(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 333 498**

(21) Número de solicitud: 200702174

(51) Int. Cl.:
A61K 35/14 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación: **02.08.2007**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **22.02.2010**

(43) Fecha de publicación del folleto de la solicitud: **22.02.2010**

(71) Solicitante/s:
BIOTECHNOLOGY INSTITUTE, I MAS D, S.L.
San Antonio, 15 - 5º
01005 Vitoria, Álava, ES

(72) Inventor/es: **Anitua Aldecoa, Eduardo y**
Sánchez Álvarez, Mikel

(74) Agente: **Trigo Peces, José Ramón**

(54) Título: **Método y compuesto para el tratamiento de enfermedades o dolencias articulares o para el tratamiento de la piel con fines estéticos u otros, y el método de preparación del compuesto.**

(57) Resumen:
Método y compuesto para el tratamiento de enfermedades o dolencias articulares o para el tratamiento de la piel con fines estéticos u otros, y el método de preparación del compuesto.
Método para el tratamiento de dolencias o enfermedades articulares o para el tratamiento de la piel, que comprende la infiltración o la aplicación de un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre, la cual es preferentemente un plasma sanguíneo en general, y en particular un plasma rico en plaquetas (PRP), prefiriéndose entre los compuestos PRP un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), y/o un sobrenadante de cualquiera de los plasmas anteriores. El método según la invención permite aliviar e incluso regenerar las zonas tratadas de forma notable. Opcionalmente, la sustancia derivada de sangre podrá mezclarse con ácido hialurónico (HA) y/o un compuesto derivado de HA, consiguiéndose efectos aún más beneficiosos.

ES 2 333 498 A1

DESCRIPCIÓN

Método y compuesto para el tratamiento de enfermedades o dolencias articulares o para el tratamiento de la piel con fines estéticos u otros, y el método de preparación del compuesto.

Sector de la técnica

La invención se refiere a un método de tratamiento de enfermedades o dolencias articulares (en particular para el tratamiento de la artrosis) y a un método para el tratamiento de la piel con fines estéticos u otros, así como a un compuesto utilizable en ambos métodos y al método de preparación de dicho compuesto.

Estado de la técnica

Durante los últimos años, el campo de la Medicina Regenerativa ha experimentado un importante avance como consecuencia de la búsqueda de nuevos tratamientos que reduzcan o solucionen el deterioro que sufren los tejidos de los pacientes por desgaste, envejecimiento o enfermedad. Una parte muy importante de este avance ha sido el desarrollo de un tipo de preparaciones o compuestos conocidos como compuestos "autólogos", o compuestos derivados del propio paciente (por ejemplo de la sangre del propio paciente). El desarrollo de los compuestos autólogos se ha visto impulsado debido a que se están buscando soluciones médicas que utilicen los propios recursos del paciente, esperando reducir rechazos. Posteriormente, en la práctica se ha observado que la utilización de compuestos autólogos en lugar de compuestos realizados a partir de sustancias genéricas (no obtenidas del propio paciente) también consigue mejorar y acelerar la reparación tisular, debido a que aportan un conjunto de moléculas bioactivas que participan en y aceleran los procesos de reparación natural. Los compuestos autólogos se caracterizan por ser biocompatibles, es decir, el organismo los reconoce como propios. Además, los compuestos autólogos son biodegradables y durante su degradación "*in vivo*" liberan subproductos o metabolitos naturales que no interfieren con los mecanismos de reparación sino que incluso los favorecen, al contrario de lo que ocurre con los compuestos sintéticos cuya degradación origina productos ajenos a la naturaleza del organismo que pueden dar lugar a reacciones inflamatorias que dificultan o incluso inhiben los procesos de regeneración. Los compuestos autólogos son también biomiméticos, es decir, su interacción con los tejidos receptores mimetiza mecanismos fisiológicos de reparación. Otra característica peculiar de los productos autólogos es su complejidad molecular: son compuestos multimoleculares cuyas diversas moléculas van incidiendo en distintas etapas de la reparación. Conseguir este efecto con productos sintéticos, es decir, conseguir diseñar e implementar la síntesis de una mezcla molecular de estas características, demostrar su eficacia y bioseguridad cumpliendo la legislación sanitaria y trasladar esta síntesis al ámbito clínico resultaría un proceso muy costoso (de hecho los tratamientos convencionales disponibles se basan en una única sustancia).

Dentro de los compuestos autólogos utilizados en Medicina Regenerativa se conocen los compuestos PRP, que son unos compuestos obtenidos de la sangre del paciente. Los compuestos PRP están constituidos por plasma enriquecido en plaquetas (las siglas PRP corresponden a "Platelet-Rich Plasma") y son utilizados en Medicina Regenerativa principalmente por una cualidad que presentan: la liberación local (desde el interior de las plaquetas) de moléculas reparativas, también conocidas como factores de reparación tisular. Entre las moléculas reparativas se encuentran unas señales celulares muy conocidas y denominadas genéricamente como "factores de crecimiento". Los factores de crecimiento, entre los cuales se incluyen PDGF, TGF-beta, IGF-I, HGF, VEGF, EGF y bFGF, controlan el destino del tejido lesionado actuando coordinadamente en las células de dicho tejido a través de receptores específicos situados en la membrana celular. La interacción de los factores de crecimiento con las células determina crucialmente la actividad celular. Estos factores de crecimiento activan o no la mitosis, modifican la angiogénesis, la síntesis de matriz extracelular y la remodelación del tejido, que son procesos comprendidos en la regeneración del tejido lesionado.

