

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 865 120**

51 Int. Cl.:

A61K 31/573 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 19/04 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.05.2015** **PCT/US2015/032114**
87 Fecha y número de publicación internacional: **26.11.2015** **WO15179729**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.05.2015** **E 15795922 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2020** **EP 3145514**

54 Título: **Formulación para la regeneración de hueso y cartílago**

30 Prioridad:

23.05.2014 MX 2014006259
04.02.2015 US 201514613808

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2021

73 Titular/es:

REGEN THERAPIES, INC. (100.0%)
8011 Candle Lane
Houston, TX 77071, US

72 Inventor/es:

PAZ GARCIA, JUAN y
PAZ MICHEL, BRENDA ASTRID

74 Agente/Representante:

FLORES DREOSTI, Lucas

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 865 120 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

Formulación para la regeneración de hueso y cartílago

Referencia cruzada a aplicaciones relacionadas

5 Esta solicitud internacional reclama el beneficio de prioridad de la solicitud no provisional U.S. 14/613,808, presentada en febrero 2, 2015, y de la aplicación mexicana MX/a/2014/006259, presentada en Mayo 23, 2014.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere en general a los campos de la fisiología ósea y cartilaginosa, así como al tratamiento de tumores y quistes. Mas específicamente, la invención se refiere al uso de una formulación para el crecimiento de hueso y cartílago y el tratamiento del periodonto, tumores y quistes de la mandíbula y usos de los mismos.

Descripción del arte relacionado

15 La osteoartritis es una enfermedad degenerativa de las articulaciones que implica la pérdida sintomática de cartílago en las áreas de carga de la articulación y que frecuentemente se presenta en la articulación temporomandibular, de la rodilla, la cadera, las manos, los pies y la columna vertebral. La osteoartritis causa dolor significativo y conduce a la discapacidad y una disminución en la calidad de vida. El tratamiento incluye aparatos ortopédicos y calzado, terapia física y ejercicio, prótesis dentales gnatológicas y placas oclusales (mandíbula), terapia farmacológica como son los derivados de hialuronato y corticoesteroides. El manejo quirúrgico incluye la osteotomía, el reemplazo parcial o total de la articulación dañada y el implante de condrocitos autólogos, lo cual puede proporcionar solo una reducción breve de los síntomas. La regeneración del cartílago puede ser la solución ideal, pero hasta ahora solo se usa para pequeños defectos en áreas específicas del cartílago femoral debido al costo y al tiempo requerido para la regeneración del cartílago. El costo de los tratamientos quirúrgicos es muy alto y la mayoría de las veces, los resultados no cumplen con las expectativas.

20 El manejo básico de las fracturas de huesos largos implica su inmovilización para asegurar la consolidación. La reparación de la fractura puede fallar debido a varias razones. Por ejemplo, la pseudoartrosis ocurre cuando no se logra la consolidación ósea después de una fractura ósea. Esto es causado por osteotomía o inestabilidad de la fractura, infección y/o pérdida de masa ósea después de fracturas conminutas. Los tratamientos comunes incluyen terapia física, campo electromagnético pulsado, medicación con bifosfonatos, legrado de los segmentos óseos afectados con o sin injerto óseo y fijación externa circular. La osteoporosis es un trastorno esquelético que se caracteriza por el compromiso de la resistencia ósea que aumenta el riesgo de fractura y también provoca un retraso en la consolidación de las fracturas. El tratamiento actual incluye la administración de bi- o polifosfonatos que reducen a reabsorción de hueso y recambio óseo con efectos secundarios como son irritación esofágica o gástrica, osteonecrosis de la mandíbula y fracturas atípicas de fémur. Por lo tanto, se necesitan nuevos tratamientos alternativos efectivos y no dañinos.

25 Los objetivos en el tratamiento de las fracturas del tercio medio facial son restaurar la oclusión armoniosa entre el maxilar y la mandíbula para obtener la función de masticación postoperatoria y restablecer la altura media facial y la simetría facial. En las fracturas del tercio medio facial y mandibular, la oclusión dentaria es el parámetro más importante para restablecer el contorno facial y reducir la fractura. La fractura del proceso alveolar es una lesión común y los tejidos blandos cercanos y los dientes a menudo se dañan. El objetivo del tratamiento de la fractura dentoalveolar es restablecer la forma y función normales del sistema masticatorio. Hasta ahora, el único tratamiento para la pulpa y / o nervio de los dientes comprometidos es un conducto radicular, y en casos recurrentes o más graves, la extracción dental.

30 Los tumores y quistes de la mandíbula son muy comunes, tienen un alto grado de recurrencia, y se clasifican como odontogénicos y no-odontogénicos. Entre los quistes odontogénicos, los quistes foliculares (dentígeros) son particularmente agresivos ya que provocan la reabsorción radicular de los dientes adyacentes en más del 50% de los casos. Un quiste folicular está compuesto de un saco membranoso o capsula que destruye el tejido óseo adyacente. El odontoma, un tumor odontogénico común, frecuentemente interfiere con la erupción del diente.

35 El ameloblastoma es un tumor odontogénico benigno, pero localmente agresivo con altas tasas de recurrencia que pueden ocurrir por el revestimiento epitelial de un quiste folicular. La mandíbula se ve comúnmente afectada, incluida la rama ascendente, la región premolar y la región anterior, y algunos ameloblastomas se asocian con un diente no erupcionado. El ameloblastoma se observa como un área radiotransparente que se presenta en un patrón multilocular o unilocular y puede ser completamente radiotransparente o radiotransparente con septos. Provoca una extensa reabsorción radicular y desplazamiento de los dientes y tiene un potencial considerable para la expansión ósea. El tratamiento quirúrgico puede involucrar resección de la mandíbula o radioterapia para los tumores inoperables.

40 Los quistes no odontogénicos incluyen quistes óseos aneurismáticos y quistes globulomaxilares. El quiste óseo aneurismático es una lesión benigna rara del hueso craneofacial que crece rápidamente hasta convertirse en una expansión ósea. El quiste globulomaxilar es un quiste fisural que provoca la divergencia de las raíces de los dientes. El tratamiento consiste en legrado quirúrgico o escisión completa de la lesión.

El microambiente de los quistes y tumores se ha convertido recientemente en un objetivo para nuevos tratamientos. El microambiente del tumor es una parte integral de su anatomía, fisiología y funcionalidad y está compuesto de células madre, factores solubles, moléculas de señalización y matriz extracelular. Asimismo, se ha hecho evidente la factibilidad de diferenciar las células madre en células o tejidos especializados mediante estímulos mecánicos y / o sustancias químicas y biológicas, especialmente para aplicaciones de ingeniería de tejidos.

La ingeniería de tejidos tiene el objetivo de inducir la proliferación específica o la reprogramación de células para curar o lograr la regeneración de tejidos para aplicaciones clínicas. Las técnicas de ingeniería de tejidos incluyen ingeniería de tejidos inductiva (suministro local de factores de crecimiento para estimular las células locales e inducir la regeneración), ingeniería de tejidos conductivos (uso de una matriz o biomateriales para estimular el crecimiento del tejido existente), trasplante de células (introducción directa de tejido previamente manipulado *in vitro*) e ingeniería de tejidos híbridos (implantación de un biomaterial "preparado" *in vitro* que incluye células madre y factores de crecimiento).

Por ejemplo, la publicación de EE. UU. Número 2008/0268490 A1 describe un método para reconstruir folículos pilosos. Los queratinocitos epidérmicos se cultivan conjuntamente en presencia de una matriz y un medio de cultivo de células animales químicamente definido que incluye insulina para desarrollar injertos de piel que tienen cabello como protector. La publicación estadounidense No. 20100172865 A1 describe un método para estimular el crecimiento del cabello humano y animal mediante la aplicación de insulina y/o IGF-1 solos o en combinación con otros agentes promotores del crecimiento del cabello conocidos, para aumentar los efectos terapéuticos de las estrategias de regeneración del cabello. Sin embargo, con estos tratamientos existe aún una tasa del 37% al 63% de reincidencia al problema.

Actualmente, no existe una técnica de ingeniería de tejidos, formulación o metodología o procedimiento clínico mínimamente invasivo que funcione con el microambiente intralesional para garantizar una regeneración incluso parcial del hueso lesionado, cartílago, dientes o periodonto o tratamiento para lesiones tumorales o quísticas en la mandíbula para promover la regeneración del tejido dañado. Por tanto, la técnica anterior es deficiente en formulaciones y métodos que consigan estos efectos. La presente invención satisface esta antigua necesidad en la técnica.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención está dirigida a una formulación que comprende un corticosteroide e insulina lispro en una cantidad de 0.000115 µg/ml a 0.00345 µg/ml.

La presente invención se dirige además a dicha formulación para su uso en la estimulación del crecimiento óseo.

La presente invención se dirige además a dicha formulación para su uso en la estimulación del crecimiento del cartílago.

La formulación de la presente invención puede comprender además al menos un ácido orgánico.

Otros aspectos, características, beneficios y ventajas adicionales de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción de las realizaciones actualmente preferidas de la invención que se dan con el propósito de divulgación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para que la cuestión en la que las características, ventajas y objetos de la invención antes mencionados, así como otras que se aclaren, se logren y puedan entenderse en detalle, se pueden obtener descripciones más particulares sobre la invención resumidas brevemente anteriormente mediante referencia a ciertas realizaciones del mismo que se ilustran en los dibujos adjuntos. Estos dibujos forman parte de las especificaciones.

Las **FIGS. 1A-1B** son imágenes de rayos X de una lesión de pseudoartrosis femoral atrófica que se desarrolló durante 13 años. La FIG. 1A es una radiografía del fémur antes del tratamiento. La FIG. 1B es una imagen de rayos X de la fractura de fémur mostrada en la F 1A veinte días después del tratamiento. La osteogénesis en el medio de la fractura se puede ver claramente.

Las **FIGS. 2A-2C** son imágenes de rayos X de un paciente con fracturas faciales. La FIG. 2A muestra una radiografía panorámica de los maxilares con una parasínfisis y una fractura en racimo antes del tratamiento. La FIG. 2B muestra una tomografía veinte días después del tratamiento que revela la consolidación de la fractura de la parasínfisis mostrada en la FIG. 2A. La FIG. 2C muestra una tomografía veinte días después del tratamiento que revela la consolidación de la fractura mandibular en racimo mostrada en la FIG. 2A.

Las **FIGS. 3A-3B** son radiografías panorámicas de un paciente con exodoncia y osteoporosis. La FIG. 3A es el primer molar inferior derecho con una infección aguda y celulitis submaxilar mostrado por radiografía panorámica. Se observa granuloma eosinofílico en el área radicular mesial del diente. La FIG. 3B es una radiografía panorámica días después del tratamiento de la infección aguda en los fragmentos de la raíz del primer molar inferior derecho. Se observa osteogénesis alrededor del área de extracción, incluidas las regiones de baja densidad debido a la osteoporosis.

Las **FIGS. 4A-4B** son radiografías panorámicas de una fractura en la rama ascendente de la mandíbula de un paciente con osteomielitis posquirúrgica por 4 años. La FIG. 4A es una radiografía panorámica de la lesión después de la

desinfección con antiséptico y antes de la aplicación de la formulación de la presente invención y la colocación de una fijación externa. Observe el daño severo del hueso compacto, la pérdida de continuidad de la estructura del hueso y las placas de reconstrucción rotas. La FIG. 4B es una radiografía panorámica un mes después del tratamiento y la colocación de una fijación externa. Se puede ver claramente el crecimiento óseo cerca del ápice del fijador derecho (flecha).

- 5 Las **FIGS. 5A-5C** son radiografías apicales de un paciente con una fractura dentoalveolar con daño del tejido periodontal y un quiste apical. FIG. 5A es una radiografía de una fractura horizontal coronal con pérdida importante de la corona clínica y un quiste apical con destrucción ósea, pérdida del ligamento periodontal y rizólisis antes del tratamiento. La FIG. 5B es una radiografía siete días después del tratamiento que muestra osteogénesis. La FIG. 5C es una radiografía catorce días después del segundo tratamiento con la formulación de la presente invención que muestra la regeneración del hueso y del ligamento periodontal y el tratamiento de la resorción de la raíz. Nótese el tratamiento de la rizólisis en la raíz mesial.

Las **FIGS. 6A-6B** son radiografías apicales de órganos dentales con enfermedad periodontal y reabsorción radicular. La FIG. 6A es una radiografía de un paciente con enfermedad periodontal y reabsorción antes del tratamiento. La FIG. 6B es una radiografía quince días después del tratamiento mostrando regeneración del tejido periodontal dañado y del hueso lesionado.

- 15 Las **FIGS. 7A-7C** son radiografías de la rodilla izquierda de un paciente con artropatía por Hallux Valgus por 10 años. La FIG. 7A es una radiografía de la rodilla izquierda antes del tratamiento con la formulación de la presente invención. Las FIGS. 7B-7C muestran una radiografía veintidós días después del tratamiento de la artropatía en la rodilla izquierda. Observe la condrogénesis (flecha) en el sitio de la lesión en la FIG. 7B.

- 20 Las **FIGS. 8A-8B** son radiografías de un paciente con coxartrosis y acortamiento del hueso femoral post-infección debido a una fractura en la cadera izquierda. La FIG. 8A es una radiografía de coxartrosis en la cadera izquierda antes del tratamiento. La FIG. 8B es una radiografía de la cadera izquierda un mes después del tratamiento con la formulación de la presente invención que muestra la condrogénesis.

- 25 Las **FIGS. 9A-9F** son radiografías de una lesión de quiste dentígero en el lado inferior derecho de la mandíbula. La FIG. 9A muestra la tomografía del quiste dentígero antes del tratamiento. La FIG. 9B muestra la tomografía del quiste en la mandíbula antes del tratamiento. Las FIGS. 9C-9D muestran las tomografías siete días después del segundo tratamiento con la formulación de la presente invención mostrando una vista externa e interna de la osteogénesis. Las FIGS. 9E-9F muestran la tomografía nueve meses después del tratamiento y cinco meses después de la enucleación de la capsula del quiste y la extracción del diente no-erupcionado mostrando osteogénesis del hueso cortical y esponjoso.

- 30 Las **FIGS. 10A-10F** son tomografías de un paciente con el síndrome de Gorlin Goltz y múltiples patologías. La FIG. 10A muestra tomografía de fractura mandibular bilateral, tumores odontogénicos queratoquísticos, odontomas compuestos y complejos y quiste dentígero. Las figs. 10E-10F muestran tomografías de cinco meses después del tratamiento con la presente formulación de la fractura bilateral mandibular, los tumores odontogénicos queratoquísticos, los odontomas compuestos y complejos y el quiste dentígero. La osteogénesis en el lado derecho de la mandíbula y el tratamiento completo de las fracturas, el quiste dentígero, el queratoquiste izquierdo, el tumor odontogénico y los odontomas complejos y compuestos.

- 35 Las **FIGS. 11A-11D** son radiografías panorámicas de un tumor queratoquístico odontogénico y región sinfisaria bilateral con múltiples áreas calcificadas. La FIG. 11A muestra la radiografía del tumor queratoquístico antes del tratamiento con la formulación de la presente invención. Las FIGS. 11B-11C muestran la radiografía siete días después del tratamiento que muestra el crecimiento de la trabécula mandibular normal junto con un aumento de la densidad ósea. La osteogénesis del hueso trabecular sano se indica con flechas y se puede ver claramente. La FIG. 11D muestra la tomografía de la mandíbula lesionada tres meses después del tratamiento. Se observa un crecimiento de la trabécula mandibular junto con un aumento de la densidad ósea. Observe la reducción de las regiones hipercalcificadas.

