

PCT ORGANIZACION MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL
Oficina Internacional
SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACION
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)



<p>(51) Clasificación Internacional de Patentes ⁷ : A61F 2/28, A61K 38/18</p>	A1	<p>(11) Número de publicación internacional: WO 00/44314</p> <p>(43) Fecha de publicación internacional: 3 de Agosto de 2000 (03.08.00)</p>
<p>(21) Solicitud internacional: PCT/ES00/00029</p> <p>(22) Fecha de la presentación internacional: 25 de Enero de 2000 (25.01.00)</p> <p>(30) Datos relativos a la prioridad: P 9900148 26 de Enero de 1999 (26.01.99) ES</p> <p>(71)(72) Solicitante e inventor: ANITUA ALDECOA, Eduardo [ES/ES]; San Antonio, 15, E-01005 Vitoria (ES).</p> <p>(74) Mandatario: TRIGO PECES, José Ramón; Gran Vía, 40, E-28013 Madrid (ES).</p>	<p>(81) Estados designados: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publicada <i>Con informe de búsqueda internacional.</i></p>	
<p>(54) Title: BONE TISSUE REGENERATING COMPOSITION</p> <p>(54) Título: REGENERADOR DE TEJIDO OSEO</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a composition for regenerating bone tissue and a method for preparing said composition, which is used chiefly but not exclusively in oral surgery and consists of a gel rich in plasma growth factors (PRGF gel) obtained from the blood of the patient. With the aid of said gel, quicker and more effective bone regeneration of the cavities to be treated is obtained in comparison with known materials and techniques.</p> <p>(57) Resumen</p> <p>Un conjunto para la regeneración del tejido óseo y método de preparación a utilizar principal pero no exclusivamente en la técnica de la cirugía bucal. El conjunto se trata de un gel de plasma rico en factores de crecimiento P.R.G.F., obtenido a partir de la sangre del propio paciente, con cuyo concurso se consigue una regeneración ósea de las cavidades a tratar, más rápida y efectiva que con los materiales y técnicas conocidas.</p>		

UNICAMENTE PARA INFORMACION

Códigos utilizados para identificar a los Estados parte en el PCT en las páginas de portada de los folletos en los cuales se publican las solicitudes internacionales en el marco del PCT.

AL	Albania	ES	España	LS	Lesotho	SI	Eslovenia
AM	Armenia	FI	Finlandia	LT	Lituania	SK	Eslovaquia
AT	Austria	FR	Francia	LU	Luxemburgo	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabón	LV	Letonia	SZ	Swazilandia
AZ	Azerbaiyán	GB	Reino Unido	MC	Mónaco	TD	Chad
BA	Bosnia y Herzegovina	GE	Georgia	MD	República de Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tayikistán
BE	Bélgica	GN	Guinea	MK	Ex República Yugoslava de Macedonia	TM	Turkmenistán
BF	Burkina Faso	GR	Grecia	ML	Malí	TR	Turquía
BG	Bulgaria	HU	Hungría	MN	Mongolia	TT	Trinidad y Tabago
BJ	Benin	IE	Irlanda	MR	Mauritania	UA	Ucrania
BR	Brasil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarús	IS	Islandia	MX	México	US	Estados Unidos de América
CA	Canadá	IT	Italia	NE	Níger	UZ	Uzbekistán
CF	República Centroafricana	JP	Japón	NL	Países Bajos	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Noruega	YU	Yugoslavia
CH	Suiza	KG	Kirguistán	NZ	Nueva Zelandia	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	República Popular Democrática de Corea	PL	Polonia		
CM	Camerún	KR	República de Corea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakstán	RO	Rumania		
CU	Cuba	LC	Santa Lucía	RU	Federación de Rusia		
CZ	República Checa	LI	Liechtenstein	SD	Sudán		
DE	Alemania	LK	Sri Lanka	SE	Suecia		
DK	Dinamarca	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estonia						

-1-

Regenerador de tejido óseo

La invención se refiere a la regeneración de tejido óseo dentro de la técnica quirúrgica en general, y más particularmente en la técnica de la cirugía bucal, en la que se efectúa el llenado de una cavidad ósea con un material de injerto que estimule y acelere la citada regeneración.

