

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 594**

51 Int. Cl.:

A61L 31/16 (2006.01)

A61L 31/02 (2006.01)

A61F 2/06 (2013.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.10.2007 E 07839691 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2014 EP 2086606**

54 Título: **Endoprótesis liberadora de fármacos y método de uso**

30 Prioridad:

20.10.2006 US 853077 P

23.03.2007 US 690768

21.05.2007 US 751268

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

15.07.2014

73 Titular/es:

BIOSENSORS INTERNATIONAL GROUP, LTD.

(100.0%)

Clarendon House, 2 Church Street

Hamilton HM 11, BM

72 Inventor/es:

SAVAGE, DOUGLAS R.;

SHULZE, JOHN E.;

BETTS, RONALD E.;

FARIABI, SEPEHR y

SU, SHIH-HORNG

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 476 594 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

Endoprótesis liberadora de fármacos y método de uso

5 Campo técnico

La presente aplicación tiene relación con una endoprótesis que incluye una superficie texturizada o erosionada y un método de fabricación de la endoprótesis.

10 Antecedentes

15 Complicaciones como la restenosis son un problema recurrente en los pacientes que han recibido tratamiento contra la arteriosclerosis en forma de intervenciones médicas como la angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP). La restenosis se suele tratar mediante una intervención conocida como implantación de endoprótesis, en la que se coloca por medios quirúrgicos un dispositivo médico en la arteria afectada con el fin de impedir que se ocluya después de la intervención.

20 La endoprótesis suele tener una forma cilíndrica y está hecha de un metal biocompatible, como el cobalto cromo o el acero quirúrgico. La mayoría de las endoprótesis son colapsables y se llevan hasta la arteria ocluida por medio de un catéter transluminal. La endoprótesis se anexa al catéter y puede autoexpandirse o expandirse mediante el inflado de un globo dentro de ella que después se retira con el catéter una vez colocada la endoprótesis.

25 La complicaciones que pueden surgir del tratamiento con endoprótesis son la restenosis y la trombosis. Para intentar superar estas complicaciones, las endoprótesis pueden contener una capa o cubierta de un fármaco contra la restenosis que se libere de forma controlada en el lugar en que se ha implantado. Lo habitual es que el fármaco esté dentro de un polímero portador permanente o bioerosionable, según se refiere, por ejemplo, en la patente estadounidense N.º 5.716.981 concedida a Hunter titulada «Composiciones antiangiogénicas y métodos de uso». Ejemplos de tratamientos típicos que se liberan de esta forma según se ha propuesto son los antiproliferativos, los anticoagulantes, los antiinflamatorios y los inmunodepresores, aunque hay muchas otras sustancias químicas y biológicas que se mencionan en la literatura sobre patentes. Se ha señalado que el polímero portador y el fármaco pueden estar cubiertos de una capa biodegradable porosa que sirva para regular la liberación controlada del fármaco en el cuerpo, como se refiere, por ejemplo, en las patentes estadounidenses N.º 6.774.278 y 6.730.064.

35 Recientemente se han propuesto endoprótesis que contienen un fármaco contra la restenosis en los conductos, los surcos o los poros que puede liberarse «sin polímero», es decir, que liberan la forma pura del fármaco. También se han presentado endoprótesis que tienen una superficie rugosa que pretende fijar una capa de fármaco a su superficie y liberar la forma pura del fármaco como hacen, por ejemplo, las patentes estadounidenses N.º 6.805.898 y 6.918.927. Ninguna de estas patentes muestra o indica que, con clases particulares de compuestos contra la restenosis, sea posible potenciar esta actividad mediante la selección de grados de rugosidad de la superficie de la endoprótesis dentro de ciertos límites.

45 A la luz de las complicaciones asociadas al tratamiento con las endoprótesis sería deseable desarrollar una endoprótesis que tuviera al menos una superficie rugosa o texturizada que aumentara el área superficial y que pudiera fabricarse de tal forma que maximizara su integridad estructural, su capacidad de carga de fármacos y su capacidad de liberarlos en la pared vascular de forma que se potenciara su acción terapéutica, lo que se manifestaría por un menor riesgo de aparición o extensión de restenosis tras la colocación de la endoprótesis en la zona de la lesión vascular.

50 **RESUMEN**

55 El invento incluye, en una sola realización, una mejora del método para reducir la cifra de aparición o extensión de restenosis o trombosis resultado de la lesión vascular en un sujeto respecto a la observada con la colocación en el lugar de la lesión de una endoprótesis expansible de superficie lisa constituida por filamentos metálicos interconectados y con un recubrimiento de la superficie externa de estos filamentos con un polímero portador que contiene un fármaco -limus. La mejora, que pretende mantener o reducir la cifra de recidivas o la extensión de la restenosis o trombosis respecto a la conseguida con una endoprótesis cubierta de polímero y liberadora de -limus, pero sin ningún polímero portador, comprende los pasos de:

60 a) volver rugosas regiones de la superficie externa de los filamentos de la endoprótesis con un grado de rugosidad de al menos 20 μin (0,5 μm) y un rango de rugosidad superficial (máximo entre pico y valle) de 300-700 μin (7,5-17,5 μm), y

b) revestir las regiones rugosas de los filamentos de la endoprótesis con una cubierta de fármaco -limus sin polímero, hasta un espesor de la cubierta mayor que los límites de rugosidad de la superficie de la endoprótesis rugosa, es decir, hasta un espesor que cubra la superficie rugosa.

5 Los filamentos de la endoprótesis pueden someterse a abrasión para disfrutar de una rugosidad superficial de entre 20 y 40 μm (0,5 a 1 μm) o un rango de rugosidad superficial de 300-500 μm (7,5-12,5 μm).

10 La rugosidad de la superficie puede lograrse exoriando las regiones superficiales externas de los filamentos de la endoprótesis con un chorro presurizado de partículas abrasivas, formando una máscara de película de hidrocarburos sobre la superficie externa de los filamentos de la endoprótesis, eliminando selectivamente el material de la endoprótesis expuesto a la máscara y eliminado la máscara, mediante el grabado con láser de las superficies externas de los filamentos de la endoprótesis o mediante el granallado de la superficie externa de los filamentos con el fin de imprimir un patrón sobre ella.

15 La cubierta farmacológica puede aplicarse en forma de solución viscosa del fármaco sobre las superficies externas del filamento de la endoprótesis y un proceso de secado que forme una cubierta farmacológica sólida sobre tales filamentos. La cubierta puede aplicarse hasta obtener una cantidad final del fármaco -limus sobre la endoprótesis de entre 25 y 240 $\mu\text{g}/\text{cm}$ de longitud de endoprótesis y hasta un espesor final de la cubierta de 5 y 15 μm . Una clase preferida de fármacos -limus son los compuestos 42-0-alcoialquil -limus, cuyo ejemplo sería el compuesto 42-O-etoxietil denominado Biolimus A9.

Estos y otros aspectos y representaciones del presente invento se harán más patentes a la luz de la siguiente descripción detallada y los dibujos acompañantes.

25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es una imagen escaneada de una endoprótesis vascular que tiene un cuerpo de filamentos metálicos;

30 La FIG. 2A es una microfotografía electrónica de barrido de una superficie rugosa de una endoprótesis;

La FIG. 2B es una microfotografía electrónica de barrido de la superficie de la FIG. 2A que muestra una cuantificación de las crestas generadas en la superficie de la endoprótesis después de la abrasión;

35 La FIG. 2C es una microfotografía electrónica de barrido de la superficie de la FIG. 2A que muestra una cuantificación de los valles generados en la superficie de la endoprótesis después de la abrasión;

La FIG. 3A es una ilustración de una presa neumática tratando la superficie de una endoprótesis;

40 La FIG. 3B es una imagen frontal aumentada del ensamblaje de un punzón de cabezal fijo de la FIG. 3A que muestra la presa neumática con múltiples puntos;

La FIG. 3C es una imagen lateral aumentada del ensamblaje del cabezal fijo de la FIG. 3B;

45 La FIG. 3D es una imagen frontal aumentada de la unión del cabezal fijo para el ensamblaje del punzón de la prensa neumática de la FIG. 3A que muestra un patrón de ejemplo;

La FIG. 4 es una microfotografía electrónica de barrido de una endoprótesis tratada cubierta de fármaco;

50 La FIG. 5 es un perfil de liberación del fármaco Biolimus A9® a partir de la endoprótesis presente y de la endoprótesis Biomatrix® II medida por el porcentaje de cantidad total de fármaco liberada a lo largo de un tiempo acumulado en horas;

55 La FIG. 6 es un gráfico que muestra los porcentajes del fármaco Biolimus A9® liberados de la endoprótesis presente y de Biomatrix® II en un modelo de implante porcino a los tres y cuatro meses, respectivamente;

60 La FIG. 7 es un gráfico que muestra las concentraciones máximas en ng/ml del fármaco Biolimus A9® en la sangre periférica a lo largo del tiempo en horas cuando se libera de la endoprótesis presente y de una endoprótesis Biomatrix® II en un modelo de implante porcino medidas mediante espectroscopia de masas;

La FIG. 8 es un gráfico que muestra el porcentaje de área de oclusión para una endoprótesis que no tiene fármaco y de una endoprótesis que tiene el fármaco Biolimus A9®;

65 Las FIGS. 9A-9F son imágenes escaneadas de cortes histológicos de un vaso 28 días después de la implantación de una endoprótesis metálica desnuda (FIGS. 9A-9B), una endoprótesis de filamentos metálicos con una cubierta de polímero que contiene Biolimus A9® (FIGS. 9C-9D) y una endoprótesis con microestructura de filamentos metálicos con una cubierta de Biolimus A9® (FIGS. 9E-9F);

Las FIGS. 10A-10K son gráficos de las características histomorfométricas de un vaso extirpado que contiene una endoprótesis con microestructura.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. Definiciones

10 A menos que se indique otra cosa, los términos que se ofrecen a continuación tienen los siguientes significados.

15 La «rugosidad de la superficie», «rugosidad media» o «Ra» es la media aritmética de valores absolutos de desviaciones de altura del perfil medidos tomados dentro de la longitud de la muestra o área medidos desde la línea central gráfica o centro del plano (la línea o plano medio). Se mide habitualmente con un profilómetro óptico de superficie sin contacto, como se expone más adelante, pero también puede medirse con un profilómetro de contacto o estimando las alturas de crestas y valles a partir de una microfotografía de la superficie.

20 El «rango de rugosidad de la superficie» o «Rt» es la máxima distancia entre la cresta y el valle calculada como la suma de las medidas de la cresta máxima y el valle máximo de la rugosidad con respecto a la línea o plano centrales. Suele medirse con un profilómetro óptico de superficie sin contacto, pero también puede hacerse con los otros métodos referidos antes.

25 El «fármaco -limus» se refiere a un compuesto trieno macrocíclico inmunodepresor que tiene la estructura general mostrada, por ejemplo, en las patentes estadounidenses N.º 4.650.803, 5.288.711, 5.516.781, 5.665.772 y 6.153.252, en la publicación PCT N.º WO 97/35575, en la patente estadounidense No. 6.273.913B1 y en la aplicación de las patentes estadounidenses N.º 60/176086, 2000/021217A1 y 2001/002935A1.

30 Un «fármaco -limus 42-O-alcoxialquil» se refiere al derivado 42-O alcoxialquil de la rapamicina descrito en la aplicación de la patente estadounidense 20050101624, publicada el 12 de mayo de 2005, que se incorpora aquí completamente. Como ejemplo, el «fármaco -limus 42-O-alcoxialquil» es 42-O-etoxietil rapamicina, también conocido aquí como Biolimus A9.

35 La «cubierta sin polímero» traduce una cubierta cuya estructura y cohesión proporciona el propio fármaco, con o sin la presencia de una o más sustancias, en lugar de una matriz de polímero en la que el fármaco se embebe, es decir, un polímero portador.

II. Endoprótesis vascular

40 La Fig. 1 muestra una endoprótesis construida de acuerdo con el invento y en estado contraído. La endoprótesis incluye un miembro estructural o cuerpo con al menos una superficie parcialmente rugosa o erosionada al menos para mantener y liberar un compuesto contra la restenosis, como se describirá con mayor detalle más adelante.

