



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 234 428**

② Número de solicitud: 200302898

⑤ Int. Cl.7: **A61P 27/02**
A61K 9/08

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **09.12.2003**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2005**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
16.06.2005

① Solicitante/s: **Universidad Miguel Hernández**
Edificio Helike.
Avda. del Ferrocarril, s/n
03202 Elche, Alicante, ES

② Inventor/es: **Belmonte Martínez, Carlos;**
Gallar Martínez, Juana y
Acosta Boj, M^a Carmen

④ Agente: **Astiz Suárez, José Enrique**

⑤ Título: **Compuestos para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva.**

⑦ Resumen:

Compuestos para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva. Los agentes bloqueantes de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neurona son útiles para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva, como la queratomía fotorrefractiva con láser excimer o la *queratomileusis in situ* asistida con láser. La administración de dichos agentes bloqueantes, que incluyen antiepilépticos, anticonvulsivantes, antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos y anestésicos locales y en particular, incluyen la lidocaina, la tócaínida, la fenitoína, la carbamazepina, la lamotrigina y la mexiletina, reducen de manera efectiva las sensaciones de sequedad ocular.

ES 2 234 428 A1

DESCRIPCIÓN

Compuestos para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva.

5 **Objeto de la invención**

Esta invención se refiere a la aplicación de sustancias que bloquean o reducen la actividad eléctrica anómala en los nervios sensoriales, para tratar los síntomas de ojo seco y los compuestos útiles para tal aplicación.

10 El campo Técnico de la Invención está centrado en la especialidad química-farmacéutica y de aplicación en oftalmología.

Estado de la técnica anterior a la invención

15 La cirugía fotorrefractiva es un procedimiento quirúrgico, usado para corregir los defectos de refracción en el ojo humano y que se basa en la modificación de la forma de la superficie corneal anterior. La queratectomía fotorrefractiva con excimer láser (PRK), la *keratomileusis in situ* con láser (LASIK) son los procedimientos más comúnmente utilizados hoy para corregir la miopía. Los síntomas de ojo seco son los más frecuentes de entre las molestias subjetivas de larga duración descritas por los pacientes sometidos a este tipo de cirugía. Un estudio con 231 pacientes de PRK y 20 550 de LASIK llevado a cabo por Hovanesian *et al.* (2001) mostró una incidencia de síntomas de ojo seco en el 43% y el 48% respectivamente de estos pacientes, apareciendo predominantemente al despertarse por la mañana.

La alta incidencia de síntomas subjetivos de ojo seco en los pacientes que han sufrido cirugía LASIK se ha interpretado como debida a una reducción de la secreción lacrimal refleja en esos pacientes. Diversos autores han medido 25 la producción de lágrimas y el ritmo de aclaración lacrimal tras LASIK (Battat *et al.* 2001; Benítez-del-Castillo *et al.* 2001; Aras *et al.* 2000; Toda *et al.* 2001). En todos los casos se observó una depresión modesta de la producción de lágrimas aunque la estabilidad de la película lacrimal permaneció inalterada. Existe la idea generalizada de que la secreción lacrimal basal está mantenida en parte por los impulsos nerviosos que se originan en las terminaciones nerviosas que inervan la superficie ocular (Lambers *et al.* 1979). Cuando esos tejidos son estimulados por estímulos 30 irritantes, la frecuencia de impulsos nerviosos al cerebro aumenta marcadamente y producen un aumento reflejo de la secreción lacrimal. Las estructuras de la superficie ocular y la glándula lacrimal principal formarían así, con las estructuras neurales que las interconectan, una unidad funcional refleja (Stern *et al.* 1998).

Esta admitido de manera general que la denervación producida por la cirugía fotorrefractiva reduce la sensación 35 corneal y como consecuencia, la secreción lacrimal refleja. Y por ello, los síntomas de ojo seco observados en pacientes operados con esta cirugía han sido atribuidos a una secreción lacrimal reducida causada por una reducción de la actividad nerviosa general resultante del daño nervioso en la cornea (Patel *et al.* 2001; Toda *et al.* 2001; Aras *et al.* 2000).

