20 El color de la piel está determinado por la cantidad de melanina producida por los melanocitos. Es bien sabido que las diferencias en la intensidad del color de la piel no se deben a factores anatómicos sino funcionales, ya que la cantidad de melanocitos en todos los casos es idéntica, independientemente del color de la piel, y está genéticamente determinada (Summa Gallicana Vol. 2, capítulo 27). La melanina se produce en forma de gránulos, que se liberan a través de un mecanismo activo y alcanzan la epidermis, donde producen el color de la piel. Una alteración en los mecanismos de producción y liberación de melanina implica una alteración de la pigmentación melánica de la piel. En consecuencia, es posible estimular la pigmentación de la piel modificando los mecanismos mencionados anteriormente (Fistarol S, Itin P., Disorders of Pigmentation, J. Dtsch. Dermatol. Ges.2010; 8 (3): 187-201).

25 Para obtener una tez más oscura con un efecto de bronceado sin exposición al sol, o para reforzar el bronceado natural logrado con una exposición reducida o hacer que dure más, se utilizan productos para aplicar sobre la piel, generalmente conocidos como productos "autobronceadores". Estos productos frecuentemente se usan como una alternativa a la tradicional exposición al sol para evitar el riesgo de consecuencias asociadas con la exposición excesiva al sol, tales como quemaduras solares, envejecimiento prematuro de la piel y un mayor riesgo de cáncer de piel.

30 Los productos utilizados actualmente para el bronceado sin exposición al sol se basan en la reacción de un agente químico activo presente en el producto con los aminoácidos de la piel. Se conocen diversos compuestos químicos de este tipo, entre los cuales la dihidroxiacetona (DHA) es el más extendido. Cuando se aplica, DHA interactúa con las células muertas del estrato córneo de la epidermis, causando un cambio en el color de la capa superficial con un efecto similar al bronceado. Este último se produce de 2 a 4 horas después de la aplicación y generalmente dura de cinco a siete días después de la aplicación inicial.

40 Aunque se recomienda su uso como una alternativa más segura que la radiación solar directa o la radiación UV, los agentes autobronceadores tales como la DHA tienen una serie de desventajas, incluida la capacidad de manchar la ropa, la capacidad de dar a la piel un color no uniforme y usualmente un olor desagradable típico.

45 Otro campo en el que se requiere un tratamiento capaz de oscurecer eficazmente la piel es el de los trastornos cutáneos hipopigmentarios, entre los cuales el vitiligo es el más conocido.

50 El vitiligo es una enfermedad cutánea no contagiosa bastante común, caracterizada por un trastorno de pigmentación de la piel, que se manifiesta por la aparición de parches irregulares y de bordes afilados, que tienen formas y tamaños muy variables, en los que la piel se despigmenta. La despigmentación es causada por una pérdida del pigmento natural de la piel (melanina), con la formación de una mancha clara, llamada mácula, que se extiende con el tiempo afectando un área más grande del cuerpo.

55 Los parches despigmentados pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo, pero los sitios más comúnmente involucrados son las manos, los brazos, la piel de las regiones anogenital, perioral y periorbital. Los bordes de los parches a menudo están hiperpigmentados, lo que evidencia el contraste con el color de la piel circundante normalmente pigmentada. El inicio del vitiligo es independiente del sexo y el color de la piel de los afectados, y su apariencia es, por lo tanto, más evidente a medida que la tez de la persona afectada es más oscura. Además del cambio de color, la piel de las áreas afectadas es absolutamente normal.

60 Los parches pueden extenderse gradualmente a lo largo del tiempo, a veces permanecen estables, pero rara vez retroceden. El curso de la enfermedad puede verse agravado por el trauma psíquico y la ansiedad.

65 El porcentaje de incidencia de vitiligo, que parece surgir con mayor frecuencia entre los 20 y los 40 años de edad, pero también surge en la edad pediátrica, resulta ser mayor en los países industrializados (donde también puede llegar al 3-4% de la población), mientras que la incidencia global sería del 1%.

Se desconoce el origen del vitiligo, aunque se sospechan factores autoinmunes y/o predisposición genética. Se han formulado diversas teorías patogénicas, siendo las más confiables la teoría autoinmune, la teoría auto-citotóxica y la teoría neuronal o neurogénica. Hasta el momento, ninguna de ellas ha sido capaz de explicar satisfactoriamente la aparición de los parches de piel despigmentados típicos. El único elemento seguro es que, al examinar con un microscopio un fragmento de piel tomado de un área acromática, se puede observar una reducción de los melanocitos y la falta de melanina, siendo la melanina el pigmento al que se debe el color de la piel (Kim YC et al., *Histopathologic features in vitiligo*, Am. J. Dermatopathol., 2008).

Por lo tanto, para causas hasta ahora prácticamente desconocidas, los melanocitos no pueden sintetizar melanina y pueden ser reducidos numéricamente o reemplazados por otras células: en este caso, las células que migrarán desde la capa basal de la epidermis hacia las capas superiores estarán desprovistas de melanina. Estas células, una vez emergidas en la superficie, darán lugar a la aparición de un parche acromático.

La opción estética más rápida y más utilizada para tratar con las discromías de la piel, tales como el vitiligo, es la aplicación de cosméticos capaces de ocultar las áreas despigmentadas. En casos de despigmentaciones particularmente grandes, se utilizan productos de despigmentación tópicos, tales como la hidroquinona o la monobenzona, que sirven para sortear el problema, ya que eliminan las áreas de pigmento vecinas a los parches acromáticos para crear una homogeneidad de color en el piel.

Como generalmente se reconoce que los melanocitos sufren degeneración como resultado de una inflamación local, lo cual puede ser de origen autoinmune, la terapia principal para el vitiligo se basa en agentes inmunomoduladores tópicos (en particular, corticosteroides). Estos últimos se aplican en las áreas despigmentadas, usualmente en combinación con irradiación de luz ultravioleta (UV). Otros tratamientos conocidos incluyen la aplicación de vitamina D₃ activada o agentes fotosensibilizantes (psoralenos), nuevamente en combinación con irradiación de luz ultravioleta (UV).

