

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 881**

51 Int. Cl.:

A61K 38/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2003 E 03760661 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 1517988**

54 Título: **Uso de eritropoyetina para la regeneración de tejido in vivo**

30 Prioridad:

20.06.2002 DE 10227611
26.07.2002 DE 10234204

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.09.2013

73 Titular/es:

BADER, AUGUSTINUS (100.0%)
KRANKENHAUSSTRASSE 7
04668 PARTHENSTEIN / OT KLINGA, DE

72 Inventor/es:

BADER, AUGUSTINUS

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 422 881 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de eritropoyetina para la regeneración de tejido *in vivo*

5 La presente invención se refiere al uso de eritropoyetina (EPO) en forma aislada para la regeneración de tejidos, en particular la piel.

10 En la ontogenia, es decir, el desarrollo embrionario del individuo, se expresan factores de crecimiento que pueden desencadenar procesos estructurales fundamentales y numéricos con respecto al recuento celular. En el organismo en crecimiento, se pierde progresivamente la capacidad para reparaciones estructurales mediante regeneración, dado que ya no se expresan estos factores de crecimiento. Los factores de la médula ósea o de los órganos hematopoyéticos están acoplados en el tiempo a procesos de crecimiento de otros órganos durante procesos ontogenéticos específicos.

15 Una desventaja de factores de crecimiento conocidos, tales como por ejemplo "*Epidermal Growth Factor*" (factor de crecimiento epidérmico) (EGF), "*Vascular Endothelial Growth Factor*" (factor de crecimiento endotelial vascular) (VEGF) o "*Hepatocyte Growth Factor*" (factor de crecimiento de hepatocitos) (HGF), es que los procesos de multiplicación, en particular en el caso del uso de células primarias *in vitro*, están limitados y que el uso *in vivo* es problemático debido a posibles efectos secundarios, tales como por ejemplo la activación de oncogenes.

20 Por lo tanto, el conocimiento preciso de los factores y su administración controlada sería tanto un factor importante para poder multiplicar y diferenciar de manera correspondiente células, en particular en el campo de la ingeniería de tejidos, como para inducir procesos estructurales de la regeneración tridimensional (3-D).

25 En particular en el caso de la ingeniería de tejidos están en primer plano las especificaciones estructurales de este tipo, donde el crecimiento 3-D y su inicio no se entienden hasta el momento. Si bien los planteamientos convencionales, tales como cultivos de agregados logran una alta densidad, en cambio deben construirse con células expandidas previamente o aisladas a partir de tejidos primarios, por ejemplo, hepatocitos. Hasta el momento no era posible un proceso de crecimiento inductivo en una estructura determinada, preestablecida.

30 Hasta el momento no era posible un crecimiento de creación de forma a partir de algunas células precursoras en una estructura 3-D y un comportamiento inductivo para procesos adyacentes en el sentido de una regeneración de tejido *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, un comportamiento de crecimiento inductivo de células significa, precisamente para procesos terapéuticos o biotecnológicos, una innovación considerable. Un comportamiento de crecimiento de este tipo debería poder permitir, apoyado por una matriz de soporte 3D, un crecimiento no sólo en el sentido de una colonización o de una remodelación estructural, sino en realidad una formación dirigida de nuevo a partir de un núcleo de inducción. Procesos de este tipo se desarrollan en la ontogenia y se basan en una disposición previamente existente.

35 Únicamente se conoce que los factores de crecimiento, en particular en el caso de progenitores neuronales de origen fetal, tales como por ejemplo "*Leukemia Inhibitory Factor*" (factor inhibidor de leucemia) (LIF), "*Ciliary Neurotropic Factor*" (factor neurotrófico ciliar) (CNTF), "*Glial Derived Neurotrophic Factor*" (factor neurotrófico derivado de la línea celular glial) (GDNF) o "*Nerve Growth Factor*" (factor de crecimiento nervioso) (NGF), permiten una fase de proliferación de neuronas no diferenciadas. Sin embargo, tras conseguir una diferenciación estos factores ya no puede actuar. Buemi y col., J. Nephrol. 2002; 15: 97-103, describen que EPO desempeñaba un papel importante en la neovascularización y en la cicatrización.