40 En la cirugía LASIK, la incisión lamelar hecha con el microqueratomo para formar el colgajo, corta a nivel de éste los troncos nerviosos que penetran en el estroma superficial y el plexo subbasal de la zona expuesta. Estos son además destruidos por la aplicación del láser. Los fascículos de fibras nerviosas del tercio medio del estroma situados bajo la zona tratada no son dañados directamente por la fotoablación pero sufren un cierto grado de lesión (Linna & Tervo 1997, Linna *et al.* 2000; Moilanen *et al.*, 2003; Lee *et al.* 2003). El área de la cornea dañada como consecuencia de la 45 lesión es invadida en días siguientes por expansiones producidas por los nervios vecinos, no lesionados. También, el cabo central de los nervios cortados se dilata y las células gliales y las del tejido conectivo a su alrededor proliferan, de tal modo que se forman terminaciones neuromatosas y los axones cortados empiezan a regenerar, dando protusiones que crecen y tratan de cruzar el tejido lesionado, para penetrar en la zona denervada (Rozsa *et al.* 1983; Beuerman & Rozsa, 1984; Chan *et al.* 1990; Chan-Ling *et al.* 1990; Trabucchi *et al.* 1994; para revisión, ver Mueller *et al.* 2003). 50 El resultado final es que en la zona lesionada existen axones en regeneración y terminales nerviosos atrapados en las células gliales, que forman microneuromas.

Igualmente, cuando se cortan los axones sensoriales, el cuerpo de sus neuronas de origen experimenta una serie de 55 cambios que modifican profundamente sus propiedades funcionales. Así, la ausencia, tras la lesión periférica de las señales químicas que en condiciones normales son transportadas centrípetamente a lo largo del axon hasta el soma, tales como el factor de crecimiento nervioso, NGF (Ehlers *et al.* 1995), da lugar a cambios en la expresión de los genes que codifican canales iónicos y proteínas receptoras. Estas moléculas son normalmente transportadas en dirección distal por flujo axónico y en las neuronas dañadas, se acumulan en las terminaciones nerviosas del neuroma. Tales moléculas incluyen varias clases de canales de sodio y potasio. Las neuronas nociceptoras normalmente expresan tres 60 subtipos de canales de sodio llamados Na_v1.7, Na_v1.8, Na_v1.9 que son en gran medida responsables de las diferentes corrientes que determinan el inicio y la propagación de impulsos nerviosos en el axon y el cuerpo celular (Baker & Wood, 2001; Baker *et al.* 2003). La lesión del axon determina la sobre-expresión del gen del canal de sodio Na_v1.3 y la subexpresión de los genes de Na_v1.8 y Na_v1.9 (Waxman *et al.* 1999). Esto da lugar a la modificación de las corrientes de sodio presentes en las terminaciones nerviosas del neuroma en la piel y favorece la aparición de descargas ectópicas, 65 características de las terminaciones nerviosas del neuroma (Matzner & Devor, 1994). Aparece también una respuesta anormal a los estímulos mecánicos y químicos (Rivera *et al.*, 2000). Como consecuencia de estas alteraciones, en los nervios dañados y en regeneración pueden aparecer de manera irregular impulsos nerviosos, tanto espontáneos como en respuesta a estímulos que, en condiciones normales, no serían suficientes para excitar las terminaciones nerviosas

intactas (Matzner & Devor, 1994). Estos cambios no se limitan al muñón nervioso periférico. También se desarrolla actividad anormal en el cuerpo celular. Además, aparece “conversación cruzada” entre las neuronas lesionadas a nivel del axon y del cuerpo celular, lo que aumenta aun más su excitabilidad anormal (Kajander *et al.* 1992).

