República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0215214-2 B1

(22) Data do Depósito: 04/12/2002

(45) Data de Concessão: 30/05/2017

(54) Título: USO DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: A61K 38/18

(30) Prioridade Unionista: 20/12/2001 CU 0308/01

(73) Titular(es): CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA

(72) Inventor(es): JORGE BERLANGA ACOSTA; JOSÉ I. FERNÁNDEZ MONTEQUÍN; CALIXTO VALDÉS PÉREZ; NEOBALIS FRANCO PÉREZ; INGRID ROJAS CONSTANTIN; HÉCTOR SANTANA MILIÁN; LARISSA CHACÓN CORVEA; GERARDO E. GUILLÉN NIETO; LUIS HERRERA MARTÍNEZ; LEONARDO CANAN-HADEN FRÍAS; HAYDEE GERÓNIMO PÉREZ; JORGE SOTOLONG PEÑA

"USO DO FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO, E, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA"

Setor técnico

A presente invenção refere-se ao uso de uma composição farmacêutica que contém Fator de Crescimento Epidérmico (EGF); de preferência, de forma injetável e para ser administrada mediante infiltração dentro e em torno de lesões cutâneas isquêmicas crônicas, para a prevenção da amputação do pé diabético. Pode ser administrada, adicionalmente, sobre superfícies cirúrgicas de criação recente e danificadas pelo efeito da reperfusão aguda com sangue oxigenado após isquemia prolongada. Ela previne reintervenções cirúrgicas e favorece a preservação da extremidade.

Técnica Anterior

Todos os órgãos e tecidos são suscetíveis a danos irreversíveis como conseqüência da privação parcial ou total, aguda ou crônica do fornecimento de sangue arterial ou do fracasso da drenagem venosa (T. D. Lucas e I. L. Szweda. "Cardiac reperfusion injury: ageing, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction". Proc Natl Acad Sci USA 1998, 95 (2): 510-514). Estes transtornos são muito freqüentes, como por exemplo em pessoas acometidas de Diabetes Mellitus. Nestes indivíduos a macro e/ou a microvasculatura, fundamentalmente dos pés deteriora-se de modo que a circulação local fracassa. Ao dano vascular soma-se a deterioração das estruturas nervosas periféricas. O dano no sistema de enervação sensitivo ou autônomo nas pernas e pés dos pacientes provoca a ocorrência de lesões traumáticas ao perder-se a sensibilidade e os mecanismos de defesa naturais mediante a secreção glandular.

Os níveis altos e conservados de glicemia, de hemoglobina e outras proteínas glicosiladas, associados às angiopatias e neuropatias, dificultam seriamente a cicatrização das lesões (Kurose I, Argenbright LW, Wolf R, Lianxi L, Granger DN. "Ischemia/reperfusion-induced microvascular

dysfunction: role of oxidants and lipid mediators". Am J Physiol 1997, 272: H2976-H2982). O próprio déficit circulatório constitui um sério impedimento para a cicatrização. A maior partes destes pacientes sofre amputações de suas extremidades. Um exemplo é constituído pelos pacientes com arteriopatias inflamatórias ou degenerativas dos membros inferiores, em que freqüentemente a circulação arterial por baixo da articulação do joelho é insuficiente ou nula. Nestes casos, os componentes cutâneos, os vasos de menor calibre, os nervos, e as articulações deterioram-se e freqüentemente morrem, evento que se expressa em forma de úlcera isquêmica refratária a todo tratamento (McCallon SK, Knight CA, Valiulus JP, Cunningham MW, McCulloch JM, Farinas LP. "Vacuum-assisted closure versus saline-moistened gauze in the healing of postoperative diabetic foot wounds". Ostomy Wound Manage 2000, 46:28-32).

A seguir descrevem-se algumas das soluções em uso conhecidas até hoje para o tratamento destas patologias.