Generalmente, los compuestos PRP se obtienen a partir de un método de preparación que comprende cuatro pasos fundamentales: la extracción de sangre del paciente, la separación de la sangre en diferentes partes, la extracción de una parte rica en plaquetas (PRP) de entre las diferentes partes, y la coagulación (también conocida como activación) de dicho PRP para conseguir la liberación de moléculas reparativas. Al final, se obtiene un compuesto PRP con una determinada consistencia (grado de coagulación) y actividad biológica. Estos pasos conocidos en el estado de la técnica presentan múltiples variantes que permiten obtener, en función de su configuración y ejecución concreta, muy diferentes composiciones cualitativas y cuantitativas de compuestos PRP. Por ejemplo, algunos compuestos PRP conocidos son plasmas enriquecidos en plaquetas y leucocitos mientras que otros compuestos PRP conocidos son plasmas enriquecidos en plaquetas pero libres de leucocitos. La ausencia de leucocitos permite conseguir una serie de efectos ventajosos. Principalmente, permite aumentar la reproducibilidad de la preparación de estos compuestos y proveer a estos compuestos de unas características biológicas diferentes y favorables. Por ejemplo, entre dichas características biológicas favorables se encuentra la ausencia de los leucocitos llamados "neutrófilos", que representan el 60-70% de los leucocitos totales y que se consideran perjudiciales para un tejido en reparación por ser una fuente de radicales libres (los cuales destruyen indiscriminadamente las células locales) y una fuente de un tipo de enzimas conocidas como "metaloproteinasas" (concretamente MMP-8 y MMP-9, las cuales destruyen los componentes de matriz extracelular).

Dentro de los compuestos PRP utilizados en Medicina Regenerativa se conocen los compuestos PRGF, que son unos compuestos PRP caracterizados por contener un número moderado de plaquetas, por no contener leucocitos y por que su activación, para producir la liberación de las moléculas reparativas, se desencadena mediante la adición de cloruro de calcio. El cloruro de calcio conduce a la formación de un polímero natural denominado "fibrina". La ausencia de leucocitos, además de proveer los efectos anteriormente mencionados, aumenta la estabilidad de la fibrina,

es decir retrasa su degradación. Esto es debido a que la fibrina está libre del efecto de las elastasas, que son unas enzimas hidrolíticas que destruyen la matriz de fibrina (acelerando la degradación de dicha matriz) y que se generan como consecuencia de la activación de un leucocito conocido como granulocito.

El estado de la técnica recoge distintas variantes de los compuestos conocidos como PRGF, de su procedimiento de fabricación, y de procedimientos de aplicación en distintas situaciones médicas y en la tecnología de cultivos celulares *ex vivo*. Muy principalmente, se conocen las patentes US6569204, ES2180438B2 y ES2221770B2, en las cuales se describen procedimientos de preparación de un compuesto PRGF y su utilización para la regeneración de tejido óseo durante la colocación de implantes dentales u otro tipo de prótesis, como colirio, e incluso como medio de cultivo de células *ex vivo*. La utilización de los compuestos PRGF en estas aplicaciones, ahora convencionales, ha demostrado ser enormemente beneficiosa.

La invención pretende ampliar el campo de aplicaciones y métodos de utilización de compuestos ricos en factores de crecimiento (compuestos PRGF) en particular, y de compuestos ricos en plaquetas (PRP) y compuestos derivados de sangre en general, a otras aplicaciones distintas de las aplicaciones convencionales mencionadas.

Descripción breve de la invención

Es objeto de la invención un método para el tratamiento de dolencias o enfermedades articulares, que comprende la infiltración en la articulación de un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre, la cual tiene unas propiedades biológicas capaces de modificar la condición biológica y no sólo la condición mecánica de la articulación. Dicha sustancia derivada de sangre es preferentemente un plasma sanguíneo y/o un sobrenadante de plasma sanguíneo. El plasma sanguíneo es preferentemente un plasma rico en plaquetas (PRP), y dentro de los PRP, preferentemente un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).

El método de la invención permite tratar desde dolores articulares leves hasta enfermedades como la condropatía o la artrosis.

Es también objeto de la invención un método para el tratamiento de la piel, con fines estéticos u otros, que comprende la aplicación tópica o la infiltración bajo la piel de un compuesto que comprende a menos una sustancia derivada de sangre. Al igual que en el caso anterior, dicha sustancia derivada de sangre es preferentemente un plasma sanguíneo y/o un sobrenadante de plasma sanguíneo. El plasma sanguíneo es preferentemente un plasma rico en plaquetas (PRP), y dentro de los PRP, preferentemente un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).

Es también objeto de la invención un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre, y ácido hialurónico (HA) y/o al menos un compuesto derivado de HA. Dicho compuesto presenta unas propiedades especialmente ventajosas para las aplicaciones anteriormente citadas ya que complementa las propiedades de la propia sustancia derivada de sangre con las propiedades del HA. Además, consigue efectos novedosos por la propia combinación de ambos componentes.