5 Descripción de la invención

Como puede apreciarse en lo expuesto en el apartado del Estado de la Técnica anterior a la invención, los pacientes sometidos a cirugía fotorrefractiva experimentan frecuentemente síntomas de ojo seco que son atribuidos a la disminución de la secreción lacrimal secundaria a la lesión de la inervación corneal producida por la lesión quirúrgica, que disminuye la entrada de los impulsos nerviosos aferentes que mantiene la secreción lacrimal refleja basal. Sin embargo, nadie ha sugerido hasta ahora que las sensaciones de ojo seco puedan en realidad provenir de la actividad nerviosa anormal desarrollada por terminaciones nerviosas neuromatosas y en regeneración de los nervios corneales dañados quirúrgicamente y que las sensaciones descritas como “de ojo seco” o “sequedad en el ojo” pueden no reflejar una sequedad real, sino la interpretación subjetiva dada por el paciente a las sensaciones evocadas por esa actividad nerviosa anormal, originada en las fibras nerviosas corneales lesionadas y en regeneración, sensaciones de sequedad que pueden ser desencadenadas por otras causas, tales como la presencia local de mediadores de la inflamación, la estimulación por el parpadeo o una sequedad ocular ligera, que en condiciones normales sería insuficiente para activar las terminaciones nerviosas intactas.

Esta invención se basa en el hecho inesperado de que en los días siguientes a la cirugía fotorrefractiva, se observa una actividad espontánea aumentada y una respuesta anormal a los estímulos mecánicos y químicos en las fibras nerviosas que inervan la cornea lesionada y en que esta actividad nerviosa es similar a la evocada por la sequedad de la superficie ocular en el ojo normal. La actividad anormal en los nervios de la cornea del gato tras la cirugía fue atenuada o bloqueada por sustancias que reducen la descarga de impulsos nerviosos en los neuromas cutáneos y estos agentes también redujeron los síntomas de sequedad ocular en pacientes que recibieron cirugía fotorrefractiva.

De acuerdo con esto, la presente invención describe un método para tratar los síntomas de sequedad ocular consecutivos a la cirugía fotorrefractiva en un mamífero que sufre tales sensaciones, que comprende la aplicación al ojo del citado mamífero de una cantidad efectiva de agentes que reducen o bloquean la actividad de las terminaciones nerviosas presentes en los neuromas, incorporado a un vehículo aceptable farmacéuticamente.

Descripción de la forma de realización preferida de la invención

La presente invención se refiere al uso de agentes bloqueantes que inhiben la actividad eléctrica de las terminaciones neuromatosas de fibras nerviosas de la cornea lesionadas, como tratamiento de los síntomas de sequedad ocular consecutivos a la cirugía fotorrefractiva. El término “agente bloqueante del neuroma” o “compuesto que posee actividad bloqueante sobre las fibras neuromatosas” se usa para definir compuestos que son conocidos por su capacidad para prevenir o reducir el desarrollo de descargas de impulsos nerviosos en neuromas de fibras nerviosas sensoriales de la piel u otros tejidos, bien espontáneas o evocadas por estimulación mecánica, química o térmica, como consecuencia de la acción bloqueante de tales sustancias sobre los canales iónicos, produciendo estabilización de la membrana y regulando la excitabilidad de las neuronas.

Los agentes bloqueantes del neuroma incluyen a las drogas antiepilépticas, anticonvulsivantes y antiarrítmicas, los fármacos antidepresivos tricíclicos y los anestésicos locales (a dosis inferiores a las requeridas para sus efectos bloqueantes sobre la conducción nerviosa), la mayoría de los cuales ejercen su acción actuado sobre canales de Na⁺ activados por voltaje, pero que pueden actuar también sobre los canales de calcio y potasio dependientes de voltaje. Estos agentes incluyen: Mexiletina, Lamotrigina, Carbamazepina, Fenitoina (5,5 difenilhidantoina), Amitriptilina, N-feniletil amitriptilina, Desipramina, Gabapentina, Nifekalant hidrocloreuro (MS-551), Lidocaina, Tocainida y los análogos N-benzil de los compuestos tipo tocainida, tolperisona, venlafaxina y nefazodona. Esta lista recoge a los agentes bloqueantes de la actividad eléctrica de las fibras nerviosas en el neuroma que son bien conocidos como tales, es decir aquellos comercializados o ensayados como agentes bloqueantes de los canales iónicos que están activos en los neuromas, pero el listado de los agentes que en el momento actual están comercializados con ese fin, no pretende limitar el ámbito de compuestos que pueden ser usados en la puesta en práctica de esta invención. Cualquier agente que bloquee o atenúe la excitabilidad anormal de las fibras nerviosas lesionadas y en regeneración puede ser usado de acuerdo con esta invención.