- 45 Las **FIGS. 12A-12G** son radiografías de un ameloblastoma plexiforme uniuquístico limítrofe en la hemi-mandíbula derecha y un tumor odontogénico quístico calcificante (TOQC). La FIG. 12A es una radiografía antes del tratamiento con la presente invención. Observe la recurrencia en el hueso previamente resecado, incluidos los órganos dentales. Las FIGS. 12B-12C muestran una radiografía siete días después del tratamiento mostrando neoformación de puentes óseos debido a osteogénesis. La FIG. 12D es una radiografía catorce días después del tratamiento mostrando mala osteogénesis y una cápsula extendida a lo largo de toda la lesión, llena de líquido intralesional. Tenga en cuenta la apariencia de tejido y estructuras óseas dentro de la cápsula. La FIG. 12E muestra la tomografía un mes después de la enucleación de la capsula y de la tercera aplicación de la presente formulación. Observe el llenado de los nichos óseos trabeculares y compactos vacíos debido a una osteogénesis rápida y eficiente. Las FIGS. 12F-12G muestran la tomografía 120 días después de la tercera aplicación de la presente formulación mostrando una osteogénesis notable.

- 50 Las **FIGS. 13A-13B** son radiografías de un tumor de Gorlin en la región del premolar inferior izquierdo. La FIG. 13A es una radiografía panorámica que muestra la estructura dentoide dentro de la cápsula quística bien formada, antes del tratamiento con la formulación de la presente invención. La FIG. 13B es una radiografía periapical siete días después del tratamiento mostrando reabsorción de la capsula del quiste junto con la formación de hueso esponjoso sano dentro del área de la lesión.

Las **FIGS. 14A-14G** muestran la tomografía de un tumor odontogénico queratoquístico en el lado derecho de la mandíbula. La FIG. 14^a es una radiografía panorámica de la lesión antes del tratamiento con la formulación de la presente invención. La FIG. 14B muestra la tomografía de la vista lingual mandibular derecha de la lesión antes del tratamiento con la presente invención. La FIG. 14C muestra la tomografía tres días después del tratamiento mostrando la regeneración del hueso cortical. Las FIGS. 14D-14E muestran tomografías tres días después del tratamiento mostrando regeneración del hueso cortical externo y esponjoso. Las FIGS. 14F-14G muestran la tomografía noventa días después del tratamiento mostrando el tratamiento del tumor.

Las **FIGS. 15A-15D** son tomografías de un quiste óseo aneurismático mandibular recurrente. La FIG. 15A es una radiografía mostrando lisis ósea del cóndilo mandibular y una lesión multilocular en la rama ascendente derecha. La FIG. 15B es una radiografía antes del tratamiento con la formulación de la presente invención mostrando una lesión multilocular recurrente y una miniplaca de titanio con tornillos de una osteotomía avanzada. Las FIGS. 15C-15D son una radiografía siete días después del tratamiento mostrando osteogénesis casi completa en el sitio del quiste óseo.

Las **FIGS. 16A-16F** son tomografías de un fibroma osificante mandibular central de ocho meses. La FIG. 16A muestra la tomografía de un fibroma, migración dental y el volumen característico del hueso externo, áreas de hueso hiperdensas con nódulos calcificantes y regiones de baja densidad con lóculos llenos de líquido. Las FIGS. 16B-16C muestran radiografías del volumen del hueso cortical antes del tratamiento con la formulación de la presente invención. La FIG. 16D muestra la tomografía nueve días después del tratamiento mostrando osteogénesis en los lóculos. Las FIGS. 16E-16F muestran tomografías de treinta y cinco días después del tratamiento mostrando la disminución del volumen del hueso cortical.

Las **FIGS. 17A-17D** son radiografías de un quiste globular maxilar en el lado izquierdo del premaxilar. La FIG. 17^a es una radiografía panorámica de antes del tratamiento con la formulación de la presente invención, mostrando una región de baja densidad y un desplazamiento extendido de la raíz que se extendía hacia el lado derecho a través de la base del tabique nasal. La FIG. 17B es una radiografía de treinta y cinco días después del tratamiento mostrando osteogénesis dentro de la lesión quística en el premaxilar. La FIGS. 17C-17D son una radiografía de sesenta y cinco días después del tratamiento mostrando osteogénesis del hueso compacto y esponjoso en la lesión quística en el premaxilar.

Las **FIGS. 18A-18B** son radiografías de un quiste dentígero periférico en el diente 13. La FIG. 18A es una radiografía antes del tratamiento con la formulación de la presente invención mostrando parte de la lesión quística, marcada con una cruz. La FIG. 18B es una radiografía de un mes después del tratamiento mostrando la formación de hueso nuevo (flechas) dentro de la lesión quística original en el diente 13.

Las **FIGS. 19A-19E** son imágenes de cultivos celulares. La FIG. 19A muestra células madre aisladas de la pulpa dental. Obsérvese la morfología fibroblastoide. La FIG. 19B muestra células madre aisladas del contenido intralesional de un ameloblastoma. Obsérvese la morfología fibroblastoide. La FIG. 19C muestra células madre aisladas de un ameloblastoma y tratadas con una de las formulaciones de la presente invención. Se puede ver la proliferación inducida en comparación con el control. La FIG. 19D muestra células madre aisladas de un ameloblastoma y tratadas con una formulación diferente de la presente invención. Se puede ver un cambio en el linaje celular. La FIG. 19E muestra células madre control, aisladas de un ameloblastoma y sin tratamiento con una formulación de la presente invención. Obsérvese la morfología fibroblastoide.

Las **FIGS. 20A-20B** muestran a un hombre de 72 años con alopecia parcial en el área occipito-parietal antes del tratamiento con la formulación 1 (FIG. 20A) y diez días después del tratamiento (FIG. 20B).

Las **FIGS. 21A-21C** muestran a un hombre de 62 años con alopecia hormonal antes del tratamiento con la formulación 2 (FIG. 21A), 35 días después del tratamiento (FIG. 21B) y 65 días después del tratamiento con un segundo tratamiento administrado 30 días después del primer tratamiento (FIG. 21C).

Las **FIGS. 22A-22E** son tomografías de una fístula septal de quince días después del tratamiento. La FIG. 22A muestra la tomografía inicial con un corte axial mostrando la fístula septal. La FIG. 22B es una tomografía con un corte axial mostrando la fístula siete días después del tratamiento con una longitud del defecto de 8.103mm. La FIG. 22C es una tomografía con un corte axial mostrando la fístula quince días después del tratamiento con una longitud del defecto de 4.269 mm, lo cual es una reducción del 50% en la longitud. Las FIGS. 22D-22E son tomografías 3D de reconstrucción que muestran la formación de puentes de cartílago y la recuperación de la anatomía del septum.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se usan en este documento, los siguientes términos y frases tendrán los significados que se establecen a continuación. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la materia.

Como se usa en este documento, los términos "un" o "una" pueden significar uno o más. Como se usa en el presente documento en la reivindicación (es) cuando se usa junto con la palabra "que comprende", las palabras "un" o "una" pueden significar una o más de una. Como se usa en este documento, "otro" u "otro" puede significar al menos un segundo o más

del mismo o diferente elemento de reivindicación o componentes del mismo. Los términos "comprende" y "que comprende" se usan en el sentido abierto inclusivo, lo que significa que se pueden incluir elementos adicionales.

Como se usa en el presente documento, el término "o" en las reivindicaciones se refiere a "y/o" a menos que se indique explícitamente que se refiere solo a alternativas o que las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la divulgación respalda una definición que se refiere solo a alternativas y "y/o".

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor numérico, que incluye, por ejemplo, números enteros, fracciones y porcentajes, se indique explícitamente o no. El término "aproximadamente" generalmente se refiere a un rango de valores numéricos (ej. +/- 5-10% del valor recitado) que un experto en la materia consideraría equivalente al valor indicado. En algunos casos, el término "aproximadamente" puede incluir valores numéricos que se redondean a la cifra significativa más cercana.

Como se usa aquí, el término "regeneración" se define como al menos osteogénesis parcial y/o condrogénesis observada, p. ej., mediante técnicas médicas de formación de imágenes y/o rayos X como reconocería fácilmente una persona con experiencia normal en esta técnica.

Como se usa aquí, el término "dientes" o "diente" se define como dentina, cemento y pulpa y excluye el esmalte.

La presente invención proporciona una formulación que comprende un corticosteroide y un análogo de insulina. Los ejemplos representativos de corticosteroides útiles incluyen, pero no se limitan a, dexametasona, cortisol, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona o acetato de desoxicorticosterona. En una modalidad preferida, el corticosteroide es dexametasona. Por ejemplo, la dexametasona puede estar contenida en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.5 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml. El análogo de insulina es un análogo de insulina de acción rápida. Específicamente, el análogo de la insulina de acción rápida es la insulina lispro. La insulina lispro está contenida en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.000115 µg/ml a aproximadamente 0.00345 µg/ml. Normalmente, la formulación se disuelve en un vehículo. Los ejemplos representativos de vehículos útiles incluyen, pero no se limitan a, solución salina normal, solución salina tamponada con fosfato o agua grado inyectable. En un aspecto preferido, la formulación comprende además al menos un ácido orgánico. Los ejemplos representativos de ácidos orgánicos útiles incluyen, pero no se limitan a, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido málico y ácido láctico. Generalmente, dichos ácidos orgánicos están contenidos en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.05 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml. Como es bien conocido en la técnica, la formulación de la presente invención se puede formular en una variedad de formas como composiciones o formulaciones farmacéuticas. Los ejemplos representativos de formas farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, una suspensión, spray, solución, gotas nasales, gel, pasta, pomada, crema, nanopartículas, liposomas, microcápsulas, dispositivo de administración o polvo.

La invención proporciona además el uso de la formulación de la invención para estimular el crecimiento o la regeneración del hueso en un sujeto. Se describe un método que comprende las etapas de poner en contacto el hueso con una formulación que comprende un corticosteroide y un análogo de insulina, y trabajar con el microambiente intralesional. Preferiblemente, el crecimiento o regeneración del hueso ocurre dentro de un período de tiempo de 1 a 6 semanas. Como es bien conocido en la técnica, este método puede lograrse usando una composición farmacéutica de la formulación de la presente invención en una forma deseable para este método específico. Como reconocería fácilmente una persona con experiencia normal en esta técnica, este método puede aplicarse para estimular la regeneración de una amplia variedad de lesiones óseas o de tejidos similares a los huesos. Los ejemplos representativos de lesiones de tejido óseo o similar al hueso que pueden estimularse para regenerarse incluyen, pero no se limitan a, fracturas óseas, fisuras óseas, resorción ósea, necrosis ósea, osteoporosis y pseudoartrosis.

La invención proporciona además el uso de la formulación de la invención para estimular la regeneración del cartílago dañado en un sujeto. Se describe un método que comprende la etapa de poner en contacto dicho cartílago lesionado con una formulación que comprende un corticosteroide y un análogo de insulina, que actúan en conjunto con el microambiente intralesional. Preferiblemente, la regeneración del cartílago dañado se estimula en un período de tiempo de 1 a 4 semanas. Como es bien conocido en la técnica, este método puede lograrse usando una composición farmacéutica de la formulación de la presente invención en una forma deseable para este método específico. Como reconocería fácilmente una persona con experiencia normal en esta técnica, este método puede aplicarse para estimular la regeneración de una amplia variedad de lesiones del cartílago. Ejemplos representativos de lesiones del cartílago incluyen, entre otros, artropatías de la articulación temporomandibular, articulación acromioclavicular, articulación del codo, articulación de la muñeca, articulación glenohumeral, articulación de la rodilla, articulación coxofemoral, desgarros meniscales o una fístula que se produce de forma anormal o como resultado de un procedimiento.

Se describe una formulación, denominada en el presente documento formulación 1, que comprende un corticosteroide y al menos un ácido orgánico. Los ejemplos representativos de corticosteroides útiles incluyen, pero no se limitan a, dexametasona, cortisol, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona o acetato de desoxicorticosterona. En particular, el corticosteroide puede ser dexametasona. Por ejemplo, la dexametasona puede estar contenida en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.5 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml. Normalmente, la formulación se disuelve en un vehículo. Los ejemplos representativos de

vehículos útiles incluyen, pero no se limitan a, solución salina normal, solución salina tamponada de fosfatos o agua grado inyectable. Los ejemplos representativos de ácidos orgánicos útiles incluyen, pero no se limitan a, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido málico y ácido láctico. Generalmente, dichos ácidos orgánicos están contenidos en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.05 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml. Como es bien conocido en la técnica, la formulación se puede formular en una variedad de formas como composiciones farmacéuticas. Los ejemplos representativos de formas farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, una suspensión, spray, gotas nasales, solución, gel, pasta, pomada, crema, nanopartículas, liposomas, microcápsulas, dispositivo de administración o polvo.

En una modalidad de la presente invención, se proporciona una formulación, denominada en el presente documento formulación 2, que comprende un corticosteroide; insulina lispro; y al menos un ácido orgánico. Los ejemplos representativos de ácidos orgánicos útiles incluyen, pero no se limitan a, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido málico y ácido láctico. Generalmente, dichos ácidos orgánicos están contenidos en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.05 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml. Como es bien conocido en la técnica, la formulación de la presente invención se puede formular en una variedad de formas como composiciones farmacéuticas. Los ejemplos representativos de formas farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, una suspensión, spray, solución, gotas nasales, gel, pasta, pomada, crema, nanopartículas, liposomas, microcápsulas, dispositivo de administración o polvo.

Como es bien conocido en la técnica, las formulaciones de la presente invención pueden aplicarse o administrarse en una amplia variedad de formas y técnicas terapéuticamente eficaces. En una técnica preferida, las formulaciones de la presente invención se administran o aplican por vía intralesional o directamente en el nicho de la lesión, para trabajar con el contenido del microambiente de la lesión, incluidas las células madre. Por ejemplo, la formulación de la presente invención puede aplicarse intralesionalmente en la región lesionada perióstica y endóstica para el tratamiento de fracturas óseas y osteoporosis. En otra realización, la formulación de la presente invención se puede aplicar por vía intralesional en el nicho del cartílago dañado por artropatía de la articulación temporomandibular, la articulación acromioclavicular, la articulación del codo, la articulación de la muñeca, la articulación glenohumeral, la rodilla o para la coxartrosis, o una fístula nasal. En otro ejemplo, la formulación de la presente invención puede aplicarse intralesional y periféricamente a dientes comprometidos y / o tejidos periodontales comprometidos para su tratamiento y / o regeneración. En otro ejemplo más, la formulación de la presente invención puede aplicarse intralesionalmente en los tumores o quistes de la mandíbula para su tratamiento y regeneración de tejidos dañados. En otro ejemplo, la formulación de la presente invención se puede aplicar por vía intradérmica en el cuero cabelludo para el tratamiento de, por ejemplo, alopecia tal como alopecia parcial o alopecia hormonal.

Como es bien conocido en la técnica, las formulaciones de la presente invención pueden aplicarse o administrarse a sujetos humanos o no humanos.

Como es bien conocido en la técnica, las formulaciones de la presente invención pueden aplicarse o administrarse solas o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos, a un sujeto para tratar una afección particular.

Los siguientes ejemplos se dan con el propósito de ilustrar varias realizaciones de la invención y no pretenden limitar la presente invención de ninguna manera.

EJEMPLO COMPARATIVO 1

Método de tratamiento para quistes y tumores en la mandíbula

Cuando está presente, se drena la mayor parte del líquido intralesional. Si hay evidencia clínica de infección dentro de la lesión, se lava el nicho. Dependiendo del tamaño de la lesión, se inyectan de 1 a 8 ml de un antiséptico (solución electrolizada de superoxidación de pH neutro, ESTERICIDE®) y se drenan inmediatamente. La formulación 1 se aplica, intralesional y percutáneamente, perfundir todos los lóculos, asegurándose de llegar a todas las paredes perimetrales de la lesión, según la tomografía y, si es necesario, se utiliza un fluoroscopio. Dependiendo del tamaño del tumor, se pueden perfundir de 0.5-5 mL de la formulación. El progreso del tratamiento se monitorea clínicamente cada 3 o 5 días, cualquier líquido intralesional se aspira con aguja y se realiza un seguimiento tomográfico una y dos semanas después del tratamiento.