Entre os procedimentos gerais empregados na técnica encontra-se a correção metabólica, que se baseia no controle geral dos fatores de risco e no repouso funcional da zona afetada.

Outro procedimento comumente utilizado é o emprego de antibióticos e desligamento precoce dos trajetos fistulizados. Isto é realizado qualquer que seja a situação de perfusão do pé infectado.

Nos graus mais graves ou rebeldes, a alternativa é a amputação de forma irreversível.

Entre as medidas coadjuvantes para resolver esta situação, os tratamentos a seguir mostraram algum efeito favorável, tanto na cronicidade como nas reagudizações:

> Terapia Hemorreológica, que se baseia na prevalência demonstrada no doente diabético das alterações hemorreológicas e seu papel potencializador da infecção.

> Terapia Vasoativa, que se tem empregado nas alterações locais de perfusão, tanto devidas à macro como à microangiopatia, ativando certos prostanóides a nível tissular.

Para se empregar ambas as terapias deve-se avaliar previamente as funções cardiocirculatórias, renal e hepáticas do paciente, considerando-se a freqüente afetação das duas primeiras nos pacientes diabéticos.

Adicionalmente, para determinados estados, tem-se empregado os antiagregantes plaquetários, e os agentes trombolíticos.

Por outro lado, a técnica de revascularização no paciente isquêmico diabético ou não diabético é arriscada, onerosa e não aplicável a todos os pacientes, sendo sua indicação muito limitada, como também a cirurgia endovascular que apresentou limitações de viabilidade, tanto nos setores arteriais Aorto-ilíaco como Fêmuro-Poplíteo, atribuíveis à calcificação e maior setorialidade lesional.

A simpatectomia lombar é hoje praticada excepcionalmente nos doentes diabéticos. A existência de uma neuropatia autônoma mais ou menos evolucionária faz com que seja ineficaz.

Recentemente, a Administração Federal de Drogas e Alimentos (FDA) dos E.U.A. aprovou o uso do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) recombinante humano, para estimular a cicatrização de úlceras neuropáticas do pé diabético. No entanto, os resultados do ensaio clínico mais recente, duplamente cego, multi-cêntrico e aleatorizado demonstram uma eficácia de apenas 50% (T. Jeffery Wieman, Janice M. Smiell, Yachin Su. "Efficacy and safety of topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth fator -BB (Becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers". Diabetes Care 1998, 21:822-827). Acima de tudo é notório que as lesões tratadas no ensaio com o PDGF-BB recombinante são incomparáveis com relação ao tipo e magnitude

das que nós conseguimos cicatrizar com nossa invenção. O ensaio é realizado sobre lesões neuropáticas com um fornecimento normal de sangue arterial. Em nosso caso, as lesões tratadas são classificáveis como graus IV - V da escala de Wagner com um grave componente isquêmico. Todas as lesões incluídas em nosso esquema de tratamento compreendiam um tamanho superior aos 20 centímetros quadrados e com uma profundidade de 10 até 40 milímetros. As lesões tratadas no ensaio clínico com o PDGF-BB, de acordo com referidos autores, mostraram uma área de apenas 2,7 ± 3,45 centímetros quadrados e uma profundidade média de 0,5± 0,49 centímetros. Um aspecto crítico é o elevado índice de recorrência reportado no ensaio com PDGF-BB, sendo de 30% em três meses.

Outro invento recente para o tratamento de lesões cutâneas agudas extensas como as queimaduras, ou crônicas como as úlceras venosas, foi a criação de substitutos equivalentes da pele bioartificial humana. Ainda não existem estudos clínicos controlados relativamente a úlceras isquêmicas do pé diabético, e é pouco concebível que estes produtos possam controlar o processo isquêmico subjacente como causa do fracasso da cicatrização (Editorial. New Skin for Old. Developments in Biological Skin Substitutes. Arch Dermatol 1998; 134: 344-348).