La actividad bloqueante de estos compuestos varía sustancialmente de un compuesto a otro. Generalmente, cuando se administran por vía sistémica, los agentes bloqueantes de la hiperexcitabilidad eléctrica en las neuronas lesionadas son efectivos para un rango amplio de concentraciones. Por ejemplo, para reducir el dolor tras una lesión nerviosa periférica, la mexiletina se administra oralmente a dosis que varían entre 5-25 mg/kg/día (Chabal *et al.* 1989; 1992). Una dosis efectiva, cuando se trata de administración tópica para tratar la sequedad ocular, está sujeta a un margen de variabilidad igualmente amplio en lo que se refiere a su efectividad terapéutica. Este valor viene determinado por una serie de factores, que incluyen la actividad inherente al propio fármaco, el vehículo en el que se administra, teniendo en cuenta que se trata de administración tópica, el tamaño del área a tratar, su penetración y biodisponibilidad y la intensidad de la sensación. Los datos exactos de dosificación no han sido buscados para todos los compuestos incluidos en esta invención, pero cabe anticipar que dosis de entre el 0.001% y 1.0% (peso/volumen) de un fármaco bloqueante de la actividad del neuroma producirá un alivio de la sensación de sequedad ocular. La capacidad de determinar la dosis

ES 2 234 428 A1

efectiva para cualquiera de los compuestos seleccionados, esta dentro de las habilidades de que dispone un médico normalmente entrenado.

5 En la práctica de esta invención, los agentes bloqueantes de la actividad de las terminaciones neuromatosas serían administrados de manera que se aportará directamente el fármaco al lugar donde se genera la actividad eléctrica anormal. Se anticipa que éste sería el área inmediata de la lesión. Por ejemplo, el fármaco podría ser aplicado tópicamente, o por algunos medios similares que apliquen el fármaco directamente sobre el área afectada de la superficie ocular. No se pretende que esta invención se practique administrando el fármaco de modo que se asegure que alcanza el sistema nervioso central. De hecho, esto desvirtuaría el propósito de esta invención, que está enfocada a tratar la molestia en su lugar de origen.

15 Para aplicación oftálmica, las soluciones preferidas se preparan conteniendo típicamente desde 0.001% hasta alrededor de 1.0% del ingrediente activo y con una solución salina como vehículo principal. El pH de tales soluciones oftálmicas debe mantenerse preferiblemente entre 6.5 y 7.2 con un tampón adecuado. Las formulaciones pueden contener también preservativos convencionales, aceptables farmacéuticamente, estabilizadores y/o aumentadores de la penetración así como sustancias viscoelásticas incluidas en los preparados de lágrimas artificiales.

20 El vehículo preferido que puede ser usado en las soluciones oftálmicas de la presente invención es agua purificada y preferiblemente una solución salina fisiológica. Otros vehículos adicionales incluyen, pero no quedan restringidos a, agentes viscosos tales como polivinil alcohol, povidona, hidroxipropil metil celulosa, poloxameros, carboximetil celulosa, carbomer e hidroxietil celulosa y ácido hialurónico y sus derivados. Los preservativos preferidos que pueden utilizarse en las formulaciones oftálmicas de la presente invención incluyen, pero no quedan limitados a: cloruro de benzalkonio, clorobutanol, timerosal, acetato de fenilmercurio y nitrato de fenilmercurio.

25 Los aumentadores de la penetración pueden ser, por ejemplo, agentes surfactivos, ciertos solventes orgánicos tales como el dimetilsulfóxido y otros sulfóxidos, dimetilacetamida y pirrolidona; ciertas amidas de aminas heterocíclicas, glicoles (por ej., propilenglicol); carbonato de propileno; ácido oleico; alquil aminas y derivados; diversos agentes surfactantes activos catiónicos, aniónicos, no iónicos y agentes surfactantes anfotéricos y similares.