45 En la representación mostrada, el cuerpo de la endoprótesis se forma a partir de una serie de miembros tubulares llamados puntales **3** conectados entre sí por filamentos llamados enlaces **4**. Cada puntal **3** tiene una bobina de goma helicoidal en diente de sierra y en zig-zag expansible o estructura en onda sinusoidal, y las conexiones a cada enlace **4** sirven para incrementar la flexibilidad general de la endoprótesis. El diámetro en estado contraído de la endoprótesis se sitúa aproximadamente entre 0,5 mm y 2 mm, preferiblemente entre 0,71 y 1,65 mm, y una longitud de 5 a 100 mm. El diámetro de la endoprótesis expandida es de al menos el doble y hasta 8-9 veces el de la endoprótesis en su estado contraído, por ejemplo, una endoprótesis con un diámetro en contracción de 0,7 a 1,5 mm puede expandirse en sentido radial hasta un estado expandido seleccionado de 2 a 8 mm o más. Las endoprótesis que tienen esta arquitectura general en su cuerpo de miembros tubulares expansibles y enlazados se nombran, por ejemplo, como se describe en la publicación PCT No. WO 99/07308, que se presenta habitualmente con la presente aplicación y se incorpora expresamente por referencia aquí.

55 Es preferible que la estructura de la endoprótesis se construya con un material biocompatible, como el acero inoxidable. Otros ejemplos de materiales biocompatibles que suelen usarse en la estructura de las endoprótesis son el cromo cobalto, el níquel, el magnesio, el tantalio, el titanio, el nitinol, el oro, el platino, inconel, el iridio, la plata, el tungsteno y otros metales biocompatibles o aleaciones de ellos; carbono o fibra de carbono; acetato de celulosa, nitrato de celulosa, silicona, polietileno tereftalato, poliuretano, poliéster de poliamida, poliéster, poliortoéster, polianhídrido, poliéter sulfona, policarbonato, polipropileno, polietileno de masa molecular alta, politetrafluoroetileno u otro material polimérico biocompatible, o mezclas o copolímeros de ellos; ácido poli-L-láctico, ácido poli-DL-láctico, ácido poliglicólico o copolímeros de ellos, un polianhídrido, policaprolactona, polihidroxibutirato valerato u otro polímero biodegradable o mezclas o copolímeros de ellos; una proteína, un componente de la matriz extracelular, colágeno, fibrina u otra sustancia biológica; o una mezcla adecuada de algunos de ellos. En la patente estadounidense N.º 6.730.064 se describe un ejemplo de una endoprótesis típica. Las dimensiones de cada endoprótesis variarán dependiendo de la luz del cuerpo en que se transporten. Por ejemplo, una endoprótesis puede tener un diámetro entre unos 0.5 mm y alrededor de 25 mm y una longitud

desde unos 4 mm a unos 100 mm o más. Se describe un ejemplo de medidas de endoprótesis en la patente estadounidense compartida N.º 6.939.376, que se posee e incorpora expresamente aquí por referencia.

Como se ve en la Fig. 2A, al menos una parte de una de las superficies de la endoprótesis tiene una microestructura áspera o erosionada o texturizada. Esta microestructura puede incluir al menos una sustancia terapéutica que se separe de la microestructura. Como se ve en las Figs. 2B-2C, la superficie áspera o texturizada proporciona intersticios o elementos que se proyectan verticalmente en la superficie o regiones menoscabadas o recesos. Se apreciará que puede depositarse una solución que contenga una sustancia terapéutica, por ejemplo por fuerzas capilares, en tales recesos y cubra las superficies que se proyectan. De esta forma puede aumentarse el área superficial para cubrir la endoprótesis. El espesor de tal capa se denomina espesor medio de la capa, por ejemplo, profundidad media de la porción infusible de la capa. Es preferible que, como se ve en la Fig. 2A, al menos una parte de la superficie abluminal de la endoprótesis, es decir, la superficie en contacto con el vaso tratado tras colocar la endoprótesis, incluya la reestructuración de la superficie de la microestructura.

III. Métodos de preparación de superficies texturizadas

En un caso, el método incluye el uso de una máscara para evitar que al menos una parte de la endoprótesis sea erosionada. Es preferible que la máscara sea una película de hidrocarburo, como PARAFILM[®], sin embargo, se apreciará que cualquier barrera adecuada a la abrasión lo será para estos métodos. Según esto, en una representación de elección, al menos se erosiona la superficie luminal de la endoprótesis no se erosiona. En un caso, una lámina de la máscara de unos 5 mm por 60 mm se enrolla alrededor del diámetro de un mandril, como puede ser un tubo capilar de vidrio de 1,4 mm. La endoprótesis se coloca sobre el mandril y se arruga con la mano en la máscara de hidrocarburo. Puede utilizarse un microscopio estereó ajustado entre 10x y 40x para asegurar que la porción de la endoprótesis que no se va a erosionar esté cubierta por la máscara. En un caso de elección, al menos el 80% del espesor de la pared de la endoprótesis en todas las superficies está cubierta por una capa de película de hidrocarburo.

En un caso, la superficie de la endoprótesis **5** se trata después utilizando sistemas de microchorro, como MICRO BLASTER[®] y PROCENTER[®] de Comco, Inc., o uno equivalente. En una endoprótesis se usan 25 pm de un abrasivo, como óxido de aluminio, para erosionar la superficie de la endoprótesis **5**. La presión se ajusta a 40 psi \pm 5 psi, y un inyector se coloca a unos 2,5 cm a 5 cm de la superficie de la endoprótesis **5** y pasa múltiples veces sobre ella.

En otra endoprótesis, la máscara se elimina con medios adecuados como una limpieza ultrasónica. Es habitual que el limpiador ultrasónico esté lleno de agua desionizada calentada a 45 °C. Un vial de muestra de cloroformo de grado HPLC se calienta a 50-60 °C en una placa calefactora. Un mandril de tubo capilar de vidrio con una endoprótesis tratada se incuba en un vial de cloroformo de grado HPLC a 40 °C y 50 °C durante 5 -10 minutos. El vial que contiene el cloroformo y el mandril se somete a sonicación en agua desionizada a 45° C durante dos minutos.

Debido a la rugosidad de la superficie de la endoprótesis **5**, se expresan diferentes elementos en la superficie metálica que pueden incrementar la tendencia a la corrosión. Debido a ello, la endoprótesis tratada se neutraliza siguiendo los estándares de la ASTM y se limpia en una serie de disolventes como cloroformo, acetona o alcohol isopropílico. En un caso, después de eliminar la máscara y someter la endoprótesis a sonicación, se saca del vial de cloroformo. El vial de la muestra se enjuaga en acetona y después se rellena con ella. La endoprótesis tratada se coloca en el vial y se somete a sonicación en el limpiador ultrasónico durante dos minutos. El vial se enjuaga en alcohol isopropílico y después se rellena con alcohol isopropílico. La endoprótesis se somete a sonicación en el limpiador ultrasónico durante dos minutos más. La endoprótesis tratada se neutraliza entonces en un baño de ácido nítrico al 20% en volumen a 60 °C \pm 3 °C durante 30 minutos. La endoprótesis se enjuaga después 10 veces con una cantidad abundante de agua desionizada. La endoprótesis se coloca entonces en 600 ml de un disolvente como el alcohol isopropílico y se somete a sonicación en el limpiador ultrasónico durante 5 minutos y se deja secar al aire.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis se erosiona uniformemente de una forma controlada a través de un bombardeo con micropartículas. La erosión de la superficie de la endoprótesis **5** se consigue usando partículas metálicas llamadas proyectiles que tienen un tamaño entre 1 y 5 micrones aproximadamente y están hechas de un elemento atómico que tiene un peso de al menos de 43 g/mol. Por ejemplo, el proyectil puede ser en forma de partículas de tantalio, tungsteno, platino, iridio, oro, bismuto, bario, circonio y aleaciones de ellas. Ejemplos de aleaciones adecuadas son una de platino y níquel y otra de platino e iridio.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis **5** puede tratarse para crear inyectores mecánicos que tienen un tamaño entre 3 y unos 10 micrones.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis **5** puede grabarse con láser para crear patrones regulares o irregulares de asperezas o inyectores mecánicos de unos 5 a 25 micrones.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis puede tratarse para que adquiriera una rugosidad diferente en la superficie abluminal que en la luminal. Por ejemplo, toda la superficie puede tratarse por medio de alguno de

los medios revelados antes. Después se enmascara la superficie luminal de forma que un segundo tratamiento de la superficie se dirija a la superficie abluminal. El tratamiento posterior utilizaría habitualmente el proceso texturizador más agresivo. Las diferentes superficies así obtenidas pueden usarse para impartir diferentes propiedades útiles a la superficie interna (es decir, luminal) que a la externa (abluminal) de la endoprótesis. En un caso, la rugosidad de la superficie luminal se optimiza para mejorar el crecimiento hacia su interior y adhesión, por ejemplo como se describe en la aplicación de patente estadounidense N.º 2005/0211680, y la rugosidad abluminal de la superficie puede optimizarse para transferir fármaco desde la superficie abluminal de la endoprótesis a los tejidos vecinos como se describe en ella.

La superficie de la endoprótesis **5** puede tratarse situando la cantidad deseada de disparos sobre una parte predeterminada de la superficie de la endoprótesis **5** y en el patrón deseado. Se aplica presión a las partículas usando placas o rodillos que produzcan mellas en la superficie de la endoprótesis **5**. La rugosidad también puede conseguirse lanzando un chorro de partículas sobre la superficie de la endoprótesis **5** a una velocidad suficiente para producir mellas. Un ejemplo de bombardeo con micropartículas de una superficie metálica se describe en la patente estadounidense N.º 6,911,100.

En otro caso, esta rugosidad uniforme y controlada de la superficie también puede conseguirse de forma análoga a la anterior empleando un láser en lugar de proyectiles. Se aplica una serie de descargas eléctricas a la porción deseada de la superficie externa o interna de la endoprótesis **5**. Las descargas eléctricas contactan con la superficie con suficiente energía como para vaporizar el material presente en ella, lo que crea hoyuelos, llamados a veces vacíos, cuyo efecto combinado es erosionar la superficie aumentando su área superficial. Un ejemplo de este proceso se describe en la patente estadounidense N.º 6,913,617.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis se trata de forma uniforme mediante compresión. La endoprótesis se une a un mandril, que se inserta en un troquel equipado con porciones elevadas preformadas que forman mellas en la superficie de la endoprótesis **5** en la cantidad, forma, tamaño y patrón deseados. Las mellas pueden hacerse de varias formas como soldándolas en la superficie de la endoprótesis **5** o con chorro de arena. El troquel se cierra entonces alrededor de la endoprótesis formando mellas de la profundidad deseada y cubriendo la superficie requerida. Se trata toda la superficie de la endoprótesis, o una parte de ella, dependiendo de la fabricación del troquel. Se describe un ejemplo de este proceso en la patente estadounidense N.º 7,055,237.

En otro caso, la superficie de la endoprótesis **5** se trata con una prensa neumática o hidráulica. Las prensas neumáticas son bien conocidas en este campo como se describió en la patente estadounidense N.º 4,079,617. Las prensas hidráulicas también son bien conocidas en este campo como se describe en la patente estadounidense N.º 7.033.155. Como se ve en las Figs. 3A-3D, la endoprótesis se coloca en un mandril **1** que está quieto o rota. Se configura una prensa neumática o hidráulica controlada por ordenador **8** para tratar la superficie de la endoprótesis en una de varias formas predeterminadas, por ejemplo, de forma aleatoria o con un patrón deseado. El ensamblaje del punzón **9** de la presa puede configurarse para que contenga uno o más puntas **10,11** definidas aquí como mecanismos creadores de mellas. En una endoprótesis de preferencia, el ensamblaje del punzón contiene varias puntas. Se apreciará que las puntas pueden ser de longitud uniforme o variada con el fin de formar una microestructura en la superficie. Cada punta **10,11** permanece en una posición retraída hasta que el ordenador ejecuta el tratamiento programado de la superficie de la endoprótesis **5**. De acuerdo con el programa seleccionado, las puntas **10,11** se proyectarán sobre la superficie de la endoprótesis **5** con suficiente fuerza como para producir una mella. El ensamblaje del punzón **9** se configura generalmente para que no sea más ancho que el de la endoprótesis deseada; por ejemplo, si el puntal de la endoprótesis **3** es de 15 micrones, la pluralidad de las puntas **10,11** sumará también un total de no más de 15 micrones de anchura. El número de puntas **10,11** en un ensamblaje del punzón dado **9** variará dependiendo de la anchura de la endoprótesis. De forma análoga, el ensamblaje del punzón **9** puede configurarse para que sea un cabezal preformado fijado a la prensa con los cabezales intercambiables dependiendo del patrón deseado. Además, el cabezal puede estar quieto y la endoprótesis girar o, alternativamente, el cabezal puede ser móvil, armado este con una sola punta **10,11** fijada a la presa que realizará impresiones de forma aleatoria en la superficie de la endoprótesis **5**.