Pueden surgir tres casos. Primero, si la osteogénesis progresa satisfactoriamente, Se continúa el seguimiento clínico semanal con una tomografía mensual (durante los dos primeros meses y luego se realiza una tomografía cada tres meses), hasta observar el tratamiento de la lesión. En segundo lugar, si la osteogénesis se detiene por completo o progresa lentamente, con o sin formación de líquido intralesional, entonces el líquido intralesional se aspira con una aguja, si se formó, y se realiza una segunda aplicación formulación. Se realiza un seguimiento del paciente cada 3 o 5 días junto con la aspiración de cualquier líquido intralesional con aguja, si se formó, y una tomografía mensual (durante los dos primeros meses y luego se realiza una tomografía cada tres meses) hasta que la lesión se haya resuelto por completo. En tercer lugar, si se produce la reabsorción ósea con o sin formación de un quiste o cápsula tumoral con o sin líquido intralesional, entonces se realiza la enucleación de la cápsula y/o el legrado de la lesión con anestesia local, la herida se cierra y la formulación de la presente invención se aplica. Se monitorea al paciente cada 3 o 5 días con aspiración de cualquier líquido intralesional, si se formó, y se realiza una tomografía mensual (durante los dos primeros meses y luego se realiza una tomografía cada tres meses) hasta que la lesión se haya resuelto por completo. En todos los casos, después

de observar el tratamiento de la lesión, se continúa con el seguimiento clínico de acuerdo con la normativa para este tipo de patología.

EJEMPLO COMPARATIVO 2

Método de tratamiento para la regeneración de dientes y periodonto

- 5 La limpieza dental (descamación) se realiza utilizando el antiséptico ESTERICIDE® como irrigante. En caso de enfermedad o infección periodontal, se perfunde un antiséptico (ESTERICIDE®) intralesional y periféricamente al diente comprometido, una vez al día hasta la erradicación de la infección. En caso de caries, caries, fisuras dentales, empastes sueltos o exposición pulpar, la lesión se trata primero. Cuando ha ocurrido una pérdida principal de tejido dental, puede haber una movilidad significativa, por lo que podría ser necesaria la ferulización. La inmovilización periférica con alambre quirúrgico podría ser necesaria al tratar una fractura coronal y/o apical de un diente. Se recomienda la aplicación de fluoruro de sodio cuando se trate una fractura que implique la presencia de esmalte. Aproximadamente 0.5-3 mL de formulación 1 se aplicó peri- e intra-ligamentariamente.

EJEMPLO 3

Método de tratamiento para fracturas de hueso y osteoporosis

- 15 Si es necesario, la lesión se trata previamente de la siguiente manera. En el caso de la osteomielitis, se perfunde de 1 a 5 ml de antiséptico (ESTERICIDE®) por vía intralesional, cada tres días durante seis semanas. La formulación 2 de la presente invención se aplica después de tres días. Para fracturas faciales sin infección, 0.5-4 mL del antiséptico (ESTERICIDE®) se perfunde intralesionalmente en el lecho de la fractura. Para fracturas en la mandíbula o huesos largos, un fijador externo se coloca ajustándose a la posición correcta de los segmentos óseos. En todos los casos, se aplican de 0.5-5 mL de la formulación de la presente invención por vía intralesional en la región perióstica y endóstica, perfundiendo en el hueso esponjoso.

EJEMPLO 4

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación temporomandibular

- 25 La anestesia por bloqueo nervioso local se realiza con antisepsia. Para identificar el lugar de la punción, se traza una línea imaginaria de 2 cm desde el trago de las orejas hasta el canto lateral del ojo y luego se traza una línea perpendicular de 1 cm desde ese punto hasta el ángulo de la mandíbula. Después de asegurar la ubicación correcta de la punción, se perfundieron 2 mL de la formulación 2 de la presente invención. Se aplica un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Una segunda aplicación de la presente formulación se administra un mes después del tratamiento con monitoreo radiográfico y tomográfico de la lesión.

EJEMPLO 5

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación acromioclavicular

- 35 Las manos del paciente se colocan en reposo sobre su regazo permaneciendo inmóvil sin mover brazos ni hombros, y mirando en dirección opuesta a la articulación lesionada. Se realiza antisepsia e infiltración intramuscular de lidocaína (2%). El sitio de entrada de la piel está justo encima de la articulación acromioclavicular. Para localizarlo se sigue la línea clavicular desde la posición medial a lateral y la articulación se encuentra en una pequeña zona de depresión que presenta sensibilidad en el caso de una lesión. Después de asegurar la ubicación correcta de la punción, se perfundieron 2 mL de la formulación 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se realizó una segunda aplicación de la presente formulación como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfico y tomográfico de la lesión.

EJEMPLO 6

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación del codo

- 45 El codo permanece ligeramente flexionado y apoyado sobre una almohada con la muñeca en una posición neutral. Con antisepsia, se administró anestesia local por vía cutánea. El sitio de entrada de la piel estaba en una zona de depresión ubicada inmediatamente proximal a la cabeza radial. Después de asegurar la ubicación correcta de la punción, se perfundieron 2 mL de la Fórmula 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se administró una segunda aplicación de la formulación de la presente invención como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfica y tomográfica de la lesión.

EJEMPLO 7

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación de la muñeca

- 50 El codo permanece ligeramente flexionado, mientras que la muñeca gira hacia adentro y en una posición neutral. Con antisepsia, se administra anestesia local por vía cutánea. El sitio de entrada de la piel está sobre la posición dorsal de la

articulación de la muñeca, justo encima del sitio con la mayor sensibilidad. Después de asegurar la ubicación correcta de la punción, se perfundieron 2 mL de la Fórmula 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se administró una segunda aplicación de la formulación de la presente invención como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfica y tomográfica de la lesión.

EJEMPLO 8

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación glenohumeral

El procedimiento debe realizarse con un abordaje anterior. Las manos del paciente se colocan en reposo sobre su regazo permaneciendo quieto sin mover los brazos ni los hombros. Con antisepsia, se realiza infiltración intramuscular de lidocaína (2%). El sitio de entrada de la piel está justo debajo y medial a la cara posterolateral del acromion, y desde este abordaje posterior, la punta de la aguja se dirige hacia la apófisis coracoides. Después de asegurar la ubicación correcta de la punción, se perfundieron 2 mL de la Fórmula 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se administró una segunda aplicación de la formulación de la presente invención como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfica y tomográfica de la lesión.

EJEMPLO 9

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por artropatías de la articulación de la rodilla

Con antisepsia, se realizó infiltración intramuscular de lidocaína (2%) hasta la rodilla en posición semiflexionada (45°). Se localizó el borde medial del tendón rotuliano y se realizó una punción con aguja hipodérmica, perpendicularmente a la piel, inmediatamente medial a la rótula hasta llegar a la cápsula articular y sinovial. Se extrajo líquido sinovial para asegurar la ubicación correcta de la punción y se perfundieron 2 mL de la formulación 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se administró una segunda aplicación de la formulación de la presente invención como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfica y tomográfica de la lesión.

EJEMPLO 10

Método de tratamiento para la regeneración de cartílago por coxartrosis

Se realizó sedación del paciente y antisepsia del área quirúrgica. El sitio de punción se encuentra en la región de la articulación coxofemoral, el vórtice principal del trocánter estaba situado aproximadamente a 6 cm directamente a la línea media imaginaria del cuerpo y a 6 cm de allí a una dirección cefálica. Con el uso de fluoroscopio, se localizó el sitio de inserción de la aguja y se introdujo una aguja de bloqueo para perfundir 2 mL de la formulación 2 de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Se administró una segunda aplicación de la formulación de la presente invención como se describió anteriormente, un mes después del tratamiento, con monitoreo radiográfica y tomográfica de la lesión.

EJEMPLO 11

Tratamiento de fractura de hueso largo (fémur)

Paciente masculino de 26 años con 12 cirugías previas que presentó pseudoartrosis femoral atrófica de 13 años. Su radiografía reveló una fractura de fémur sostenida por una placa de fijación y diez tornillos (FIG. 1A). Bajo anestesia local percutánea y antisepsia con el antiséptico ESTERICIDE®, se perfundieron 2 mL de la presente formulación 2 por vía intralesional utilizando un fluoroscopio y un catéter de bloqueo del nervio periférico. Finalmente, se colocó un apósito protector de gel antiséptico ESTERICIDE® en el lugar de la punción. Veinte días después del tratamiento, se administró una segunda aplicación de la presente formulación. Cuarenta días después del primer tratamiento, las imágenes radiográficas mostraron una clara osteogénesis en el centro de la fractura (FIG. 1B).

EJEMPLO 12

Tratamiento de fractura doble facial (parasínfisis y rama mandibular)

Un paciente masculino de 25 años se presentó con fracturas faciales. Su radiografía reveló una fractura de parasínfisis y una fractura de la rama mandibular izquierda (Figura 2A). Bajo anestesia general y antisepsia con ESTERICIDE®, se colocaron fijadores externos y 4 mL de la presente formulación 2 (2 mL en cada nicho de fractura) fueron perfundidos intralesionalmente usando un fluoroscopio. Finalmente, se colocó un apósito protector de gel antiséptico ESTERICIDE® en el lugar de la punción. Veinte días después del tratamiento, se retiraron los fijadores externos y las imágenes radiográficas mostraron consolidación de ambas fracturas (FIGS. 2B-2C).

EJEMPLO 13Tratamiento de la extracción de dientes y la osteoporosis

5 Paciente femenina de 61 años con osteoporosis, hipertensión controlada y diabetes que presentó una infección aguda en los fragmentos radiculares del primer molar inferior derecho con celulitis submaxilar (FIG. 3A). La paciente insistió en que se le extrajera el diente, pero aceptó el tratamiento con la formulación de la presente invención para reparar el defecto óseo debido a la extracción y la osteoporosis. Tras erradicar la infección, se realizó la extracción del diente con anestesia local y se lavó el lecho quirúrgico con antiséptico. Posteriormente, se introdujo en el lecho quirúrgico una aguja de aspiración llena de 2 mL de la formulación 2 hasta alcanzar el hueso esponjoso y la formulación se perfundió lentamente.

10 La osteogénesis se observó mediante imágenes radiográficas diez días después del tratamiento (FIG. 3B). Se observó un incremento importante de la densidad ósea no solo en la zona de extracción, sino dentro de la zona de daño por osteoporosis por lo que fue referida al mes para seguimiento clínico y radiográfico. Por tanto, se demostró que la formulación de la presente invención es un tratamiento terapéuticamente eficaz para la enfermedad de la osteoporosis.

EJEMPLO 14Tratamiento de osteomielitis, osteoporosis y fractura facial

15 Paciente de sexo femenino de 60 años que presentó osteoporosis, osteomielitis posquirúrgica de 4 años y fractura en la rama ascendente de la mandíbula. El paciente también tenía una neoplasia en la zona lesionada actual y ocurrencia de osteomielitis después de su enucleación y legrado.

20 Se aplicaron 3 mL de la solución antiséptica ESTERICIDE® por vía intralesional, dos veces por semana, durante seis semanas y también se prescribieron antibióticos orales que erradicaron la infección. Una radiografía panorámica inicial mostró una grave degradación ósea (FIG. 4A). Después de la erradicación de la osteomielitis y bajo anestesia general, se perfundieron intralesionalmente 3 mL de la presente formulación 2, usando fluoroscopia. Luego, se colocó un fijador externo para estabilizar la mandíbula. El fijador externo sustituye a las placas de reconstrucción que deben colocarse con el procedimiento quirúrgico. Finalmente, se colocó un apósito protector de solución electrolizada de superoxidación y gel sobre las heridas externas.

25 Quince días después del tratamiento, el seguimiento clínico y radiográfico reveló un aumento de la densidad ósea alrededor de la lesión. Un mes después del tratamiento, (FIG. 4B) una imagen panorámica reveló la formación de hueso nuevo cerca del ápice del fijador derecho sin recurrencia de la osteomielitis. Se realizó una segunda aplicación de la presente formulación como se describió anteriormente. Después de un mes, el paciente fue monitoreado clínica y radiográficamente, lo que mostró que el procedimiento eliminó la osteomielitis de 4 años y la osteogénesis inducida.

EJEMPLO COMPARATIVO 15

30

Tratamiento de fractura dentoalveolar con daño al periodonto y quiste apical con destrucción ósea

Varón de 28 años con endodoncia del diente 30, que presenta fractura horizontal coronal, pérdida importante de la corona clínica y quiste apical con destrucción ósea, pérdida del ligamento periodontal y rizólisis (FIG. 5A). El órgano dental estaba severamente dañado y fue necesaria la exodoncia, pero el paciente aceptó el tratamiento con la formulación 1.

35 El tratamiento se realizó bajo anestesia local por bloqueo del nervio mandibular (Mepivacaína; 1 mL; 3%), antisepsia con ESTERICIDE®. Entonces, se utilizó una aguja de aspiración para extraer menos de 0.5 mL de exudado sanguíneo por aspiración negativa y 2 mL de la presente formulación se perfundieron lentamente. Siete días después del tratamiento, la radiografía mostró osteogénesis y regeneración de la fractura coronal horizontal (FIG. 5B). Se administró una segunda dosis de la presente formulación y la radiografía catorce días después del tratamiento mostró regeneración ósea, tratamiento de reabsorción radicular, así como regeneración del ligamento periodontal, tratamiento de los espacios de rizólisis de la raíz mesial (FIG. 5C).

EJEMPLO COMPARATIVO 16Tratamiento de órganos dentales con enfermedad periodontal y reabsorción radicular

45 Un paciente masculino de 78 años presentó enfermedad periodontal en los órganos dentales anteriores con reabsorción radicular del tercio superior y medio del diente 44 y el diente 42 (FIG. 6A). Los órganos dentales estaban gravemente dañados y la exodoncia era obligatoria. El paciente acordó tratar sus dientes con la formulación 1.

Bajo anestesia local con bloqueo del nervio mandibular, se realizó un raspado junto con antisepsia con ESTERICIDE®. Luego, se aplicaron 2 mL de la formulación de la presente invención peri e intra-ligamentariamente. Quince días después del tratamiento, hubo una regeneración completa de los dientes dañados y osteogénesis del hueso lesionado (FIG. 6B). Así, la formulación fue capaz de regenerar el hueso y el ligamento periodontal dañados y también la dentina y el cemento.

50

EJEMPLO 17Tratamiento de la artropatía de rodilla izquierda con regeneración de cartílago

Mujer de 84 años presentada con Hallus Valgus artropatía de rodilla izquierda de 10 años. Después de la antisepsia de la superficie de la rodilla, se administró lidocaína mediante infiltración intramuscular de la rodilla en posición semiflexionada. Luego, 2 mL de la presente formulación fueron inyectados en el borde medial del tendón rotuliano perpendicular a la piel, inmediatamente medial a la rótula alcanzando la cápsula articular y sinovial.

La Fórmula 2 de la presente invención se perfundió lentamente y se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el sitio de la punción. Después de 21 días, el paciente mostró una mejora notable en la flexibilidad de la marcha y la rodilla, así como en la condrogénesis (FIGS. 7B-7C). Una segunda aplicación de la formulación se administró una semana después como se describe. Después de 4 meses, la movilidad y flexibilidad de la paciente mejoró significativamente.

EJEMPLO 18Tratamiento de coxartrosis con regeneración de cartílago

Un paciente masculino presentó coxartrosis y acortamiento óseo femoral post-infección por fractura de cadera izquierda (FIG. 8A). El tratamiento recomendado es la artroplastia y la rehabilitación física vigorosa. El paciente, sin embargo, accedió a tratar su patología con la formulación 2 de la presente invención. Después de la sedación y la antisepsia, se administraron 2 ml de la presente formulación en la región de la articulación coxofemoral mediante fluoroscopia. La formulación se perfundió lentamente y se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® sobre el lugar de la punción. Un mes después del tratamiento, hubo una mejora notable del rango de movimiento y la condrogénesis en el sitio de la lesión (FIG. 8B).