40 Por lo tanto, es deseable crear un procedimiento de regeneración *in vivo*, que pueda mantener esencialmente el estado fisiológico de estos sistemas celulares y permita un crecimiento esencialmente estructural.

45 Se encontró ahora que el uso del factor de crecimiento eritropoyetina (EPO) inicia o termina y dirige estructuralmente la multiplicación y diferenciación de células en particular en la regeneración de tejidos *in vivo*, preferiblemente en el caso de la piel.

50 Sorprendentemente, con ello no sólo se provocó una multiplicación de las células, sino también una inducción de procesos estructurales, en particular cuando a través de un efecto inductivo en el caso de un implante en el sitio (*in situ*) por ejemplo a través de un denominado proceso de toma de referencia se provoca una multiplicación celular localmente específica y una diferenciación dirigida. Esto significa que las hormonas del crecimiento pueden desencadenar pero también terminar estos procesos estructurales.

55 Los factores de crecimiento se encuentran en general comercialmente disponibles, pero también pueden prepararse mediante ingeniería genética según métodos conocidos por el experto. No comprenden sólo los factores de crecimiento que se producen en la naturaleza, sino también derivados o variantes con esencialmente la misma actividad biológica.

60 EPO se designa también como forma embrionaria de TPO y se describe con sus variantes por ejemplo en los

documentos EP 0 148 605, EP 0 205 564, EP 0 209 539, EP 0 267 678 o EP 0 411 678.

En consecuencia, la expresión factor de crecimiento, de acuerdo con la presente invención, no se limita sólo a las formas que se producen en la naturaleza, sino que también comprende formas o variantes o derivados que no se producen en la naturaleza. La expresión factor de crecimiento de acuerdo con la presente invención no sólo comprende estimuladores del crecimiento, sino también inhibidores del crecimiento, tales como por ejemplo somatostatina, TGF beta y/o prostaglandinas. Los inhibidores del crecimiento de este tipo son adecuados en particular para la supresión o inhibición del crecimiento de células alteradas, tales como por ejemplo células tumorales, utilizándose los mismos localmente, de manera altamente concentrada, simultánea o secuencialmente por ejemplo también por medio de hidrogeles o materiales de liberación lenta.

El procedimiento de acuerdo con la invención puede utilizarse para la aplicación local *in vivo*, en la que se utilizan factores de crecimiento o bien solos o bien en combinación como mezcla o secuencialmente o en combinación con las estructuras de soporte o matrices biológicas mencionadas, por ejemplo para la regeneración de tejido, tal como por ejemplo la regeneración hepática, regeneración del músculo cardíaco o para la cicatrización de zonas de la piel, por ejemplo en el caso de úlceras diabéticas, o encías. Por ejemplo, pueden aplicarse en un hidrogel, por ejemplo fibrina y/o un polímero, tal como por ejemplo polilactida o poli-hidroxi-alcanoato, y/o un alginato, sobre la superficie de resección por ejemplo de un hígado para la regeneración hepática o en el caso de, por ejemplo, insuficiencia hepática aguda, pueden aplicarse de manera local o sistémica a través de un acceso con ayuda de un catéter.

En consecuencia, la presente invención se refiere también al uso de EPO para la preparación de un fármaco para el tratamiento de la regeneración de tejido, en particular piel, para apoyar el proceso de cicatrización, en particular en la zona de la piel, preferiblemente en el caso de úlceras diabéticas o encías y/o para mejorar la cicatrización y regeneración de tejido por ejemplo después de operaciones, para la activación de la neovascularización y regeneración y/o isquemias tras lesiones y traumatismos y/o regeneración de tejidos a continuación de una lesión tisular.