Hasta el momento presente, se han utilizado diversos materiales de injerto, la naturaleza de los cuales determina la forma y el modo en que la regeneración ósea se lleva a cabo.

Así, diversos autores han publicado estudios e informes acerca del uso de distintos materiales y/o compuestos para este fin.

Yarnazaki Y, Oida S, Akimoto Y, Shioda S en Clin Orthop Related Res 1988; 234; 240-9, se refieren al uso de una proteína morfogenética a partir de hueso para la citada regeneración, asociada en una composición con yeso de Paris (sulfato cálcico).

Tanto el hueso autólogo como el hueso desmineralizado "DFDBA" han sido tradicionalmente aplicados en esta técnica, sólo ó combinados con otros elementos, de manera que han constituido injertos de relleno de cavidades óseas.

Asimismo, el tal material de relleno ha sido también protegido con materiales de barrera diversos a fin de evitar el avance de tejidos adyacentes sobre el dicho material de relleno

35

-2-

Como materiales de barrera para el citado material de relleno se han utilizado varios, destacando de entre ellos el más popular, el politetrafluoroetileno en membranas, a pesar sin embargo de generar problemas derivados del hecho de que no es biodegradable y puede ocasionar infecciones en ciertos casos. Además de ello, al ser utilizado en forma sólida, debe ser trabajado durante el tratamiento y posteriormente suturado en su posición idónea.

10

Por la US.A. 5.366.507 se conoce una composición, la que combinna un material de relleno a base de una mezcla de hueso desmineralizado y sulfato de calcio y un material de barrera consistente en sulfato de calcio. Esta composición no mejora en gran medida las técnicas anteriores.

15

Es sabido por numerosos estudios que los factores de crecimiento contenidos en la sangre favorecen la formación de hueso, particularmente los factores de crecimiento P.D.G.F. y T.G.F.β

20

Sin embargo, no se conoce la obtención ó concentración de estos factores ricos de manera ambulatoria ni el efecto de los mismos en forma que pueda medirse u observarse clínicamente.

25

Es un objeto de la invención, la utilización de un gel de plasma rico en factores de crecimiento P.R.G.F. como material de injerto para el relleno y regeneración del hueso en cavidades ó defectos óseos ó para la regeneración.

30

Es otro objeto de la invención el método de obtención y preparación del plasma rico de manera

35

-3-

ambulatoria.

Es un objeto de la invención un método y una composición para la regeneración de tejido óseo que proporciona una mayor velocidad en la dicha regeneración y que es rápido en su implantación en el paciente.

Es otro objeto de la invención la configuración de una unidad ó kit para la preparación del gel de plasma rico en P.R.G.F.

Ventajosamente, el uso del gel de plasma rico en factores de crecimiento P.R.G.F. para la regeneración del tejido óseo, proporciona una aceleración y favorecimiento de la dicha regeneración ósea que es mayor que con la aplicación de las técnicas en uso en la actualidad, así como una cicatrización más rápida y predecible de los tejidos blandos, tal y como se apreciará más adelante al considerar los resultados obtenidos.

Para la preparación del citado gel, según la invención, se procede en primera instancia a la extracción de sangre de los propios pacientes, minutos antes del inicio de la cirugía y previamente a la administración de la anestesia. De 10 a 40 ml. fueron extraídos de cada paciente, utilizando tubos de 5 ml. en los que se había colocado un 10% de citrato trisódico como anticoagulante.

Se centrifugaron los tubos a velocidades entre 160 y 800 G, según diferentes protocolos que pueden aplicarse, durante unos 6 minutos ó menos, dependiendo de la velocidad, a temperatura ambiente, separándose la sangre en tres componentes básicos ó constituyentes, a saber:

- Glóbulos rojos en el fondo del tubo.

-4-

- Plasma rico en factores de crecimiento P.R.G.F. en el centro del tubo, encima de la fracción roja.