De maneira geral, não existe qualquer tratamento medicamentoso que tenha mostrado ser eficaz na estimulação do processo de cicatrização destas lesões, cuja refratividade está associada com a isquemia local. Pode ser ainda mais complexo prevenir as recorrências destas lesões.

Descrição detalhada da invenção

O objeto desta invenção é o uso de uma composição farmacêutica injetável que contém Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), que é capaz de estimular a sobrevida ela adaptação tissular ante a hipoxia; a composição permite adicionalmente, de forma irreversível, a cicatrização de lesões cutâneas crônicas, de caráter ulcerativo ou não, classificáveis como

isquêmicas, ou daquelas feridas prejudicadas pelo efeito da reperfusão com sangue arterial na pele e tecidos moles adjacentes. Neste contexto, define-se como lesão isquêmica aquelas que ocorrem na pele e partes moles das extremidades inferiores do paciente diabético, como conseqüência de um fracasso preexistente da perfusão periférica pelo dano ocasionado aos grandes e pequenos vasos. As lesões que experimentam dano por reperfusão são aquelas feridas, quase sempre de origem cirúrgica, que constituem a base do material já amputado, que recebem alguma quantidade de sangue arterial oxigenado após longos períodos de silêncio hemodinâmico. Alternativamente, elas podem apresentar-se após a cirurgia revascularizadora em membros inferiores do paciente diabético.

Mediante o emprego do EGF nestas lesões, interrompe-se a deterioração dos tecidos das extremidades (fundamentalmente em pernas e pés) como conseqüência da hipoperfusão sanguínea, e a subseqüente acumulação de toxinas e detritos.

A composição da invenção demonstrou iniciar e manter de forma estável e irreversível o processo de cicatrização das úlceras cutâneas crônicas refratárias aos tratamentos existentes, prevenindo a prática de amputações quando não existe outra alternativa para a extremidade isquêmica. É particularmente útil para prevenir os danos associados com a reperfusão cirúrgica, de maneira que é possível controlar a atonia e a desvitalização dos tecidos, a ponto de se tornar desnecessário continuar extirpando zonas da extremidade. Por meio de um mecanismo inicial de citoproteção e resgate a composição permite a cicatrização de úlceras de pé diabético isquêmico/infeccioso e neuropático.

A composição da invenção é empregada mediante infiltração local. Isto significa a instilação direta da composição em zonas profundas das bordas e no fundo das lesões. A administração é realizada em forma de bloqueio inserindo-se a agulha em diferentes pontos da lesão, mais ou menos

eqüidistantes e cobrindo toda a superfície profunda do fundo e contornos das lesões. A administração deve ser realizada depositando-se a composição em entre 4 e 20 pontos de infiltração local, devendo existir uma distância de 1 a 1,5 centímetros de distância entre os pontos. O número de pontos a cobrir depende do discernimento do especialista que realiza as infiltrações. Obviamente, lesões extensas e profundas requerirão um número maior de pontos de instilação. O especialista deve perceber dois efeitos no momento da administração: o edema local e a resistência do tecido à entrada da composição. A realização de práticas como a reanimação de bordas e fundo da ferida dependerá do discernimento do especialista; estas práticas somente devem ser reduzidas de forma significativa na medida em que o tratamento progride. Verificando-se em algum momento atonia das bordas do epitélio quando já existe um tecido de granulação maduro, é possível proceder à reanimação do epitélio de forma conservadora, e em seguida proceder à realização das infiltrações em posição sub-epitelial. Como esquema de tratamento tem-se empregado geralmente a realização de infiltrações em dias alternados durante uma semana, de maneira que em cada semana realizam-se três seções de infiltração. O número de pontos de infiltração em cada seção depende do tamanho da lesão, porém oscila entre 4-20. Em lesões isquêmicas/infecciosas classificáveis como de classe IV e V da escala de Wagner, observa-se o inicio do brotamento de tecido de granulação a partir da sexta seção de infiltrações. Em lesões menos graves é possível observar início de resposta a partir da primeira semana de tratamento, ou seja, logo após três seções de infiltração. Alternativamente, em casos de isquemia muito grave com ausência total de pulsos, e pacientes com anemia inferior a 9 g/l de hemoglobina, tem-se aplicado o tratamento de forma diária. Nestes pacientes, as evidências de granulação iniciam na nona seção de infiltrações.