Un enfoque terapéutico actualmente aceptado y extendido en la actualidad para el tratamiento del vitiligo está representado por la terapia con psoralenos en combinación con la radiación ultravioleta limitada al rango UV-A, también conocida como terapia PUVA o terapia con PUVA. Se ha demostrado que esto puede mejorar efectivamente la condición de decoloración de la piel en aproximadamente el 50% de los casos, mientras que los esteroides son moderadamente efectivos solo en casos de vitiligo de rápida propagación, y el trastorno a menudo ocurre nuevamente después de que se suspende la terapia.

El último recurso terapéutico, cuando todos los demás tratamientos han demostrado ser ineficaces o inaplicables, está representado por el tratamiento quirúrgico a través de un injerto de piel saludable.

Entre las sustancias que se ha descubierto que son potencialmente capaces de aumentar la pigmentación de la piel, se han estudiado particularmente la capsaicina, la curcumina y la piperina. Estas sustancias están contenidas, respectivamente, en chile, curry y pimienta negra, y pueden ser efectivas para controlar la progresión del vitiligo. El uso de estos antioxidantes naturales para el tratamiento de la enfermedad ha surgido, en particular, de un sondeo bioquímico realizada in vitro en cultivos primarios de queratinocitos.

Se ha encontrado experimentalmente que algunas aplicaciones de piperina y de algunos derivados sintéticos de la misma en la piel de ratones de laboratorio, acopladas o no con fototerapia con rayos ultravioleta, oscurecieron la piel de los roedores en seis semanas. El efecto fue más evidente y duradero para el tratamiento combinado con radiación UV. Tal uso terapéutico de la piperina también se describe en la publicación de la solicitud de patente internacional No. WO 00/02544 (en nombre de BTG International Ltd.), mientras que la patente U.S. 7361685 (asignada a la Oregon Health and Science University) extiende tal aplicación a una clase de derivados de piperina. En consecuencia, se han propuesto cremas que contienen piperina o también capsaicina como agonistas del receptor de piel vanilloide TRPV1 y moduladores de la melanogénesis para el tratamiento de acromías e hipocromías cutáneas tales como el vitiligo.

Uno de los mecanismos hipotéticos que analizan los resultados terapéuticos obtenidos en el tratamiento del vitiligo con PUVA es una reducción en los niveles locales del factor de crecimiento nervioso (NGF). Alrededor de los años 90 ya se había sugerido que una mayor expresión del receptor de NGF podría estar asociada con la destrucción de los melanocitos de la piel (Yaar M. et al., *J. Clin. Invest.*, 1994), lo que da como resultado una despigmentación cutánea.

En línea con los efectos negativos de los neuromediadores locales en la pigmentación de la piel, se ha documentado una sensibilidad local reducida en los parches cutáneos con vitiligo, así como la presencia de terminaciones nerviosas en un estado degenerativo (Breathnach A., et al., *J Invest. Dermatol.*, 1992). Los estudios in vitro también han demostrado que otro neurotransmisor llamado neuro-tensina puede aumentar la inflamación local y empeorar la pigmentación de la piel en el vitiligo a través de la inducción de TNF- α (factor de necrosis tumoral- α) por los melanocitos (Kovacs SO. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 1998).

Como se sabe, el factor de crecimiento nervioso es el primer componente de una familia compleja de neurotrofinas, y es conocido por su acción trófica, trópica y diferenciadora en las neuronas colinérgicas del sistema nervioso central y en el sistema simpático periférico. El NGF se produce en muchos tejidos de mamíferos, incluido el humano, y se libera

en el torrente sanguíneo a niveles más altos durante el crecimiento y la diferenciación del sistema nervioso. Los estudios biológicos, bioquímicos y moleculares realizados en sistemas celulares in vitro mostraron una alta homología de secuencia entre NGF murino y humano. Adicionalmente, en humanos, como en otras especies animales, el NGF normalmente está presente tanto en el líquido cefalorraquídeo como en el torrente sanguíneo a concentraciones en el rango de 10 a 15 pg/ml, que aumentan en algunas patologías inflamatorias (enfermedades autoinmunes, enfermedades alérgicas, etc.) y disminución en otras (diabetes)

El NGF fue descubierto por la profesora Rita Levi-Montalcini, en el Zoology Institute of the Washington University of St. Louis (Levi-Montalcini R., Harvey Lect., 60:217, 1966), y su descubrimiento representó un avance notable en el estudio de los mecanismos de crecimiento y diferenciación de las células nerviosas, ya que el NGF puede afectar el desarrollo y la preservación de las funciones biológicas de las neuronas y su regeneración. Por el descubrimiento de esta molécula, y por haber caracterizado su función biológica tanto en el sistema nervioso periférico como en el central, en 1986 la Prof. R. Levi-Montalcini recibió el Premio Nobel de Medicina y Fisiología.

Varios estudios in vitro e in vivo han demostrado la importancia fisiopatológica del NGF en la prevención del daño neuronal de naturaleza quirúrgica, química, mecánica e isquémica, lo que lo convierte en el candidato ideal para uso en el tratamiento de varias condiciones de los sistemas nervioso periférico y central. (Hefti F., J. Neurobiol., 25: 1418, 1994; Fricker J., Lancet, 349: 480, 1997). De hecho, desde hace muchos años se han llevado a cabo ensayos clínicos en pacientes que padecen la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer, mediante la administración intracerebral de NGF murino (véase, por ejemplo, Olson L. et al., J. Neural Trans.: Parkinson's Disease and Dementia Section, 4:79, 1992). Los resultados de estos estudios confirmaron las observaciones realizadas en modelos animales y mostraron la ausencia de posibles efectos colaterales después de la administración de NGF murino. Esta característica se confirmó subsecuentemente para el NGF recombinante humano (Petty B.G. et al., Annals of Neurology, 36: 244-246, 1994).

Los estudios sobre la caracterización de los efectos biológicos, bioquímicos, moleculares, preclínicos y clínicos del NGF se han llevado a cabo casi exclusivamente utilizando NGF aislado de glándulas submandibulares de roedores adultos. Por lo tanto, la mayor cantidad de datos adquiridos actualmente se refiere a NGF murino. Las propiedades bioquímicas de este último se han descrito, en particular, en un trabajo que data de 1968 (Levi-Montalcini R. e Angeletti P.U., Physiological Reviews, 48: 534, 1968).