Como factor de crecimiento pueden usarse adicionalmente "*Transforming Growth Factor beta*" (factor de crecimiento transformante beta) (TGF beta), prostaglandinas, factor estimulante de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), "*Growth Hormone Releasing Hormone*" (hormona liberadora de hormona del crecimiento) (GHRH), "*Thyrotropin-releasing Hormone*" (hormona liberadora de tirotrópina) (TRH), "*Gonadotropin-releasing Hormone*" (hormona liberadora de gonadotropina) (GnRH), "*Corticotropin-releasing Hormone*" (hormona liberadora de corticotropina) (CRH), dopamina, "*Antidiuretic Hormone*" (hormona antidiurética) (ADH), oxitocina, prolactina, adrenocorticotropina, beta-Celltropin, lutotropina y/o vasopresina o adicionalmente uno o varios factores de regeneración nerviosa, preferiblemente "*Nerve Growth Factor*" (factor de crecimiento nervioso) (NGF) y/o uno o varios factores de regeneración vascular, preferiblemente "*Vascular Endothelial Growth Factor*" (factor de crecimiento endotelial vascular) (VEGF) y/o "*Plateled Derived Growth Factor*" (factor de crecimiento derivado de plaquetas) (PDGF).

Las formas de realización adicionales representadas en la presente invención sirven de manera análoga también para los usos de acuerdo con la invención descritos.

Además, puede usarse una estructura de soporte o matriz biológica que contiene EPO, como sustrato inductivo para la regeneración y/o el crecimiento 3-D dentro de una fase de multiplicación o después de una fase de multiplicación para la diferenciación o para la detención del crecimiento.

La estructura de soporte o matriz biológica representa por ejemplo un implante, un trasplante y/o un material de soporte para el crecimiento de células, pudiendo ser la estructura de soporte o matriz biológica una endoprótesis, un catéter, una piel, un hidrogel, un material de sustitución ósea, un tejido alogénico, autólogo o xenogénico, acelularizado o no acelularizado, un tejido sintético, una capa alimentadora o un tejido no tejido, tal como por ejemplo un tejido no tejido de colágeno, laminina y/o fibronectina con o sin estructura fundamental sintética o de otro modo, tal como por ejemplo plástico o una matriz biológica. Formas de realización a modo de ejemplo se han descrito ya anteriormente.

La estructura de soporte o matriz biológica puede colonizarse ya previamente con células específicas de tejido, células precursoras, células de médula ósea, sangre periférica, tejido graso y/o tejido fibroso o estar preparada ya para la colonización *in vivo*.

La estructura de soporte o matriz biológica puede estar recubierta también con una capa (bio)polimérica, que contiene al menos uno de los factores de crecimiento mencionado. Como capa (bio)polimérica son adecuados por ejemplo fibrina, plasma, colágeno y/o polilactida.

Los siguientes ejemplos explicarán en detalle la invención, sin limitar la misma.

Ejemplos:

Regeneración de tejidos *in vivo*

a) Hígado (sólo para comparación)

5 Después de la resección de parte del hígado se administra al paciente EPO de manera sistémica y/o tópica mediante aplicación sobre la superficie de resección en combinación con un polímero. El polímero puede ser un biopolímero, tal como por ejemplo fibrina (de por ejemplo adhesivo de fibrina), plasma polimerizado, sangre polimerizada o bioadhesivo, por ejemplo adhesivo de molusco. En cambio, puede tratarse también de geles sintéticos o biológicos. Además la EPO puede incorporarse en tejidos no tejidos, que sirven para la hemostasia (por ejemplo tejidos de colágeno, tamponamientos, tejido y tejido de punto).

10 Mediante la acción de EPO se produce, en el plazo de 2 semanas, una recuperación del volumen original del hígado. En este sentido no sólo se produce una multiplicación de los hepatocitos, sino un crecimiento coordinado en el que también vuelven a crecer los vasos, los conductos biliares así como las estructuras de cápsula hasta su tamaño original.

15 En 30 animales pudo mostrarse que la regeneración del hígado tuvo lugar de manera significativa con respecto a los animales control (sin administración de EPO).