30 Se añadirá de ser necesario o conveniente, ajustadores de la tonicidad. Estos incluyen, pero no quedan limitados a, sales, particularmente cloruro sódico, cloruro potásico, manitol y glicerina y cualquier otro ajustador de la tonicidad aceptable oftálmicamente. Podrán usarse diversos tampones y medios para ajustar el pH, siempre que la preparación resultante sea aceptable oftálmicamente. De acuerdo con ello, los tampones incluirán tampones de acetato, citrato, fosfato y borato para uso oftálmico. En la misma línea, los antioxidantes aceptables oftálmicamente para ser usados en la presente invención incluyen, pero no quedan limitados a, metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, acetilcisteína, hidroxianisola butilada e hidroxitolueno butilado.

35 Otros componentes del excipiente que pueden ser incluidos en las preparaciones oftálmicas son los agentes quelantes. El agente quelante preferido es el edelato bisódico aunque pueden ser usados otros en sustitución o en combinación con éste.

Esta invención queda adicionalmente ilustrada con los siguientes ejemplos.

Ejemplo N° 1

45 Se lleva a cabo un estudio clínico para comparar el efecto atenuador que produce la administración tópica de carbamazepina y de un placebo sobre las sensaciones de sequedad ocular que aparecen tras la cirugía fotorrefractiva tipo LASIK. Participan en el estudio 124 sujetos, varones y mujeres de 21-45 años de edad, que fueron sometidos a cirugía LASIK rutinaria, electiva y unilateral para la corrección de su miopía. La carbamazepina fue administrada en solución oftálmica 0.01%. Tras la cirugía, los sujetos recibieron una gota de la medicación estudiada en el ojo operado, dos veces / día durante 14 días consecutivos. Se llevó a cabo exámenes postoperatorios en los días 1, 3, 7 y 14. La eficacia del tratamiento fue valorada midiendo la sensación de sequedad ocular, la intensidad del dolor, y la eficacia analgésica global empleando escalas visual-analógicas independientes. Se registró también los síntomas de inflamación ocular, sensaciones de quemazón-pinchazo, lagrimeo, etc.

55 Los resultados de este estudio muestran una incidencia mas reducida de los síntomas de sequedad ocular en los pacientes tratados con carbamazepina que en los tratados con el placebo, siendo la diferencia estadísticamente significativa. También fue significativamente mas baja la incidencia de síntomas de sequedad a lo largo del día. Estos datos sugieren que la carbamazepina administrada postoperativamente puede bloquear las sensaciones de sequedad ocular.

Ejemplo N° 2

60 Se realizó cirugía fotorrefractiva tipo PRK en tres gatos adultos anestesiados con pentobarbital sódico (nembutal, 40 mg/kg intraperitoneal) Se anestesió además tópicamente la cornea de ambos ojos por instilación de tetracaina 0.1% y clorhidrato de oxibuprocaina 0.4%. Se eliminó manualmente el epitelio corneal y se realizó una ablación en el centro de la cornea de 6 mm de diámetro y 70 μ m de profundidad utilizando un excimer laser de rayo único con longitud de onda de emisión de 193nm, 10Hz de ritmo de repetición del pulso y una exposición radiante de 180 mJ/cm².

ES 2 234 428 A1

Los experimentos de registro nervioso fueron hechos 12-48 horas tras la cirugía. Los animales fueron anestesiados con nembutal (40mg/kg,i.p.) y mantenidos en un estado de arreflexia durante el experimento por infusión intravenosa de nembutal diluido (5mg/kg) en la vena safena. Los animales respiraron espontáneamente a través de una cánula traqueal. Se monitorizó de manera continua y se mantuvo estable el CO₂ respiratorio, la temperatura rectal y la presión arterial. Los animales fueron sacrificados al final del experimento con una sobredosis de nembutal.

Se realizó el registro extracelular de fibras nerviosas aisladas que inervan la cornea, obtenidas de los nervios ciliares del ojo, empleando para ello electrodos de plata clorurada y equipo electrofisiológico convencional, como se ha descrito anteriormente (Belmonte *et al*, 1991). Las fibras sensoriales corneales se identificaron por su respuesta a la estimulación mecánica ligera con un pincel húmedo. El umbral mecánico se midió con un estesiómetro de Cochet-Bonnet con un filamento No. 12 (0.1-1.9mN) y pelos de von Frey calibrados (0.002-2.0N). Los campos receptores fueron mapeados con un pelo de fuerza supraumbral. La sensibilidad a los estímulos químicos fue explorada aplicando sobre el campo receptor durante 30 s, un pulso de gas conteniendo 98% CO₂ a un flujo de 80 ml/min.