En otra endoprótesis, toda la longitud de tubo usado para crear la endoprótesis, por ejemplo, tubo de 2,5 metros de longitud, se trata antes con cortes con láser en longitudes diferentes deseadas de la endoprótesis. La endoprótesis se une de forma horizontal o vertical a uno o más mandriles **1** y se erosiona usando uno de los métodos referidos en esta aplicación. En términos de técnicas de abrasión, la endoprótesis se trata de forma aleatoria, uniforme o en el patrón deseado. Además, la longitud y los lados de la endoprótesis se tratan en toda su longitud, de forma vertical o en espiral. La superficie de la endoprótesis **5** se trata además moviéndola sobre un mecanismo de abrasión que está quieto o, alternativamente, toda la longitud del tubo de la endoprótesis está quieta y el mecanismo abrasivo puede moverse sobre toda su longitud de las formas referidas, por ejemplo, de forma horizontal, vertical o espiral.

Se realizaron pruebas de corrosión potenciodinámica en la endoprótesis tratada para confirmar la idoneidad del paso de neutralización y su eficacia. Los datos muestran que el potencial de rotura de la endoprótesis tratada y neutralizada está dentro de los estándares de voltaje especificados por la ASTM. Por lo

tanto, después del proceso de abrasión y neutralización, la endoprótesis tratada no exhibe una mayor probabilidad de corrosión cuando se compara con la endoprótesis control sin tratar, y el proceso de abrasión no incrementa el potencial de restenosis ni trombosis. Después de la neutralización se observó que la biocompatibilidad de la superficie metálica microestructurada era equivalente a la observada en la endoprótesis con superficies electropulidas lisas.

El espesor aproximado de una endoprótesis tratada es generalmente de unos 0,05 mm. Como se ve en las Figs. 2B-2C, el tratamiento de la superficie de la endoprótesis **5** en la forma referida da lugar a una superficie con una media de altura de la cresta **6** de alrededor de 1,30 μm y una profundidad media del valle **7** de 2,08 μm . Para medir los efectos, si existen, que el proceso de abrasión tiene sobre la integridad estructural de la endoprótesis, se realizaron pruebas de fatiga axial y análisis μpgr sobre una endoprótesis tratada. La prueba de fatiga axial se centró en la porción de la endoprótesis que es más proclive a la rotura, que es el enlace **4** entre los puntales de la endoprótesis **3**. Tras unos 3 millones de ciclos en condiciones fisiológicas simuladas, la endoprótesis control no tratada y la endoprótesis texturizada permanecieron intactas. Dado que una parte de la endoprótesis tratada se eliminó en el proceso de abrasión, y que se ha descubierto que la endoprótesis tratada es capaz de soportar las mismas condiciones de fatiga que la endoprótesis intacta sin tratar con más área superficial es capaz de soportar, se entiende que el proceso de abrasión incrementa en realidad la resistencia a la fatiga de la endoprótesis debido a las estructuras microcristalinas rotas del cuerpo de la endoprótesis. Finalmente se realizó el análisis μpgr en la endoprótesis tratada para caracterizar la composición química de la superficie, que reveló cocientes similares de elementos idénticos en la endoprótesis erosionada y no neutralizada y en la endoprótesis erosionada y neutralizada. Esto demuestra que el proceso de neutralización de la endoprótesis control sin tratar en la forma referida no tiene efectos perjudiciales sobre la composición química de la superficie de la endoprótesis.

El ejemplo 2 proporciona medidas de rugosidad de la superficie R_a y del factor de rugosidad R_t de las 4 endoprótesis preparadas como antes por abrasión de la superficie con un chorro de partículas presurizado. Como se ha visto, los valores de rugosidad de la superficie fueron todos de al menos 20 μin (0,5 μm), y suelen estar entre unos 20-40 μin (0,5 μm -1 μm), y tienen un rango de rugosidad de 300-700 pellizcos (7,5 a 17,5 μm), y habitualmente de 300-500 pellizcos (7,5 y 12,5 μm). De acuerdo con un aspecto del invento, estos valores de rugosidad, y en particular los valores del rango de rugosidad, se han considerado óptimos para conseguir resultados ideales frente a la restenosis.

Sin querer limitarnos a una teoría particular sobre este efecto, parece que las asperezas o proyecciones de la superficie en la cresta de 300-700 pellizcos son óptimas para «inyectar» el fármaco de la cubierta farmacológica en el vaso. De este modo, por ejemplo, cuando bien por la disolución del fármaco de la cubierta o por fracturas en la cubierta durante la colocación de la endoprótesis se exponen las proyecciones, estas, al impactar o penetrar en el área del vaso local, pueden facilitar la entrada del fármaco en el vaso. El resultado es que el rango de rugosidad definido de la superficie de la endoprótesis, combinado con la cubierta de fármaco libre de polímero, mantiene o reduce más la aparición y extensión de la restenosis o trombosis vistas con las endoprótesis cubiertas de polímero y liberadoras de -limus, pero sin un polímero portador, y reduce más la cifra de aparición y extensión de restenosis o trombosis vistas con una cubierta sin polímero en una superficie menos rugosa, es decir, teniendo un menor rango de rugosidad de la superficie. Además, los estudios realizados en apoyo del presente invento indican que una endoprótesis que tiene características de rugosidad en su superficie con valores de cresta-valle en el rango de 800-1.000 pellizcos (20-25 μm o más) puede reducir peor la restenosis.

De este modo, en un aspecto, el invento pretende mejorar la eficacia en términos de menor incidencia y extensión de restenosis en el tratamiento de la lesión vascular con una endoprótesis liberadora de fármacos, por ejemplo, una endoprótesis liberadora de -imus. La mejora comprende los pasos de abrasión de al menos las porciones de superficie abluminal de la endoprótesis hasta una rugosidad de la superficie de al menos unos 20 μin (0,5 μm) y un rango de rugosidad de la superficie entre unos 300 y 700 μin (7,5-17,5 μm), y el revestimiento de las regiones rugosas de los filamentos de la endoprótesis con una cubierta sin polímero de fármacos -limus, hasta un espesor de la cubierta mayor que el rango de rugosidad de la superficie de la superficie rugosa de la endoprótesis, es decir, hasta un espesor que forme una cubierta farmacológica sustancialmente íntegra.

Es preferible que el IFA (es decir, el ingrediente farmacéutico activo), como el antiproliferativo Biolimus A9®, se aplique al menos a la porción abluminal de la endoprótesis. El IFA puede aplicarse a la superficie de la endoprótesis por cualquier medio adecuado como la pulverización de la superficie tratada de la endoprótesis con una solución del IFA. La solución del IFA también puede aplicarse sumergiendo toda la endoprótesis en el IFA deseado o aplicándolo directamente y de forma manual en la superficie de la endoprótesis **5**. Biolimus A9® tiene una estructura de amorfa a semicristalina que no se agrieta ni fractura como algunos otros compuestos cristalinos -limus. Por tanto, las propiedades de Biolimus A9® permiten su adhesión a la superficie rugosa tratada de la endoprótesis en el estado sin expandir y en el estado expandido.

Es preferible que el material del IFA se aplique a la porción abluminal de la endoprótesis por medio de autopipeteado como se describió en la patente estadounidense compartida N.º 6.939.376. Se preparara una solución con una concentración de 100 mg/ml a 200 mg/ml disolviendo el IFA deseado en un disolvente apropiado, como etil acetato o acetonitrilo. La solución se coloca en un reservorio con una bomba diseñada para administrar la solución a una velocidad predeterminada. La bomba está controlada por un microcontrolador, como

4-Axis Dispensing Robot Model disponible en I&J Fisnar Inc. A la parte inferior del reservorio se une un tubo de dispensación de la solución para transportar la mezcla de disolvente a la superficie de la endoprótesis 5. El reservorio y el tubo de dispensación se montan en un soporte móvil que mueve el tubo de dispensación del disolvente de forma continua o en pequeños pasos, por ejemplo, 0,2 mm por paso a lo largo del eje longitudinal.

Se afianza una endoprótesis sin cubierta en una prensa de sujeción que rota y contacta con la superficie interna de la endoprótesis al menos en un extremo. La rotación axial de la endoprótesis se consigue rotándola continuamente, o en pequeños pasos de grado, como 0,5 grados por paso. El tubo también puede sujetarse en una posición fija y, además del movimiento de rotación, la endoprótesis se mueve a lo largo de su dirección longitudinal para conseguir completar el proceso de revestimiento.

Antes de su uso, los tubos de dispensación de la solución se sacan y modelan con un mechero de Bunsen para formar una pequeña abertura afilada en su punta y facilitar la aplicación precisa de la mezcla del fármaco y el disolvente, que puede aplicarse entonces a lo largo de la longitud y los laterales de la endoprótesis con la punta modelada del tubo. Está contemplado que el invento utilice más de un tipo de tubos dispensadores de líquido trabajando en concierto para formar la cubierta o que utilice más de un reservorio móvil equipado con diferentes puntas o que contenga soluciones de diferente viscosidad o diferente composición química en el mismo proceso para formar la cubierta.

En otra endoprótesis se aplica una capa no porosa de parileno, derivado de parileno u otro polímero biocompatible a la superficie tratada de la endoprótesis, y el IFA deseado se aplica o deposita sobre ella. Una opción es aplicar una capa adicional de polímero ligeramente no poroso directamente sobre el IFA, lo que ayuda a que se produzca una liberación controlada a lo largo del tiempo. De acuerdo con el presente invento, la endoprótesis comprende al menos una capa de un IFA sobre su superficie, y las otras superficies no contendrán IFA o uno o más IFA diferentes. De esta forma, pueden liberarse uno o más IFA al torrente sanguíneo desde la superficie luminal de la endoprótesis, mientras se liberan diferentes tratamientos para diferentes trastornos en la zona de la lesión vascular desde la superficie de la endoprótesis.

En otro caso, la endoprótesis puede cubrirse con una molécula de IFA sin necesidad de un polímero. Como se ve en la Fig. 4, el proceso de abrasión de toda la endoprótesis o de una porción de ella con uno de los métodos referidos antes permite al IFA adherirse directamente a la superficie de la endoprótesis tratada 14. En un caso general, el IFA es un fármaco -limus, como el descrito en las patentes estadounidenses N.º 4.650.803, 5.288.711, 5.516.781, 5.665.772 y 61.53.252, en la publicación PCT N.º WO 97/35575, en la patente estadounidense N.º 6.273.913B1 y en las aplicaciones de patentes estadounidenses N.º 60/176086, 2000/021217A1 y 2001/002935A1. Fármacos -limus ejemplo son los fármacos 42-O-alcoxialquil, como Biolimus A9. Otros fármacos IFA que pueden emplearse, solos o combinados con un fármaco -limus, son los antiagregantes o antitrombóticos o los antiinflamatorios, como la dexametasona, el acetato de dexametasona, el fosfato sódico de dexametasona u otro derivado de la dexametasona o un esteroide antiinflamatorio. También pueden utilizarse las superficies interna o externa de la endoprótesis para administrar otros tipos de moléculas de IFA como trombolíticos, vasodilatadores, antihipertensivos, antimicrobianos o antibióticos, antimitóticos, antiproliferativos, antisecretorios, antiinflamatorios no esteroideos, inmunodepresores, factores de crecimiento y antagonistas de factores de crecimiento, antitumorales, antineoplásicos, antipolimerasas, antivíricos, terapéuticos fotodinámicos, anticuerpos, profármacos, hormonas sexuales, captadores de radicales libres, antioxidantes, biológicos, radioterapéuticos, radiopacos y radiomarcados.