Em todos os casos o volume total a se instilar por ponto de injeção é de 1 mililitro, deste modo, uma úlcera pode receber entre 4 e 20

mililitros da composição. Prefere-se que a realização das infiltrações seja com o uso de agulhas hipodérmicas 27 $^{1/2}$.

A composição pode conter o polipeptídeo EGF, obtido por via natural, por meio de síntese química, ou mediante a tecnologia do ADN recombinante. Com o uso da composição farmacêutica contendo EGF da presente invenção tem sido possível regenerar tecido em lesões crônicas e isquêmicas, sendo pouco invasivo, e capaz de reduzir o número de intervenções cirúrgicas e as amputações.

Em outros casos, o emprego da presente composição permitiu (I) a eliminação de cápsulas ou crostas isquêmicas sem necessidade de procedimentos cirúrgicos. Isto se relaciona com a formação de novo tecido remodelante nos planos profundos, sendo que o mesmo empurra e desprende o material necrótico. (II) O estabelecimento de um tecido de neoformação, de tipo fibroangiogênico, intracutâneo, conseqüência de infiltrações sucessivas, antes de se praticar uma amputação, por exemplo de dedos, faz com que já exista um tecido pró-granulador antes do ato cirúrgico em si, o que limita a sepse, favorece a cicatrização e atenua os riscos de reperfusão se tal for o caso.

Os componentes da composição farmacêutica são os seguintes:

Fator de Crescimento Epidérmico (EGF). Agente citoprotetor, que ao ser administrado na lesão ulcerativa isquêmica favorece a ativação de mecanismos de defesa celular, promovendo a readaptação e o resgate daquelas células que melhor se adaptem e mais rapidamente proliferem. Provoca apoptose em fibroblastos envelhecidos. Exerce pressão seletiva no microambiente isquêmico. Previne os danos associados com a reperfusão. Presente na formulação numa faixa de 10 a 1000 microgramas por mililitro (pg/ml) de veículo estéril para injeção. A origem do EGF pode ser natural, sintética, ou recombinante. O EGF pode estar em forma líquida suspenso em água, em solução com algum tampão; liofilizado para ser ressuspenso, etc. O

EGF pode encontrar-se em forma de pó ou granulado fino e pode ser aplicado mediante um dispositivo de disparo de alta pressão. O EGF pode ser administrado em forma de ácido desoxiribonucléico (ADN) numa construção genética apropriada para sua expressão em células humanas transfectadas de forma transitória.

Polietilenoimina (PEI): Composto altamente protonado, carregado positivamente que favorece a interação do EGF com seu receptor, prolonga sua vida média na matriz extracelular, e previne a degradação intracelular do EGF, amplificando deste modo as respostas biológicas por ele induzidas. Pode encontrar-se na formulação numa relação molar de 1:1 com o EGF até de 1 (EGF):10 (PEI).

Tampão Fosfato de Sódio. Estabilizante químico. Encontra-se em um pH de 6,5 e numa faixa de concentração molar entre 5-100 milimolar (mM), e numa faixa ótima de 10-20 milimolar (mM).

O-Rafinose. Agente estabilizante no processo de liofilização. É possível empregar concentrações de 5-50 miligramas/mililitro, e numa faixa ótima de 8-20 miligramas/mililitro.

L-Glicina. Agente isotonizante. É possível empregar a concentrações de 5-50 miligramas/mililitro, e numa faixa ótima de 10-20 miligramas/mililitro.

Fibronectina. Favorece a estabilidade do EGF e sua função biológica. Favorece a interação do EGF com as células e a resposta destas. Encontra-se presente na formulação em faixas de 10 a 200 microgramas/ml.