Por último, es objeto de la invención el método de preparación del compuesto anterior.

Descripción detallada de la invención

Es objeto de la invención un método para el tratamiento de una articulación afectada por una dolencia o una enfermedad, que comprende la infiltración en la articulación de un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre. Podrán tratarse según este método según la invención desde dolores leves hasta enfermedades como la condropatía o la artrosis.

La artrosis, como es conocido, es una enfermedad articular con alta incidencia y prevalencia en la población. La padece un 10% de la población por encima de 50 años y no tiene cura. Tiene gran repercusión en la calidad de vida, es degenerativa y se agrava con el paso del tiempo. El impacto social y económico es muy grande tanto en pérdidas de horas laborales como en gastos sanitarios. Actualmente, se utilizan tratamientos paliativos, dirigidos a tratar los síntomas, principalmente el dolor. Con este fin se administran analgésicos y antiinflamatorios (AINES). Sin embargo estos tratamientos no detienen ni modifican el curso de la enfermedad que evoluciona hasta el deterioro grave de la articulación. La indicación en este caso extremo es la colocación de una prótesis mediante cirugía. Alternativamente, también se conocen tratamientos que consisten en la aplicación de factores de crecimiento como el IGF-I o el bFGF de forma individual (US6645945, US2004017695). Sin embargo su utilización no ha llegado al ámbito clínico todavía por varias dificultades concurrentes: es necesario un largo y costoso proceso para implementar su síntesis y purificación en el laboratorio, para acreditar su bioseguridad y su eficacia *in vivo*, y para cumplir los requisitos legales sanitarios para medicamentos sintéticos. En cuanto a una demostración de eficacia, la heterogeneidad de los pacientes y la complejidad de las enfermedades articulares hacen que la administración de un único factor que interviene en un único mecanismo pueda resultar insuficiente para modificar un proceso patológico complejo en el que están implicados múltiples procesos.

Mediante el tratamiento según la invención, el cual utiliza una sustancia con propiedades biológicas, capaz de liberar moléculas reparativas que actúan en el cartílago articular, se espera conseguir nuevos efectos terapéuticos muy importantes, incluida cierta capacidad de devolver las condiciones fisiológicas a la articulación.

Según la invención, la sustancia derivada de sangre puede ser infiltrada no sólo en cualquier momento, para aliviar dolores o lesiones articulares de menor o mayor gravedad, sino en otras situaciones. Por ejemplo, puede infiltrarse una sustancia derivada de sangre en una articulación como paso posterior a una extracción de líquido sinovial patológico de dicha articulación, en situaciones de derrame, inflamación y dolor articular. De este modo, se sustituye el líquido sinovial patológico por una sustancia que proporciona un ambiente biológico intraarticular más saludable. La sustancia derivada de sangre va a actuar sobre las células de la membrana sinovial, los sinoviocitos (responsables de la producción del líquido sinovial que baña por completo la articulación), estimulando la producción de ácido hialurónico y otras moléculas, actuando con antiinflamatorio y disminuyendo el dolor. También puede infiltrarse una sustancia derivada de sangre tras realizar una cirugía artroscópica sobre la articulación, para promover la actividad metabólica de los condrocitos, inhibir las enzimas que degradan la articulación y estimular la producción de ácido hialurónico. La sustancia derivada de sangre restituye el perfil molecular y el ambiente biológico articular, lo cual es muy interesante dado que la articulación queda desprovista de factores biológicos como consecuencia del lavado articular que se efectúa durante la artroscopia.

Es también objeto de la invención un método para el tratamiento de la piel, que comprende la aplicación tópica o la infiltración mediante inyección dermal, subdermal o intramuscular de un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre.

La sustancia derivada de sangre puede ser autóloga (proveniente del mismo paciente sobre el cual se va a aplicar el tratamiento con el compuesto final) u homóloga (no proveniente del mismo paciente, pero sí de su misma especie). En caso de que la sustancia derivada de de sangre sea autóloga, presentará la ventaja de poder ser preparado en el mismo tiempo de su utilización (sin que sea necesario ningún sistema de conservación), lo cual abarata el tratamiento y además es totalmente biocompatible (no provoca reacciones inmunológicas). En cambio, el uso de sustancias homólogas puede ser interesante para el tratamiento de pacientes con enfermedades sistémicas complejas que pueden afectar a las concentraciones de GFs en sangre (genérico) y en cualquiera de las preparaciones derivadas, y que no podrían beneficiarse de las ventajas de este tipo de tratamientos. En estos casos, se podría solventar la situación utilizando una sustancia derivada de la sangre de una persona sana con propiedades reparativas demostradas.

Preferentemente, el compuesto derivado de sangre es un plasma en general, del tipo que sea, fabricado de la forma que convenga para obtenerse una composición adecuada para la aplicación o caso clínico concreto. Es decir, se utilizará un plasma con un contenido concreto de plaquetas, leucocitos y otros componentes que dependerá del método de fabricación u obtención del plasma. El plasma presenta además la cualidad de que las moléculas reparativas (factores de crecimiento, etc.) se liberan en un orden y en una velocidad que viene determinada por la necesidad natural del tejido y la zona de tratamiento. Es decir, la liberación de las sustancias regeneradoras se produce de forma controlada (en contraposición con otros modos de realización de la invención, como se verá más adelante). Con ello, la regeneración conseguida es más lenta pero más completa.