Se midió la velocidad de conducción de las fibras registradas viendo la latencia a choques eléctricos (0.1-0.5ms, 0.5-3.0mA) aplicados sobre el campo receptor con un par de electrodos de plata separados 3-5mm. La distancia de conducción se estimó con un hilo de seda de 0.8G colocado sobre la trayectoria del nervio.

Las descargas nerviosas y los pulsos de estimulación se registraron en una grabadora magnética FM para análisis computacional "off line" con el software adecuado (CED 1401plus y Spike2 for Windows). Se midió la actividad espontánea (frecuencia media de descarga en impulsos por segundo) y los cambios en la descarga evocados por los diferentes estímulos. Las fibras fueron agrupadas de acuerdo con la localización de su campo receptor en periféricas y centrales (Tabla 1). La mayoría de las fibras registradas en las corneas operadas tenían campos receptores dentro y fuera de la zona tratada. Solo una fibra respondió al estímulo solo dentro de la lesión. En función de la localización del campo receptor las fibras fueron clasificadas en fibras con campo alejado de la ablación, cercano a al ablación, dentro y fuera de la ablación y solo dentro de la ablación.

El umbral mecánico medio de las fibras nerviosas corneales fue mas alto en las corneas operadas. Tres de las siete fibras con campo receptor periférico y trece de las 26 que tenían campo central presentaron un umbral al estímulo mecánico fuera de rango en la zona operada. Porcentualmente, el numero de fibras con actividad espontánea fue significativamente mayor en las corneas operadas. También lo fue la frecuencia media de esa actividad espontánea tanto en las fibras con campo receptor en la zona central operada como en la periférica (tabla 1).

La respuesta de los nociceptores polimodales al estímulo con CO₂ fue explorada en fibras con el campo receptor dentro, en el borde y alejado de la lesión. La respuesta de todas ellas al estímulo con CO₂ fue de menor amplitud y mayor latencia que en las fibras de las corneas no operadas, especialmente cuando se estimulaba la zona del campo receptor localizada en la zona operada. Además, la postdescarga evocada por estímulos con CO₂ fue significativamente mayor en las fibras que inervan las corneas operadas (tabla III).

Los resultados muestran que 24-48 horas tras PRK las fibras nerviosas que inervan la zona lesionada presentan una marcada actividad espontánea y una respuesta anormal a los estímulos mecánico y químico, particularmente en lo que se refiere a su postdescarga sostenida. Las fibras con un campo receptor alejado de la herida responden parecido a como lo hacen las de las corneas control (Chen *et al*. 1995), excepto que presentan una postdescarga mas alta.

En conjunto estos resultados muestran que las propiedades funcionales de todas las fibras en las corneas operadas, con o sin daño directo en su campo receptor fueron afectadas por la operación, al compararlas con las control. El umbral mecánico se encontraba aumentado y mostraban alta actividad espontánea y postdescargas prolongadas tras la estimulación.

TABLA I

Campos receptores de las fibras nociceptivas corneales, registradas tras la PRK

		Fibras nociceptoras
Córnea central	Dentro de la ablación	1
	Dentro y fuera	11
	Fuera	28
Córnea periférica		10

TABLA II

Propiedades funcionales de las fibras corneales nociceptivas

Nociceptores corneales	Cornea central	Cornea periférica	Corneas Control **
Velocidad de conducción (m/s)	3.5±0.5 [0.6-14] (n=36)	3.7±1.0 [0.4-8] (n=8)	3.6±2.5 (n=69)
Campo Receptor (mm)	7.4±0.6 [3-12] (n=23)	6.5±0.5 [6-7] (n=2)	5.2±0.8 (n=81)
Actividad espontánea (imp/s)	0.58±0.18 † [0.02-1.77] (15/36)	0.76 (1/10)	0.14±0.07 (n=17)
Umbral mecánico (mN)	2.17±0.84 (n=13)	2.33±1.25 (n=4)	0.78±0.01 (n=65)

**datos control de Chen et al., 1995, Media de fibras mielínicas y amielínicas.

† p<0.001, * p<0.05 t-test.