Levana. Agente protetor do EGF em solução, exerce efeito de monitor. Contribui para sua biodistribuição no espaço extracelular. Encontra-se presente na formulação em faixas de 1 a 20 miligramas/ml. Adicionalmente, a composição farmacêutica pode combinar o EGF com os seguintes princípios ativos:

Rutina. Flebotônico e flebotrófico. Pode estar presente na

formulação em concentrações de 20 microgramas/ml a 1000 microgramas/ml. Utilizável como hidrato simples de rutina ou em forma de sal liofilizado em forma de sulfato de rutina.

Lidocaína. Trófico. Contribui para reduzir a produção local de citocinas pró-inflamatórias e a expressão de moléculas de adesão da parede vascular. Presente em forma de cloridrato de lidocaína podendo encontrar-se numa concentração flutuante entre 5 a 40 miligramas/ml.

Trifosfato de adenosina (ATP). Exerce efeito vasodilatador, e pró-metabólico. Pode estar presente em forma de sal sódico ou de ácido livre, a uma concentração flutuante entre 0,05 a 20 miligramas/ml.

Trifosfato de Guanosina (GTP). Favorece a vasodilatação local. Presente em forma de sal sódico podendo encontrar-se numa concentração flutuante entre 1 a 100 miligramas/ml.

Amida do ácido nicotínico (Nictoinamida). Aporta substratos para a anabolia celular. Pode ser empregada numa concentração flutuante entre 1 a 130 miligramas/ml.

L-Arginina. Favorece a regulação do tono vascular. Utilizável em forma de cristais de hidrocloreto, podendo encontrar-se numa concentração flutuante entre 1 a 100 nanogramas/ml.

Heparina. Citoprotetor, pró-mitógeno. Utilizável em forma de sal sódico, podendo encontrar-se numa concentração flutuante entre 1 a 10 microgramas/ml (0,1-1 U).

Exemplos de realização:

Tratou-se um total de nove pacientes que apresentavam as seguintes características comuns:

1. Diabetes mellitus de tipo II com evolução de 10 a 25 anos, medicados predominantemente com hipoglicemiantes orais.

2. Todos com antecedentes de processo de cicatrização insuficiente, alguns deles com amputação contralateral prévia.

3. Todas as lesões dos membros inferiores tratadas corresponderam à classificação clínico-patológica de pé diabético isquêmico/infeccioso ou pé diabético isquêmico/neuropático, ou formas mistas. Classes IV ou V da classificação de Wagner.

4. Todas as lesões tratadas com a invenção proposta podem ser consideradas rebeldes ou recalcitrantes, e com um mês ou mais de evolução.

5. Todas as lesões excediam a 20 cm^2 e, em vários casos, sua profundidade comprometia até o periósteo. Entre estes inclui-se um paciente com comprometimento isquêmico do calcanhar.

6. Todos os pacientes tratados eram candidatos a amputação.

7. Todos evoluíram logo após a alta hospitalar e nenhum recidivou, nem se observou sinais locais de isquemia, nem apresentaram-se reações adversas.

O tratamento consistiu da realização de infiltrações perilesionais profundas em pelo menos cinco ou seis pontos eqüidistantes nas bordas da lesão, sempre dirigindo-se a agulha até à base da úlcera ou até o fundo da cunha cirúrgica. Em cada ponto depositava-se um volume de 1 mililitro (ml) da composição. Não se detectou reações indesejáveis, exceto a dor pela injeção. A composição administrada sempre conteve EGF como princípio ativo principal, em alguns casos experimentou-se uma composição dos princípios ativos previamente mencionados. Nos 9 pacientes tratados foi prevenida a amputação de dedos, pé, ou da extremidade conforme o caso. O número total de seções de infiltrações que cada paciente recebeu é mencionado nos exemplos.