5 - Plasma pobre en factores de crecimiento P.P.G.F. en la parte superior del tubo.

10 Una porción, 1ml. de la fase superior P.P.G.F. de cada tubo de 5 ml. fue desechada. Las plaquetas presentes en dicha P.P.G.F. eran menos del 15%, tal y como se midió por conteo n=10.

15 Se tomó el plasma rico de la zona central de los tubos y se transfirió a tubos Eppendorf, añadiendo 50µl de cloruro cálcico al 10% a cada tubo que contenía 1,2 ml. del citado P.R.G.F., de manera que manteniendo este plasma así, al cabo de un lapso de tiempo de 15 a 25 minutos se formó el gel de P.R.G.F. Este plasma también se puede mezclar con trombina humana, 500 unidades, mas cloruro cálcico y de esa forma obtener el gel de forma instantánea (de 3 a 10 seg.) e incluso poderlo aplicar con una
20 jeringa.

25 El gel se utilizó, sólo, para el relleno de cavidades óseas a regenerar con unos resultados óptimos, ó con la ayuda de un material convencional de barrera de cobertura exterior, tal y como se comentará más adelante.

30 El gel puede combinarse con otros componentes, tales como sulfato de calcio, hueso autólogo, hidroximplante reabsorbible, fosfato tricálcico, carbonato cálcico u otros materiales regenerativos, osteoinductivos u osteoconductoras.

35 Para la realización del gel de plasma rico en P.R.G.F., la unidad de preparación ó kit, contendrá una

-5-

centrifugadora, pipetas para la separación de las fracciones del plasma y un sistema de extracción de sangre.

La selección de pacientes se basó en la ausencia
5 de enfermedades locales ó sistemáticas que pudieran contraindicar el tratamiento. Se obtuvo el consentimiento informando de todos los pacientes que entraron en el estudio. Éstos fueron 20 pacientes en los que estaba indicada una extracción por una fractura vertical ó enfermedad periodontal avanzada y a los que se les colocaron implantes
10 de tal forma que una biopsia del área se pudiera obtener sin crear un malestar adicional. Estos pacientes fueron asignados aleatoriamente al grupo de tratamiento con P.R.G.F. o al grupo de control. La edad media del grupo
15 del P.R.G.F. era 41 años (35 a 55 años), 4 pacientes eran varones y 6 mujeres. La edad media en el grupo de control era de 42 años (38 a 54 años) de los cuales 4 fueron varones y 6 mujeres.

20 En tres pacientes adicionales (2 hombres y una mujer) se planificaron extracciones múltiples en diferentes áreas orales. En cada paciente se utilizó P.R.G.F. en un área pero no en otra, asignándose estas áreas aleatoriamente. De esta forma fue posible tener el mejor grupo
25 control ya que ambos tratamientos se llevaron a cabo en el mismo paciente, con el mismo procedimiento quirúrgico, idénticas condiciones microbiológicas y por el mismo cirujano.

30 Cada paciente recibió un tratamiento antibiótico. Se utilizó amoxicilina (1,5 g/día). Se levantaron colgajos de desplazamiento en todos los casos para permitir una adecuada visibilidad y obtener un cierre por primera
35 intención

-6-

Cada área post-extracción fue cuidadosamente legrado. En los diez pacientes del tratamiento experimental se rellenaron los defectos con P.R.G.F. En 5 de los casos, el plasma se mezcló con hueso autólogo para prevenir el colapso del colgajo. Para los sitios de control el protocolo fue igual pero sin rellenar con P.R.G.F. No se utilizaron membranas en ningún caso para evitar que su efecto barrera interfiriera con los posibles efectos beneficiosos del P.R.G.F.

10

Técnica de la biopsia:

Las heridas se biopsiaron entre las semanas 10 y 16 dependiendo de la disponibilidad del paciente. Todas se tomaron por un examinador que no conocía el tratamiento que había recibido cada sitio. Las biopsias se tomaron con fresas trefinas huecas hasta una profundidad de 3 mm a través del centro de la herida. Las biopsias de hueso se fijaron con formalina tamponada al 10% en ácido fórmico al 5% durante 48 horas y se incluyeron en cera de parafina. Se obtuvieron secciones de un espesor de 5 micras de cada biopsia y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Las secciones teñidas se fotografiaron bajo campo de luz brillante. Todas las biopsias fueron enviadas a un laboratorio para análisis, sin especificar cual era el grupo control y cual el de trabajo.