EJEMPLO COMPARATIVO 19Tratamiento de quiste dentígero

Paciente varón de 21 años que presenta leve hiperestesia y lesión osteolítica mandibular derecha. La radiografía mostró una lesión multilocular con rizólisis, cápsula definida y destrucción de la cortical externa e interna, que abarca el cuerpo y la rama ascendente de la mandíbula. Había un órgano dentario en desarrollo en posición ectópica, cerca del hueso basal mandibular con corona clínica y rizólisis en el tercio apical del segundo molar inferior derecho (FIGS. 9A-9B). Los tratamientos típicos incluyen marsupialización, posterior extracción de la cápsula quística, enucleación y cortado de la neoplasia, que tiene riesgo de recurrencia. el paciente acordó tratar su patología con la formulación 1.

Se administró anestesia local (Mepivacaína; 1 mL; 3%) por vía subdérmica en la región preauricular derecha después de la antisepsia con ESTERICIDE®. Posteriormente, se utilizó una aguja de aspiración para extraer 9 mL del líquido intraquístico. Luego, se perfundieron lentamente 2 ml de la formulación de la presente invención. Se aplicó un apósito protector de solución electrolizada de superoxidación y gel en el sitio de punción.

Siete días después del tratamiento, la radiografía reveló osteogénesis intra y extralesional y se observó reabsorción del hueso al cabo de un mes debido a la presencia del órgano dentario no erupcionado y la naturaleza multilocular de la lesión. Por lo tanto, se realizó una segunda aplicación de la formulación dos meses después de la primera aplicación. La tomografía siete días después mostró la regeneración del hueso cortical externo y el hueso esponjoso (FIGS. 9C-9D). Dos meses después del tratamiento, se realizó la extracción del diente no erupcionado junto con su cápsula quística y a los cinco meses, la tomografía mostró regeneración y remodelación de la lesión (FIGS. 9E-9F).

EJEMPLO COMPARATIVO 20Tratamiento de fractura mandibular bilateral, tumor odontogénico y quiste

Una mujer de 19 años con hipoxia cerebral perinatal y síndrome de Gorlin Goltz presentó una fractura mandibular bilateral, dos tumores odontogénicos queratoquísticos, tres odontomas (compuesto, complejo y quístico) y un quiste dentígero (FIG. 10A). Se recomendó la colocación de la placa de reconstrucción y el injerto de hueso ilíaco posterior junto con el legrado o enucleación de las lesiones quísticas restantes. Se obtuvo el consentimiento informado (Protocolo de Helsinki) para la formulación 1.

Bajo anestesia general, luego de antisepsia con ESTERICIDE®, se introdujo una aguja de aspiración con jeringa de 20 mL por vía intralesional en el tumor queratoquístico derecho, se extrajeron 4 mL de exudado seropurulento con presión negativa y la lesión se lavó con una solución antiséptica. Finalmente, se perfundieron 2 ml de la presente formulación en la lesión. A continuación, se introdujo una aguja de aspiración con una jeringa de 10 ml por vía intralesional en el quiste dentígero, se extrajeron por succión 2 ml de un líquido amarillento denso y se introdujo lentamente 1 ml de la formulación 1 en el quiste.

Para el tratamiento de los odontomas, se extrajo 1 ml de líquido serohemático de cada odontoma mandibular y se perfundieron lentamente 0,5 ml de la formulación en cada odontoma. El odontoma complejo, ubicado en el lado izquierdo de la maxilar superior, se trató con 1 mL de la formulación tras extracción de 0.5 ml de líquido serohemático.

- Finalmente, se colocó un apósito protector de solución electrolizada de superoxidación y gel en el sitio de la punción. Cinco días después del tratamiento, la radiografía reveló una consolidación completa de las fracturas y una clara evidencia de una disminución de las lesiones quísticas (FIGS.10B-10D). Se retiró el fijador y se realizó la enucleación del lado derecho de la cápsula queratoquística. Finalmente, se perfundió 1 ml de la presente formulación en la lesión y se aplicó un apósito protector de gel de solución superoxidada. El paciente fue monitorizado cinco meses después del tratamiento (FIGS. 10E-10F) y presentaba osteogénesis en el lado derecho de la mandíbula y tratamiento de fracturas, quiste dentígero, tumor odontogénico queratoquístico y odontomas.

EJEMPLO COMPARATIVO 21

Tratamiento de tumor odontogénico queratoquístico con áreas calcificadas

- Varón de 22 años que consulta por dolor en el espacio retromolar derecho y pericoronitis en el tercer molar. Las pruebas de laboratorio fueron normales, pero la radiografía panorámica mostró imágenes mandibulares difusas con regiones radiolúcidas y radiopacas en el cuerpo y la zona sinfisaria (FIG. 11A). El examen histopatológico reveló un tumor odontogénico queratoquístico congruente con el síndrome del carcinoma nevoide de células basales (Gorlin). El paciente accedió al tratamiento con la formulación 1.
- Después de la antisepsia con ESTERICIDE®, se aplicó anestesia local por bloqueo del nervio mandibular (1.8 mL de Dentocaína: Mepivacaína 36 mg, Efinefrina 18 mg). La lesión fue perforada con una aguja de aspiración entre la región del segundo premolar inferior y el primer molar. El abordaje extraoral se realizó por debajo del fondo del saco vestibular, evitando cualquier contacto con la cavidad bucal y realizando movimientos de rotación con la aguja hasta la penetración del hueso compacto vestibular. Después de la biopsia, la formulación se introdujo por vía intralesional y se perfundió lentamente. Finalmente, se colocó un apósito protector de gel de solución electrolizada antiséptica sobre la punción.

La tomografía a los siete días después del tratamiento (FIGS. 11B-11C) mostró regeneración de la trabécula mandibular sin aparición de áreas hipercalcificadas y aumento de la densidad ósea. Tres meses después del tratamiento, la tomografía (fig. 11D) mostró osteogénesis del hueso esponjoso sano en la lesión.

EJEMPLO COMPARATIVO 22

Tratamiento de ameloblastoma limítrofe con tumor odontogénico calcificante

- Un paciente de 26 años presentó parestesia, un ameloblastoma plexiforme uniuquístico limítrofe de la mandíbula y un tumor odontogénico quístico calcificante en hemimandíbula derecho (FIG. 12A). El paciente accedió al tratamiento con la formulación 1.
- El tratamiento se realizó bajo anestesia de bloqueo nervioso bilateral con Mepivacaína al 3% tras antisepsia con ESTERICIDE®. Se insertó una aguja con jeringa por vía intralesional, vía un abordaje percutáneo metálico y submentoniano, para la aspiración de 37 mL de exudado serohemático. Con el mismo procedimiento se inyectaron 4 mL de la formulación: 2 mL en el dorso del tumor y 2 mL en el área mentoniana del tumor perfundiendo en todos los lóculos intralesionales para llegar al perímetro de la lesión.
- Tres días después, se extrajeron 20 mL de exudado intralesional como se describió anteriormente. Siete días después del tratamiento, la tomografía (FIGS. 12B-12C) mostró una notable regeneración ósea, incluidos puentes óseos y hueso cortical externo. Tres días después, se extrajeron 3 ml de exudado intralesional y se realizó una segunda aplicación de la presente formulación como se describió anteriormente. La radiografía cinco días después no mostró metástasis, pero poca reabsorción del hueso neoformado y no se observó más osteogénesis. Por el contrario, se observó que una cápsula tumoral dentro de las estructuras dentoideas y las espículas óseas se extendía sobre la lesión (FIG.12D). La cápsula se retiró después de un mes y se realizó una tercera aplicación intralesional de la presente formulación (2 mL). Un mes después, las tomografías mostraron osteogénesis en la lesión (FIG.12E). Tres meses después de la tercera aplicación de la presente formulación, se observó una notable osteogénesis (95%) (FIGS. 12F-12G).

EJEMPLO COMPARATIVO 23

Tratamiento de tumor de Gorlin

- Varón de 17 años que presenta una lesión quística compuesta por una calcificación dentoide dentro de una cápsula quística bien formada, ubicada en la región apical y media de los premolares inferiores izquierdos, congruente con un tumor de Gorlin (FIG. 13A). El tratamiento incluye la enucleación de la cápsula quística pero el paciente aceptó el tratamiento con la formulación 1.
- Después de la antisepsia con ESTERICIDE®, se administró anestesia local por bloqueo del nervio mandibular (Mepivacaína; 1 mL; 3%). Luego, 1 ml de la formulación se perfundió lentamente por vía intralesional. Finalmente, se colocó un apósito protector de una solución electrolizada antiséptica y un gel sobre el lugar de la punción. Siete días después del tratamiento, una radiografía periapical mostró una completa regeneración ósea de la zona lesionada con ausencia de un contorno quístico periférico (reabsorción de la cápsula) junto con una formación normal de hueso trabecular (FIG.13B).

EJEMPLO COMPARATIVO 24Tratamiento de tumor odontogénico queratoquístico

Un varón de 20 años presentó un quiste mandibular. La radiografía mostró una lesión lítica multilocular mandibular en el lado derecho con líquido intralesional, que comprende la rama ascendente, cuerpo, cóndilo, apófisis coronoides y premolares (FIGS. 14A-14B). Un tumor odontogénico queratoquístico después de la biopsia, y el paciente aceptó el tratamiento con la formulación 1.

El paciente recibió anestesia por bloqueo del nervio mandibular (Mepivacaína; 1 mL; 3%) y antisepsia con ESTERICIDE®. Posteriormente, se utilizó una aguja de aspiración para extraer por aspiración negativa 25 mL de contenido intraquístico ceroso marrón. Luego, se perfundieron lentamente por vía intralesional 2 mL de la formulación. Finalmente, se colocó un apósito protector de gel electrolizado sobre el lugar de la punción cerrado con una puntada. Tres días después del tratamiento, la tomografía mostró una regeneración completa del hueso cortical y esponjoso (FIGS. 14C-14E).

Ochenta días después del tratamiento, la cara interna del cóndilo mostró regeneración parcial, por lo que se extrajeron 8 mL de un exudado marrón oscuro y se realizó una segunda aplicación de la formulación. Siete días después del tratamiento, la tomografía mostró erradicación completa de la lesión quística y osteogénesis con regeneración de los tejidos lesionados (FIGS. 14F-14G).

EJEMPLO COMPARATIVO 25Tratamiento del quiste óseo aneurismático recurrente

Un varón de 13 años presentó un quiste óseo aneurismático recurrente en la mandíbula. El paciente tuvo dos cirugías previas por lo que se realizó una osteotomía para cubrir el defecto óseo anterior. La tomografía inicial mostró una lesión lítica de la apófisis condiloide de la mandíbula y una región quística multilocular (sin márgenes bien definidos) de hipodensidad ósea en la rama ascendente derecha (FIG. 15A). Su segunda tomografía multiplanar con reconstrucción (FIG. 15B) mostró una miniplaca de titanio (2.0 mm) con tornillos para sujetar la osteotomía cortical y una lesión multilocular recurrente. El tratamiento típico incluye resección en bloque de la rama ascendente derecha y reconstrucción adicional con hueso autólogo revascularizado de la cresta ilíaca. Los padres del paciente aceptaron el tratamiento con la formulación 1.

Debido a la edad del paciente, el procedimiento se realizó bajo anestesia general luego de antisepsia con ESTERICIDE®. Se insertó una aguja de aspiración por vía percutánea e intralesional en la fosa temporal para la aspiración de 10 mL de exudado hemático. A continuación, se inyectaron 2 mL de la formulación 1 mediante punción intralesional.

Finalmente, se colocó un apósito protector de una solución electrolizada antiséptica en gel sobre los puntos de punción. Seis días después del tratamiento, la monitorización radiográfica del paciente mostró que la cortical externa de la lesión quística había cicatrizado por completo y la presencia de crecimiento óseo (FIGS. 15C-15D).

EJEMPLO COMPARATIVO 26Tratamiento del fibroma osificante mandibular

Mujer de 35 años que presentó parestesia por fibroma osificante mandibular central de ocho meses. La lesión fue un aumento del hueso cortical sin daño a la mucosa oral. La radiografía reveló migración dentaria y volumen característico de las tablas óseas externas, áreas óseas hiperdensas con nódulos calcificantes y regiones hipodensas con lóculos aparentemente llenos de líquido (FIGS. 16A-16C). El tratamiento recomendado es una cirugía de resección en bloque, pero el paciente aceptó el tratamiento con la formulación 1.

Después de la antisepsia con ESTERICIDE®, se administró anestesia local bilateral por bloqueo del nervio mandibular (Mepivacaína; 1 mL; 3%). Posteriormente, se utilizó una aguja de aspiración para extraer 2 mL de líquido serohemático por aspiración negativa. Luego, 3 mL de la formulación se perfundieron lentamente por vía intralesional. Finalmente, se colocó un apósito protector de gel y solución electrolizada antiséptica sobre el lugar de la punción. Tres días después del tratamiento se realizó una segunda aplicación de la formulación 1. Seis días después del tratamiento, la parestesia desapareció y la tomografía mostró osteogénesis en los lóculos (FIG. 16D). Treinta y cinco días después del tratamiento, la tomografía mostró disminución del volumen de la lesión (FIGS. 16E-16F).

EJEMPLO COMPARATIVO 27Tratamiento de quiste globulomaxilar

Una mujer de 25 años presentó un quiste globulomaxilar y una lesión de baja densidad en el lado izquierdo de la premaxila (FIG. 17A). El tratamiento convencional para este tipo de lesión es la enucleación quirúrgica que tiene riesgo de recurrencia. Después de obtener el consentimiento informado (protocolo de Helsinki), se administró la formulación 1

Después de la antisepsia con ESTERICIDE®, Se administró bloqueo del nervio infraorbitario (1.8 mL de Dentocaína®: Mepivacaína 36 mg, epinefrina 18 mg) y anestesia palatino-anterior (1.8 mL de Dentocaína® simple). Posteriormente, la lesión fue perforada percutáneamente a través del labio superior y se extrajeron 6 mL de líquido marrón amarillento por aspiración negativa. Luego, se perfundieron lentamente por vía intralesional 2 ml de la formulación. Se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE®, en los sitios de punción. Siete días después del tratamiento, la tomografía del paciente mostró una osteogénesis inicial dentro de la lesión quística. La radiografía 14 días después del tratamiento revela la desaparición de la lesión y mejora del crecimiento óseo sobre la lesión quística (FIG. 17B). 65 días después del tratamiento, hubo osteogénesis completa dentro de la lesión quística original (FIGS. 17C-17D).

EJEMPLO COMPARATIVO 28

10 Tratamiento de quiste dentígero periférico en el diente 13

Un niño de 9 años presentó un quiste dentígero periférico en el diente 13 y la radiografía mostró una lesión quística. El paciente accedió al tratamiento con la formulación 1.

Bajo sedación y anestesia local y antisepsia con ESTERICIDE®, se insertó una aguja de aspiración por vía intralesional y se extrajeron 3 mL de un líquido denso amarillento por aspiración negativa. Luego, se perfundieron lentamente por vía intralesional 2 ml de la formulación. Finalmente, se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE®, en el lugar de la punción. Un mes después del tratamiento, la radiografía mostro osteogénesis dentro de la lesión quística original (FIG. 18B).

EJEMPLO COMPARATIVO 29

20 Detección de células madre en el líquido intralesional de ameloblastoma limítrofe tratado y comparación con cultivos de células madre obtenidos de pulpa dental

Las células madre se obtuvieron de pulpa dental bajo metodologías convencionales y se cultivaron en placas de Petri (35 mm x 10 mm) en medio de cultivo DMEM (FIG. 19A). Las células madre del ameloblastoma se purificaron mediante filtración y centrifugación del fluido intralesional y se cultivaron en las condiciones anteriores. Las células obtenidas mostraron una morfología típica de células madre (FIG. 19B).