El NGF contenido en las glándulas salivales murinas es un complejo molecular de 140 kdalton, con un coeficiente de sedimentación igual a 7S, que consiste en tres subunidades, α , β y γ , la segunda de las cuales representa la forma activa real. Esta última, llamada β NGF, con un coeficiente de sedimentación de 2.5 S, usualmente se extrae y purifica de acuerdo con tres técnicas no muy diferentes (Bocchini V., Angeletti PU, Biochemistry, 64: 787-793, 1969; Varon S. et al., Methods in Neurochemistry, 203-229, 1972; Mobley WC et al., Molecular Brain Research, 387: 53-62, 1986). A su vez, el β NGF así obtenido es un dímero que consiste en dos cadenas idénticas de 118 aminoácidos, que tienen un peso molecular total de aproximadamente 26,000 Daltons. Cada cadena individual se estabiliza mediante tres puentes disulfuro, mientras que los enlaces no covalentes aseguran la formación de la estructura dimérica. Esta molécula, siendo muy estable, es soluble en casi cualquier disolvente, ya sea acuoso o aceitoso, manteniendo sin cambios sus características bioquímicas y su actividad biológica. Se informan detalles adicionales sobre la estructura, las características físicas y bioquímicas de la molécula en Greene, L.A. e Shooter, E.M., Ann. Rev. Neurosci. 3: 353, 1980.

Recientemente, la estructura β NGF se ha aclarado además por medio del análisis cristalográfico. Este análisis ha revelado la presencia de tres pares de filamentos antiparalelos, que tienen una estructura secundaria de tipo β , capaces de formar una superficie plana a lo largo de la cual las dos cadenas se unen para dar el dímero activo. En estas cadenas de β NGF se ha evidenciado la presencia de cuatro regiones de "bucle", en donde se localizan muchos aminoácidos variables. Es probable que la especificidad del reconocimiento por parte del receptor se deba a lo mismo.

Se sabe que el efecto biológico del NGF está mediado por dos receptores presentes en la superficie de las células diana correspondientes, a saber, el receptor de alta afinidad TrkA (tirosina quinasa A) y la p75 de baja afinidad. Existen varios anticuerpos que inhiben selectivamente el efecto biológico del NGF, cuya existencia permitió una caracterización y modulación precisa de su acción, tanto en sistemas celulares como in vivo.

En tiempos más recientes se ha hecho posible sintetizar, usando técnicas de ingeniería genética, el NGF humano (Iwane, M. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 171: 116, 1990), y pequeñas cantidades de NGF humano también están disponibles comercialmente. Sin embargo, se descubrió por experiencia directa que la actividad biológica del NGF humano es muy baja en comparación con la actividad del NGF murino. Adicionalmente, debe tenerse en cuenta que casi todos los datos disponibles actualmente en el hombre, tanto in vitro como in vivo, se han obtenido utilizando NGF murino, y que nunca se han experimentado efectos indeseables susceptibles al origen murino de la molécula.

Con referencia a una posible participación del factor de crecimiento nervioso en trastornos pigmentarios de la piel, se ha asumido durante mucho tiempo, como se señaló anteriormente, que el NGF puede tomar parte en la inflamación neurogénica cutánea, la cual a su vez está involucrada en la patogénesis de diversas condiciones de la piel (Pincelli C., Eur. J. Dermatol., 2000). A partir de esta hipótesis, algunos informes científicos publicados en el campo de la dermatología especializada se refieren al posible uso de antagonistas del NGF en el tratamiento de trastornos

hipopigmentarios de la piel (El-Samad ZA. Et al., Egipto. J. Derm. & Androl. Vol. 27, No. 3,4, 2006; Lee MH. Et al., Korean J. Physiol. Pharmacol., 2002). En particular, se ha encontrado que la terapia PUVA reduce la densidad cutánea de las terminaciones nerviosas (Tominaga M. et al., J Dermatol. Sci, 2009), mientras que se sabe que la aplicación tópica de NGF produciría un efecto opuesto.

5 En línea con la propuesta de los autores citados de utilizar un antagonista de NGF en el tratamiento del vitiligo, otros estudios han sugerido que una terapia dirigida a reducir los niveles de NGF en la piel podría ser beneficiosa para las lesiones cutáneas hipopigmentarias del vitiligo (Rateb A. et al., J. Egypt. Wom Dermatol. Soc, 2004). En este estudio, se sugiere que en los parches de piel hipopigmentados se produce una mayor expresión de NGF, y que la activación de los receptores de NGF colocados en los melanocitos es crítica para su degeneración/destrucción en el vitiligo y que por lo tanto, en teoría, un antagonista de NGF puede representar una futura terapia para el vitiligo.

15 Para el tratamiento del vitiligo, también se ha propuesto utilizar una familia de moléculas biológicamente activas de origen natural conocidas como Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), en particular el Factor de Crecimiento de Fibroblastos básico (bFGF) y las secuencias de polipéptidos derivadas de ellas. En particular, en la Patente U.S. NO. 6143723 y en las solicitudes de patente EP-A-1754489 y US 2007/0027080 (todas a nombre de Abburi, Ramaiah) se propone el uso de preparaciones que contienen secuencias parciales de bFGF para aplicación tópica en la piel para el tratamiento del vitiligo, ya sea sola o en combinación con otras terapias ya conocidas para el tratamiento del vitiligo.

20 Recientemente, la solicitud de patente US 2010/0222275 (Tamaki et al.), Propuso una preparación tópica para el tratamiento del vitiligo con base en un agente que tiene una actividad espesante en la epidermis. La solicitud de patente enumeró, como agentes que tienen tal actividad, agentes que pertenecen al grupo del Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF) - tanto ácido (aFGF) como básico (bFGF) - Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) y Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF).

25 La publicación de la solicitud de patente internacional No. WO 99/39728 (en nombre de los Fideicomisarios de la Universidad de Boston) divulga métodos para controlar o manipular la muerte celular de melanocitos y queratinocitos y, en particular, métodos para prevenir la pérdida de células de melanocitos epidérmicos e inducir la coloración del cabello y la piel en un vertebrado. Según los informes, el método abarca la inhibición de la apoptosis mediada por p75 NGF-R de los melanocitos.