20

25

RESULTADOS

La epitelización en todos los 10 pacientes tratados con P.R.G.F. fue evaluada como muy buena o excelente, (mucho mejor de lo habitual y comparativamente mejor que la zona de control). La regeneración de las áreas tratadas fue prácticamente completa en 8 de los 10 casos. El grado de regeneración fue evaluado con una sonda perio-

30

35

-7-

dontal y por comparación con los defectos previos que habían sido fotografiados. Las biopsias de estas áreas mostró hueso compacto maduro con trabéculas bien organizadas y morfología normal.

5

Los otros dos casos tratados con P.R.G.F. mostraron una regeneración parcial, presentando tejido conectivo con trabéculas mal organizadas en las biopsias. Ambos pacientes, un hombre y una mujer, eran fumadores y presentaban grandes defectos de tres paredes del alvéolo.

Hubo diferencias significativas en el grado de organización de las trabéculas entre las biopsias tomadas en la semana 10 y aquéllas tomadas en la semana 16 y también dependiendo del tamaño y la forma del defecto. En pacientes con grandes defectos tratados con injertos autólogos combinados con P.R.G.F. para evitar el colapso del colgajo se obtuvieron mayores anchuras vestibulo-linguales.

20

En todos los pacientes del grupo de control se encontró una situación homogénea a la reapertura. Todos ellos mostraron tejido conectivo rellenando la mayor parte del defecto, en claro contraste con los casos tratados con P.R.G.F. Todas las biopsias de estos pacientes mostraron tejido conectivo y tejido conectivo conteniendo trabéculas óseas. No se encontró hueso maduro en ningún caso. El rango de epitelización fue considerado como normal, presentando diferencias significativas con los casos tratados con P.R.G.F.

25
30

En los pacientes con defectos en ambas hemiarcadas, uno tratado con P.R.G.F. y el otro de forma convencional, la epitelización de los defectos tratados con P.R.G.F. fue mucho más rápida. Las biopsias mostraron un hueso más

35

maduro con trabéculas mejor organizadas y mayor regeneración ósea en los defectos tratados con P.R.G.F.

5 El uso del P.R.G.F. proporciona las condiciones para obtener una regeneración ósea más rápida y efectiva. Este gel P.R.G.F. es de fácil manejo pero debe emplearse sin demora para conservar la actividad de los factores de crecimiento.

10 Aunque las dosificaciones óptimas están por determinar, la utilización de esta técnica no introduce ningún riesgo para el paciente, cuya sangre es utilizada en un corto período de tiempo tras la extracción (30 minutos a 8 horas) y no es mezclada con ningún otro componente de
15 origen humano o animal. Actualmente alrededor de 250 pacientes han sido tratados con buenos resultados clínicos.

Se ha observado en la práctica que el sulfato cálcico tiene a veces una relativamente escasa consistencia
20 cuando es preparado para su aplicación con líquidos estériles biocompatibles, tales como agua, soluciones salinas y soluciones anestésicas locales, lo que podría ser un inconveniente para su manipulación durante el tratamiento ya que tiene tendencia a disgregarse y es muy soluble.
25

Además de ello, se diluye rápidamente en la sangre con lo cual su eficacia en la regeneración del tejido óseo es susceptible de ser mejorable.

30 Fruto de las experiencias realizadas en laboratorio, se ha advertido que la utilización puede presentar en sí misma ventajas importantes.

En primer lugar, el fosfato tricálcico incluye en
35 sí mismo una mayor cantidad de calcio.