Exemplo 1. Paciente ACDF, com 49 anos de idade e sexo feminino. Paciente com pé isquêmico infeccioso, diabetes de tipo II com 16 anos de evolução, em que se havia praticado simpatectomia e amputação supracondiliana da extremidade direita há $2^{1/2}$ anos. O primeiro dedo do pé esquerdo é amputado por mostrar uma lesão ulcerativa, úmida, atônica, de

cicactrização rebelde apesar de que terem sido realizadas várias curas cirúrgicas para remover cápsulas isquêmicas, praticar desligamento e revitalizar as bordas e o fundo da lesão. A base da amputação tornou-se isquêmica, com bordas cianóticas e atônicas após 5 dias da intervenção. Inicia-se o tratamento das infiltrações esperando-se a epitelização espontânea da lesão. A partir da quarta seção observou-se uma modificação substancial do aspecto da lesão, começando a prevalecer um tecido de granulação produtivo, sangrante, e que poucos dias antes fora coberto por epitélio. Recebeu um total de 9 sessões de infiltração (três semanais e, portanto, três semanas de tratamento). Ao término do tratamento de epidermização total o paciente recebeu alta hospitalar. Evoluiu satisfatoriamente sem recaídas.

Exemplo 2. Paciente ERC, com 66 anos de idade, sexo feminino. Paciente com diabetes de tipo II há 12 anos, apresentando um pé diabético isquêmico infeccioso e déficit de pulsos distais. Realiza-se uma amputação menor transmetatarsiana com cunha voltada para baixo. A base da amputação evoluiu até a atonia, cianose de bordas, esfacelamentos e com sinais de isquemia de forma abrupta. Inicia-se o tratamento com as infiltrações esperando-se obter tecido de granulação e cicatrização espontânea por segunda intenção. Ao se completar 11 seções de infiltração, havia-se conseguido a cicatrização total da lesão e a epitelização, compreendendo uma cunha lateral inferior com cerca de 4 centímetros (cm) de profundidade. Neste paciente observa-se adicionalmente, pela primeira vez, remodelação do tecido de granulação.

Exemplo 3. Paciente ECS, com 63 anos de idade, sexo feminino, com diabetes mellitus de tipo II desde os 41 anos. Portadora de um pé isquêmico infeccioso e com amputação infracondiliar contralateral. Ingressa para receber amputação do primeiro dedo por isquemia grave. Logo após a operação implanta-se uma cápsula isquêmica na zona cirúrgica e a base do dedo contíguo. A lesão torna-se atônica e detém o progresso da

cicatrização. Desarticulam-se os dedos e abre-se uma cunha latero-inferior que se transformou em um túnel de aproximadamente 6 cm. de comprimento. No terceiro dia, a lesão tornou-se novamente isquêmica e com evidências de necrose de algumas zonas das bordas. Inicia-se um tratamento com as infiltrações com a expectativa de cicatrização por segunda intenção. Ao se concluir 11 seções, a lesão havia cicatrizado totalmente, coberta com um epitélio bem queratinizado; dando-se alta hospitalar. Observou-se remodelação da lesão.

Exemplo 4. Paciente RNP, com 69 anos, sexo masculino. Paciente diabético por 12 anos, com déficit de pulsos distais, portador de um pé diabético isquêmico infeccioso, que foi submetido a amputação transmetatarsiana por lesões ulcerativas rebeldes a tratamento medicamentoso. A zona cirúrgica começou a iniciar com placas isquêmicas, detendo-se o processo de cicatrização, manifestando dor espontânea, cianose e pouco sangramento durante as manipulações. Realizou-se eliminação cirúrgica das placas isquêmicas. O tecido conservava-se de cicatrização rebelde e, no quarto dia após a cirurgia, iniciou-se o tratamento com as infiltrações. As evidências de melhora começaram na sexta seção de infiltração, desaparecendo a dor e começando os brotamentos de tecido de granulação desde o fundo da zona cruenta. Transcorridas 12 seções de infiltração, o paciente havia epitelizado completamente; ou seja, após 4 semanas de tratamento. Recebeu alta hospitalar. Evoluiu satisfatoriamente sem recidivas durante três meses.