TABLA III

Respuesta de las fibras nociceptoras polimodales al CO₂ aplicado en diferentes áreas de su campo receptor

Estimulación química	Dentro de la herida	Borde externo de la herida	Lejos de la herida	Corneas Control**
Latencia	11.2±2.6* n=13	4.6±1.8 n=20	6.1±2.1 n=20	3.9±1.6 n=17
CO ₂ (30s)	0.57±0.17 † n=21	2.07±0.56 n=21	1.64±0.45 n=21	2.4±0.4 n=17
Frecuencia Pico	5.0±1.5* n=17	8.9±1.8 n=19	8.4±2.5 n=19	10.1±1.8 n=17
Tiempo al pico	9.2±2.5* n=17	7.2±1.9* n=20	6.5±2.0 n=20	2.7±0.4 n=17
Postdescarga	0.15±0.05 n=21	0.47±0.25 n=21	0.49±0.14* n=21	0.08±0.03 n=17

† p<0.001, *p<0.05 t-test, diferencias con el control.

Ejemplo N° 3

Se realizaron experimentos en quince gatos adultos de ambos sexos, anestesiados con pentobarbital sódico (nembu-
 5 butal, 40 mg/kg intraperitoneal) Se anestesió tópicamente la cornea de ambos ojos por instilación de tetracaina 0.1%
 y clorhidrato de oxibuprocaina 0.4%.

Se realizó una herida circular en el centro de la cornea con un trépano de 5 mm de diámetro que penetró 40-
 50 micrómetros por debajo de la membrana de Bowman. Los animales fueron tratados con antibióticos tópicos y
 10 sistémicos, dejándoles recobrase durante 1-2 semanas.

Los experimentos de registro fueron hechos 7 y 15 días tras la cirugía. Los animales fueron anestesiados con
 nembu- (40mg/kg,i.p.) y mantenidos en un estado de arreflexia durante el experimento, por infusión intravenosa de
 nembu- diluido (5mg/kg) en la vena safena. Los animales respiraron espontáneamente a través de una cánula traqueal.
 Se monitorizó y se mantuvo estable de manera continua, el CO₂ respiratorio, la temperatura rectal y la presión arterial.
 15 Los animales se sacrificaron con una sobredosis de nembu- al final del experimento.

Se realizó el registro extracelular de fibras nerviosas aisladas de la cornea, obtenidas de los nervios ciliares del ojo,
 empleando electrodos de plata clorurada y equipo electrofisiológico convencional, como se ha descrito anteriormente
 (Belmonte *et al*, 1991). Las fibras sensoriales corneales se identificaron por su respuesta a la estimulación ligera con
 20 un pincel húmedo. El umbral mecánico se midió con un estesiómetro de Cochet-Bonnet con un filamento No. 12 (0.1-
 1.9mN) y con pelos de von Frey calibrados (0.002-2.0N). Los campos receptores fueron mapeados con un pelo de
 fuerza supraumbral. La sensibilidad a los estímulos químicos fue explorada aplicando sobre el campo receptor durante
 30 s un pulso de gas conteniendo 98% CO₂ a un flujo de 80 ml/min.

Se midió la velocidad de conducción viendo la latencia a choques eléctricos (0.1-0.5ms, 0.5-3.0mA) aplicados
 sobre el campo receptor con un par de electrodos de plata separados 3-5mm. La distancia de conducción se estimó con
 un hilo de seda de 0.8G colocado sobre la trayectoria del nervio.

Las descargas nerviosas y los pulsos de estimulación se registraron en una grabadora magnética FM para análisis
 30 computacional "off line" con el software adecuado (CED 1401plus y Spike2 for Windows). Se midió la actividad
 espontánea (frecuencia media de descarga en impulsos por segundo) y los cambios en la descarga evocados por los
 diferentes estímulos.