-9-

En segundo lugar, el comportamiento del fosfato tricálcico (masilla, solución sobresaturada), hueso autólogo mezclado con P.R.G.F. (plasma rico en factores de crecimiento), P.R.P. (plasma rico en plaquetas), hueso
5 autólogo P.R.G.F. más fosfato tricálcico, durante el tratamiento en su estado diluído es más homogéneo puesto que presenta una adecuada plasticidad que lo hace más manejable.

10 En tercer lugar, la dilución en sangre del fosfato tricálcico es más limitada, menor, que la del sulfato cálcico, la que genera su mayor aprovechamiento y su mejor efecto barrera.

15 Tal y como se señalaba con anterioridad, el material para relleno de la cavidad ósea puede ser fundamentalmente fosfato tricálcico mezclado con gel de plasma rico en factores de crecimiento u otras combinaciones, entretanto que el material utilizado como barrera es fosfato tricálcico.

20 Dentro asimismo de la invención, se han probado otras combinaciones para el material de relleno, en combinación con el fosfato tricálcico, tales como:

- 25
- Plasma rico en plaquetas
 - Hueso autólogo
 - Hueso liofilizado
 - Mezclas de los antedichos

30 De ésta forma, la combinación que se propone con la presente invención hace que las operaciones de trabajo para la regeneración del tejido óseo sean más cómodas y fáciles de realizarse y, lo que es más importante, la regeneración se lleva a cabo con mayor rapidez que con los
35 métodos y preparaciones conocidas hasta el momento.

REIVINDICACIONES

1ª.- Compuesto para la regeneración del tejido óseo y método de preparación, aplicable en la técnica de cirugía bucal, entre otras, en la que se efectúa un llenado en la cavidad a regenerar con un material de injerto a base de una mezcla de hueso autólogo u otros materiales de relleno, disponiendo o no sobre éste relleno un material de barrera, que se caracteriza en que el compuesto básico utilizado como material de relleno es un gel de plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.) obtenido directamente de la sangre del propio paciente, en que este gel puede ocupar, al menos parcialmente, la cavidad de regenerar.

15

2ª.- Compuesto para la regeneración del tejido óseo y método de preparación, según la 1ª reivindicación, caracterizado en que el gel de plasma ocupa, sólo, la totalidad de la cavidad.

20

3ª.- Compuesto para la regeneración del tejido óseo y método de preparación, según la 1ª reivindicación, caracterizado en que el gel de plasma se mezcla con hueso autólogo, sólo, o mezclado a su vez con sulfato cálcico.

25

4ª.- Compuesto para la regeneración del tejido óseo y método de preparación, según la 1ª reivindicación, caracterizado en que el gel de plasma se mezcla con otros materiales regenerativos, osteoconductivos u osteoinductivos, sulfato cálcico, carbonato cálcico, fosfato tricálcico, hidroximplante reabsorbible ... etc.

30

5ª.- Método de preparación del compuesto, caracterizado en que se siguen los siguientes pasos,

35

-11-

- extraer sangre del paciente momentos antes del inicio de la cirugía y previamente a la administración de la anestesia,

5 - la sangre se extrae en tubos citratados al 10% con citrato trisódico,

10 - centrifugar los tubos entre 160 y 800 G durante 6 a 7 minutos y a temperatura ambiente, para la separación de la sangre en los constituyentes siguientes, glóbulos rojos en el fondo, plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.) en la mitad y plasma pobre en factores de crecimiento (P.P.G.F.) en la parte superior,

15 - recoger el plasma rico (P.R.G.F.) y transferirlo a tubos Eppendorf ó probetas de cristal, añadiendo cloruro cálcico al 10% y esperando un tiempo para la formación del gel.

20 6ª.- Método de preparación del compuesto, según la 4ª reivindicación, caracterizado en que, la recogida del producto ya centrifugado puede incluir la parte más superior de los glóbulos rojos.

25 7ª.- Método de preparación, según la 1ª y 4ª reivindicaciones, caracterizado en que la extracción de sangre lo es en una cantidad de 10 a 50 ml., utilizando tubos de 5 a 10 ml. para la centrifugación durante 6 a 8 min. en que en los tubos Eppendorf se alojará 1 ml. de (P.R.G.F.), y una vez añadido el cloruro cálcico, el gel es formado entre 2 a 20 minutos.