Preferentemente, el compuesto derivado de sangre es un plasma rico en plaquetas (PRP). Las plaquetas son fundamentales en la reparación tisular, ya que contienen en su interior distintas estructuras o moléculas reparativas con sustancias bioactivas que juegan un papel crucial en la reparación. Entre dichas moléculas reparativas se encuentran los mencionados "factores de crecimiento" (PDGF, TGF-beta, IGF-I, HGF, VEGF, EGF, bFGF, etc.), capaces de activar o no la mitosis y capaces de modificar la angiogénesis, la síntesis de matriz extracelular y la remodelación del tejido.

De un modo especialmente ventajoso, de entre todos los plasmas ricos en plaquetas (PRPs) conocidos la invención utiliza plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), ya que este tipo de compuesto PRP presenta una serie de ventajas sobre otros compuestos PRP ya enumeradas en la introducción del presente documento. Además, presenta otras ventajas relacionadas con la aplicación articular, como por ejemplo que contiene moléculas que bloquean o neutralizan la actividad destructiva de unas enzimas llamadas metaloproteinasas (MMPs) responsables de la destrucción del cartílago articular. El PRGF contiene por ejemplo TIMPs y alfa-macroglobulina por lo tanto su aplicación puede detener la destrucción del cartílago. En segundo lugar, PRGF contiene factores como IGF-I y TGF-beta1 que son anabólicos (es decir estimulan la síntesis de matriz) para el cartílago. Por lo tanto el tratamiento con PRGF induciría la síntesis de nueva matriz extracelular.

El plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) puede estar preparado según el método de la patente US6569204 o según otro método apropiado.

Alternativamente o complementariamente, como sustancia derivada de sangre la invención puede utilizar un sobrenadante proveniente de la coagulación de un plasma sanguíneo. En este caso, a diferencia del modo de realización en el cual se utiliza plasma sanguíneo, las moléculas reparativas (factores de crecimiento, etc.) se encuentran ya liberadas y disponibles para actuar, con lo que el efecto del sobrenadante en el tejido o zona de tratamiento es más rápido. Al mismo tiempo, el sobrenadante es líquido por lo que al ser aplicado en la zona de tratamiento resulta más disperso y difícil de confinar en dicha zona, en comparación con el modo de realización en el cual se utiliza plasma sanguíneo.

De forma especialmente ventajosa, el sobrenadante sanguíneo será un sobrenadante obtenido de la coagulación de un plasma rico en plaquetas (PRP). Este sobrenadante presentará las ventajas relacionadas con las propiedades de los compuestos PRP, ya explicadas.

Y como caso particular del anterior, preferentemente se utilizará un sobrenadante proveniente de la coagulación de un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). En este último caso, el sobrenadante podrá obtenerse mediante el procedimiento de la patente ES2221770, por ejemplo. Este sobrenadante presentará las ventajas relacionadas con las propiedades de los compuestos PRGF, ya explicadas.

La invención también contempla una combinación plasma y sobrenadante, del tipo que sean. Dado que los plasmas tienen una consistencia relativamente viscosa y el sobrenadante tiene una consistencia líquida, se podrá variar las cantidades de uno u otro para conseguir una mezcla de una consistencia deseada según las necesidades de la aplicación en la cual vaya a ser utilizado.

Es objeto de la invención un compuesto que comprende al menos una sustancia derivada de sangre, autóloga u homóloga, y ácido hialurónico (HA) y/o al menos un compuesto derivado de HA. El ácido hialurónico (AH) es una sustancia utilizada en ortopedia, traumatología, medicina estética, otorrinolaringología y oftalmología, entre otras áreas de la medicina. El aspecto más relevante del HA es su carácter higroscópico, es decir, su apetencia por el agua, según la cual las moléculas de HA inmovilizan las moléculas de agua en el interior de los tejidos. Dicho carácter higroscópico es responsable del volumen de la sustancia intercelular y de la hidratación tisular de todos los tejidos. Durante su degradación, el HA no experimenta variaciones de volumen (es isovolémico). Debido a estas cualidades, el HA se utiliza con objetivos fundamentalmente mecánicos, ya que puede proporcionar relleno, controlar la humedad y aumentar el espacio tisular. También se puede utilizar como protección de zonas delicadas durante la cirugía, y puede sustituir o suplementar fluidos biológicos proporcionando lubricación (véanse por ejemplo los documentos US20050182022 o US6645945). Sin embargo, el HA no tiene actividad biológica conocida, es decir, no interacciona de forma biológica con el tejido en el cual es aplicado. Por ello, es especialmente ventajoso el combinar, según la invención, las propiedades mecánicas, estructurales y lubricantes del ácido hialurónico (AH) con las propiedades biológicas de las sustancias derivadas de sangre. En cuanto a su obtención, el HA se puede purificar de determinados tejidos animales o humanos (es especialmente abundante en la piel y en el líquido sinovial), o bien obtener mediante un proceso de fermentación bacteriana y posterior purificación en el laboratorio. En cuanto a su naturaleza química, se trata de un polisacárido "universal" ya que es idéntico en todas las especies animales y ocupa el espacio intercelular en todos los tejidos; es un polímero formado la repetición de N-acetil glucosamina y ácido glucorónico.