La endoprótesis puede estar incluida en un ensamblaje que consista en un cuerpo de endoprótesis rodeado de un globo desinflado sujeto a la porción distal de un catéter que se usa para implantar la endoprótesis en el lugar de la lesión vascular. La endoprótesis se introduce dentro del sistema cardiovascular de un paciente a través de la arteria braquial o femoral usando el catéter. El ensamblaje del catéter se hace avanzar a través de los vasos coronarios hasta que la combinación del globo desinflado y la endoprótesis se coloca a través del lugar de lesión vascular o del estrechamiento vascular. El globo se infla entonces hasta alcanzar un tamaño predeterminado para que expanda la endoprótesis hasta un diámetro suficientemente grande para que quede en contacto continuo con la luz. Entonces se desinfla el globo hasta alcanzar un perfil menor que permita retirar el catéter de los vasos del paciente, dejando la endoprótesis en su sitio. Un ejemplo de intervención típica para la implantación de una endoprótesis se describe en la patente estadounidense N.º 6.913.617.

IV. Métodos de uso

Este apartado describe los métodos de tratamiento vascular acordes con el invento y el rendimiento de las endoprótesis construidas según él.

Los métodos del invento se han diseñado para minimizar el riesgo o extensión de restenosis en un paciente que ha sufrido una lesión vascular localizada o que está en riesgo de oclusión vascular debido a la presencia de una enfermedad aterosclerótica avanzada. Lo habitual es que la lesión vascular se produzca durante una intervención angiográfica para abrir un vaso parcialmente ocluido, como una arteria coronaria o una periférica. La endoprótesis también puede introducirse en una zona de estrechamiento vascular y expandirse usando el globo para abrir directamente la porción estrecha del vaso (es decir, el lugar de la lesión vascular). En la primera intervención angiográfica mencionada, primero se coloca un catéter con un globo en el extremo distal

en el lugar ocluido y se infla y desinfla una o más veces para forzar que el vaso ocluido se abra. Esta expansión vascular, que produce en particular un traumatismo en la superficie de la pared vascular donde puede desprenderse una placa, produce a menudo suficiente lesión localizada para que el vaso responda al cabo del tiempo con una proliferación celular y vuelva a ocluirse en la vecindad de la endoprótesis implantada. No es sorprendente que la aparición o intensidad de la restenosis se relacione a menudo con el grado de estiramiento vascular producido en la angioplastia. En particular, cuando el estiramiento es del 10% o más, la restenosis se produce con una frecuencia alta y a menudo con una intensidad sustancial, es decir, con una oclusión vascular. En la segunda intervención mencionada de colocación directa de la endoprótesis sin una angioplastia previa (es decir, «implantación directa de la endoprótesis») hay no obstante una lesión vascular inducida por la expansión de la endoprótesis y el globo en la zona de la lesión vascular que da lugar a una restenosis y una proliferación celular en la zona de implantación de intensidad muy similar a la observada en la primera intervención mencionada.

El presente invento está diseñado para usarlo sin limitaciones en cualquier método particular de tratamiento y lesión de una zona vascular, y puede utilizarse con las técnicas descritas antes o con técnicas alternativas conocidas para la enfermedad y la lesión vascular. Con el presente invento, la endoprótesis se coloca en su estado contraído en el extremo distal de un catéter, bien dentro de la luz del catéter, o en un estado contraído en un globo situado en el extremo distal. El extremo distal del catéter se lleva entonces hasta el lugar de la lesión, o el lugar de posible oclusión, y se libera del catéter, por ejemplo, tirando hacia atrás de una vaina que cubra la endoprótesis para liberarla en el lugar, si la endoprótesis es autoexpansible, o expandiendo la endoprótesis sobre el globo mediante su inflado, hasta que la endoprótesis contacte con las paredes vasculares implantando así la endoprótesis en el sitio de la pared tisular.

Una vez desplegada en su sitio, la endoprótesis cubierta de fármaco comienza a liberar el compuesto activo (IFA) en las células que recubren la zona vascular, para inhibir así la proliferación celular o inducir otros beneficios terapéuticos como una reducción de la inflamación, una limitación de la formación de la trombosis, una reducción de la apoptosis celular, etc. La Fig. 5 muestra la cinética de liberación de Biolimus A9® de dos endoprótesis, una con el fármaco cubriendo una superficie texturizada y la otra una endoprótesis Biomatrix® con un polímero de cubierta que contiene Biolimus A9®.

La Fig. 6 muestra el porcentaje de fármaco liberado de Biolimus A9® de una cubierta de polímero y una endoprótesis texturizada. Como se ve en el gráfico, después de tan solo dos meses, el 100% de Biolimus A9® se ha liberado de la endoprótesis texturizada. Por el contrario, pasados tres meses, alrededor del 30% del fármaco permanecía en la endoprótesis con cubierta de polímero.

La Fig. 7 muestra la concentración sanguínea máxima de Biolimus A9® medida mediante espectroscopia de masas con Biomatrix® II cubierta de polímero y con la endoprótesis sin polímero texturizada. Como se ve en la figura, la concentración sanguínea con Biolimus A9® alcanza su valor máximo al cabo de unas cuatro horas con la endoprótesis texturizada. La concentración sanguínea máxima de Biolimus A9® con Biomatrix® II cubierta de polímero se produce a los dos meses aproximadamente.

Las Figs. 9A-9F muestran en un corte transversal una región vascular que tiene una endoprótesis metálica desnuda implantada (Figs. 9A-9B), una endoprótesis metálica Biomatrix® II que tiene una cubierta de polímero de 225 µg de PLA y 225 pg de Biolimus A9® (Figs. 9C-9D) y una endoprótesis texturizada con 225 µg de Biolimus A9® (Figs. 9E-9F), en la que se ven los filamentos con la cubierta. La figura ilustra la liberación del compuesto antirrestenótico de cada región del filamento en la región vecina de la pared vascular. Con el tiempo, las células musculares lisas que forman la pared vascular empiezan a crecer hacia el interior y a través del enrejado o las aberturas helicoidales en la endoprótesis y forman finalmente una capa celular continua que engulle la endoprótesis por ambos lados. Si la implantación de la endoprótesis ha tenido éxito, la extensión de la oclusión vascular tardía en la zona será menor del 50%, es decir, que el diámetro transversal del conducto de flujo que queda dentro del vaso será al menos el 50% del diámetro de la endoprótesis expandida en el momento de la implantación.

Ensayos realizados en un modelo animal porcino de restenosis animal como han descrito de forma general Schwartz y cols. («Restenosis After Balloon Angioplasty-A Practical Proliferative Model in Porcine Coronary Arteries», *Circulation* 82:(6) 2190-2200, Dec 1990.). Se han realizado estudios en el modelo porcino que demuestran la capacidad de la endoprótesis de este invento de limitar la extensión de la restenosis y las otras ventajas de la endoprótesis sobre las endoprótesis propuestas y estudiadas en la actualidad. Los estudios se resumen en el Ejemplo 3.

Brevemente, los estudios comparan la extensión de la restenosis a los 28 días en un modelo animal tras la implantación de la endoprótesis, en endoprótesis metálicas desnudas, endoprótesis cubiertas de polímero y endoprótesis texturizadas.

Las Figs. 9A-9F muestran que tanto las endoprótesis cubiertas de polímero como las texturizadas reducen mucho las cifras de restenosis. En general, los vasos con endoprótesis cubiertas con polímero y fármaco

y las endoprótesis texturizadas parecen curar bien con una capa endotelial bien establecida. Hay signos de una curación y una homeostasis vascular completas a los 28 días de la implantación.

Otros ensayos demuestran la capacidad de las endoprótesis descritas aquí de limitar la extensión de la restenosis en un período amplio de la menos tres meses. Los estudios se resumen en el Ejemplo 4.

5 Brevemente, los estudios comparan la extensión de la restenosis a los 3 meses de la implantación de endoprótesis metálicas desnudas (BMS) y endoprótesis sin polímero liberadoras de fármaco (pfDES). Los datos histomorfométricos mostrados en la Tabla 4 muestran que la pfDES redujo mucho las cifras de restenosis comparada con la BMS.

10 Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos de la construcción y uso de las endoprótesis aquí mostradas. No pretenden limitar el ámbito del invento.

Ejemplo 1

Liberación *in vitro* de Biolimus A9® de la endoprótesis

15 El estudio de *liberación farmacológica in vitro* se realizó con la endoprótesis Biomatrix® II cubierta de un polímero que contiene el fármaco antiproliferativo Biolimus A9® y con la endoprótesis que contiene una microestructura abluminal que incluye Biolimus A9® en un medio con PBS a pH 7,4/Tween a 37 °C. Se tomaron muestras periódicas y se midió la cantidad total de Biolimus A9® por HPLC. La Fig. 5 ilustra la liberación del fármaco de la endoprótesis Biomatrix® II y la microestructura de la endoprótesis.

Ejemplo 2

Banco de prueba del factor de rugosidad

25 La superficie externa de una endoprótesis de corona Bioflex II 6 se trató con un abrasivo para crear una superficie externa microestructurada de forma selectiva para potenciar su capacidad de carga de un fármaco, llamada endoprótesis Bio-Freedom (FS). La sustancia terapéutica puede añadirse directamente en la superficie microestructurada de forma selectiva de la endoprótesis.

30 El factor de rugosidad de FS se caracterizó usando un sistema comercial Veeco Metrology Group (Tucson, Ariz.) WYKO NT-2000, que es un perfilómetro óptico sin contacto. Modo VSI (interferómetro de barrido vertical) con programa Vision 32, términos de extracción del cilindro e inclinación de modo que la superficie de la endoprótesis aparezca plana. Se utiliza un filtro de paso bajo que elimina los efectos de la rugosidad espacial alta, suavizando características que son menores que una ventana de nueve píxeles. En la tabla siguiente se ofrecen los resultados de cuatro endoprótesis diferentes cuya rugosidad de superficie se produce con chorro de arena, donde Ra es la rugosidad media de la superficie y Rt es el rango de rugosidad de la superficie, como se definieron anteriormente.

	Chorro de arena 3 en μ pulgadas	Chorro de arena 4 en μ pulgadas	Chorro de arena 5 en μ pulgadas	Chorro de arena 6
Ra	30,2	25,4	25	28,3
Rt	688,8	336,8	406,9	358,9

Ejemplo 3

Pruebas de implantación en animales

45 Las endoprótesis texturizadas del Ejemplo 2 con y sin Biolimus A9® se implantaron en crías de cerdo cruzadas. Se utilizó un catéter con globo para colocar la endoprótesis de acuerdo con el modelo de estiramiento porcino estándar con un 10-20% de sobrestiramiento. Los vasos diana de los cerdos se dilataron mediante técnicas de angioplastia conocidas antes de colocar la endoprótesis.

50 Pasados 28 días se sacrificó a los animales siguiendo protocolos aprobados y se extrajeron el corazón y el tejido vecino.

55 Se utilizó un microscopio con una cámara digital para generar imágenes de alta resolución de las secciones transversales de los vasos que se habían montado en portas i con los resultados mostrados en las Figs. 9A-9F. Las imágenes se sometieron a análisis histomorfométricos mediante el procedimiento siguiente:

60 Se diseccionaron la endoprótesis y la arteria y un histólogo las cortó en el microtomo. Las muestras se tiñeron en busca de varias señales de crecimiento, proliferación celular y otros restos celulares. Se tomaron medidas histomorfométricas:

Área de la arteria en mm² (Fig. 10A), I EL (Fig. 10B), área de la íntima en mm² (Fig. 10C), área de la luz en mm² (Fig. 10D), espesor de la íntima en micrones (Fig. 10E), % de área de estenosis (Fig. 10F), grado histológico en función de la lesión y la inflamación (Fig. 10G), grado histológico basado en matriz extracelular en la íntima y reacción EB/GC (Fig. 10H), grado histológico basado en la endotelización y la fibrina en la íntima (Fig. 10I), grado histológico basado en la inflamación medial, la necrosis y la fibrosis (Fig. 10J) y grado histológico basado en la inflamación y la fibrosis de la adventicia (Fig. 10K).