30 8ª.- Método de preparación, según la 4ª reivindicación, caracterizado en que juntamente con el cloruro cálcico se adiciona trombina humana.

35 9ª.- Unidad de preparación, según la 1ª y 4ª reivindicaciones, caracterizado en que se constituye una

-12-

unidad de preparación del compuesto conteniendo una cen-
trifugadora, pipetas para la separación de las fracciones
del plasma, y un sistema para extracción de sangre, así
como probetas, tubos Eppendorf, puntas para las pipetas y
5 un bloque calefactor de 37 grados.

10^a.- Método para la regeneración de tejido óseo, a
base de un material de injerto que se aloja en la cavidad
ósea a regenerar y otro material de barrera dispuesto por
10 encima del anterior que se caracteriza por:

- rellenar la cavidad ósea con un material de injer-
to comprendiendo una mezcla de gel de plasma rico en fac-
tores de crecimiento y fosfato tricálcico de diferentes
15 granulometrías,

- disponer una barrera sobre al menos una porción
del material de injerto, siendo el material de barrera
fosfato tricálcico, mezclado con P.R.G.F., con factores
obtenidos del P.R.G.F., con hueso fisiológico.
20

11^a.- Método para la regeneración de tejido óseo,
según la 10^a reivindicación, caracterizado en que el ma-
terial del injerto es una mezcla de plasma rico en pla-
quetas y fosfato tricálcico.
25

12^a.- Método para la regeneración de tejido óseo,
según la 10^a reivindicación, caracterizado en que el ma-
terial de injerto es una mezcla de hueso autólogo y fos-
fato tricálcico, con ó sin P.R.G.F.
30

13^a.- Método para la regeneración de tejido óseo,
según la 10^a reivindicación, caracterizado en que el ma-
terial de injerto es una mezcla de hueso liofilizado y
fosfato tricálcico.
35

-13-

14^a.- Método para la regeneración de tejido óseo según las 10^a, 11^a, 12^a y 13^a reivindicaciones, caracterizado en que el material de injerto está compuesto de fosfato tricálcico y una mezcla del resto de los componentes.

10

15

20

25

30

35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES00/00029

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER ⁶:

IPC7: A61F 2/28, A61K 38/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: A61F, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, PAJ, WPIL, MEDLINE, EMBASE, CA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MARX R.E. et al. "Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts". ORAL SURGERY, ORAL MEDICINE, ORAL PATHOLOGY, ORAL RADIOLOGY AND ENDODONTICS. Vol. 85, n° 6, June 1998 (06.98), pages 638-46, the whole document	1-14
X Y	US 5691305 A (BAYLINK et al.), 25 November 1997 (25.11.97), the whole document	1,4 3
X Y	US 5464440 A (JOHANSSON), 7 November 95 (07.11.95), column2, lines 24-33	1,4 3
Y	US 5569308 A (SOTTOSANTI), 29 October 1996 (29.10.96), the abstract	3
A	NARAYANAN, AS et al. "Cementun specific components which influence periodontal connective tissue cells". CONNECTIVE TISSUE RESEARCH. Vol 33, n°s 1-2, 1995, pages 19-21, the whole document	1-4

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 30 March 2000 (30.03.00)	Date of mailing of the international search report 26 April 2000 (26.04.00)
Name and mailing address of the ISA/ Facsimile No. S.P.T.O.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES00/00029

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 1. Claims 5-8, 10-14 relate to a subject matter which this Administration is not required to search, as follows: Although the claims relate to a method for direct treatment on the human body, the search was carried out and was based on the effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
 2. Claim Nr. 2 relates to elements of the international application which do not meet the established requirements in such a way that a meaningful search could not be carried out, concretely PCT Rule 6.3.
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT /ES00/00029