Resumen de la invención

35 Un objeto de la presente invención es proporcionar una preparación dermatológica tópica para aplicar sobre la piel despigmentada de pacientes que padecen de vitiligo y/u otros trastornos cutáneos hipopigmentarios, para la terapia y/o profilaxis de tales trastornos. Este objetivo se logra como se describe en las reivindicaciones.

40 De acuerdo con la invención, se ha encontrado, contrariamente a lo sugerido por la literatura citada anteriormente, que la administración tópica a la piel de preparaciones que contienen Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) es efectiva para lograr una intensificación del color de la piel, es decir, un aumento en pigmentación, en el caso de una piel sana, no afectada por discromatosis, así como una mejora de las condiciones dermatológicas que implican acromías o hipocromías cutáneas, como es el caso del vitiligo.

45 En realidad, sorprendentemente se ha observado una repigmentación de áreas despigmentadas en seis pacientes voluntarios (tres hombres y tres mujeres) que padecen vitiligo en áreas de piel múltiples y discretas, después de un tratamiento de 2-8 semanas con una preparación de crema de base tópica. que contiene de 50 a 500 µg/ml de NGF murino, aplicado 2-4 veces al día.

50 En estos pacientes, también se ha observado un aumento de la sensibilidad al contacto en los parches de vitiligo después del tratamiento, al detectar, mediante un estesiómetro de contacto Cochet-Bonnet, la diferencia de sensibilidad de la piel entre dos puntos, uno de los cuales está dentro del parche despigmentado y el otro está en la piel sana circundante.

55 El posible mecanismo de acción del tratamiento propuesto de acuerdo con la invención se ha estudiado preliminarmente in vitro en cultivos celulares primarios de melanocitos epidérmicos humanos normales, e in vivo en conejillos de indias tratados con la preparación de NGF en comparación con el vehículo (crema base). aplicado solo (placebo). Se encontró que la adición de NGF causó un aumento en el contenido de melanina y mejoró la viabilidad de las células y la propagación de los melanocitos después de la irradiación con luz ultravioleta.

60 Incluso más notable, se ha observado un aumento de la pigmentación de la piel de los conejillos de indias sometidos al experimento y tratados con NGF incluso en ausencia de exposición a la luz UV o la exposición a la luz solar durante todo el período del experimento, lo que sugiere por lo tanto para el producto con base en NGF una utilidad potencial como bronceador o preparación autobronceadora.

Después del tratamiento, los animales fueron sacrificados y los exámenes histológicos revelaron un aumento de melanocitos, del contenido de melanina y de las terminaciones nerviosas en la piel que habían sido sometidas a tratamiento con NGF.

5 Además, en otros estudios relacionados con la presente invención, se ha estudiado la presencia de NGF y sus receptores en la dermis y la epidermis, tanto en los experimentos in vitro como in vivo mencionados anteriormente como en tejidos obtenidos de biopsias humanas. Se observó que tanto el NGF como sus receptores de alta afinidad (TrkA) y baja afinidad (p75) se encuentran tanto en los queratinocitos como en los melanocitos y fibroblastos, de acuerdo con la literatura previa citada anteriormente.

10 La presencia de NGF y sus receptores en la piel normal sana, que se ha verificado mediante técnicas inmunohistoquímicas y moleculares, representa un requisito previo fundamental porque puede mostrar su actividad biológica y, por lo tanto, también un efecto terapéutico. A este respecto, es digno de mención que en dos tejidos de biopsia de parches acromáticos en voluntarios con vitiligo no tratados, examinados utilizando técnicas inmunohistoquímicas, no se ha detectado la presencia de NGF.

15 De acuerdo con la presente invención, y al contrario de lo que sugiere la literatura citada anteriormente, se supone que en las patologías hipopigmentarias del tipo de vitiligo, una reducción de los niveles locales de NGF por debajo del umbral capaz de asegurar la integridad de los tejidos puede representar un mecanismo patogénico, y que los efectos positivos de una administración de NGF exógeno a los tejidos afectados ya pueden aparecer en concentraciones de NGF en el orden de los fisiológicos (unos pocos microgramos/ml). El efecto terapéutico del NGF se debe a una reversión de los mecanismos de la melanogénesis celular, como lo demuestra la melanina en la epidermis de los animales tratados y el aumento de la pigmentación de la piel en los pacientes.

20 Por lo tanto, la presente invención divulga un producto para aplicación tópica capaz de aumentar la pigmentación de la piel con el fin de broncear u oscurecer la piel, así como para el tratamiento del vitiligo y otras afecciones cutáneas hipopigmentarias. El producto se debe aplicar localmente para facilitar o acelerar la pigmentación o repigmentación, aumentando la inervación sensorial cutánea y estimulando los melanocitos.

25 La posibilidad de que el factor de crecimiento nervioso mostrara una acción biológica después de la administración tópica a la superficie de la piel era difícilmente predecible, especialmente teniendo en cuenta el hecho de que, como se mencionó anteriormente, el NGF es una molécula de tamaño considerable (26,800 Dalton) con una estructura compleja. Para que tal molécula pueda actuar al nivel de los tejidos más profundos de la piel, es necesario que una vez aplicada a la superficie de la piel penetre a través del estrato córneo. En la práctica actual, ya se conocen ingredientes activos para la aplicación tópica en la piel (en particular, los esteroides tales como la cortisona), que pueden penetrar a través de la epidermis y alcanzar las capas más profundas a concentraciones terapéuticamente efectivas, pero sus tamaños moleculares son considerablemente más pequeños que el tamaño de NFG. En realidad, el NGF, aunque tiene una estructura compleja y un gran peso molecular, incluye grupos hidrofílicos y lipofílicos, lo que permite que la molécula pase a través de las barreras anatómicas homólogas (hidrofílicas y lipofílicas).

30 Además, una característica fundamental del NGF consiste en el hecho de que una vez que ha alcanzado los tejidos objetivo en concentraciones incluso mínimas, pero aún biológicamente activas, es capaz de estimular la producción endógena del mismo NGF por parte del tejido.