Exemplo 5. Paciente ISV, com 74 anos, sexo feminino. Diabética há 30 anos. Acometida de um pé diabético isquêmico infeccioso. Amputação transmetatarsiana contralateral. História de déficit no processo de cicatrização. Ingressa por manter uma lesão necrótica do quinto dedo. Amputa-se e aparecem placas isquêmicas que são removidas cirurgicamente. Finalmente, deixa-se com uma cunha da borda infero-externa do pé, com

periósteo exposto. 48 horas após a cunha apresentou sinais de isquemia. Decide-se iniciar tratamento com as infiltrações esperando preencher a lesão, compreendida a cunha com tecido de granulação; ou seja, uma cicatrização espontânea por segunda intenção. Ao se concluir a sexta infiltração já era possível apreciar o brotamento de tecido de granulação útil e sangrante. A lesão respondeu favoravelmente ao tratamento, tornando-se epitelizada após 11 seções. Evoluiu satisfatoriamente logo após a alta hospitalar.

Exemplo 6. Paciente RDR, com 44 anos de idade, sexo masculino. Diabético há 12 anos. Portador de um pé diabético isquêmico infeccioso que por lesões isquêmicas dos dedos recebe amputação transmetatarsiana. Carente de pulsos distais, e evidências clínicas de insuficiência de perfusão periférica. História de falência do processo de cicatrização na região tibial contralateral. Logo, após praticada a amputação aparecem focos cianóticos nas bordas cutâneas. Inicia-se a infiltração com a expectativa de se criar tecido de granulação para sustentar um auto-enxerto ou para remodelar e cicatrizar por segunda intenção. Na quarta infiltração aparecem primeiras evidências de resposta pela presença de tecido de granulação e reanimação das bordas cutâneas, que se apresentaram hipertróficas e normocrômicas. Com a realização de 15 seções de infiltração (5 semanas) não foi necessário realizar auto-enxerto. Logo após a alta hospitalar evoluiu satisfatoriamente.

Exemplo 7. Paciente RGR. Sexo feminino, com 49 anos de idade. Paciente diabética há cerca de 10 anos, com história de claudicação dolorosa a 100 metros, e déficit de cicatrização. Iniciou com várias úlceras na região para-tibial de ambos os membros, que se mostraram rebeldes a tratamento. A lesão que se decide tratar é uma úlcera isquêmica no terço inferior da perna esquerda, em sua face lateral externa, de aproximadamente 6,4 centímetros de diâmetro e 5 milímetros de profundidade, com uma evolução de dois meses sem resposta. Inicialmente realizou-se uma

reanimação de bordas e fundo, iniciando-se o tratamento com as infiltrações no dia seguinte. A lesão começou a mostrar fundo granulado na terceira infiltração, progrediu com contração das bordas e proliferação de um epitélio simples que logo se estratificou e quaternizou. Realizou-se um total de 12 seções de infiltração (4 semanas de tratamento). Logo após a alta hospitalar evoluiu satisfatoriamente.

Exemplo 8. Paciente GPJ. 57 anos de idade. Diabético há 12. Portador de um pé isquêmico infeccioso, e carente de pulso tibial posterior. Realiza-se uma amputação transmetatarsiana por isquemia e necrose de quatro dedos e da extremidade direita. Sete dias após a amputação detém-se o processo de cicatrização na base cirúrgica, zonas das bordas cutâneas apresentam-se cianóticas e desvitalizadas. Experimenta-se o tratamento infiltrativo antes de prosseguir com intervenções cirúrgicas. Logo após 9 seções (3 semanas) o paciente havia epitelizado completamente. Após à alta hospitalar evoluiu sem complicações.