Como se ha mencionado, puede utilizarse HA puro o un compuesto derivado de HA. El compuesto derivado de HA puede presentar múltiples variantes, en función de una serie de factores. Un factor es el peso molecular del ácido hialurónico (AH). Otro factor es el origen del ácido hialurónico (AH), que puede ser animal (cresta de gallo, aleta de tiburón, etc.) o de otras fuentes biológicas (cordón umbilical, ojos, etc.), proveniente de una fermentación bacteriana, proveniente de tecnologías recombinantes, etc. Un factor adicional es el hecho de si el ácido hialurónico está o no modificado química o químico-físicamente mediante la creación de enlaces entrecruzados. También lo es la variedad de compuestos derivados de HA que pueda contener: sales (sódica, potásica, de calcio, magnesio, amonio etc.), ésteres, hemiésteres, ésteres parciales (derivados de alginatos, sales de metales pesados), derivados sulfatados o N-sulfatados, derivados amida, o con cualquier residuo o grupo de sustitución OH^-, O^- etc. Por último, otro factor es la forma geométrica del HA, que podrá ser de gránulos, esferas, polvo, fibras, esponjas, etc.

El compuesto definido por la invención puede ser utilizado de forma especialmente ventajosa en el tratamiento de dolencias o enfermedades articulares y en el tratamiento de la piel, por diversos motivos:

- Por supuesto, se aprovechan las propiedades de cada componente: las propias cualidades biológicas y regeneradoras de la sustancia derivada de sangre, ya explicadas; las propias cualidades del HA (elasticidad, viscosidad, aporte de lubricación, capacidad de absorción de golpes). Además, aparecen unos efectos ventajosos como resultado de combinar en un compuesto el HA con una sustancia derivada de sangre. Por ejemplo, se consigue un compuesto de mayor estabilidad (menor degradación) que la sustancia derivada de sangre por sí sola.

- Se consigue un efecto temporal más largo de presencia de HA en la articulación, ya que al HA inicial (aportado por el compuesto y de tipo exógeno), el cual por sus propias características tiende a desaparecer con cierta rapidez, se suma un HA endógeno generado por las células del tejido como consecuencia de la acción del derivado de sangre. En otras palabras, se crea una especie de círculo de realimentación según el cual el HA favorece la acción del derivado de sangre, y éste último contribuye a que no desaparezca el primero.

- Se consigue un mayor control espacial de la liberación y acción de los factores de crecimiento, es decir, se consigue un mejor confinamiento de los factores de crecimiento en la zona de tratamiento (en comparación con la aplicación de la sustancia derivada de sangre sin HA). Esto es debido al carácter isovolémico e higroscópico del HA, que le permite retener las moléculas reparativas hidrosolubles de la sustancia derivada de sangre en dicha zona. De este modo, el HA permite confinar la actividad biológica de la sustancia derivada de sangre durante un tiempo suficiente en la zona donde se encuentran los tejidos "diana", sobre los que se quiere actuar. Este efecto es ventajoso y novedoso con respecto a aplicar sustancias derivadas de sangre sin HA. Por ejemplo, en caso de que se aplique PRGF sin HA, la red de fibrina comprendida en el PRGF mantiene las moléculas reparativas confinadas durante un tiempo muy corto, porque la fibrina se va retrayendo y va liberando el sobrenadante líquido que contiene las moléculas reparativas, y puede ocurrir que dicho sobrenadante líquido se expanda, difunda o fugue hacia otras zonas. Entonces, se perdería el

control de la zona diana y las moléculas reparativas podrían terminar ejerciendo su efecto en zonas donde no son necesarias. Lógicamente, esta dispersión de las moléculas reparativas del PRGF aplicado sin HA ocurrirá en mayor o menor medida dependiendo de las características de la zona de tratamiento, la propia consistencia del PRGF u otros factores.

- Se consigue también un mayor control temporal de la liberación y acción de los factores de crecimiento, es decir, se consigue una liberación más lenta de las moléculas reparativas en la zona de tratamiento (en comparación con la aplicación de la sustancia derivada de sangre sin HA). En consecuencia, se modifica la biodisponibilidad de las moléculas reparativas. La permanencia de dichas moléculas reparativas en la articulación es más prolongada y se maximiza el tiempo de exposición del tejido al tratamiento.

El compuesto según la invención presenta unas ventajas adicionales en el tratamiento de enfermedades articulares en comparación con la aplicación exclusiva de una sustancia derivada de la sangre, por ejemplo PRGF. Por un lado, el HA y/o compuesto derivado de HA aporta un efecto lubricante que es muy importante para una articulación deteriorada. Adicionalmente, el compuesto según la invención cumple los requisitos de agente ideal condroprotector y restaurador de la homeostasis de la articulación. Además, mediante la inclusión de HA, se prolonga el tiempo de contacto del compuesto con el cartílago y en consecuencia aumentan las probabilidades de penetración y neutralización de metaloproteinasas. Como se ha mencionado, el PRGF presenta una serie de características que hacen interesante su aplicación intraarticular, con el fin de conseguir detener la destrucción del cartílago. Sin embargo, un compuesto PRGF aplicado en el cartílago no cumple los requisitos de agente ideal condroprotector y restaurador de la homeostasis de la articulación. El PRGF se disocia en un líquido sobrenadante que contiene factores de crecimiento a una velocidad mayor que la velocidad de penetración de las moléculas en la dura matriz del cartílago articular. Por ello es interesante este efecto de prolongación de tiempo de contacto conseguido mediante el HA.

