

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 378**

51 Int. Cl.:

**A01N 63/00** (2006.01)

**A61K 35/16** (2015.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.04.2003 PCT/US2003/11623**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2003 WO03088905**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2003 E 03718407 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 1494535**

54 Título: **Composiciones y métodos mínimamente invasivos para tratar la reparación incompleta de tejidos**

30 Prioridad:

**13.04.2002 US 372682 P**  
**11.04.2003 US 412821**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.05.2017**

73 Titular/es:

**MISHRA, ALLAN (100.0%)**  
**1312 ORANGE AVENUE**  
**MENLO PARK, CA 94025, US**

72 Inventor/es:

**MISHRA, ALLAN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones:**

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

**ES 2 613 378 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**

Composiciones y métodos mínimamente invasivos para tratar la reparación incompleta de tejidos

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

5 En una realización, la presente invención se refiere a una composición para uso en el tratamiento de tejido dañado, en donde la composición incluye plasma rico en plaquetas. El tejido tratado puede ser tejido conectivo, músculo cardíaco, músculo esquelético, material de disco, cuerpos vertebrales, páncreas y otros órganos internos, tejido cerebral o tejido de la médula espinal, o tejido vascular. En una realización preferida, el tejido es tejido conectivo. Las composiciones descritas también son útiles en la cicatrización de heridas e infecciones.

10 Descripción de la técnica relacionada

15 Existe una necesidad de protocolos de tratamiento para lesiones de tejido conectivo que sean refractarias a tratamientos estándar tales como medicación antiinflamatoria, soporte, reposo y terapia física. Se sabe que las lesiones u otros daños a los tejidos conectivos relativamente flexibles y relativamente avasculares (en adelante "tejido conectivo" o "tejidos conectivos") tardan mucho tiempo en sanar (meses o incluso años). En muchos casos, las lesiones de los tejidos conectivos nunca pueden sanar adecuadamente, lo que requiere intervención quirúrgica. Las lesiones y trastornos de los tejidos conectivos tienen un impacto significativo en la sociedad. La prevalencia general de estos problemas es de aproximadamente 140 por 1000 personas en los Estados Unidos, de acuerdo con una encuesta realizada en 1995 por el Centro Nacional de Estadísticas de Salud. La misma encuesta estimó que los costos directos serían de 88.700 millones de dólares y que los costos indirectos se estimarían en hasta 111.900 millones de dólares para la pérdida de productividad.

20 Un ejemplo de trastorno del tejido conectivo es la epicondilitis lateral. La epicondilitis lateral o "codo de tenista" es un trastorno ortopédico y de medicina deportiva bien conocido. La patología subyacente al trastorno está relacionada con la lesión por sobreuso y el microdesgaste del tendón del músculo extensor radial del carpo en el codo. El cuerpo intenta reparar estos microdesgarros, pero el proceso curativo es incompleto en muchos casos. Los especímenes patológicos de pacientes sometidos a cirugía de epicondilitis lateral crónica revelan una displasia angiofibroblástica desorganizada. Este intento incompleto de reparación produce tejido degenerativo, inmaduro y avascular. El tejido reparado incompletamente es más débil que el tendón normal y carece de la fuerza necesaria para funcionar normalmente. Este tejido también limita al paciente causando dolor e impactando negativamente en la calidad de vida del paciente.

25 La reparación incompleta similar puede estar presente en otros tipos de lesiones o daños en el tejido conjuntivo, tales como tendinitis rotuliana (rodilla de Jumper), tendinitis de Aquiles (común en corredores) y tendinitis del manguito rotador (comúnmente visto en atletas "aéreos" como lanzadores de béisbol), lesiones crónicas de los ligamentos del tobillo ("esguinces de tobillo"), o rasgones del ligamento.

30 Se ha estudiado la fisiopatología de las condiciones antes mencionadas. Actualmente existen muchos tratamientos no operativos y operativos diferentes. Las medidas no operativas incluyen el reposo, la modificación de la actividad, la medicación antiinflamatoria oral y las inyecciones de cortisona. La modificación de la actividad y el descanso pueden ayudar a los pacientes con algunas de estas afecciones, pero sigue habiendo una población clínica significativa que no es accesible con estas terapias. A pesar del uso generalizado, los medicamentos anti-inflamatorios orales no han demostrado ser útiles en estudios controlados. Algunos estudios sugieren además que la medicación no esteroidea puede tener un efecto adverso en el proceso de curación de las lesiones del ligamento. También, no se han encontrado células inflamatorias agudas en muestras patológicas de casos de epicondilitis lateral. Las inyecciones de cortisona son francamente controvertidas en el tratamiento de los tendinosis y están contraindicadas en lesiones de ligamentos agudos. Varios estudios señalan una mejora en los pacientes tratados con cortisona en el seguimiento a corto plazo. Resultados más allá de un año, sin embargo, revelan una alta tasa de recurrencia de los síntomas y sólo una tasa de eficacia equívoca. Estas inyecciones también conllevan el riesgo de ruptura tendinosa, infección, despigmentación cutánea, atrofia subdérmica e hiperglucemia en pacientes diabéticos. Las medidas operativas incluyen desbridamiento y reparación de los tendones patológicos asociados. Sin embargo, la cirugía abierta o artroscópica tiene muchas complicaciones potenciales tales como infección profunda, daño a estructuras neurovasculares y formación de cicatrices. La cirugía también es costosa y conlleva los riesgos adicionales asociados con la anestesia regional o general.