35 Descripción detallada de la invención

40 Por lo tanto, la presente invención proporciona específicamente una preparación cutánea tópica que contiene de 10 a 1000 µg/ml de factor de crecimiento nervioso (NGF) para la terapia y/o la profilaxis de trastornos cutáneos discromáticos. Específicamente, los trastornos cutáneos discromáticos que pueden hacer uso del tratamiento con NGF de acuerdo con la invención incluyen los enumerados en el grupo que consiste en: vitiligo, vitiligo bilateral, vitiligo acrofacial, vitiligo generalizado, vitiligo focal, vitiligo segmentario, vitiligo universal, vitiligo perinéptico o Sutton nevus, leucoderma, discromía cutánea, piebaldismo, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor, hipomelanosis guttata idiopática y postinflamatoria, nevos acromáticos o despigmentados, hipomelanosis macular progresiva, hipomelanosas causadas por trastornos metabólicos o nutricionales o endocrinos, hipomelanosis causadas por agentes químicos, físicos o farmacéuticos, hipomelanosis infecciosas y postinfecciosas e hipomelanosas inflamatorias.

45 De acuerdo con otra realización del mismo, la presente invención proporciona específicamente el uso de una preparación que contiene de 10 a 1000 µg/ml de factor de crecimiento nervioso (NGF) para inducir, intensificar o acelerar la pigmentación de la piel en sujetos dermatológicamente sanos.

50 Específicamente, la preparación propuesta de acuerdo con la invención contiene como ingrediente activo una cantidad efectiva de la neurotrofina denominada factor de crecimiento nervioso (NGF) en un vehículo farmacéutica o cosméticamente aceptable, tolerado dermatológicamente y compatible con la sustancia activa misma. El NGF utilizado en la formulación propuesta puede ser la proteína de origen humano o de origen murino, o es un NGF humano recombinante, o también puede ser una sustancia que desempeña un papel similar al NGF al unirse a un receptor de NGF de, a saber un agonista o una sustancia mimética de NGF.

Otras moléculas biológicamente activas que pertenecen, tal como el Factor de Crecimiento Nervioso, a la familia de las neurotrofinas, y específicamente la neurotrofina-3 (NT-3), la neurotrofina-4 (NT-4) y el Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), pueden representar una candidatos válidos para el mismo uso terapéutico o cosmético de acuerdo con la invención.

De acuerdo con la presente divulgación, la preparación tópica en cuestión que contiene NGF se puede aplicar a la superficie de la piel de sujetos dermatológicamente sanos, es decir, que no padecen enfermedades de la piel, simplemente con el fin de oscurecer su tez y proporcionar un efecto de bronceado equivalente al que se obtiene a través de exposición a irradiación solar. Por lo tanto, el producto a base de NGF se puede usar como ingrediente activo, solo o en combinación con otros ingredientes activos conocidos en la industria y compatibles con el mismo, tanto en formulaciones cosméticas autobronceadores y como un aditivo en productos convencionales de protección solar, con el fin de intensificar el bronceado natural o prolongarlo.

Como ya se señaló, dicha preparación tópica es adecuada para la terapia y/o la profilaxis de trastornos cutáneos despigmentarios y/o hipopigmentarios, o trastornos de la pigmentación melánica de la piel, tales como patologías específicas de origen trófico, neurotrófico, post-traumático, postinfeccioso, postquirúrgico, autoinmune, genético, metabólico, nutricional, endocrino, químico, físico, distrófico, degenerativo o postinflamatorio.

Es considerar que muchas de estas enfermedades son difíciles de tratar o carecen de una terapia efectiva. Otros trastornos que aparecen con piel acromática o hipocrómica, y que pueden tratarse, al menos en cuanto a la apariencia dermatológica, con una preparación de NGF de acuerdo con la invención son: albinismo, trastornos albinoides, canas, incontinentia pigmenti, hipomelanosis de Ito, mosaicismo pigmentario, liquen esclero-atrófico, melanoleucodermia, síndrome de Chédiak-Higashi, síndrome de Rozycki, hipomelanosis de Waardenburg, síndrome de Fisch, esclerosis tuberosa de Bourneville, hipomelanosis de Ziprkowski-Margolis, síndrome de Menkès, síndrome de Westerhof, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, síndrome de Alezandrini, poiquilodermia esclerosante hereditaria, acropigmentación de Dohi.

Específicamente, la invención se refiere al uso de la neurotrofina llamada factor de crecimiento nervioso (NGF) en forma de solución o suspensión acuosa, alcohólica u oleosa, emulsión, aerosol, loción, linimento, crema, pomada o gel, que contiene NGF como ingrediente activo en un portador farmacéuticamente aceptable. También es posible proporcionar vías especiales de administración además de la aplicación cutánea, por ejemplo, mediante mecanismos de iontoforesis, o en forma de un sistema de "reservorio" de membrana (por ejemplo, una membrana de polímero) para aplicar sobre la epidermis, o en una forma adecuada para el suministro percutáneo, transcutáneo o subcutáneo, que contiene NGF como ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como alternativa adicional, el NGF, o una preparación que lo contiene, se puede agregar a un vendaje local para aplicarlo en áreas de piel pigmentada.

Para lograr la preparación de acuerdo con la invención, los procedimientos adecuados para la extracción y purificación de NGF se informan en las referencias bibliográficas citadas anteriormente. La técnica de acuerdo con Bocchini y Angeletti, que se informará brevemente en lo sucesivo, se ha utilizado para la producción del producto en cuestión. Las glándulas submandibulares se extirpan estérilmente de ratones machos adultos, y los tejidos se homogenizan, centrifugan y dializan; entonces la suspensión se pasa a través de columnas de celulosa subsecuentes, en las cuales el NGF permanece absorbido. El NGF se eluye luego de la columna por medio de un regulador que contiene cloruro de sodio 0.4 M. Las muestras así obtenidas se leen en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 280 nm para identificar las fracciones que contienen NGF. Estas últimas se dializan y el NGF así obtenido se liofiliza bajo condiciones estériles y se almacena en el congelador a -20 °C.

Un producto medicinal de acuerdo con la invención adecuado para la aplicación en la superficie de la piel puede contener preferiblemente, solo o en combinación con uno o más de otros ingredientes activos, de 10 a 1000 microgramos/ml de NGF, preferiblemente de 10 a 500 microgramos/ml de NGF, e incluso más preferiblemente de 50 a 500 microgramos/ml de NGF.

Como ya se señaló, en la preparación tópica de acuerdo con la invención, el NGF también puede estar presente en combinación con uno o más de otros ingredientes activos indicados para el tratamiento y/o la profilaxis de la enfermedad dermatológica tratada, o puede conjugarse con una molécula portadora.