El compuesto según la invención también presenta ventajas específicas para ser aplicado en la piel (por infiltración o por aplicación tópica), tanto en medicina estética como en otros campos. Dichas ventajas se originan en que el compuesto realiza varias funciones simultáneamente. En primer lugar, sirve de material de relleno de las arrugas (gracias al HA). En segundo lugar, el compuesto ejerce una función de regulación de la hidratación, actuando como lubricante (gracias al grado líquido que contenga). En tercer lugar, la sustancia derivada de sangre estimula la síntesis local de HA y colágeno por parte de los fibroblastos dermales para provocar un efecto rejuvenecedor más estable a lo largo del tiempo. En cuarto lugar, el compuesto es biocompatible no inmunógeno (por ser derivado de sangre). En quinto lugar, es biodegradable. Por último, la viscosidad del compuesto puede variarse en función de su composición exacta y así adaptarse en función de los diámetros de la aguja de inyección más apropiada en cada aplicación. Por ejemplo, una aplicación en medicina estética utilizando la técnica conocida como mesoterapia requiere muchos pinchazos que deberán ser muy poco agresivos, por lo que la viscosidad del compuesto deberá ser tal que permita el paso del compuesto por una aguja muy fina (30G). La viscosidad en este caso deberá estar en el rango, principalmente entre 2000 ml/g y 20000 ml/g.

La aplicación en la piel del compuesto que comprende HA y una sustancia derivada de sangre puede dar mejores resultados que la aplicación de únicamente una sustancia derivada de sangre, también reivindicada por la presente invención. A modo de ejemplo, supóngase que se quiere tratar un envejecimiento facial. Si se infiltran dosis repetidas de un PRGF en forma de mesoterapia, el PRGF actuará como relleno durante un tiempo muy reducido (pocos días) pero a cambio iniciará procesos celulares como la síntesis de HA y de colágeno, los cuales aportarán cambios más estables proporcionando tersura, estabilidad e hidratación a la piel a largo plazo. Es decir, el PRGF actuaría como un "suflé" desapareciendo su volumen al poco tiempo, por lo que el aspecto mejorado del paciente no duraría mucho. En cambio, la mezcla de PRGF + HA proporcionaría un efecto de relleno gracias al HA, a la vez que se activaría la actividad celular y se desencadenarían cambios más estables gracias a la bioactividad del PRGF.

Para la fabricación del compuesto según la invención, podrá utilizarse como sustancia derivada de sangre un plasma sanguíneo, el cual preferentemente será un plasma rico en plaquetas (PRP), y dentro de éste, un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). Las propiedades ventajosas de cada uno ya han sido explicadas. También es posible que la sustancia derivada de sangre contenga o sea un sobrenadante de plasma sanguíneo, en particular de un plasma rico en plaquetas (PRP), y preferentemente de un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). La utilización de sobrenadante como medio de disolución del compuesto de ácido hialurónico (AH) permite obtener un compuesto según la invención que, además de presentar propiedades biológicas (debido a que el sobrenadante proviene de un plasma con propiedades biológicas), tenga una consistencia líquida o cuasi-líquida debido a que el sobrenadante es un compuesto líquido.

En función de las proporciones de sustancia derivada de sangre y de HA y/o compuesto derivado de HA comprendidas en el compuesto según la invención, éste puede presentar una consistencia final líquida (en caso de que se utilice. cualitativamente mucha cantidad de un compuesto líquido, por ejemplo HA en solución salina y/o sobrenadante), de gel (es decir, medianamente viscosa, reduciendo la cantidad de componentes líquidos), de membrana (es decir, más viscosa y capaz de formar una membrana o película), y así sucesivamente hasta una consistencia sólida. La consistencia final del compuesto según la invención depende de la utilización que vaya a hacerse del mismo. Por ejemplo, en caso de estar destinado al tratamiento de enfermedades articulares podrá presentar una consistencia líquido-viscosa para poder ser inyectado y al mismo tiempo coagularse inmediatamente después de entrar en la articulación. En cambio, en caso de estar destinado al tratamiento de la piel, en caso de que la aplicación sea por ejemplo tópica será preferible una consistencia líquida o de gel.