Se cultivó un número igual de células madre purificadas (1 mL), como se describió previamente, en tres placas de Petri separadas y se añadió 1 mL de medio DMEM. Luego, se agregaron 5 µL / mL de la formulación 1 de la presente invención a la primera placa, se agregaron 5 µL / mL de la formulación 2 a la segunda placa y la tercera placa no recibió tratamiento. Después de dos semanas, hubo una proliferación significativa de las células en la placa uno (FIG. 19C), diferenciación aparente de las células en la placa dos en condrocitos (FIG.19D) y una cantidad modesta de células con la morfología fibroblastoide típica en la placa de control (FIG. 19E). Así, este experimento demostró que la formulación induce una proliferación significativa de células en un corto período de tiempo e inducen un cambio en el linaje celular.

EJEMPLO COMPARATIVO 30

Tratamiento para la estimulación del crecimiento de cabello

Varón de 72 años que presentó alopecia parcial en zona occipitoparietal (FIG. 20A). El paciente accedió al tratamiento con la formulación 1. Bajo anestesia local y antisepsia con ESTERICIDE®, se insertó una aguja de aspiración por vía intradérmica en diferentes áreas del cuero cabelludo y se perfundieron 1.5 mL de Formulación 1 de adentro hacia afuera, con el fin de estimular ambos nichos celulares y cubriendo el 15% del área de alopecia. Finalmente, se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® en los sitios de punción. Diez días después del tratamiento, se observó el crecimiento del cabello (FIG. 20B). Se administró una segunda aplicación de la formulación 20 días después del tratamiento. Por tanto, la formulación estimula el crecimiento del cabello y trata la caída del cabello. Además, como se ilustra en la FIG. 20B, el color del cabello del paciente se oscureció después del tratamiento con la formulación de la presente invención y, por lo tanto, esta formulación puede usarse para estimular la pigmentación del folículo piloso.

Un paciente diabético controlado de 62 años de edad se presentó con alopecia hormonal de quince años (FIG.21A). El paciente estuvo de acuerdo con el tratamiento con la formulación 2 de la presente invención.

Luego de la antisepsia con ESTERICIDE® se insertó intradérmicamente una aguja de aspiración en diferentes áreas del cuero cabelludo y se perfundieron 1.5 mL de la formulación 2 de adentro hacia afuera, con el fin de estimular ambos nichos celulares y cubriendo el área de la alopecia aplicando la formulación 2, cada 2- 5 cm. Finalmente, se aplicó un apósito protector de gel ESTERICIDE® en los sitios de punción. La formulación se aplicó semanalmente. 35 días después del tratamiento, se observó claramente el crecimiento del cabello (FIG. 21B). Un segundo tratamiento, como se describió anteriormente, se administró 30 días después del tratamiento en áreas remanentes de alopecia (FIG. 21C). Se puede aplicar un tercer tratamiento uno o dos meses después, dependiendo de los resultados observados.

"Estimular el crecimiento del cabello" incluye estimular un aumento en la masa y/o longitud total del cabello. Dicho aumento incluye mayor longitud y/o tasa de crecimiento de los tallos del cabello (es decir, folículos), mayor número de pelos y/o mayor grosor del cabello. También se debe considerar que "estimular el crecimiento del cabello" incluye prevenir, detener,

5 disminuir, retrasar y/o revertir la caída del cabello, tal como podría ocurrir en, pero sin limitarse a, alopecia parcial o alopecia hormonal. Como es fácilmente evidente, la presente invención se dirige además a un método para estimular el crecimiento del cabello y/o reducir la caída del cabello en un sujeto que necesita dicho tratamiento, que comprende el paso de poner en contacto el cuero cabelludo con una formulación que comprende un corticosteroide y al menos un ácido orgánico o un corticosteroide y un análogo de insulina.

EJEMPLO 31

Tratamiento de la fístula septal resultante de una rinoseptoplastia defectuosa

10 Paciente de sexo femenino de 22 años que se presentó con una rinoseptoplastia de dos años y una fístula septada (FIG. 22A). Ella aceptó el tratamiento con la formulación 2 de la presente invención. El tratamiento se realizó después de la antisepsia con antiséptico ESTERICIDE®, instilando la formulación 2 en ambas fosas nasales. Dos gotas en cada fosa nasal, cada 12 horas diarias hasta la resolución del defecto. Siete días después del tratamiento, la tomografía mostró condrogénesis y regeneración parcial del defecto (FIG. 22B). Quince días después del tratamiento, se observó reducción del 50% del tamaño de la fístula (FIG. 22C), concomitante con la formación de puentes de cartílago y recuperación de la anatomía del septo (FIGS. 22D-22E).

REIVINDICACIONES

1. Formulación, que comprende:

un corticosteroide, e

insulina lispro en una cantidad de 0,000115 µg/mL a 0,00345 µg/mL.

5

2. Formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho corticosteroide es dexametasona, cortisol, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona o acetato de desoxicorticosterona.

10

3. Formulación de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicha dexametasona está contenida en dicha formulación en una cantidad de 0,5 mg/mL a 10 mg/mL.

15

4. Formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha formulación es una composición farmacéutica.
5. Formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para usarse en la estimulación del crecimiento de hueso.
6. Formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para usarse en la estimulación del crecimiento de cartílago.