Una formulación específica adecuada para la aplicación tópica puede consistir, por ejemplo, en NGF murino purificado liofilizado, resuspendida en solución salina de cloruro de sodio al 0.9% o en solución salina equilibrada (BSS) y finalmente mezclada con una preparación de crema base o ungüento base. De tal manera que se obtenga una mezcla final con 200 µg/ml de NGF para aplicación tópica en la piel.

Otros ejemplos no limitativos de formulaciones basadas en NGF incluyen formulaciones en aerosol, ungüento, gel, crema o linimento e incluyen vehículos adecuados tales como polietilenglicol u óxido de polietileno, poliacrilato, carboximetilcelulosa, ácidos grasos y alcoholes grasos, lanolina, cetomacrogol, parafina y similares.

La solución, suspensión o emulsión que contiene NGF de acuerdo con la invención puede contener diversos componentes biológicamente activos adicionales, y/o NGF se puede conjugar con moléculas transportadoras o con moléculas conocidas para facilitar la penetración a través de la epidermis, o con vehículos cosméticamente aceptables (es decir, vehículos adecuados para uso cosmético), y pueden contener otros componentes opcionales conocidos en la técnica y seleccionados de aquellos utilizados convencionalmente en las industrias farmacéutica y cosmética, tales como agentes acidificantes, agentes alcalinizantes, conservantes y antimicrobianos, antioxidantes, reguladores, agentes quelantes, dispersantes, emolientes, humectantes, fragancias, protectores solares, agentes dermatológicos y otros ingredientes. A continuación se enumeran ejemplos no limitantes de tales categorías de excipientes y coadyuvantes de la formulación.

Ejemplos de agentes acidificantes que se pueden agregar para obtener el pH deseado incluyen ácido cítrico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido acético, ácido málico y ácido propiónico, mientras que los ejemplos de agentes alcalinizantes incluyen edetol, carbonato de potasio, hidróxidos de potasio o sodio, borato de sodio, carbonato de sodio, citrato de sodio, lactato de sodio, glicolato de sodio.

Se pueden usar agentes antimicrobianos y conservantes cuando los productos que se van a aplicar sobre la piel están sujetos a infección microbiana y/o para proteger el producto de la degradación. Ejemplos de conservantes adecuados incluyen fenoxietanol, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, clorobutanol, ácido benzoico, benzoato de sodio, alcohol bencílico, acetato de fenilmercurio, sorbato de potasio, ácido sórbico y sus mezclas, tales como el aceite LiquaPar®.

Para proteger los ingredientes del producto de las sustancias oxidantes que se incluyen en la formulación o que pueden entrar en contacto con él durante el uso o durante el almacenamiento, se pueden emplear agentes antioxidantes. Ejemplos de agentes adecuados incluyen antioxidantes solubles en agua tales como ácido ascórbico, bisulfito o metabisulfito de sodio, formaldehído sulfoxilato de sodio, ácido ascórbico, ácido isoascórbico, clorhidrato de cisteína, 1,4-diazabicyclo (2,2,2) -octano y mezclas de los mismos. Ejemplos de antioxidantes liposolubles incluyen palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, galato de propilo potásico, galato de octilo y galato de dodecilo, fenil-alfa-naftilamina y tocoferoles tales como el alfa-tocoferol.

Con el fin de promover la penetración del producto a través de la epidermis, se pueden agregar otros excipientes, que se seleccionan de los utilizados convencionalmente en la técnica farmacéutica, por ejemplo para regular la solución, suspensión o emulsión, para estabilizar el principio activo y/o para hacer la preparación más tolerable. Los reguladores adecuados deben mantener el pH entre 4 y 8. Ejemplos de reguladores adecuados para usar en la piel incluyen acetato de calcio, metafosfato de potasio, fosfato de potasio monobásico y ácido tartárico.

Ejemplos de agentes quelantes que pueden usarse para mantener la concentración iónica del producto y/o unirse a compuestos destructivos y metales que están incluidos o entran en contacto con el producto incluyen ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA) y sus sales, tales como edetato dipotásico, edetato disódico y EDTA tetrasódico.

Ejemplos de agentes dispersantes adecuados para las formulaciones cutáneas tópicas basadas en NGF de la invención incluyen carragenano, silicato de magnesio y aluminio, goma de xantano y dióxido de silicio.

Los emolientes son agentes que suavizan y dejan tersa la epidermis y, por lo tanto, pueden facilitar el paso del producto a través del estrato córneo. La biodisponibilidad cutánea de NGF se puede aumentar además mediante el uso de compuestos que promueven la penetración del ingrediente activo, tal como dimetilsulfóxido, taurocolatos, fosfolípidos de membrana y diversos surfactantes adecuados para uso dermatológico. Ejemplos de emolientes incluyen aceites y ceras tales como cera microcristalina, ésteres de triglicéridos tales como aceite de ricino, aceite de cártamo, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de hígado de bacalao, aceite de almendras, aceite de palma, aceite de soja, manteca de cacao, escualeno, monoglicéridos acetilados, glicéridos etoxilados, ácidos grasos, ésteres alquílicos de ácidos grasos, ésteres alquénílicos de ácidos grasos, alcoholes grasos, éteres de alcohol graso, lanolina y sus derivados, ésteres de polihidroalcohol, ésteres de ceras tales como cera de cera de abejas, cera vegetal, palmitato de isopropilo y estearato de glicerilo.

Los humectantes son agentes que típicamente promueven la retención de humedad, por ejemplo agentes humectantes. Ejemplos de humectantes incluyen siloxanos, sorbitol, glicerina, gliceret-5-lactato, gliceret-7-triacetato, gliceret-7-diisononanoato, hexantriol, glicoles tales como metilpropanodiol, 1,2-pentanodiol, hexilenglicol y propilenglicol, glucosa alcoxilada, D-pantenol y sus derivados, ácido hialurónico.

Ejemplos de fragancias que se pueden agregar al producto tópico para la piel de acuerdo con la invención son menta, aceite de rosas, agua de rosas, aloe vera, aceite de clavo, mentol, alcanfor, aceite de eucalipto y otros extractos de plantas. Para eliminar ciertos olores del producto se pueden usar agentes de enmascaramiento, por ejemplo, etileno-brasilato.