Las fibras fueron agrupadas de acuerdo con la localización de su campo receptor en periféricas y centrales. La
 35 mayoría de las unidades nociceptoras registradas en las corneas lesionadas tenían campos receptores tanto fuera co-
 mo en el borde de la herida. De acuerdo con la localización del campo receptor las fibras fueron clasificadas como
 lejos de la herida o cercanos o bordando la herida. Los datos control fueron obtenidos de corneas intactas. La fre-
 cuencia de descarga espontánea de las fibras que inervaban la cornea fue mayor en las corneas con lesión que en las
 intactas. La respuesta de las fibras nociceptoras polimodales a la estimulación química fue explorada en las fibras
 40 cuyo campo receptor tocaba el área lesionada y las que lo tenían fuera y lejos de la lesión. La actividad espontánea
 y la descarga de las fibras en respuesta al estímulo con CO₂ se midieron antes y después de la aplicación tópica de
 carbamazepina (0.001%-0.01%), Fenitoina (5,5 difenilhidantoina) (0.001-0.1%), mexiletina (0.001-0.1%), lidocaina
 (0.0005%-0.01%) y tocaidina (0.001%- 0.01%). Todas estas sustancias redujeron de modo dosis-dependiente la ac-
 45 tividad espontánea de las fibras que inervaban las zonas de alrededor de la lesión y las respuestas evocadas por pulsos
 de CO₂ de 30s de duración a esas áreas.

La descripción anterior detalla las formulaciones específicas y los métodos que pueden ser empleados para practicar
 la invención presente. Habiendo detallado las composiciones específicas para las formulaciones tópicas de la presente
 invención y las instrucciones específicas para su uso en el tratamiento de la sequedad ocular, el experto en estas artes
 50 conocerá de manera suficiente como desarrollar otras formulaciones y como adaptar el tratamiento (formulaciones,
 dosis) a una situación especial. Por tanto, por mucho que aparezca todo lo anterior detallado en el texto, no debe ser
 interpretado como limitante del ámbito general y éste ha de venir gobernado solo por las reivindicaciones siguientes:

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de un agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular humana provocada por la cirugía fotorrefractiva.

2. Uso según la reivindicación 1, donde la cirugía fotorrefractiva es una queratomía fotorrefractiva con láser excímer, una *keratomileusis in situ* asistida con láser (LASIK).

10 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el agente bloqueante se selecciona entre los que ejercen su acción sobre los canales de sodio, de calcio y de potasio de la membrana neuronal.

15 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en antiepilépticos, anticonvulsivantes, antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos y anestésicos locales, y combinaciones de los mismos.

20 5. Uso según la reivindicación 4, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en lidocaina, tocinida, análogos n-bencilos de los compuestos del tipo de la tocinida, mexiletina, lamotrigina, carbamazepina, fenitoina, amitriptilina, N-feniletíl amitriptilina, desipramina, gabapentina, nifekalant, venlafaxina, nefazodona, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

6. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la carbamazepina.

25 7. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la fenitoina.

8. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la mexiletina.

9. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la lidocaina.

30 10. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la tocinida.

35 11. Composición farmacéutica para aplicación oftálmica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente bloqueante como se describe en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, junto con cantidades apropiadas de excipientes farmacéuticamente aceptables para constituir una formulación oftálmica.

12. Composición según la reivindicación 11, donde el agente bloqueante está en una cantidad de entre el 0,001 y el 1% (peso/volumen).

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 234 428

② Nº de solicitud: 200302898

③ Fecha de presentación de la solicitud: **09.12.2003**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.7:** A61P 27/02, A61K 9/08

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 03020281 A1 (ALCON INC) 13.03.2003, página 6, línea 11 - página 7, línea 13; reivindicaciones 1-3.	1-4
X	US 5767079 A (GLASER et al.) 16.06.1998, columna 1, líneas 16-29.	1-4
X	US 6350781 B1 (SHAHINIA, JR.) 26.02.2002, columna 2, líneas 12-29; reivindicaciones.	11,12
X	US 3374144 A (STOLAR, M.E.) 19.03.1968, reivindicación 1.	11,12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

03.03.2005

Examinador

H. Aylagas Cancio

Página

1/1