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5691305 A	25.11.1997	WO 9305823 A1 EP 557498 A DE 4130546 A AU 2553992 A JP 6503358 TT	01.04.1993 01.09.1993 18.03.1993 27.04.1993 14.04.1994
US 5464440 A	07.11.1995	DE 69230645D D AT 189401T T WO 9313815 A SE 9200072 A SE 469653 B EP 623031 A AU 3269993 A JP 7506732T T	09.03.2000 15.02.2000 22.07.1993 14.07.1993 16.08.1993 09.11.1994 03.08.1993 27.07.1995
US 5569308 A	29.10.1996	US 5366507 A	22.11.1994

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°
PCT/ ES 00/00029

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD CIP ⁷ A61F 2/28, A61K 38/18 De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.		
B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA Documentación mínima consultada (sistema de clasificación, seguido de los símbolos de clasificación) CIP ⁷ A61F, A61K Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda		
Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados) CIBEPAT, EPODOC, PAJ, WPIL, MEDLINE, EMBASE, CA, BIOSIS		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
X	MARX R.E. et al. "Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts". ORAL SURGERY, ORAL MEDICINE, ORAL PATHOLOGY, ORAL RADIOLOGY AND ENDODONTICS. Vol. 85, n° 6, Junio 1998, páginas 638-46, todo el documento	1-14
X Y	US 5691305 A (BAYLINK et al.), 25.11.1997, todo el documento	1,4 3
X Y	US 5464440 A (JOHANSSON), 07.11.1995, column 2, líneas 24-33	1,4 3
Y	US 5569308 A (SOTTOSANTI), 29.10.1996, resumen	3
A	NARAYANAN, AS et al. "Cementun specific components which influence periodontal connective tissue cells". CONNECTIVE TISSUE RESEARCH. Vol 33, n°s 1-2, 1995, páginas 19-21, todo el documento	1-4
<input type="checkbox"/> En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos <input checked="" type="checkbox"/> Los documentos de familia de patentes se indican en el anexo		
* Categorías especiales de documentos citados: "A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. "E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. "L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada). "O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio. "P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada. "T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención. "X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. "Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia. "&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.		
Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 30 marzo 2000 (30.03.2000)	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional 26 ABR 2000 12 6. 04. 00	
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M. C/Panamá 1, 28071 Madrid, España. n° de fax +34 91 3495304	Funcionario autorizado M. NOVOA SANJURJO n° de teléfono + 34 1 3495552	

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES 00/00029

Recuadro I Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (Continuación del punto 1 de la primera hoja)

De conformidad con el artículo 17.2.a), algunas reivindicaciones no han podido ser objeto de búsqueda por los siguientes motivos:

1. Las reivindicaciones n°s:5-8, 10-14 se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber: aunque las reivindicaciones se refieren a un método de tratamiento aplicado directamente al cuerpo humano, la búsqueda se ha realizado en relación a los efectos del compuesto/composición.
2. Las reivindicaciones n°s:2 se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente: Regla 6.3 PCT
3. Las reivindicaciones n°s: son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4.a).

Recuadro II Observaciones cuando falta unidad de invención (Continuación del punto 2 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. Dado que todas las tasas adicionales han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.
2. Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda pueden serlo sin un esfuerzo particular que justifique una tasa adicional, esta Administración no ha invitado al pago de ninguna tasa de esta naturaleza.
3. Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones n°s
4. Ninguna de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones n°s:

Indicación en cuanto a la reserva Las tasas adicionales han sido acompañadas de una reserva por parte del solicitante.
 El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna reserva.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
 Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES 00/00029

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
US 5691305 A	25.11.1997	WO 9305823 A1 EP 557498 A DE 4130546 A AU 2553992 A JP 6503358 TT	01.04.1993 01.09.1993 18.03.1993 27.04.1993 14.04.1994
US 5464440 A	07.11.1995	DE 69230645D D AT 189401T T WO 9313815 A SE 9200072 A SE 469653 B EP 623031 A AU 3269993 A JP 7506732T T	09.03.2000 15.02.2000 22.07.1993 14.07.1993 16.08.1993 09.11.1994 03.08.1993 27.07.1995
US 5569308 A	29.10.1996	US 5366507 A	22.11.1994