Los agentes de protección solar se emplean típicamente para bloquear o reducir la cantidad de radiación ultravioleta que afecta la piel (por ejemplo, por absorción, por difusión o por reflejo de la radiación ultravioleta). Se conocen numerosos ejemplos de protectores solares en la literatura, y entre estos, por ejemplo, tanto los compuestos orgánicos

como sus sales, tales como metoxidibenzoilmetano de butilo, dietilhexil butamido triazona, dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato, etilhexil triazona, bis-etilexiloxifenol metoxifenil triazona, bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol de metileno, ácido fenilbencimidazol sulfónico, salicilato de etilhexilo, benzofenona-3, octocrileno, avobenzona, antranilato de mentilo y 2-etilhexil-p-metoxicinamato, así como materiales inorgánicos en partículas, tales como óxido de zinc, sílica, óxido de hierro, dióxido de titanio. En general, el producto puede contener de 0% a 50% en peso de agentes de protección solar. La cantidad exacta variará dependiendo del agente utilizado y el factor de protección solar (SPF) requerido.

Los agentes dermatológicamente activos que pueden agregarse al NGF basado en el producto de acuerdo con la invención incluyen agentes ya mencionados para el tratamiento de la piel hipocrómica o acromática, y del vitiligo en particular, así como agentes aprobados para el tratamiento de otras afecciones dermatológicas que pueden estar asociadas o debe prevenirse durante un tratamiento de bronceado, tal como el ácido retinoico.

de acuerdo con un aspecto adicional de la misma, la presente divulgación se refiere a un método para inducir o intensificar la pigmentación de la piel aplicando una preparación que contiene factor de crecimiento nervioso (NGF) en el área de la piel que se va a tratar, conteniendo dicha preparación de 10 a 1000 µg/ml de NGF. Las concentraciones particularmente preferidas de NGF pueden variar entre 50 y 500 microgramos/ml de NGF. Este método permite estimular y/o acelerar la pigmentación de la piel, tanto con fines puramente cosméticos como para el tratamiento de patologías cutáneas e hipopigmentarias tales como el vitiligo.

En el caso del uso de la preparación en un método de tratamiento de bronceado, como ya se señaló, el producto tópico basado en NFG puede formularse junto con una preparación autobronceadora o usarse simultáneamente con él, o puede combinarse con una preparación bronceadora, y la aplicación de dicha preparación puede combinarse con la exposición a la radiación UV o la luz solar.

En el caso del uso de la preparación de la invención para fines terapéuticos, se ha encontrado experimentalmente, de acuerdo con la invención, que la aplicación del Factor de crecimiento nervioso tópico sobre la piel despigmentada aumenta la innervación cutánea, ejerciendo una acción neurotrófica sobre el tejido pigmentado o hipopigmentado. Este efecto logra el resultado de estimular los melanocitos cutáneos y, por lo tanto, permite obtener una nueva pigmentación de las áreas afectadas mediante una reducción patológica de pigmentación.

Por lo tanto, de acuerdo con la presente divulgación, en el método propuesto para la terapia y/o profilaxis de enfermedades cutáneas acompañadas de discromías cutáneas, la aplicación de la preparación basada en NGF se combina preferiblemente con uno o más de los siguientes:

- (i) aplicación de una preparación de esteroides para uso tópico;
- (ii) aplicación de una preparación para uso tópico con base en vitamina D activada y/o vitamina D₃ activada;
- (iii) fototerapia sola o combinada con el uso de agentes fotosensibilizantes, en particular psoralenos.

Como ya se señaló, dichas enfermedades de la piel tratadas se seleccionan del grupo que consiste en: vitiligo, vitiligo bilateral, vitiligo acrofacial, vitiligo generalizado, vitiligo focal, vitiligo segmentario, vitiligo universal, vitiligo perinérvico o nevus de Sutton, leucoderma, discromía cutánea, piebaldismo, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor, hipomelanosis Guttata idiopática y postinflamatoria, nevos acromáticos o despigmentados, hipomelanosis macular progresiva, hipomelanosis causadas por trastornos metabólicos o nutricionales o endocrinos, hipomelanosis causadas por agentes químicos, físicos o farmacológicos, hipomelanosis infecciosas y postinfecciosas, hipomelanosis inflamatorias.

Como ya se señaló, el factor de crecimiento nervioso que se incluye en la formulación que se utilizará para el método propuesto de acuerdo con la invención puede ser NGF de origen humano o NGF de origen murino, o es un NGF recombinante humano, o también puede ser un agonista de NGF.

Ejemplos y resultados experimentales.

Algunas realizaciones específicas del tratamiento de acuerdo con la invención se describen a continuación a modo de ejemplos no limitativos, junto con los resultados de las pruebas clínicas realizadas.

Prueba in vitro

Los cultivos celulares primarios de melanocitos humanos normales se sembraron en placas de Petri y se cultivaron durante una semana de acuerdo con protocolos estándar, con y sin la presencia de NGF a diversas concentraciones en el medio de cultivo. El contenido de melanina medido por el inmunoensayo enzimático ELISA (Ensayo de inmunosorbente enlazado a enzima) se incrementó significativamente en cultivos enriquecidos con NGF. La proliferación y propagación de los melanocitos no fue significativamente diferente. Sin embargo, se observó una

difusión de melanocitos significativamente más rápida y un número reducido de células apoptóticas cuando los cultivos celulares enriquecidos con NGF se irradiaron con luz ultravioleta.

Prueba in vivo en modelo animal

5 Los conejillos de indias pigmentados de cuatro semanas de edad que se habían aclimatado previamente durante una semana se afeitaron dos veces por semana en la parte dorsal, con una maquinilla de afeitar eléctrica, en un área de aproximadamente 6 cm x 6 cm. La administración se llevó a cabo en dos sitios del área afeitada separada de cada lado de la línea media: en el lado izquierdo se aplicó una preparación tópica que contenía 200 µg/ml de NGF murino en un vehículo de crema base, mientras que en el lado derecho se aplicó la crema base sola.