FIG. 1A

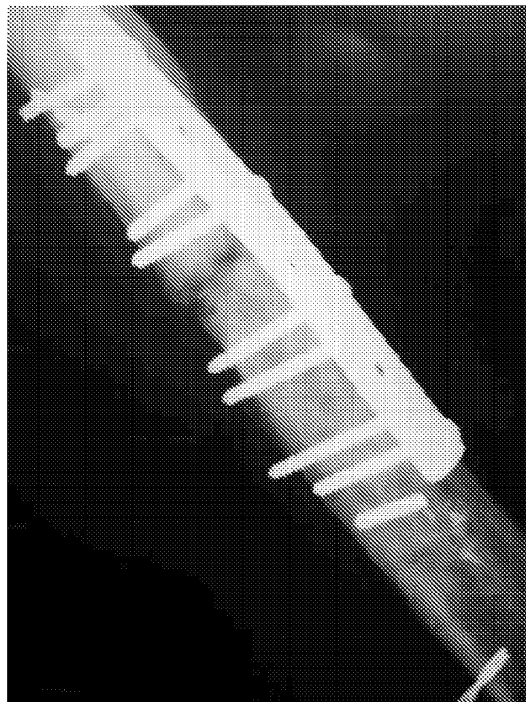


FIG. 1B

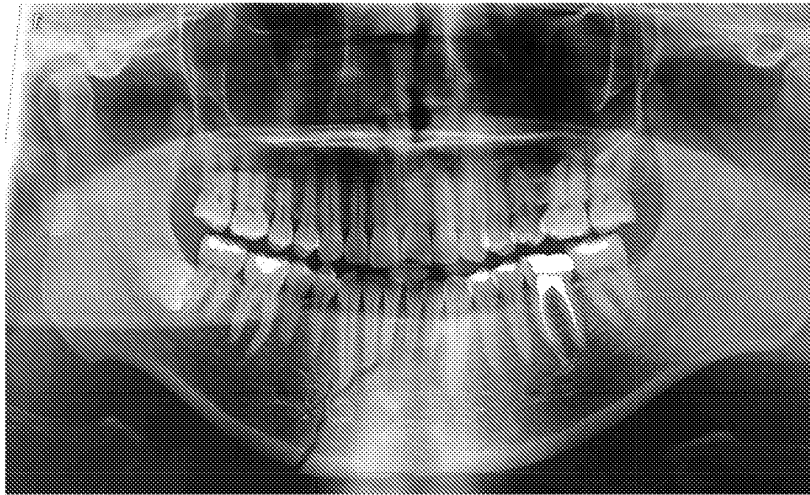


FIG. 2A

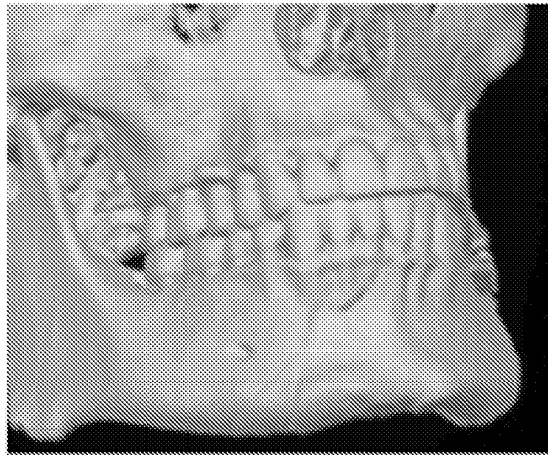


FIG. 2B



FIG. 2C

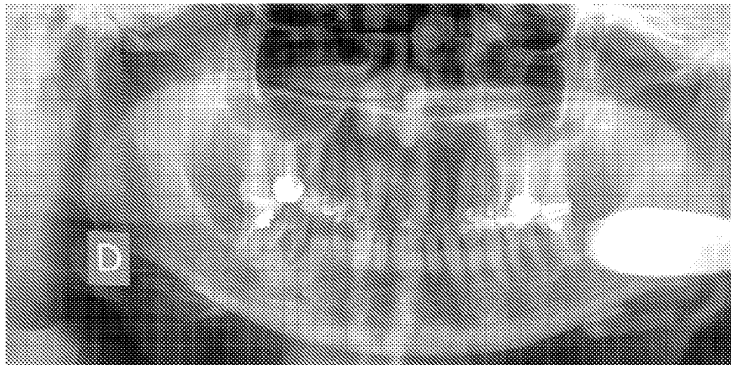


FIG. 3A

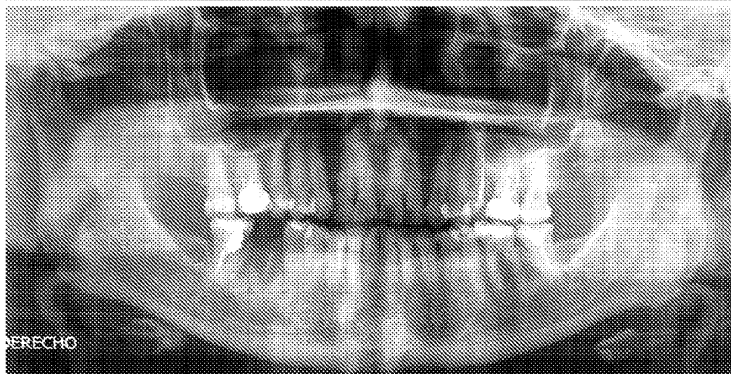


FIG. 3B

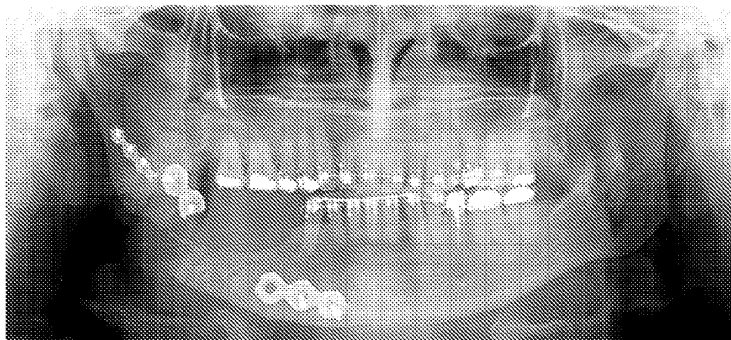


FIG. 4A

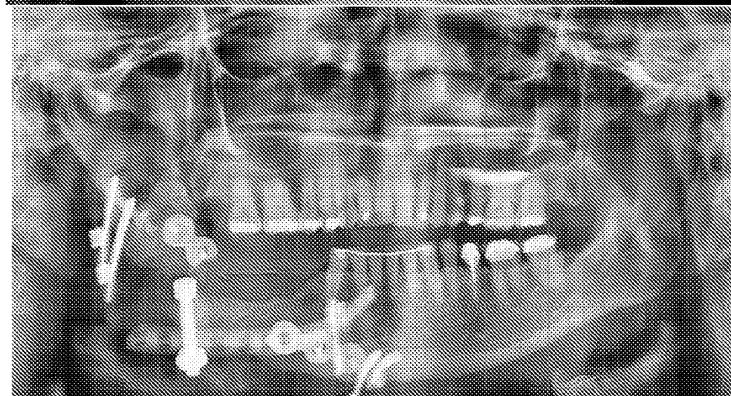


FIG. 4B

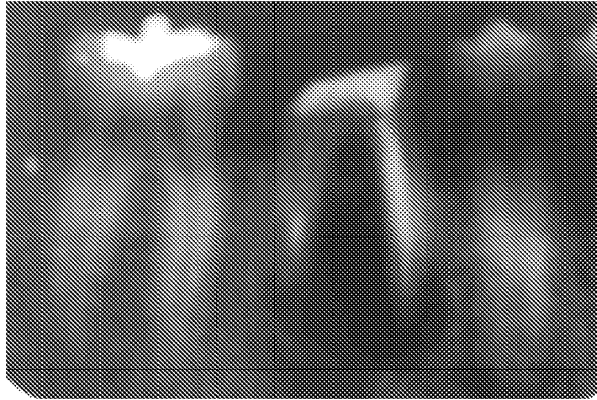


FIG. 5A



FIG. 5B



FIG. 5C

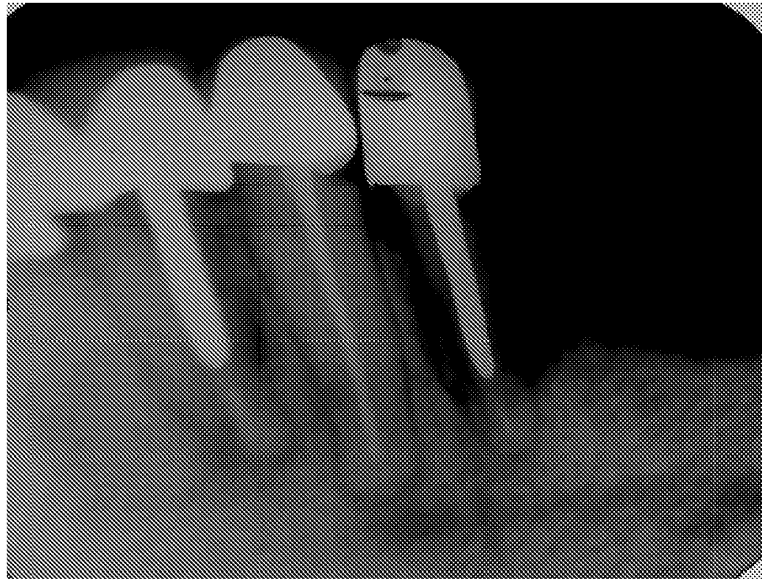


FIG. 6A

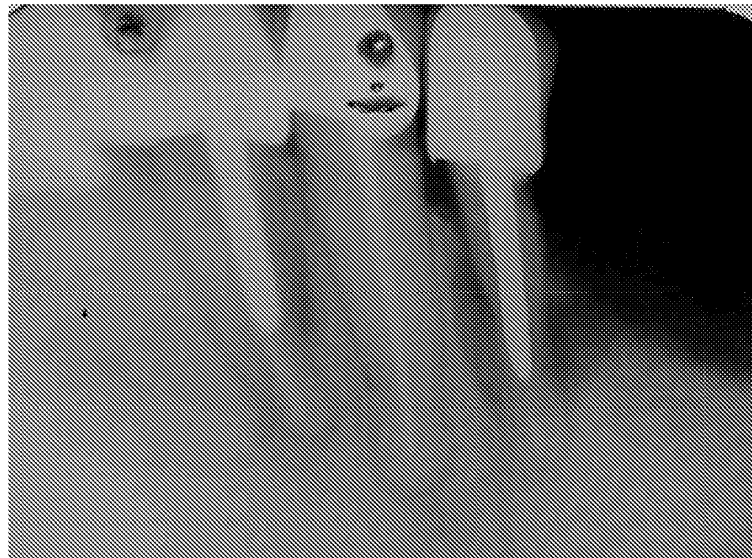


FIG. 6B



FIG. 7A

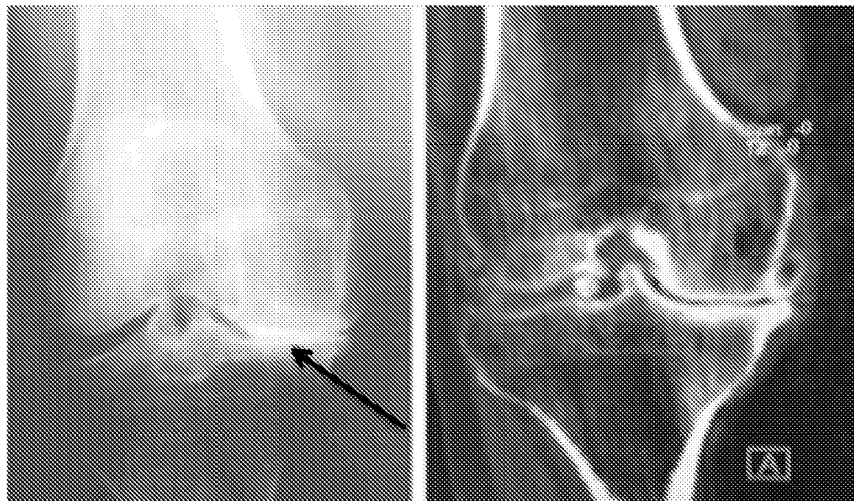


FIG. 7B

FIG. 7C

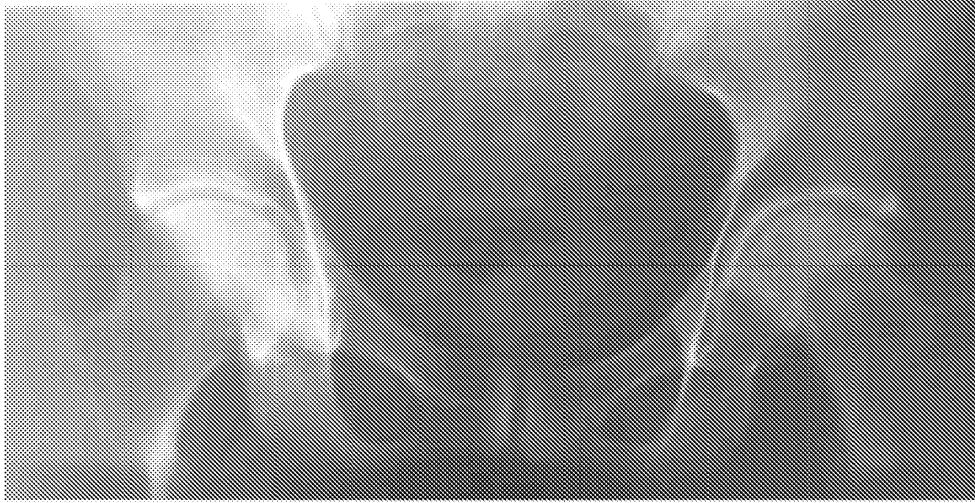


FIG. 8A

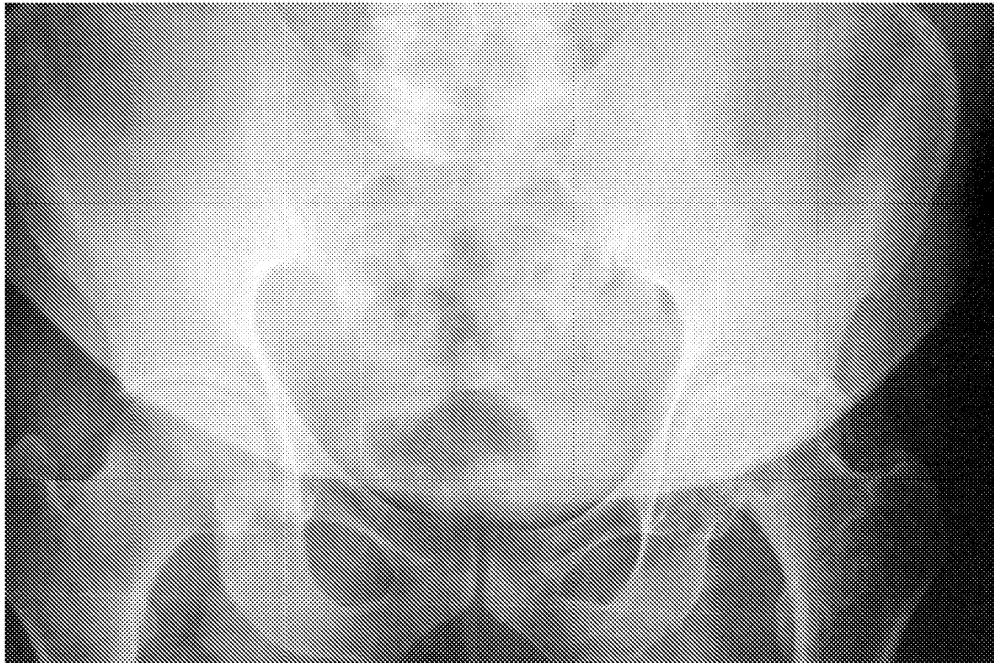


FIG. 8B

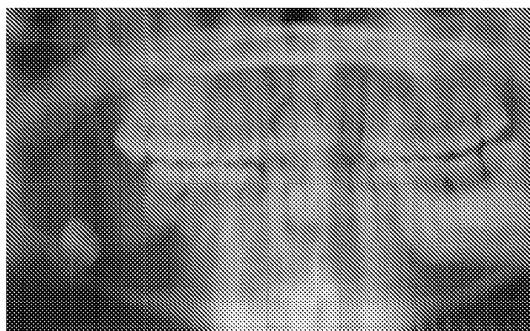


FIG. 9A

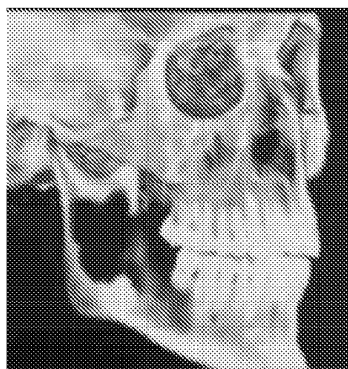


FIG. 9B

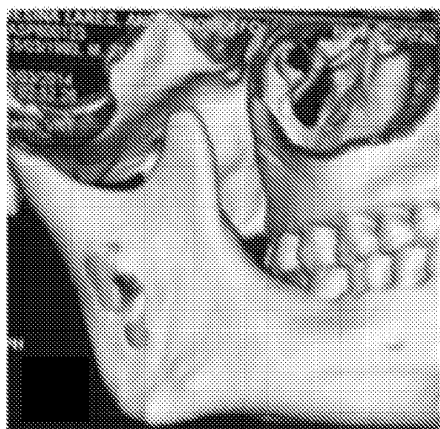


FIG. 9C

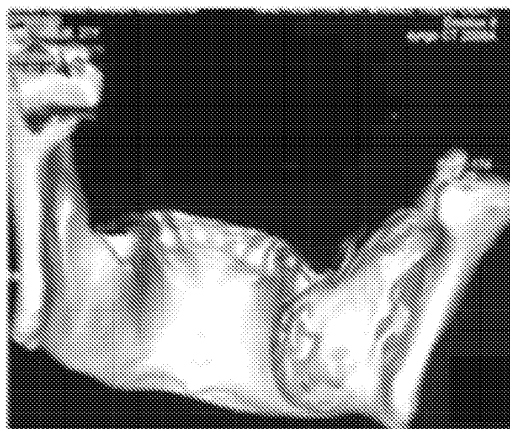


FIG. 9D

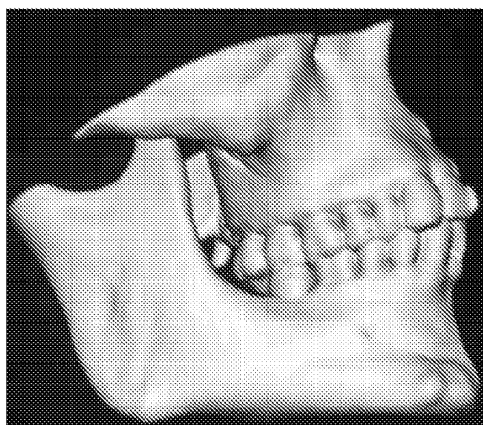


FIG. 9E

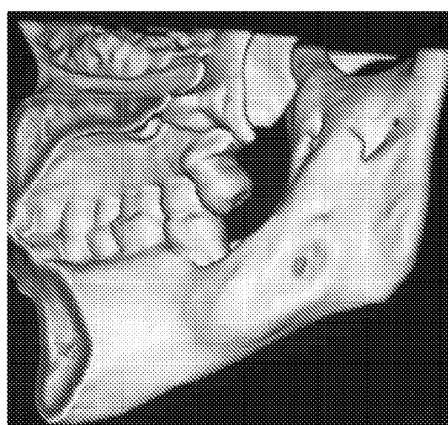


FIG. 9F

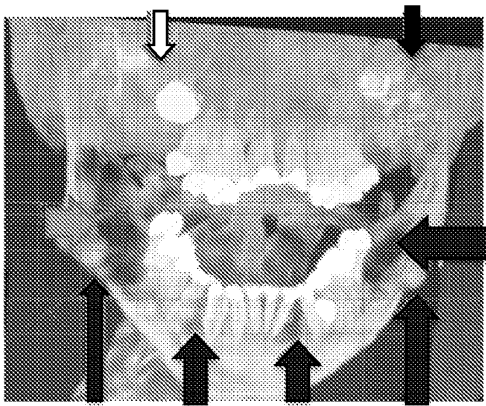


FIG. 10A



FIG. 10B

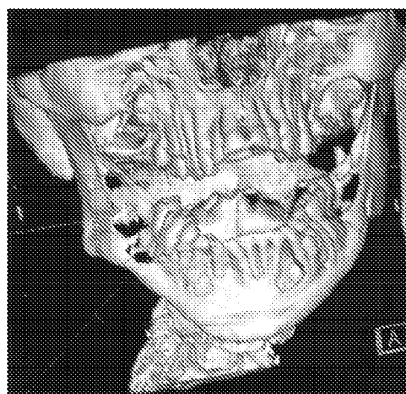


FIG. 10C

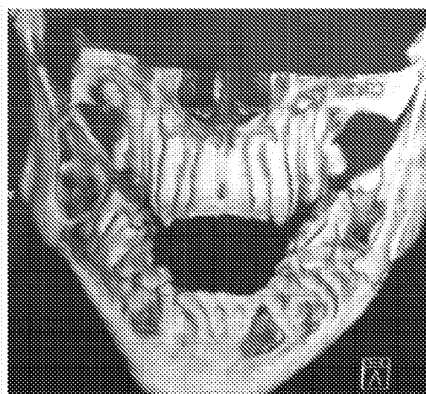


FIG. 10D

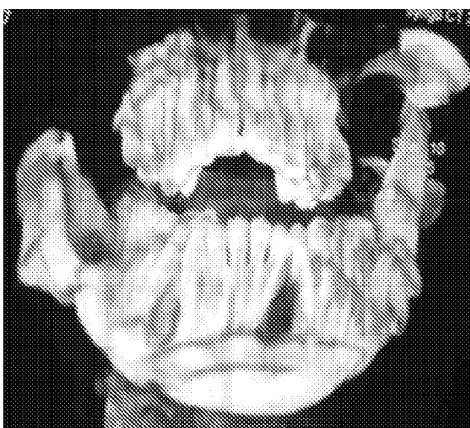


FIG. 10E

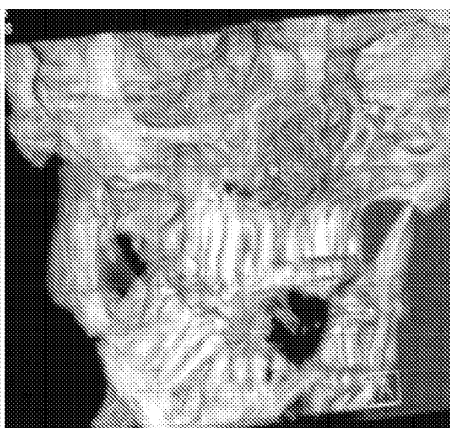


FIG. 10F

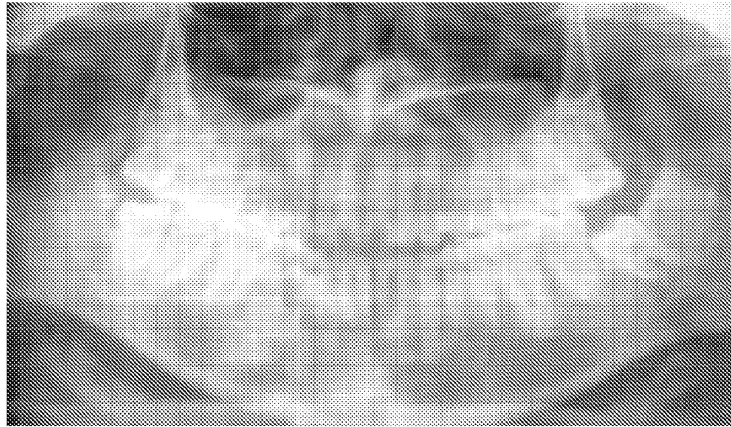


FIG. 11A

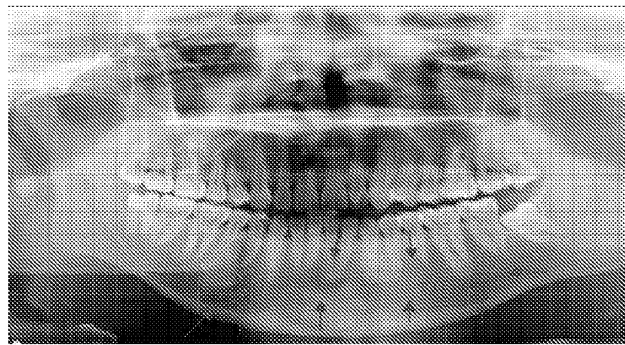


FIG. 11B

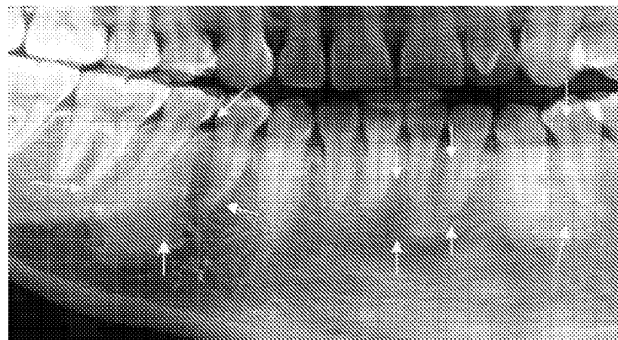


FIG. 11C

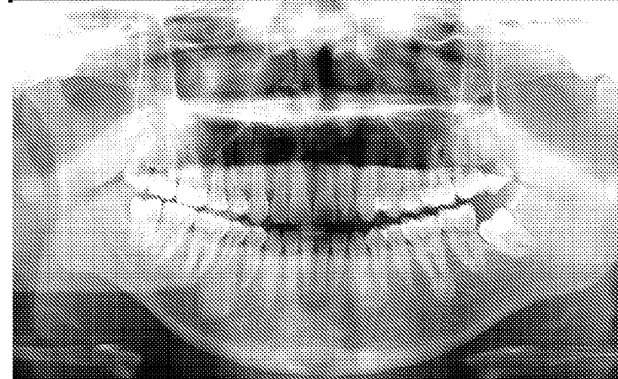


FIG. 11D

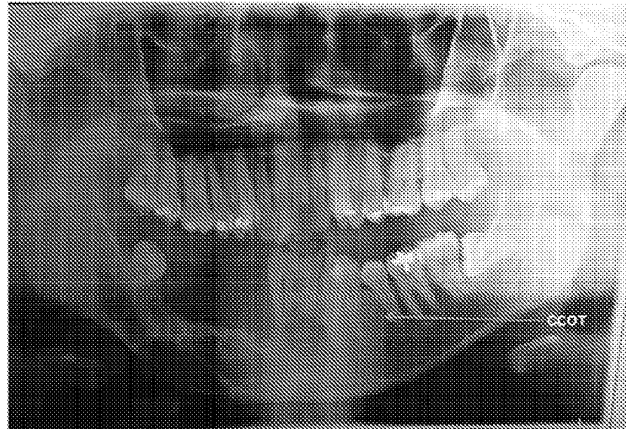


FIG. 12A

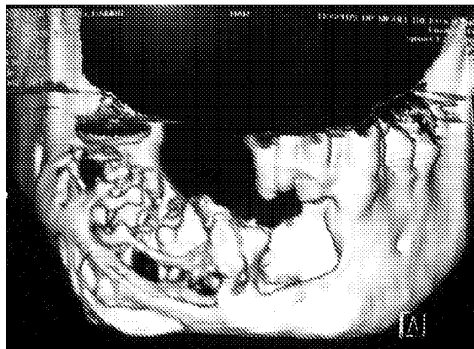


FIG. 12B

FIG. 12C

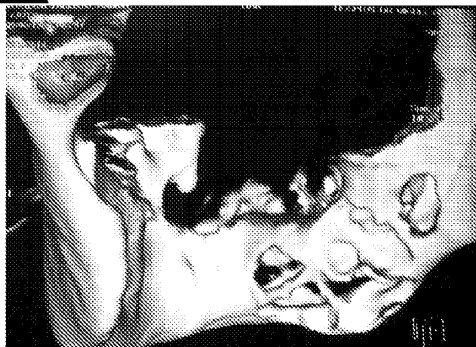
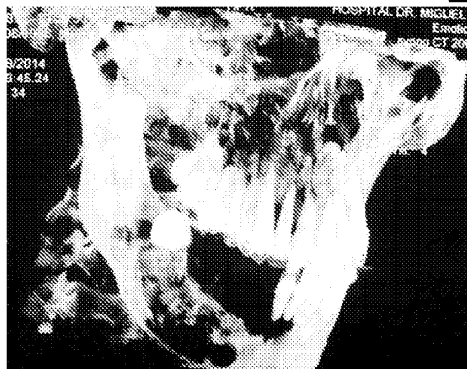