Exemplo 9. Paciente DLF. 51 anos de idade, masculino. Diabético de tipo II há cerca de 20 anos e asmático. É recebido com um mal perfurante plantar sem maior opção que não a amputação pelo grau severo de comprometimento isquêmico e necrótico local. Existia perda quase total da planta do pé esquerdo. A zona do calcanhar culmina com periósteo exposto. É tratado com as infiltrações como alternativa de pré-amputação. A única possibilidade esperada consistia da presença de um tecido de granulação suficientemente estabelecido e vascularizado para suportar um auto-enxerto. Realizou-se 15 seções de infiltração em toda a zona incluindo-se o calcanhar. A partir da quinta administração começou-se a formar o brotamento de tecido. Concluídas as 15 seções de infiltrações (5 semanas) foi possível efetuar o auto-enxerto. O paciente evoluiu satisfatoriamente, apoiando-se e caminhando.

Tabela 1. Composição de princípios ativos administrada a cada paciente

Paciente	Composição
ACDF	EGF (50 microgramas/ml) + RUTINA (50 miligramas/ml)
ERC	EGF (125 microgramas por mililitro de tampão de sódio, pH 6,5, contendo 20 miligramas de O-Rafinose e 10 miligramas de Glicina por mililitro de tamponador)
ECS	EGF (125 microgramas/ml) + LIDOCAINA (10 miligramas/ml)
RNP	EGF (10 microgramas/ml) + ATP (2,5 miligramas/ml)
ISV	EGF (100 microgramas/ml) + GTP (5 miligramas/ml)
RDR	EGF (30 microgramas/ml) + NAD (25 miligramas/ml)
RGR	EGF (25 microgramas/ml) + L-ARGININA (10 nanogramas/ml)
GPJ	EGF (100 microgramas/ml) + HEPARINA (0,75 U/ml)
DLF	EGF (100 microgramas/ml de tampão de sódio pH 6,5, contendo 10 miligramas de O-Rafinose, 100 microgramas de fibronectina e 15 miligramas de Glicina)

REIVINDICAÇÕES

1. Uso do Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) humano, caracterizado pelo fato de que é para preparar uma composição farmacêutica injetável para o tratamento de uma lesão isquêmica ou de uma lesão de reperfusão em um paciente diabético, em que a dita composição farmacêutica contendo EGF contém EGF de 10 a 1000 microgramas de EGF por mililitro em combinação com pelo menos um membro do grupo consistindo em fibronectina (10-20 microgramas/ mL), tampão fosfato de sódio (5-100 mM), O-rafinose (5-50 mg/ mL), levana (1-20 mg/mL), rutina (20-1000 microgramas/ mL), lidocaína (5-40 mg/mL), trifosfato de adenosina (0,05 a 20 mg/ mL), ou um sal do mesmo, trifosfato de guanosina (1 a 100 mg/mL) ou um sal do mesmo, nicotinamida (1 a 130 mg/mL), L-arginina (1-100 ng/mL) e um sal de heparina (1 a 10 microgramas/ mL).

2. Composição farmacêutica injetável para o tratamento de uma lesão isquêmica ou uma lesão de reperfusão em um paciente diabético, caracterizada pelo fato de que é uma composição líquida ou liofilizada que contém de 10 a 1000 microgramas de EGF por mililitro em combinação com pelo menos um membro do grupo constituído por fibronectina (10-20 microgramas/ mL), tampão fosfato de sódio (5-100 mM), O-rafinose (5-50 mg/ mL), levana (1-20 mg/mL), rutina (20-1000 microgramas/ mL), lidocaína (5-40 mg/mL), trifosfato de adenosina (0,05 a 20 mg/ mL), ou um sal do mesmo, trifosfato de guanosina (1 a 100 mg/mL) ou um sal do mesmo, nicotinamida (1 a 130 mg/mL), L-arginina (1-100 ng/mL) e um sal de heparina (1 a 10 microgramas/ mL).