La siguiente tabla muestra los resultados del efecto terapéutico obtenido a los 28 días de seguimiento. Los datos de las tablas que se ofrecen a continuación bajo el encabezado de la columna «Área de la luz mm²» ofrecen los resultados del análisis morfométrico de la endoprótesis y los vasos extraídos de los cerdos a los 28 días de seguimiento:

Tabla 1: Resultados histomorfométricos

Endoprótesis	Área arterial en mm ²	Cociente luz/arteria	Puntuación de la lesión	Área de luz en mm ²
Endoprótesis texturizada sin BA9 (superficie texturizada por eliminación)	7,76 mm ²	1,08	0,57	3,35±0,66
Endoprótesis texturizada con superficie texturizada por eliminación y 225 µg de Biolimus A9®	8,49 mm ²	1,08	0,50	5,68±0,68

La Fig. 8 muestra el gráfico del % de área de oclusión para cada endoprótesis con superficie texturizada y la endoprótesis con superficie texturizada y 225µg de Biolimus A9®.

Ejemplo 4

Estudio del implante porcino a los tres meses

A. Implantación de la endoprótesis

En un modelo de cerdos de granja cruzados se implantaron la endoprótesis BioMatrix sin polímero tratada con chorro de arena como en el Ejemplo 2 y con 225 µg de Biolimus A9® o la endoprótesis desnuda BioFlex II según se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Matriz de implante animal para endoprótesis en arteria coronaria porcina

Cerdo N°	Localización/tipo de endoprótesis			Duración
	DAI	CCI	ACD	
1	pf DES	pf DES	pf DES	Muerte temprana
2	BMS	pf DES	pf DES	3 meses
3	BMS	n/a*	pf DES	3 meses
4	pf DES	pf DES	BMS	3 meses
5	BMS	pf DES	pf DES	3 meses

BMS= endoprótesis metálica desnuda, pf DES= endoprótesis liberadora de fármaco sin polímero

*No se colocó ninguna endoprótesis en la arteria circunfleja debido a su tamaño inadecuado.

CV Path Institute, Inc., recibió corazones de 5 cerdos. Se colocaron endoprótesis sin solapamiento en 5 cerdos que se extrajeron para su análisis con microscopía óptica a los tres meses. El animal 1 murió a los 2 meses, antes del seguimiento programado a los tres meses, por razones no relacionadas con la colocación de la endoprótesis. La arteria coronaria circunfleja izquierda (CCI) del animal #3 no recibió la endoprótesis por un tamaño inadecuado de la arteria.

B. Materiales y métodos de microscopía óptica

Para la microscopía óptica, los segmentos vasculares que tenían la endoprótesis se embebieron en plástico de metilmetacrilato y se cortaron secciones de las porciones proximal, media y distal de la endoprótesis, se montaron en portas cargados y se tiñeron con hematoxilina y eosina y Elastic Van Gieson (EVG). Las secciones proximal y distal sin la endoprótesis de la arteria se embebieron en parafina, se cortaron en cuatro a cinco micrones y se tiñeron con hematoxilina y eosina y EVG. Todas las secciones se examinaron con

microscopía óptica en busca de inflamación, trombos, formación de neointima y lesiones de la pared vascular. El programa Morphometry Analysis Morphometric (IP Lab for Macintosh, Scanalytics, Rockville, MD) se calibró usando micrómetros de microscopía NIST de fácil seguimiento de 2 mm lineales y círculos de 2 mm de diámetro con todos los objetivos. Klarmann Rulings, Inc., (Manchester, New Hampshire) certificó todas las graduaciones micrométricas. Las zonas que se midieron fueron la LEE (lámina elástica externa), la LEI (lámina elástica interna) y la luz. El espesor de neointima se midió en los puntales de la endoprótesis y entre ellos y se promedió para cada animal. Al restar la LEI a la LEE se determinó el área medial.

El porcentaje de estenosis se obtuvo de la fórmula $[1 - (\text{área de luz} / \text{área de endoprótesis})] \times 100$. La puntuación de lesión vascular se determinó usando el método de Schwartz (Schwartz RS et al., J Am Coll Cardiol 1992; 19:267-274). Se generaron puntuaciones de inflamación, fibrina y lesión en cada sección en función de un análisis graduado de 0 (ninguna inflamación/fibrina/lesión) a 3 (inflamación/fibrina/lesión acentuadas). Se otorgó una puntuación de inflamación de 4 a las secciones con 2 o más reacciones granulomatosas. La cobertura endotelial se semicuantificó y expresó como porcentaje de la circunferencia luminal.

C. Análisis estadístico

Los datos morfométricos continuos se expresaron en forma de media \pm DE. El análisis estadístico de los parámetros con una distribución normal se realizó mediante la prueba de la t de Student. La prueba de Wilcoxon se utilizó en el análisis de los parámetros sin una distribución normal o de valores discretos. La normalidad de la distribución de analizó con la prueba de Wilk-Shapiro. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

D. Hallazgos radiográficos

Todas las endoprótesis aparecieron amplia y uniformemente expandidas sin signos de fractura ni doblez.

E. Observaciones con microscopía óptica

1. DES sin polímero

Todas las endoprótesis estaban ampliamente expandidas y permeables sin signos de trombosis a los 3 meses de su implantación. La formación de neointima fue leve con un espesor medio de 0,16 mm y se componía de células musculares lisas agrupadas de forma laxa y una matriz rica en proteoglicano. La lesión vascular era leve. Se observó un depósito leve de fibrina localizado alrededor de los puntales. Aunque se observó una respuesta granulomatosa en la CCI del animal #5, la inflamación fue mínima en general en los otros vasos. Se observaron ocasionalmente y registraron células gigantes. La endotelización fue completa sin células inflamatorias lumbales ni adhesión de plaquetas. Resulta notable la observación de una calcificación densa en la neointima en la sección proximal de la CCI del animal #2 que contenía una endoprótesis metálica desnuda.

2. BMS

Todas las endoprótesis estaban ampliamente expandidas y permeables sin signos de trombosis a los 3 meses de la implantación. La formación de neointima fue leve con un espesor medio de 0.21 mm y se componía de células musculares lisas agrupadas de forma laxa. Se observó una ruptura medial en la arteria coronaria descendente anterior izquierda (DAI) del animal #2. Este vaso mostró una inflamación intensa sobre todo alrededor de los puntales debido probablemente a la lesión creada por la implantación. Sin embargo, excepto en este animal, la lesión vascular y la inflamación fueron leves en general. No se observaron depósito de fibrina ni mala aposición en ninguna de las endoprótesis. La endotelización era completa sin presencia de células inflamatorias lumbales ni adhesión de plaquetas.

F. Histomorfometría

Tabla 4. Comparación morfométrica de la BMS y la PES sin polímero a los 3 meses

Tratamiento	DES sin polímero (n=7)	BMS (n=4)	Valor p
Área de LEE (mm ²)	9,52 \pm 1,27	7,32 \pm 0,86	0,01
Área de LEI (mm ²)	8,16 \pm 1,09	6,15 \pm 0,81	0,01
Área luminal (mm ²)	6,27 \pm 1,59	4,17 \pm 0,98	0,04

*Valor p derivado de análisis estadístico con prueba de Wilcoxon

Los resultados de este estudio animal demostraron un incremento significativo del área luminal (es decir, una reducción de la restenosis) a los 3 meses de la implantación de una endoprótesis liberadora de fármaco sin polímero (DES) en un modelo porcino comparada con una endoprótesis metálica desnuda control (BMS).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para hacer una endoprótesis con el fin de reducir la cifra de aparición o extensión de restenosis o trombosis debidas a una lesión vascular en un sujeto respecto a la observada colocando en la zona lesionada una endoprótesis metálica desnuda expansible formada de filamentos metálicos interconectados y con una cubierta en la superficie externa de los filamentos de la endoprótesis de un polímero portador que contiene un fármaco -limus, y cuyo método comprende:
- La abrasión de regiones de la superficie externa de los filamentos de la endoprótesis para una rugosidad de la superficie (Ra) de al menos unos 20 μm (0,5 μm) y un rango de rugosidad de la superficie (Rt) de 300-700 μm (7,5-17,5 μm) y
- 10 -El revestimiento de las regiones rugosas de los filamentos de la endoprótesis con una cubierta sin polímero del fármaco -limus, hasta un espesor de la cubierta mayor que el rango de rugosidad de la superficie de la superficie rugosa de la endoprótesis.
- 15 2. Un método para hacer endoprótesis expansibles formadas de filamentos metálicos interconectados para la administración de fármacos contra la restenosis, cuyo método comprende;
- La abrasión de las regiones superficiales externas de los filamentos de la endoprótesis hasta una rugosidad de superficie (Ra) de al menos 20 μm (0,5 μm) aproximadamente y un rango de rugosidad de la superficie (Rt) de 300-700 μm (7,5-17,5 μm); y el revestimiento de la superficie externa de la endoprótesis con un fármaco -limus sin polímero.
- 20 3. El método de acuerdo, con las reivindicaciones 1 o 2, por el que los filamentos de la endoprótesis se vuelven rugosos hasta una rugosidad de la superficie de 20-40 μm (0,5 a 1 μm).
- 25 4. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la rugosidad mencionada se produce erosionando las regiones superficiales externas de los filamentos de la endoprótesis con un chorro presurizado de partículas abrasivas.
5. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la rugosidad mencionada se lleva a cabo formando una máscara de película de hidrocarburo sobre las regiones superficiales externas de los filamentos de la endoprótesis, eliminando selectivamente el material de la endoprótesis expuesto por la máscara y la máscara.
- 30 6. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la rugosidad mencionada se produce mediante el grabado con láser de las regiones superficiales externas de los filamentos de la endoprótesis.
7. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la rugosidad mencionada se lleva a cabo granando las regiones superficiales externas de los filamentos para imprimir un patrón sobre ellas.
- 35 8. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la cubierta mencionada se añade aplicando una solución viscosa del fármaco sobre las superficies externas del filamento de la endoprótesis y secando la solución aplicada para formar una cubierta farmacológica sólida sobre los filamentos de la endoprótesis.
- 40 9. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la cubierta mencionada se realiza aplicando una cantidad final de fármaco -limus sobre la endoprótesis de entre 80 y 240 $\mu\text{g/cm}$ de longitud de la endoprótesis.
10. El método, de acuerdo con la reivindicación 9, por el que el recubrimiento mencionada se aplica para obtener una cubierta final con un espesor de entre 5 y 15 μm .
- 45 11. El método, de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, por el que la cubierta de fármaco -limus de la endoprótesis mencionada es Biolimus A9.
- 50 12. Una endoprótesis expansible para reducir la cifra de aparición y extensión de restenosis o trombosis, sin la respuesta inflamatoria producida por una endoprótesis que tuviera una cubierta de polímero liberadora de fármaco -limus, cuando la endoprótesis se coloca en el lugar de la lesión vascular, y que comprende:
- Una endoprótesis expansible formada de filamentos metálicos interconectados y con una superficie externa rugosa de estos filamentos caracterizada por una rugosidad de la superficie (Ra) de al menos unos 20 μm (0,5 μm) y un rango de rugosidad de la superficie (Rt) de 300-700 μm (7,5-17,5 μm) y
- Sobre las regiones rugosas de los filamentos de la endoprótesis, una cubierta sin polímero del fármaco -limus que tiene un espesor mayor del rango de rugosidad de la superficie rugosa de la endoprótesis.

ES 2 476 594 T3

13. La endoprótesis, de acuerdo con la reivindicación 12, en la que sus filamentos están erosionados hasta adquirir una rugosidad de la superficie (Ra) de 20-40 μm (0,5 a 1 μm).

14. La endoprótesis, de acuerdo con la reivindicación 12, en la que sus filamentos están erosionados para tener un rango de rugosidad de la superficie (Rt) de 300-500 μm (7,5-12,5 μm).

5

15. La endoprótesis, de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el fármaco –limus es Biolimus A9.

16. La endoprótesis, de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la cubierta sin polímero del fármaco –limus cubre entre 80 y 240 $\mu\text{g}/\text{cm}$ de longitud de la endoprótesis.

17. La endoprótesis, de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la cubierta sin polímero del fármaco –limus tiene un espesor de entre 5 y 15 μm .