FIG. 12D

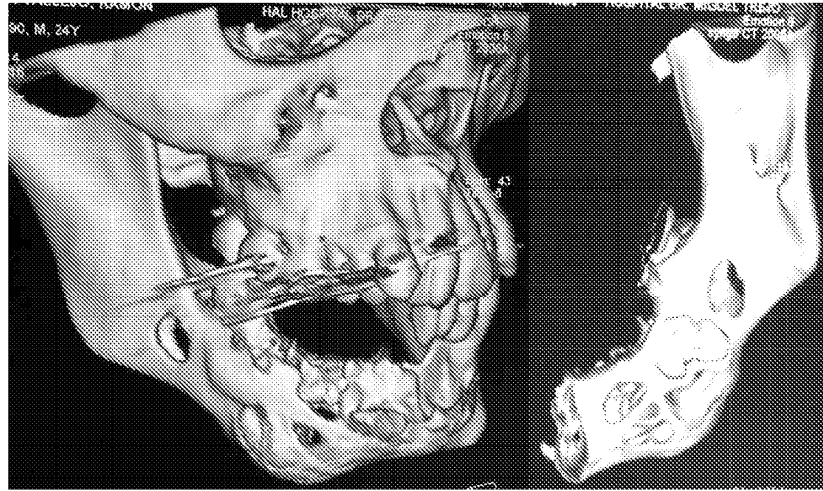


FIG. 12E

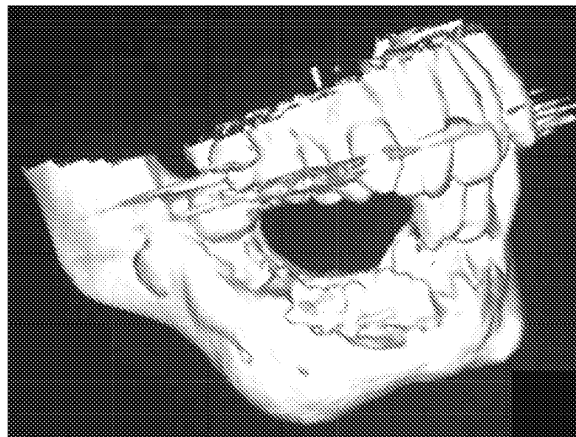


FIG. 12F

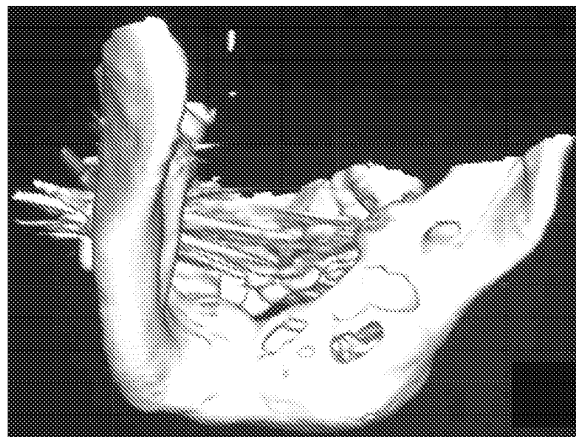


FIG. 12G

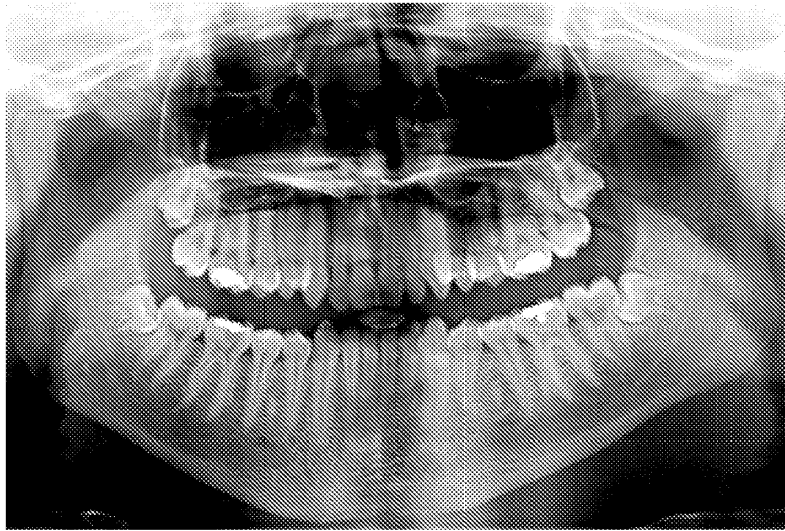


FIG. 13A

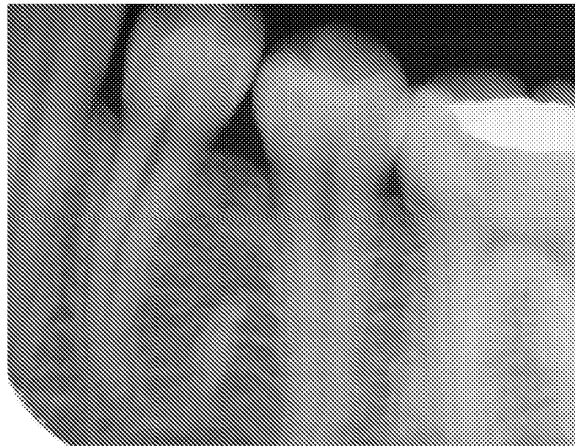


FIG. 13B

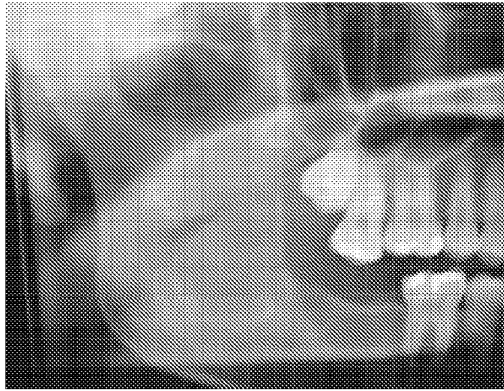


FIG. 14A



FIG. 14B



FIG. 14C

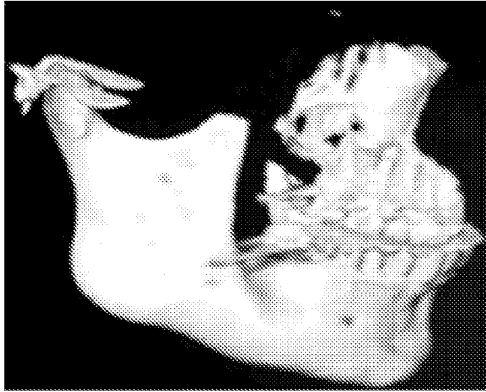


FIG. 14D



FIG. 14E

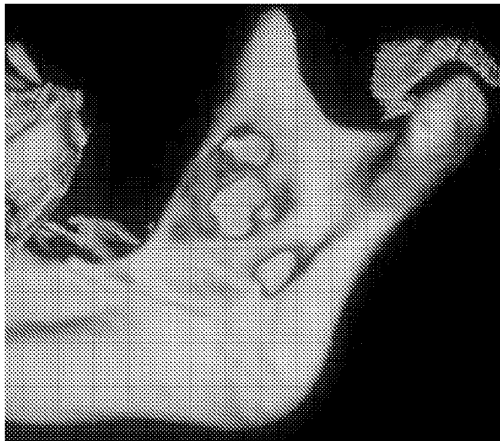


FIG. 14F



FIG. 14G

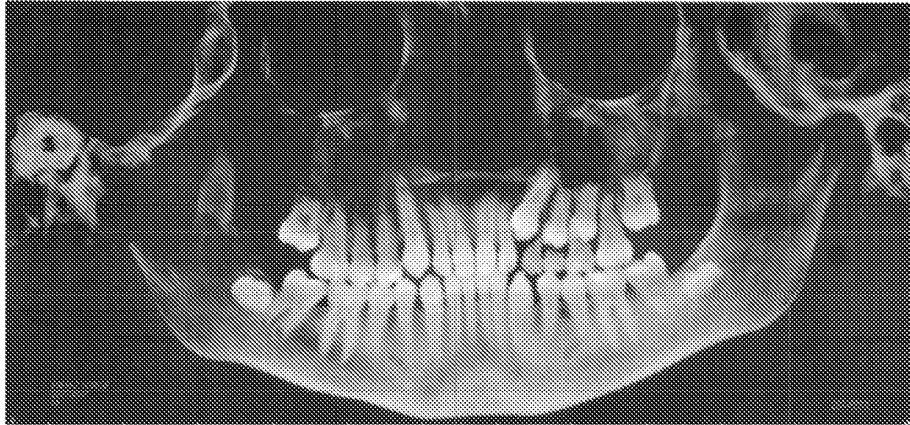


FIG. 15A

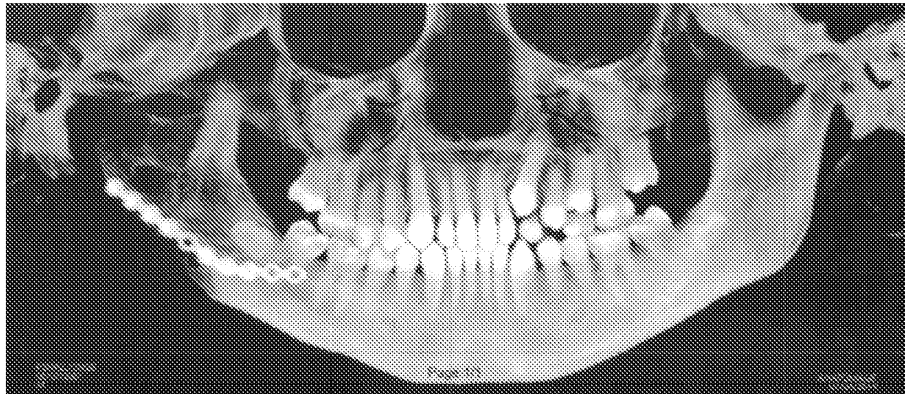


FIG. 15B

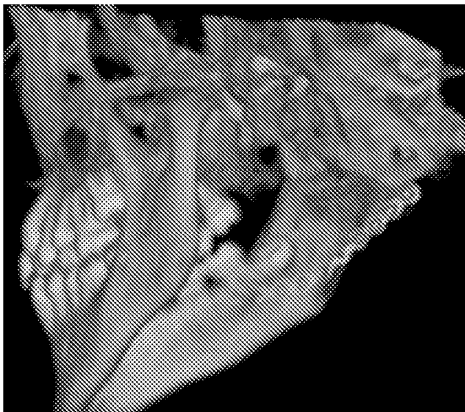


FIG. 15C

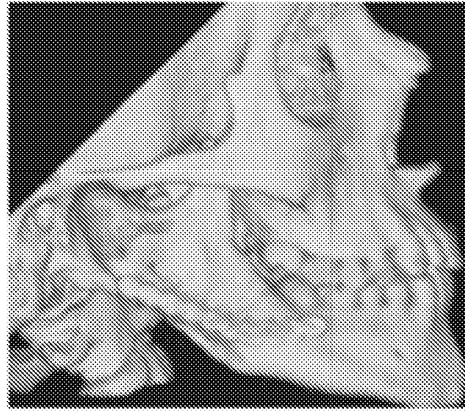


FIG. 15D

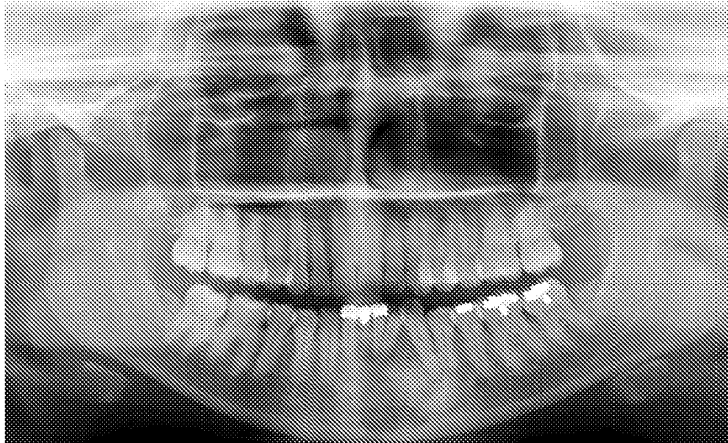


FIG. 16A

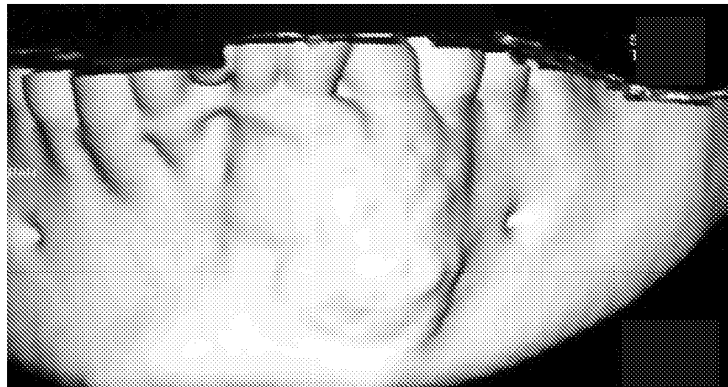


FIG. 16B

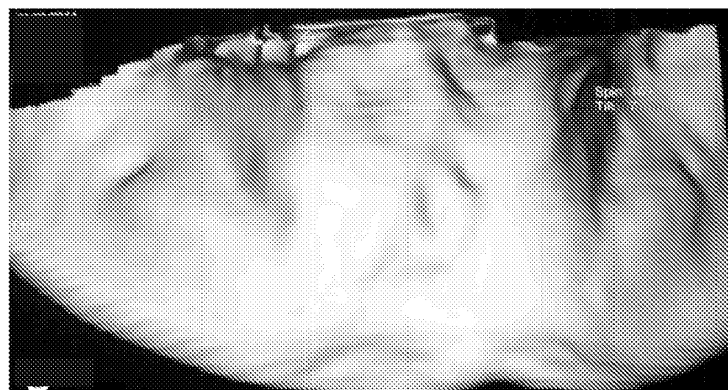


FIG. 16C



FIG. 16D

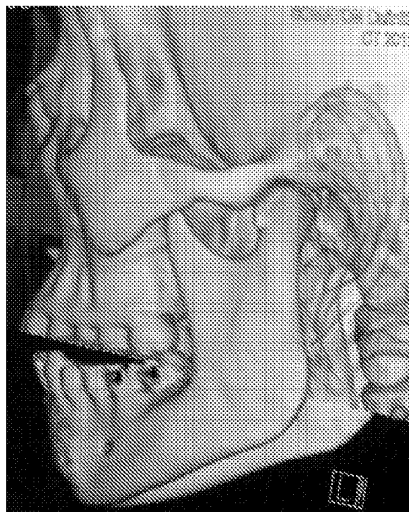


FIG. 16E