Un ejemplo de compuesto según la invención está realizado a partir de un sobrenadante líquido que contiene entre otros PDGF (27.96 ng/ml (SD:12.13), TGF-b1 (55.27 ng/ml (16.23)), IGF-I (88.62 ng/ml (SD: 38.36)), EGF (456 pg/ml (SD:210)), VEGF (421 pg/ml (SD:399)), TIMP-1 (400 ng/ml (SD:230)), HGF (606 pg/ml (SD:269)) y que forma un coloide con el HA. Dicho coloide se mezcla con una determinada cantidad de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), en una proporción en volumen a la que se hará referencia como "S/PRGF". El compuesto tiene distintas opciones de configuración, como puede observarse en la tabla siguiente, donde se describe la composición del nuevo compuesto multimolecular dotado de un mecanismo de acción múltiple, dirigido a varias dianas celulares:

Fase dispersante: sobrenadante	Fase dispersa HA % peso/vol	PRGF % vol/vol	Nuevo compuesto (*)
PDGF; TGF-b1; IGF-I; EGF; VEGF; TIMP-1; HGF	0.5%-50%	0,1%-99%	Líquido viscoso Gel Sólido

(*) Consistencia del nuevo compuesto en función de las cantidades de Fase dispersa HA y de PRGF.

Es también objeto de la invención un método de preparación del compuesto descrito. Dicho método de preparación comprende los pasos de:

- disponer de al menos una sustancia derivada de sangre, autóloga u homóloga;
- mezclar dicha sustancia derivada de sangre con HA y/o al menos un compuesto derivado de HA, generalmente añadiendo la sustancia derivada de sangre mediante una jeringa, pipeta u otro instrumento al HA y/o al menos un compuesto derivado de HA en condiciones de flujo laminar u otras condiciones similares que garanticen la esterilidad de la preparación;
- opcionalmente, activar dicha mezcla mediante cloruro de calcio.

La sustancia derivada de sangre es preferentemente un plasma sanguíneo, y de modo especialmente ventajoso un plasma rico en plaquetas (PRP) y a su vez un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). También podrá ser un sobrenadante de plasma sanguíneo, de plasma rico en plaquetas (PRP) o de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). Para disponer de cualquiera de ellos, podrá llevarse a cabo cualquier método convencional del tipo de los explicados en la introducción del presente documento, u otros.

En caso de que la sustancia derivada de sangre sea una sustancia sin activar (por ejemplo un plasma sanguíneo, un PRP o un PRGF) se añadirá cloruro de calcio para activar la sustancia, es decir, para producir la liberación de las moléculas reparativas. En cambio, si la sustancia derivada de sangre es una sustancia ya activada (por ejemplo, cualquiera de los sobrenadantes mencionados) no será imprescindible añadir cloruro de calcio.

En un modo de realización del método de preparación del compuesto, el HA y/o compuesto derivado de HA es liofilizado. La mezcla de la sustancia derivada de sangre con HA y/o al menos un compuesto derivado de HA se realiza añadiendo la sustancia derivada de sangre a un tubo que contiene el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA liofilizado y calentando dicho tubo a entre 25 y 42ºC para disolver el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA en la sustancia derivada de sangre.

En otro modo de realización del método de preparación del compuesto, el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA está disponible inicialmente en una disolución. La mezcla de la sustancia derivada de sangre con el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA se realiza disolviendo el HA y/o al menos compuesto derivado de HA en una disolución salina estéril a entre 25 y 42ºC, y a continuación mezclando la disolución suavemente con el PRP.

El cloruro de calcio se aplica preferentemente en una concentración de entre 6-120 mM. Este rango garantiza la activación plaquetaria, la formación de fibrina y la coagulación.

El método descrito puede comprender un paso adicional: esperar a la coagulación del compuesto, tras activar la mezcla mediante cloruro de calcio. Esto puede ser conveniente si desde el principio del tratamiento se desea un compuesto con una consistencia menos líquida.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto para la regeneración de tejidos, **caracterizado** por que comprende:

- al menos una sustancia derivada de sangre,
- ácido hialurónico (HA) y/o al menos un compuesto derivado de HA.

2. Compuesto según la reivindicación 1, donde la sustancia derivada de sangre es autóloga.

3. Compuesto según la reivindicación 1, donde la sustancia derivada de sangre es homóloga.

4. Compuesto según la reivindicación 1, donde la sustancia derivada de sangre es plasma sanguíneo.

5. Compuesto según la reivindicación 4, donde la sustancia derivada de sangre es un plasma rico en plaquetas (PRP).

6. Compuesto según la reivindicación 5, donde la sustancia derivada de sangre es un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).

7. Compuesto según la reivindicación 1, donde la sustancia derivada de sangre es sobrenadante de plasma sanguíneo.

8. Compuesto según la reivindicación 7, donde la sustancia derivada de sangre es un sobrenadante de plasma rico en plaquetas (PRP).

9. Compuesto según la reivindicación 8, donde la sustancia derivada de sangre es un sobrenadante de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).

10. Método de preparación de un compuesto para la regeneración de tejidos, **caracterizado** por que comprende los pasos de:

- disponer al menos una sustancia derivada de sangre,
- mezclar dicha sustancia derivada de sangre con ácido hialurónico (HA) y/o al menos un compuesto derivado de HA.

11. Método según la reivindicación 10, donde la sustancia derivada de sangre es autóloga.

12. Método según la reivindicación 10, donde la sustancia derivada de sangre es homóloga.

13. Método según la reivindicación 10, que se **caracteriza** por que el HA y/o compuesto derivado de HA es liofilizado, y la mezcla de la sustancia derivada de sangre con HA y/o al menos un compuesto derivado de HA se realiza añadiendo la sustancia derivada de sangre a un tubo que contiene el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA liofilizado y calentando dicho tubo a entre 25 y 42ºC para disolver el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA en la sustancia derivada de sangre.