10

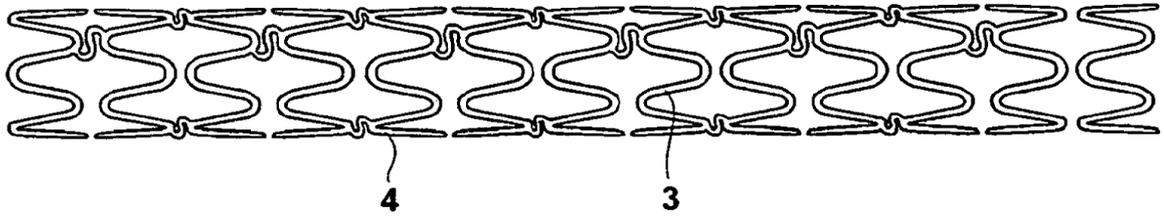


FIG. 1

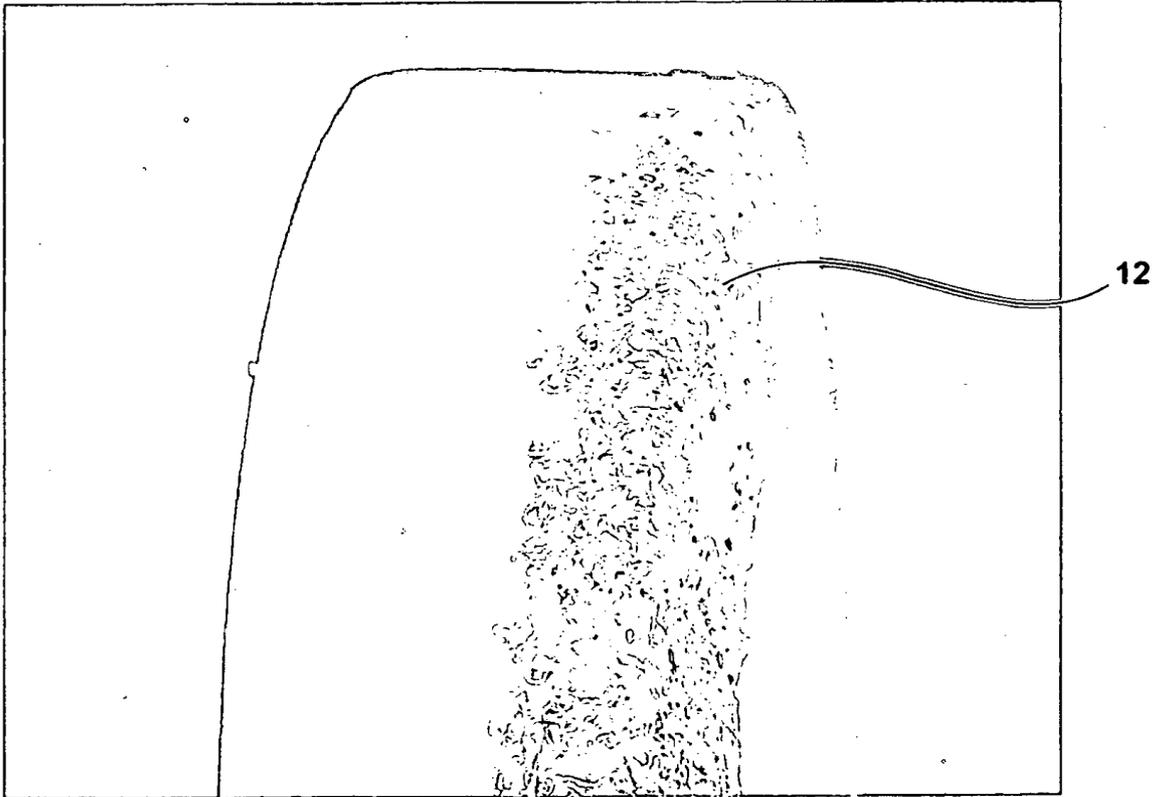


FIG. 2A

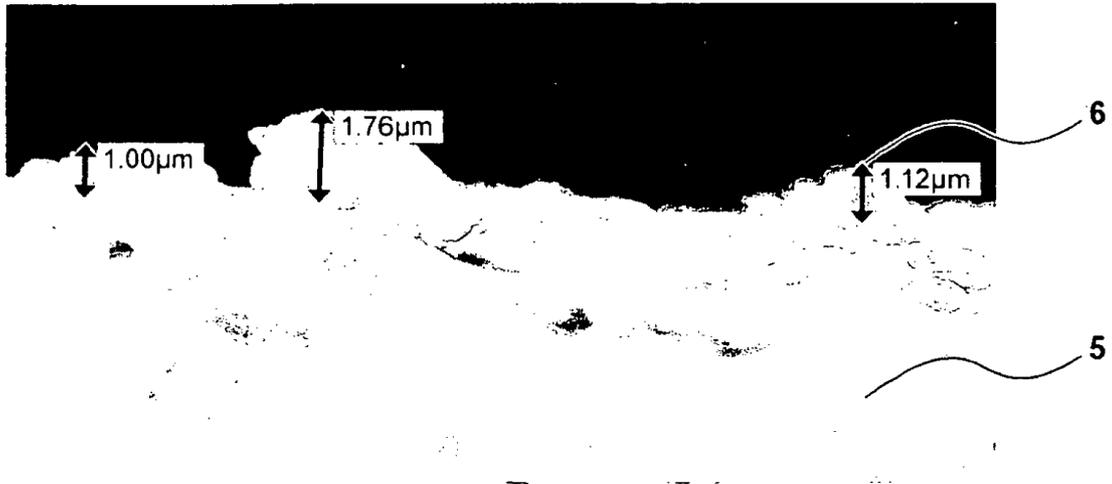


FIG. 2B



FIG. 2C

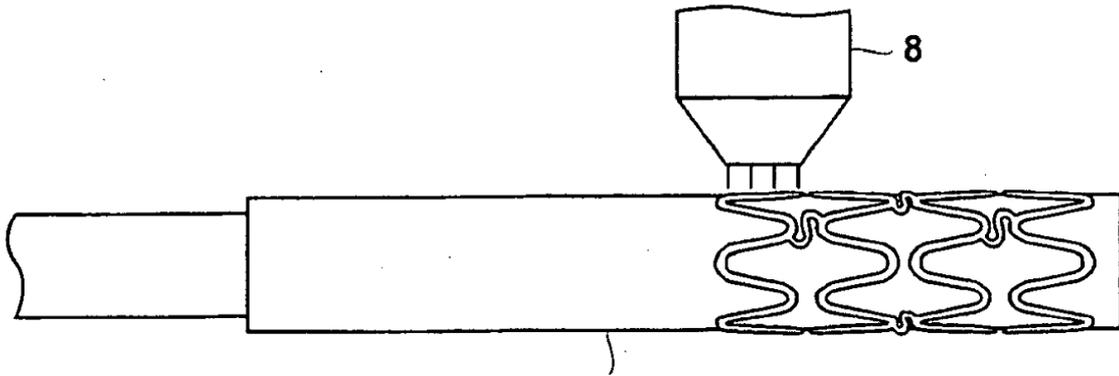


FIG. 3A

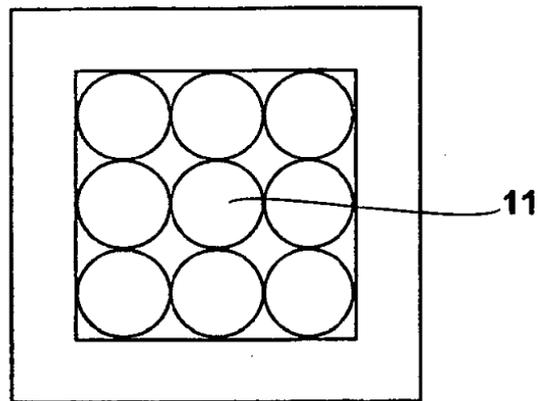


FIG. 3B

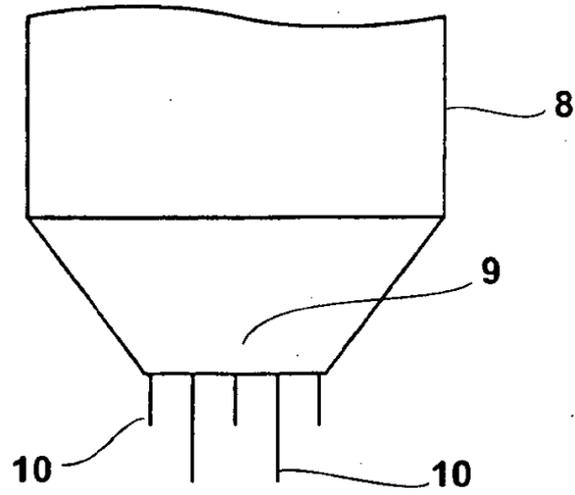


FIG. 3C

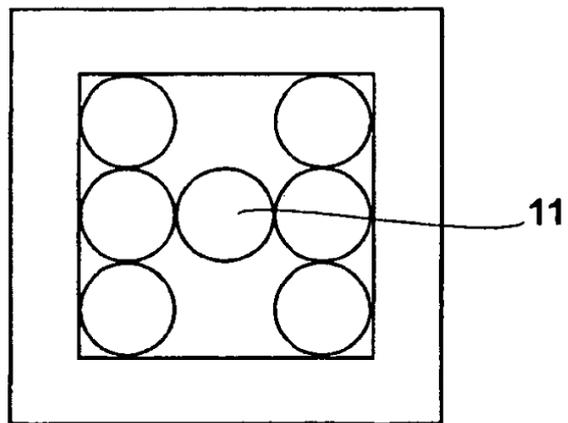


FIG. 3D

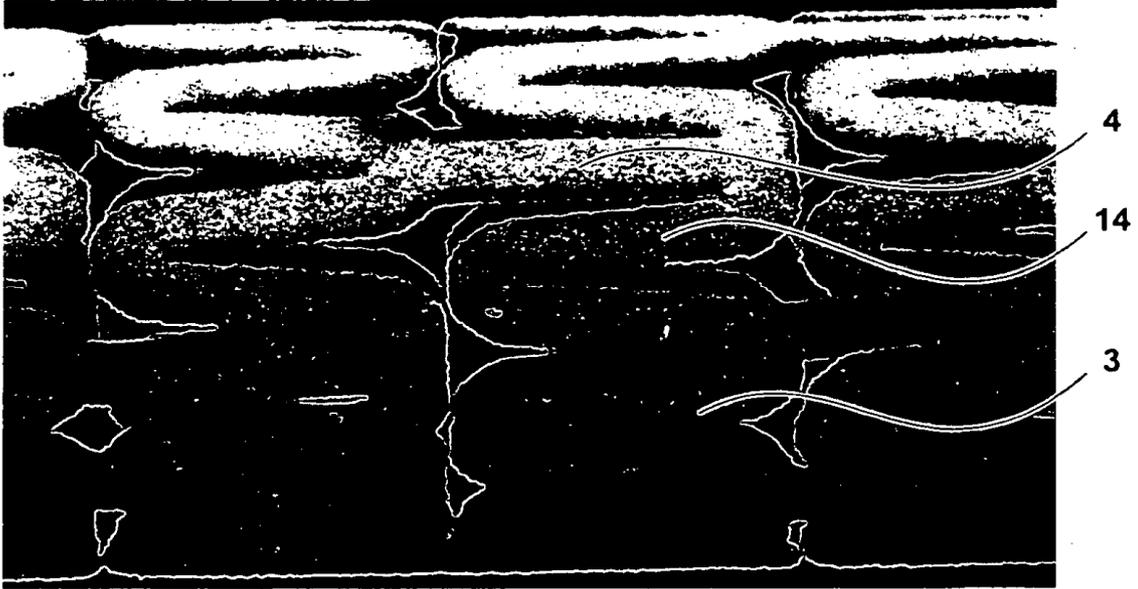


FIG. 4

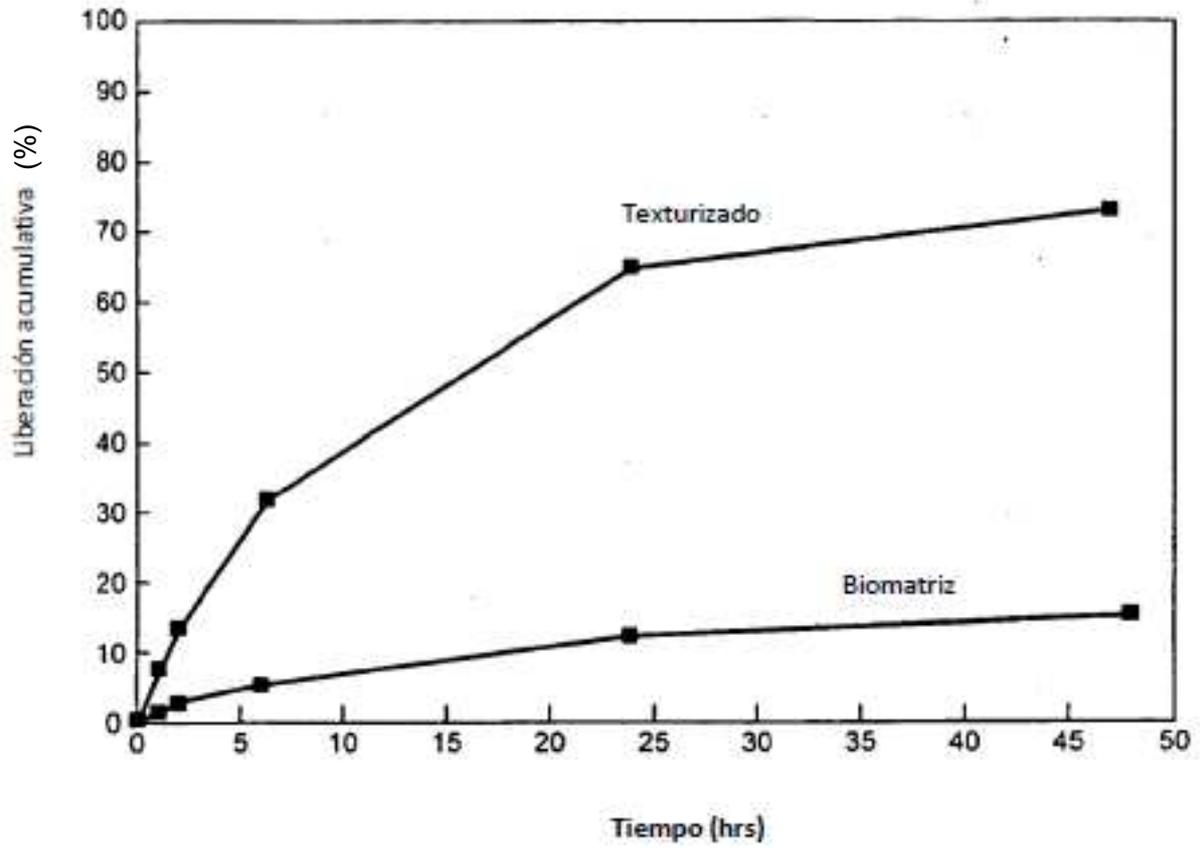


FIG. 5

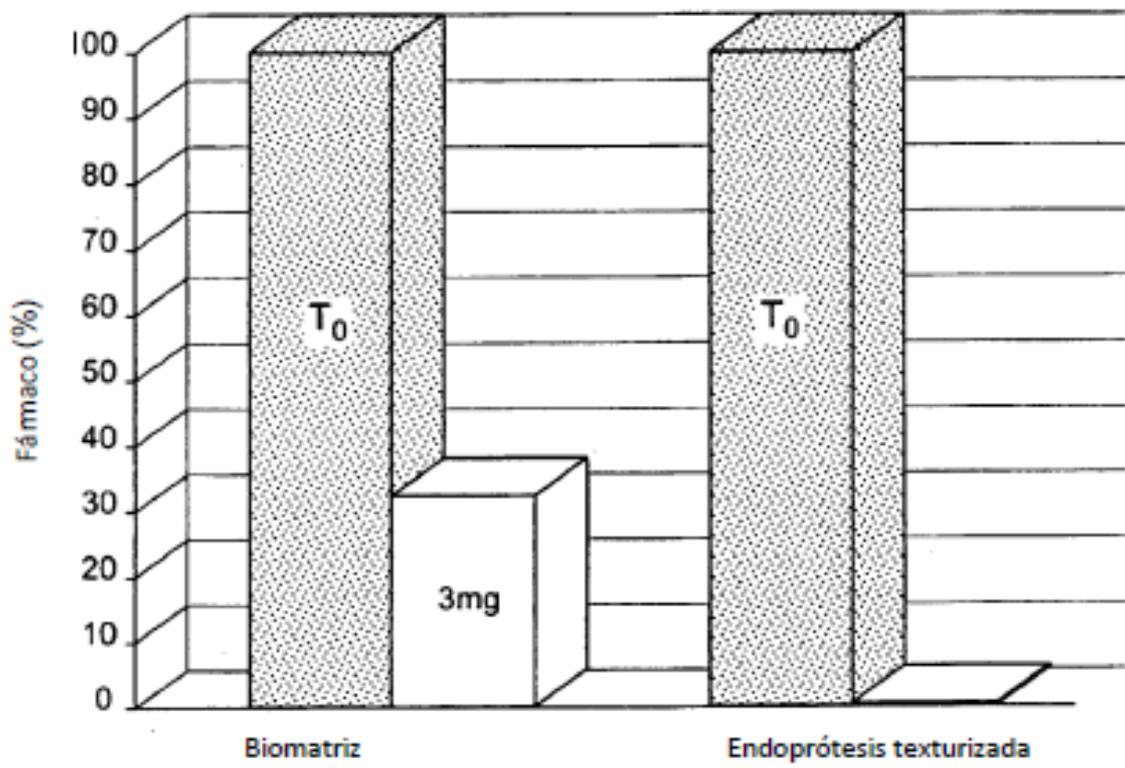