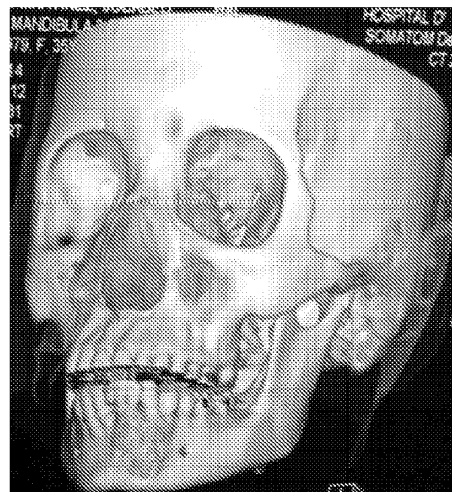


FIG. 16F

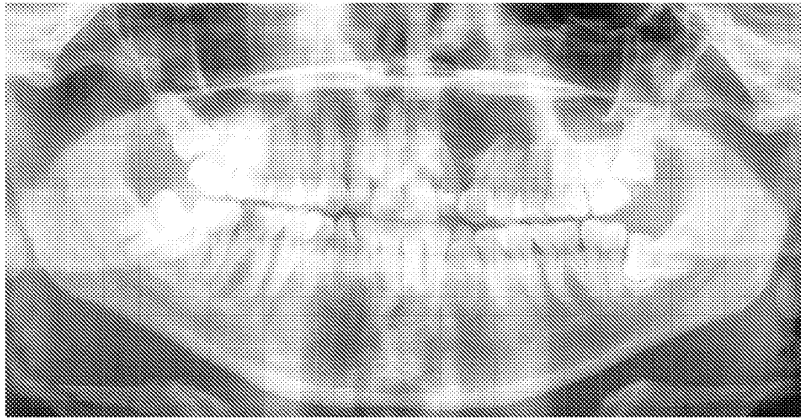


FIG. 17A

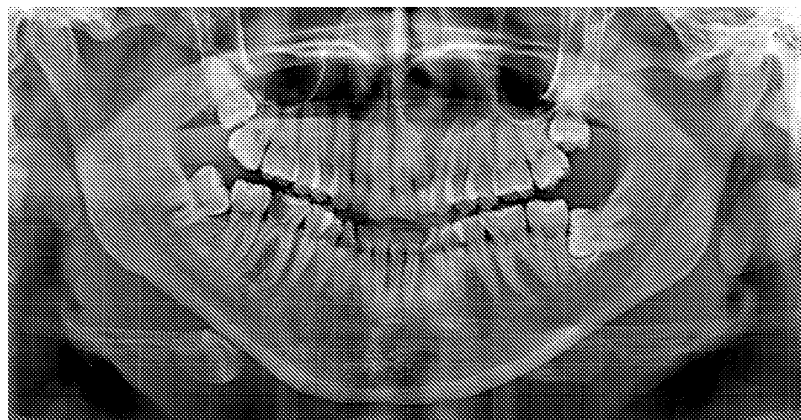


FIG. 17B

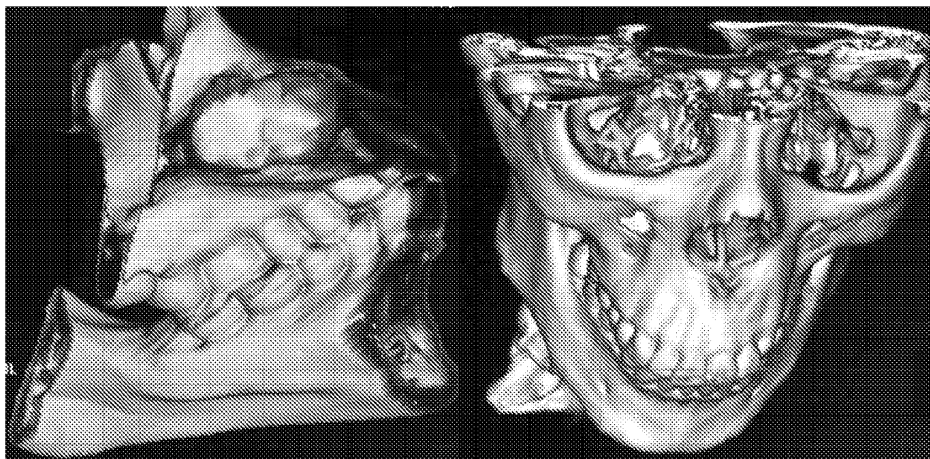


FIG. 17C

FIG. 17D

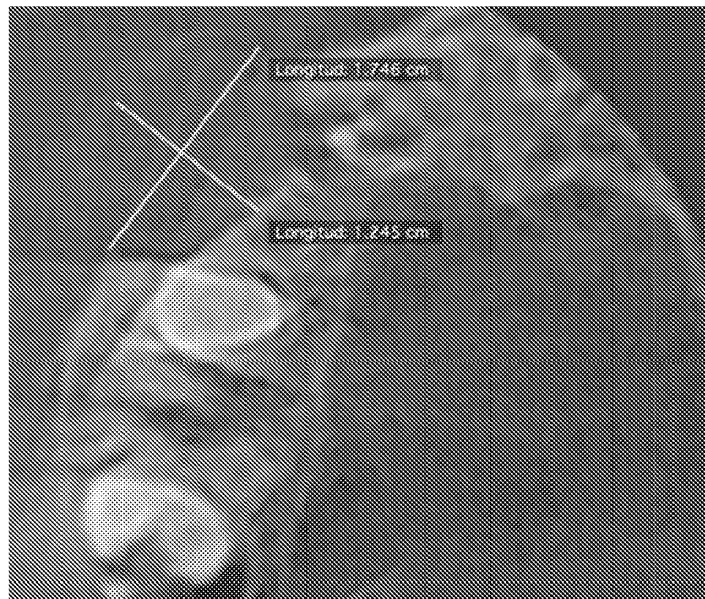


FIG. 18A

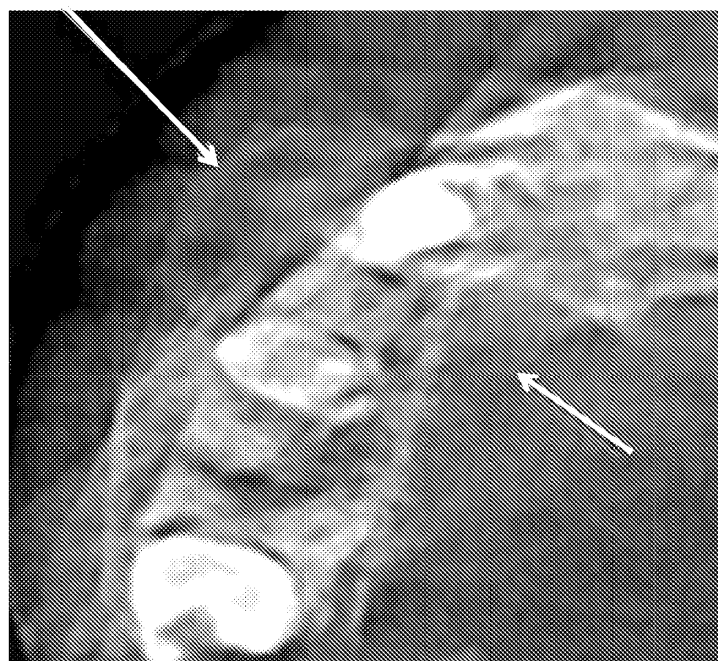


FIG. 18B

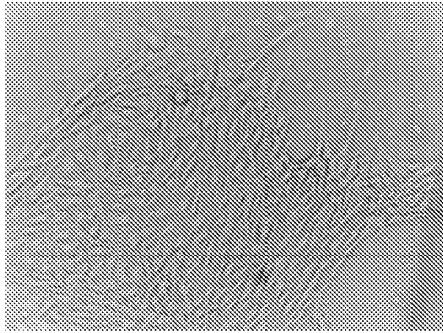


FIG. 19A

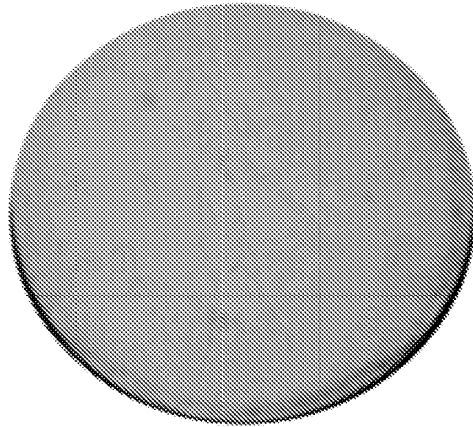


FIG. 19B

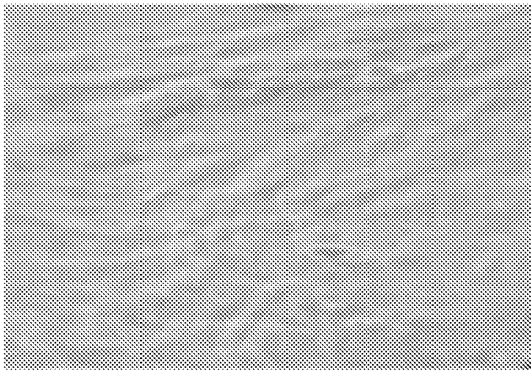


FIG. 19C

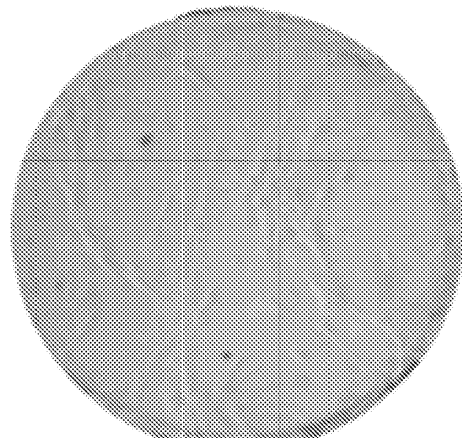


FIG. 19D

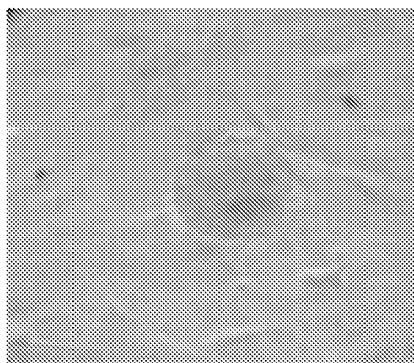


FIG. 19E

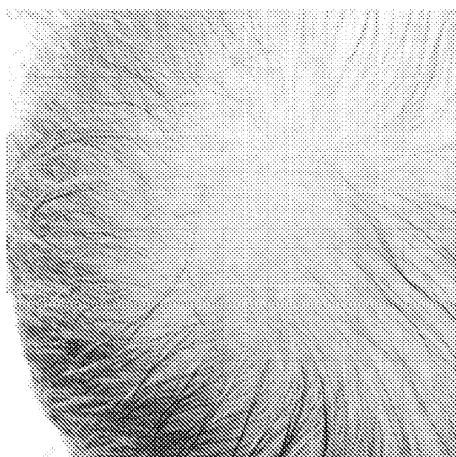


FIG. 20A

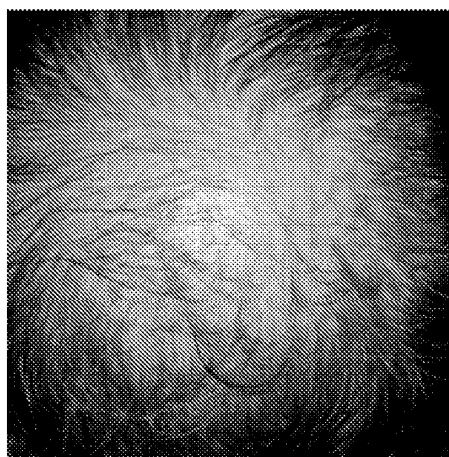


FIG. 20B



FIG. 21A

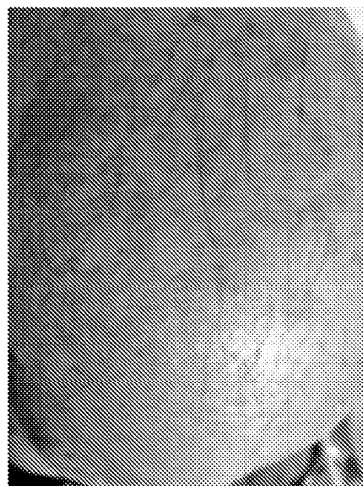


FIG. 21B



FIG. 21C

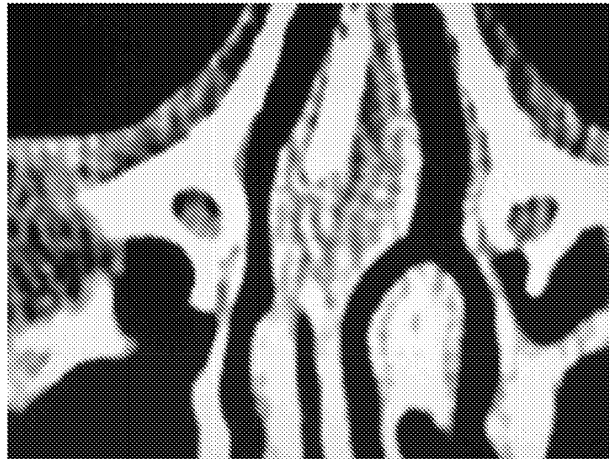


FIG. 22A



FIG. 22B



FIG. 22C

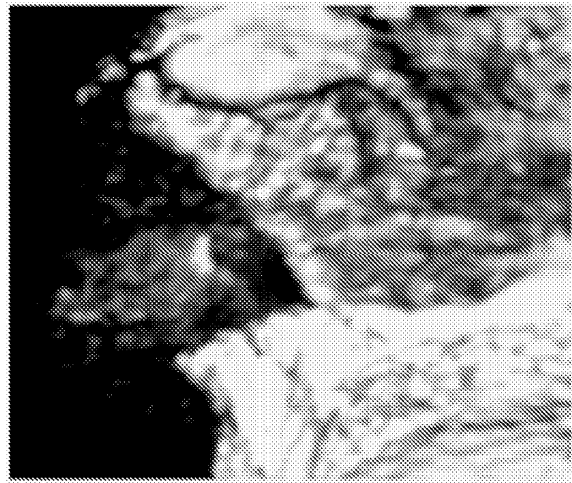


FIG. 22D



FIG. 22E