14. Método según la reivindicación 10, que se **caracteriza** por que el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA está en una disolución, y la mezcla de la sustancia derivada de sangre con el HA y/o al menos un compuesto derivado de HA se realiza disolviendo el HA y/o al menos compuesto derivado de HA en una disolución salina estéril a entre 25 y 42ºC, y a continuación mezclando la disolución suavemente con el PRP.

15. Método según la reivindicación 10, que se **caracteriza** por que el cloruro de calcio se aplica en una concentración de entre 6-120 mM.

16. Método según la reivindicación 10, que comprende el paso adicional de activar dicha mezcla mediante cloruro de calcio.

17. Método según la reivindicación 16, que se **caracteriza** por que comprende el paso adicional de esperar a la coagulación del compuesto, tras activar la mezcla mediante cloruro de calcio.

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 333 498

(21) Nº de solicitud: 200702174

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **02.08.2007**

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

(51) **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2007037737 A1 (HOEMANN, C. y col.) 15.02.2007, página 5, párrafos [0020]-[0027]; página 6, párrafos [0033]-[0038]; página 7, párrafo [0074]; ejemplos 4,5; página 13, párrafo [0110].	1-5,10-17
A	ANITUA, E. y col. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. Trends in Biotechnology. 2006, Vol. 24, Nº 5, páginas 227- 234, ISSN 0167-7799. Todo el documento.	1-17
A	LO, GRACE H. y col. Intra-articular Hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis. Journal of the American Medical Association. 2003, Vol. 290, Nº 23, páginas 3115-3121, ISSN 0098-7484. Resumen; página 3121, columna izquierda, segundo párrafo.	1-17
A	ES 2221770 A1 (ANITUA, E. y col.) 01.01.2005, todo el documento.	1-17
A	CENTENO, CH.J. y col. Partial regeneration of the human hip via autologous bone marrow nucleated cell transfer: a case study. Pain Physician. 2006, Vol. 9, Nº 3, páginas 253-256, ISSN 1533-3159. Página 254, columna intermedia.	1-17
A	ANITUA, E. y col. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thrombosis and Haemostasis. 2004, Vol. 91, Nº 1, páginas 4-15, ISSN 0340-6245. Todo el documento.	1-17

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	Examinador	Página
08.01.2010	E. Albarrán Gómez	1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 35/14 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE,

OPINIÓN ESCRITA

Nº de solicitud: 200702174

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.01.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-17	**SÍ**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva	Reivindicaciones	6-9	**SÍ**
(Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-5, 10-17	**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial.** Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

OPINIÓN ESCRITA

Nº de solicitud: 200702174

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2007037737 A1	15-02-2007
D02	Trends in Biotechnology.	2006
D03	Journal of the American Medical Association.	2003
D04	ES 2221770 A1	01-01-2005
D05	Pain Physician.	2006
D06	Thrombosis and Haemostasis.	2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención tiene por objeto un compuesto para la regeneración de tejidos que comprende ácido hialurónico o derivado del mismo y una sustancia derivada de sangre, autóloga u homologa, que puede ser plasma sanguíneo, plasma rico en plaquetas (PRP), plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) y sobrenadante de plasma sanguíneo, de PRP o de PRGF. La invención también se refiere al método de preparación de este compuesto mediante mezcla del ácido hialurónico o derivado en estado liofilizado o en disolución con la sustancia derivada de la sangre, calentar entre 25ºC y 42ºC y opcionalmente activar dicha mezcla mediante la adición de cloruro de calcio.

El documento D01 se refiere a una composición para su uso en reparación, regeneración y reconstrucción de tejidos como cartílago, ligamentos, tendones, huesos, piel, córnea, tejido periodontal... mezcla de una solución polimérica y una sustancia biológica que puede ser una sustancia derivada de sangre o aislados celulares autólogos o no autólogos. Entre los derivados sanguíneos se encuentra sangre completa o procesada, venosa o arterial..y plasma rico en plaquetas. El polímero puede ser un polisacárido natural o modificado entre los que se citan quitosano, ácido hialurónico, condroitin sulfato, dermatan sulfato.... aunque en los ejemplos siempre utiliza quitosano. En el párrafo [0074] se hace referencia al método de preparación de este compuesto mediante combinación del derivado de sangre con el polímero en solución o suspensión acuosa o en estado de partícula, detallándose este método en el ejemplo 5.

A la vista de lo que se conoce del documento D01, se considera que un experto en la materia intentaría combinar ácido hialurónico con plasma rico en plaquetas para la preparación de un compuesto con propiedades de reparación de tejidos, utilizando el método descrito en D01. Por lo tanto se considera que las reivindicaciones 1 a 5 y 10 a 17 de la solicitud carecen de actividad inventiva (Art. 8.1. LP 11/1986).

No se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica el compuesto formado por la combinación de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) o sobrenadante de plasma sanguíneo, PRP o PRGF con ácido hialurónico y/o derivado del mismo. En consecuencia se considera que las reivindicaciones 6 a 9 de la solicitud tienen novedad y actividad inventiva (Arts 6.1. y 8.1. LP 11/1986).