FIG. 6

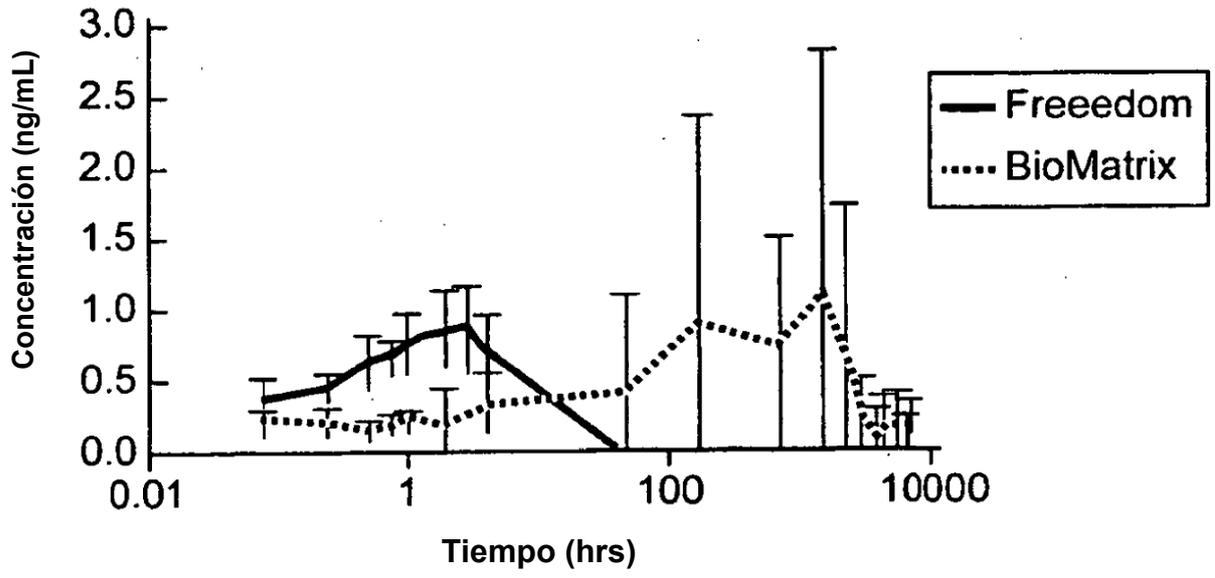


FIG.7

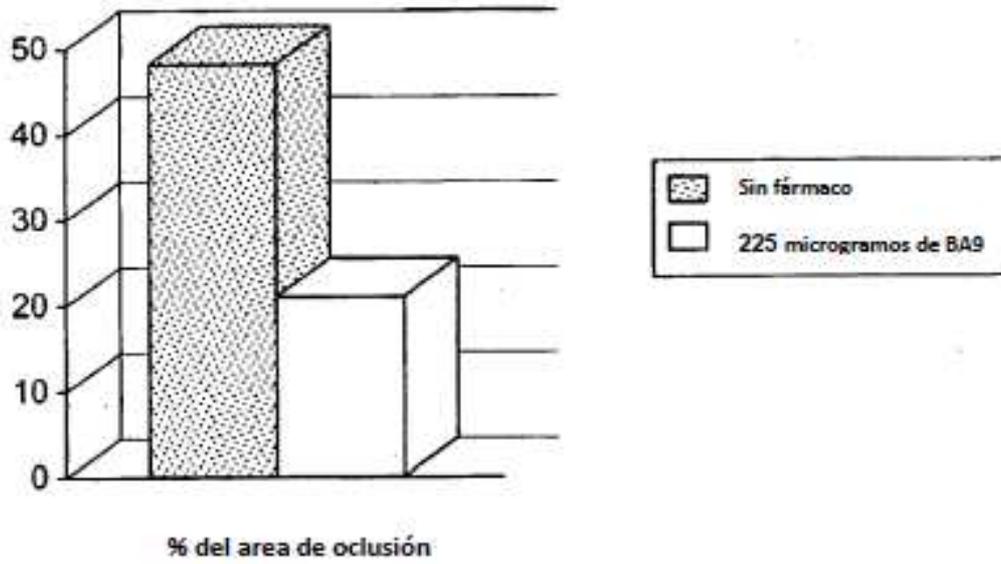


FIG.8

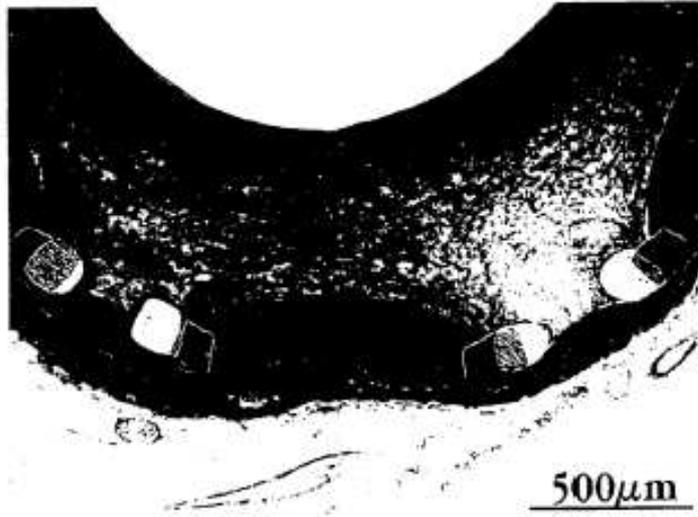


FIG .9A

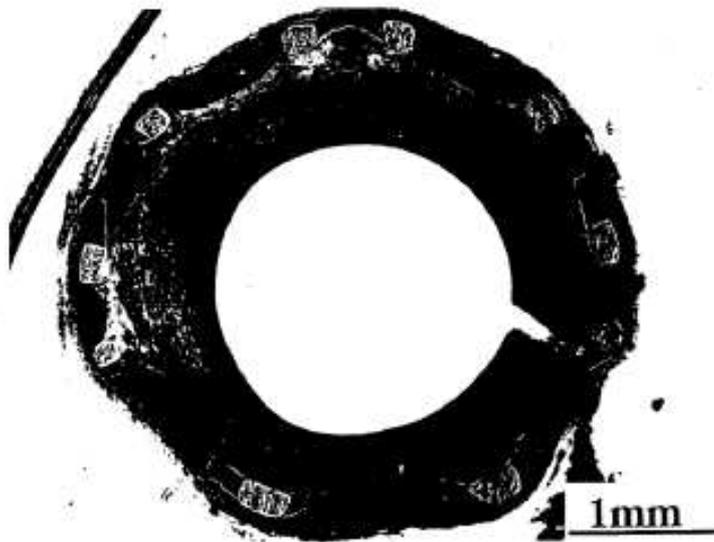


FIG .9B

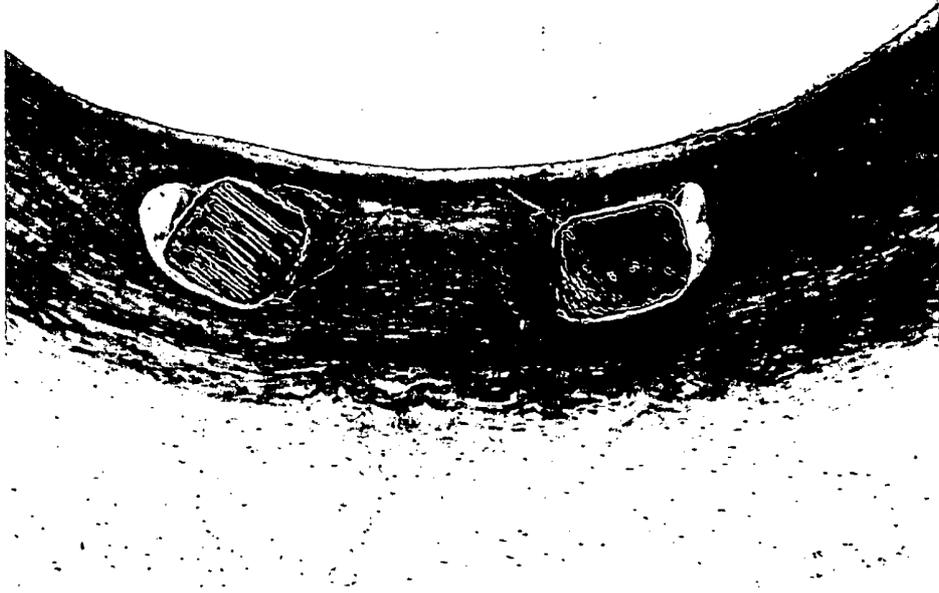
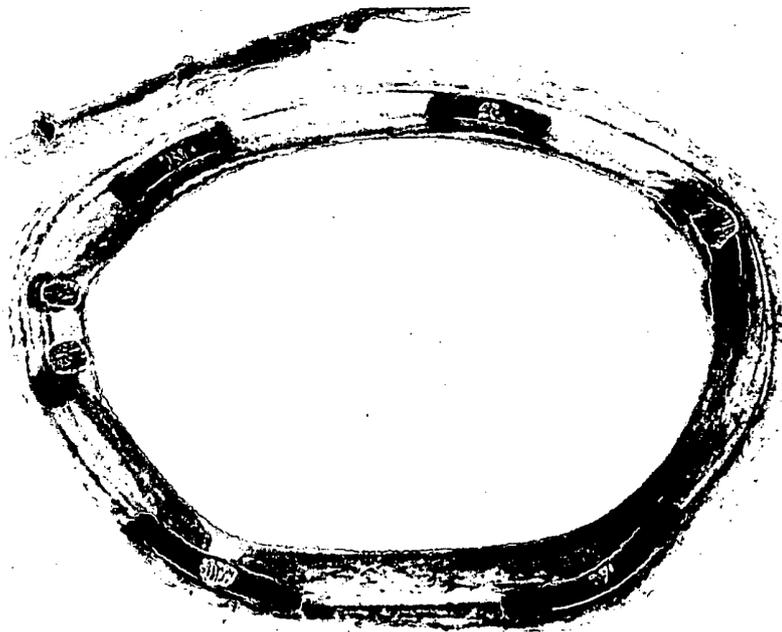


FIG. 9C



1

FIG. 9D

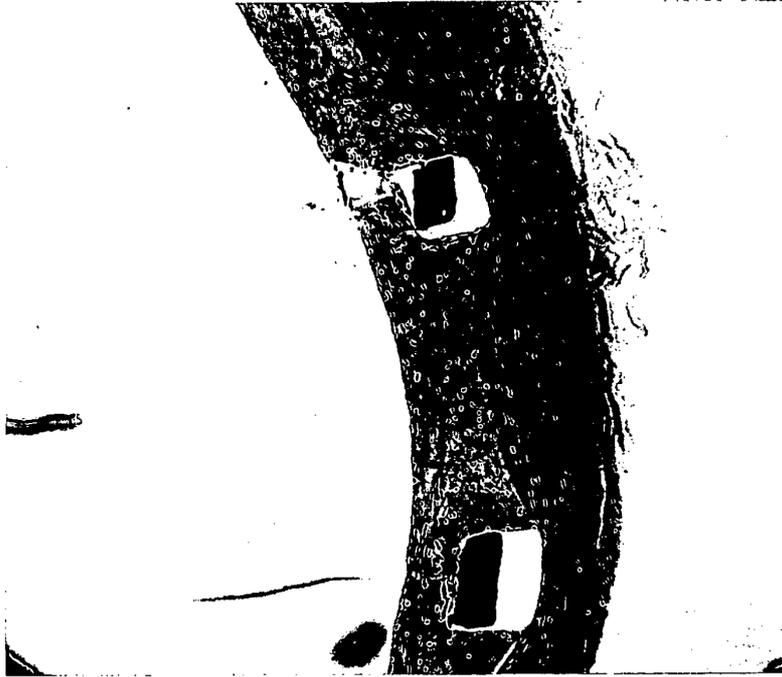


FIG. 9E

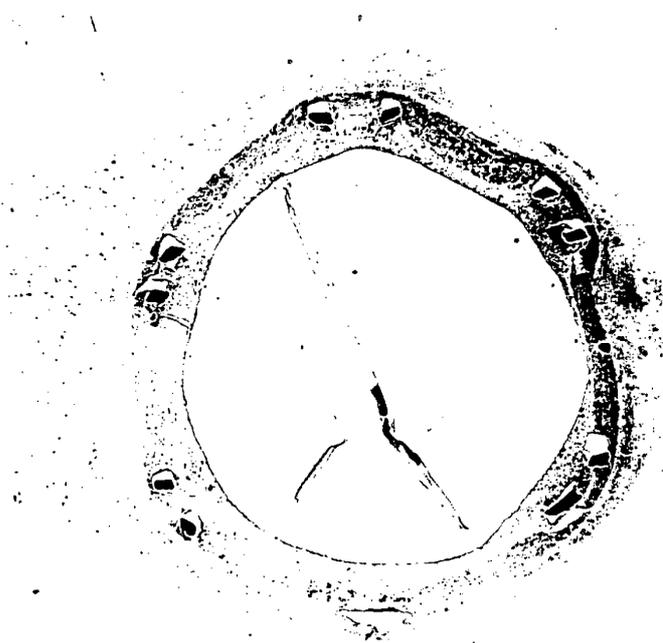


FIG. 9F

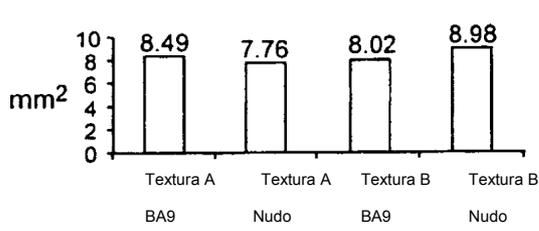


FIG. 10A