10 La aplicación se realizó de manera uniforme dos veces al día durante 6 semanas, en la parte central del área afeitada, aproximadamente 2 cm x 2 cm. Comenzando el segundo día y subsecuentemente, los sitios de aplicación se limpiaron acicalando la piel antes de aplicar las preparaciones bajo prueba. Se prestó atención para evitar cualquier exposición de los animales a la luz ultravioleta. El color de la piel se midió por medio de un colorímetro antes de la primera aplicación (tiempo cero) y después del final del tratamiento.

15 La complejión de los lados tratados con NGF había aumentado significativamente en comparación con el tiempo cero en todos los animales tratados, cuando se comparó con el color del área tratada con el vehículo solo.

20 Después del tratamiento, se sacrificaron los animales y se tomaron muestras de piel tanto del área tratada como de la no tratada, de cada animal, para exámenes histológicos adicionales. Tanto los melanocitos como el contenido de melanina y la densidad de las terminaciones nerviosas aumentaron significativamente en las áreas de la piel tratadas con la preparación de NGF en comparación con las áreas tratadas con el vehículo solo.

25 Experimentación clínica

Los experimentos informados a continuación, a modo de ejemplo, ilustran los resultados logrados con el uso del método de acuerdo con la presente invención.

30 Tratamiento de pacientes con vitiligo.

a) Crema que contiene 50 µg/ml de NGF

35 Se aplicó un tratamiento tópico con una preparación que contenía 50 µg/ml de NGF murino en crema base 4 veces al día durante 8 semanas en dos pacientes voluntarios (un hombre y una mujer) que padecían vitiligo, sobre un parche de superficie de piel despigmentada.

40 En cada sujeto, el color del parche de piel sometido al tratamiento se midió con un colorímetro antes y después del tratamiento mismo, y se comparó con el color de la piel pigmentada sana en un área de piel cercana del mismo paciente, así como con el color del parche tratado después del tratamiento.

45 La sensibilidad de contacto se midió usando un estesiómetro de contacto Cochet-Bonnet, y evaluando la diferencia entre la sensibilidad de la piel en dos puntos, en el parche despigmentado y en un área de piel sana cercana, usando una brújula calibrada.

50 Se observó una mejora significativa del color del parche al final del tratamiento, en comparación tanto con el parche de piel afectado por discromía como con el área de piel sana de los mismos pacientes. También se observó, al final del tratamiento, una mejora significativa de la sensibilidad al contacto con la piel, con una mejora promedio de 5 mm medida mediante estesiometría de Cochet-Bonnet y 3 mm medida por la diferencia en la sensibilidad de la piel entre dos puntos.

Ningún efecto colateral, bien sea locales o sistémicos, han sido informados por los pacientes.

55 b) Crema que contiene 200 µg/ml de NGF

Se aplicó un tratamiento tópico con una preparación que contenía 200 µg/ml de NGF murino en crema base 3 veces al día durante 4 semanas en dos pacientes voluntarios (un hombre y una mujer) que padecían vitiligo, en un parche de superficie de piel despigmentada.

60 La evaluación de los resultados y las modalidades relacionadas fueron las mismas que en el Ejemplo 3.

65 Al final del tratamiento, se observó una mejora significativa en la pigmentación de las manchas afectadas por el vitiligo, tanto en comparación con los mismos parches antes del tratamiento como en comparación en las áreas de la piel no afectadas por el vitiligo de los mismos pacientes. También se observó una mejora significativa de la sensibilidad al

contacto con la piel, con una mejora promedio de 8 mm medida por la estesiometría de Cochet-Bonnet y 5 mm medida por la diferencia de sensibilidad de la piel entre dos puntos.

Ningún efecto colateral, bien sea locales o sistémicos, han sido informados por los pacientes.

5

c) Crema que contiene 500 µg/ml de NGF

Se administró un tratamiento tópico con una preparación que contenía 500 µg/ml de NGF murino en crema base 2 veces al día durante 2 semanas a dos pacientes con vitiligo (un hombre y una mujer).

10

La evaluación de los resultados y las modalidades relacionadas fueron las mismas que en el Ejemplo 3.

Al final del tratamiento, se observó una mejora significativa en la pigmentación de los parches afectados por el vitiligo, tanto en comparación con los mismos parches antes del tratamiento como en comparación con las áreas de la piel no afectadas por el vitiligo de los mismos pacientes. También se observó una mejora significativa de la sensibilidad al contacto con la piel, con una mejora promedio de 1 cm medida por la estesiometría de Cochet-Bonnet y 5 mm medida por la diferencia de sensibilidad de la piel entre dos puntos.

15

Ningún efecto colateral, bien sea locales o sistémicos, han sido informados por los pacientes.

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una preparación cutánea tópica que contiene de 10 a 1000 µg/ml de factor de crecimiento nervioso (NGF) para uso en la terapia y/o la profilaxis de trastornos de la piel discrómicos seleccionados del grupo que consiste en: vitiligo, vitiligo bilateral, vitiligo acrofacial, vitiligo generalizado, vitiligo focal, vitiligo segmentario, vitiligo universal, vitiligo perinévico o nevus de Sutton, leucoderma, discromía cutánea, piebaldismo, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor, hipomelanosis Guttata idiopática y postinflamatoria, nevos acromáticos o despigmentados, hipomelanosis macular progresiva, hipomelanosis causada por trastornos metabólicos, nutricionales o endocrinos, hipomelanosis causadas por agentes químicos, físicos o farmacológicos, hipomelanosis infecciosas y postinfecciosas e hipomelanosas inflamatorias.
- 10
2. Una preparación tópica para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho NGF es una proteína de origen humano o una proteína de origen murino, o es un NGF recombinante humano.
- 15 3. Una preparación tópica para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde dicha preparación está en forma de una solución o suspensión acuosa, aceitosa o alcohólica, una emulsión, aerosol, loción, linimento, crema, ungüento, o gel, que contiene NGF como ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable, o en forma de un sistema de "reservorio" de membrana para ser colocado en la epidermis, o en una forma adecuada para administración intradérmica, transdérmica o subcutánea, que contiene NGF como ingrediente activo en un portador farmacéuticamente aceptable.
- 20
4. Una preparación tópica para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, que contiene de 50 a 500 µg/ml de NGF.
- 25 5. Una preparación tópica para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4, en donde el NGF está en combinación con uno o más de otros ingredientes activos indicados para la terapia y/o la profilaxis del trastorno dermatológico que se va a tratar, o se conjuga con una molécula portadora.