20 EPO puede utilizarse para la regeneración hepática también en el caso de enfermedades hepáticas crónicas, tales como por ejemplo cirrosis, fibrosis, hepatitis. De este modo puede conseguirse por primera vez un efecto terapéutico con respecto al parénquima hepático.

b) Enfermedades intestinales inflamatorias (sólo para comparación)

25 En pacientes con la enfermedad de Crohn se producen trastornos de cicatrización en la zona del epitelio intestinal. También estructuras tisulares subyacentes pueden verse afectadas en el marco de las reacciones inflamatorias. En estos pacientes, la administración sistémica y/o tópica de EPO lleva a una recuperación del epitelio intestinal mediante regeneración. La administración tópica puede tener lugar a través de cápsulas de liberación lenta en la zona del intestino o mediante administración de supositorios con geles o instilación local con disoluciones.

30 La reabsorción en la zona vascular regional puede optimizarse mediante la administración de compuestos pegilados (PEG), de modo que a través de la administración regional en la zona de inflamación pueda tener lugar un efecto sistémico y con ello el inicio del proceso de cicatrización.

35 La existencia de anemia se considera un factor pronóstico positivo en pacientes con enfermedad de Crohn. En el pasado se suponía que la anemia era una enfermedad acompañante independiente, o que se atribuía a la pérdida de fuerzas por problemas de reabsorción. Los presentes resultados muestran que durante el trastorno de cicatrización se trata de una deficiencia en EPO endógena. De este modo, la enfermedad de Crohn puede tratarse de manera muy selectiva mediante una administración exógena de EPO. Otros campos de aplicación se encuentran también en el campo de la colitis ulcerosa.

c) Trastornos de cicatrización en la zona de la piel

45 En pacientes con úlceras diabéticas, existen trastornos tópicos que dificultan el cierre de una herida en la zona, en la mayoría de los casos, de las piernas. La capacidad para una regeneración de tejido estructural está limitada debido a la enfermedad de base. En estos casos se induce una cicatrización mediante la administración tópica de EPO. Resulta ventajosa la aplicación de EPO tras la rugosificación del sustrato en el contexto de un desbridamiento. La combinación de EPO con una polimerización desencadenada por cloruro de calcio lleva a la integración de EPO en un coágulo de sangre, mediante lo cual se produce un preparado de liberación lenta tópico. Como alternativa, EPO puede administrarse también en combinación con un adhesivo de fibrina o un tejido no tejido o un taponamiento impregnado con EPO (por ejemplo tejido de colágeno).

50 EPO puede administrarse de manera similar en todos los demás requisitos de cicatrización por ejemplo en la zona muscular después de lesiones deportivas, enfermedades musculares, lesiones óseas, lesiones de las partes blandas y en general para mejorar la cicatrización y la regeneración de tejido por ejemplo después de operaciones, enfermedades agudas y crónicas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de eritropoyetina (EPO) para la preparación de un medicamento para el tratamiento tópico de la piel durante la cicatrización tras la rugosificación del sustrato en el contexto de un desbridamiento y aplicación de EPO, en el que la EPO se integra en un coágulo de sangre mediante polimerización desencadenada por cloruro de calcio y se libera a partir del mismo lentamente de forma local en la herida.
- 10 2. Uso de EPO para la preparación de un medicamento para el tratamiento tópico de la piel durante durante la cicatrización tras la rugosificación del sustrato en el contexto de un desbridamiento y aplicación de EPO, en el que la EPO se administra en combinación con un adhesivo de fibrina, un tejido no tejido o un taponamiento impregnado con EPO.
- 15 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 para el tratamiento tópico de la piel en el caso de úlceras diabéticas.
- 20 4. Eritropoyetina (EPO) para su uso terapéutico en el tratamiento tópico de la piel durante la cicatrización tras la rugosificación del sustrato en el contexto de un desbridamiento y aplicación de EPO, en el que la EPO se integra en un coágulo de sangre mediante polimerización desencadenada por cloruro de calcio y se libera a partir del mismo de forma local, o se administra en combinación con un adhesivo de fibrina, un tejido no tejido o un taponamiento impregnado con EPO.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

5

Documentos de patente citados en la descripción

- EP 0148605 A [0012]
- EP 0205564 A [0012]
- EP 0209539 A [0012]
- EP 0267678 A [0012]
- EP 0411678 A [0012]

Literatura no patente citada en la descripción

10

- **BUEMI et al. *J. Nephrol.*, 2002, vol. 15, 97-103 [0007]**