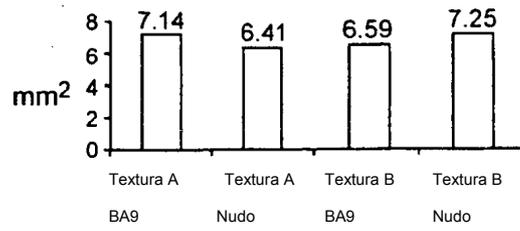


FIG. 10B

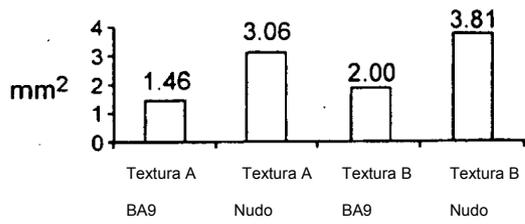


FIG. 10C

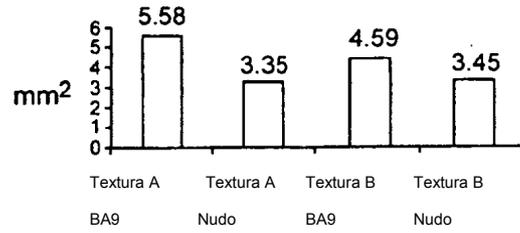


FIG. 10D

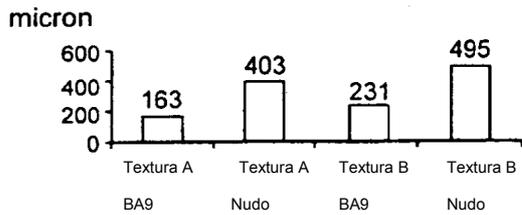


FIG. 10E

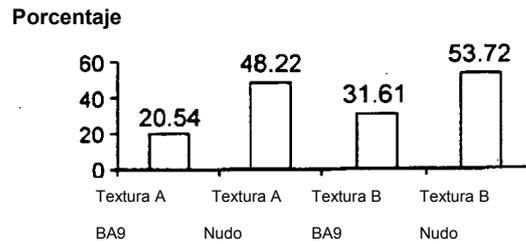


FIG. 10F

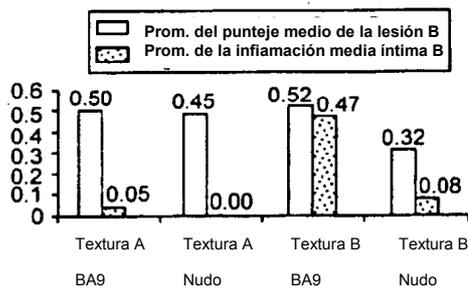


FIG. 10G

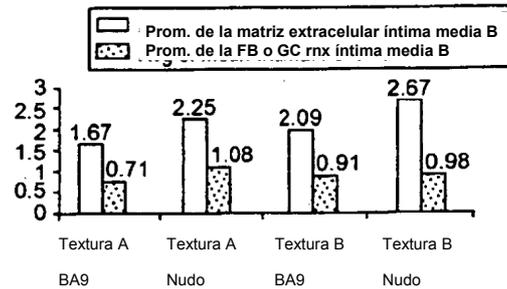


FIG. 10H

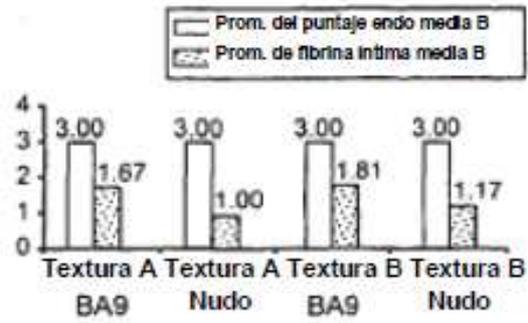


FIG. 10I

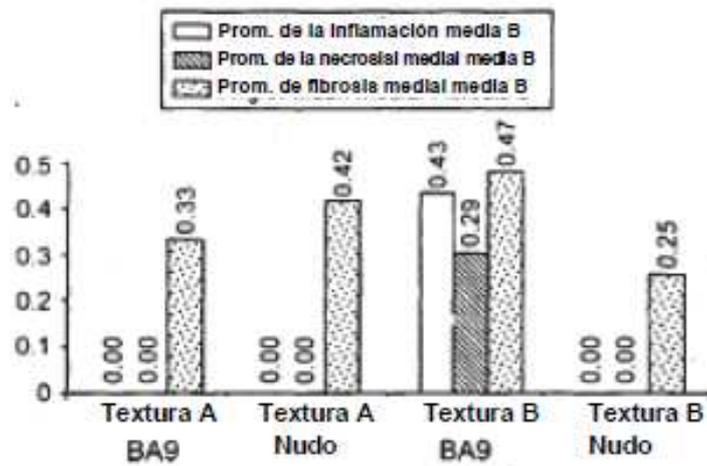


FIG. 10J

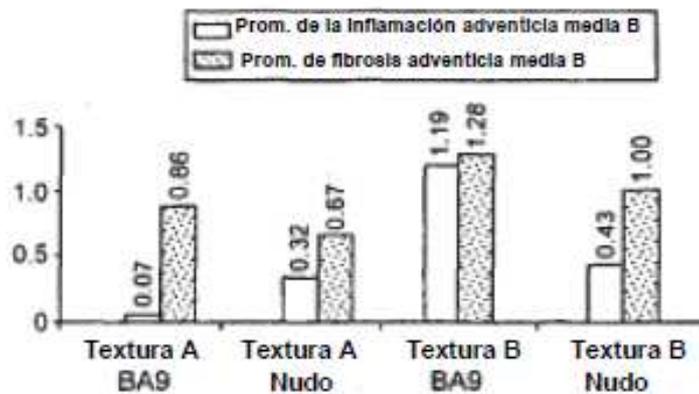


FIG. 10K