35 40 45 50 55 Lo que se necesita son composiciones para resolver los problemas mencionados anteriormente. El plasma rico en plaquetas (PRP) es una mezcla enriquecida que contiene plaquetas, aislada de sangre entera, que se vuelve a suspender en un pequeño volumen de plasma. Mientras que la sangre entera puede contener aproximadamente 95% de glóbulos rojos, aproximadamente 5% de plaquetas y menos del 1% de glóbulos blancos, el PRP puede contener 95% de plaquetas con 4% de glóbulos rojos y 1% de glóbulos blancos. PRP se puede combinar con agentes activadores tales como trombina o calcio que activan las plaquetas para liberar su contenido tal como citoquinas y otros factores de crecimiento. PRP se ha utilizado en medicina, principalmente en injertos óseos y aplicaciones de implantes dentales

y como parte de una composición para usar como adhesivo quirúrgico. Por ejemplo, Landesberg et al. (US 6,322,785) describen un gel plaquetario autólogo que incluye PRP para injertos óseos e implantes dentales. El PRP es activado por colágeno y se aplica por vía tópica para promover la cicatrización de heridas.

5 Antanavich et al. (Patente de los Estados Unidos No. 5,585,007) describen la preparación de PRP y su uso como un sellador de tejidos. Cochrum (Patente de los Estados Unidos No. 5,614,214) describe un biopolímero que opcionalmente incluye PRP y su uso para bloquear temporalmente arterias y venas. Gordinier et al. (Patente de los Estados Unidos No. 5,599,558) describen un producto de liberación de plaquetas, que incluye plaquetas estandarizadas a aproximadamente pH 6.5, para su uso en una aplicación tópica a heridas.

10 EP-A-0 417 818 (Curative Technologies, Inc) describe un producto de liberación de plaquetas para el tratamiento de tejido que comprende un liberador de plaquetas y un diluyente o portador para la liberación.

US-B1-6 322 785 (Landesberg Regina et al.) describe una composición de gel PRP autóloga para la reparación ósea que comprende colágeno y cloruro de calcio.

EP-A-0 142 339 (Thomas Jefferson University) describe un medio para almacenar plaquetas sanguíneas que comprenden sodio, potasio, calcio, cloruro, citrato y una solución reguladora.

15 Coller B. S. et al. "The pH dependence of quantitative ristocetin-induced platelet aggregation: theoretical and practical implications - a new device for maintenance of platelet-rich plasma pH" describen un dispositivo para mantener el pH del PRP por control del pCO<sub>2</sub> ambiental.

US-A-5 124 316 (Antoniades et al) describe el uso del factor de crecimiento de polipéptido para promover el crecimiento óseo.

20 US-A-5 510 102 (Cochrum) describe composiciones de PRP autólogas para tratar heridas quirúrgicas.

Körner F. & Garweg J. "Advances in the management of vitreomacular traction syndrome and macular hole" describen la aplicación de adyuvante de sangre autóloga, suero, factor de crecimiento transformante o concentrado de plaquetas en un agujero macular.

25 Gaudric A. et al. "Use of autologous platelet concentrate in macular hole surgery" revelan el uso de APC como adyuvante en la cirugía de agujero macular.

Ninguna de las técnicas anteriores enseña el tratamiento del tejido conectivo con PRP para promover la reparación tisular. Además, el solicitante ha descubierto que el PRP tiene incluso una aplicación más amplia en el tratamiento de una amplia gama de lesiones y/o daños en los tejidos.

#### Resumen de la invención

30 En una realización, la presente invención se refiere al uso de una composición de plasma rico en plaquetas en la preparación de un medicamento para tratar un tejido lesionado en un individuo. En realizaciones preferidas, el tejido se selecciona del grupo que consiste en tejido conectivo, músculo cardíaco, músculo esquelético, material de disco, un cuerpo vertebral, cerebro, médula espinal y tejido vascular. En una realización preferida, el tejido es una parte de un órgano interno. En una realización más preferida, el órgano interno es el páncreas. En una realización particularmente preferida, el tejido es un tejido conectivo.

En realizaciones preferidas, el plasma rico en plaquetas se titula para obtener un pH de 7.3 a 7.5. En una realización más preferida, la titulación se realiza utilizando una solución reguladora de bicarbonato.

40 En realizaciones preferidas, la composición de plasma rico en plaquetas incluye plaquetas obtenidas del individuo que ha de ser tratado con la composición de plasma rico en plaquetas. En una realización preferida, no se añade ningún activador exógeno a la composición antes de su introducción en y alrededor del sitio de la lesión.

Un método de tratamiento, que no constituye una realización de la invención, puede incluir la etapa de mezclar en la composición de plaquetas sustancialmente de forma simultánea con la introducción dentro y alrededor del sitio de lesión tisular, uno o más ingredientes que incluyen trombina, epinefrina, colágeno, sales de calcio y agentes de ajuste del pH.

45 En una realización, la presente invención se dirige a una composición de plasma rico en plaquetas para el tratamiento de un tejido lesionado que incluye plasma rico en plaquetas; y un agente de ajuste del pH que proporciona un pH de 7.3 a 7.5, en donde la composición no contiene un activador del plasma rico en plaquetas. En una realización preferida, el agente de ajuste del pH es una solución reguladora de bicarbonato. Preferiblemente, el plasma utilizado para el plasma rico en plaquetas procede de una fuente autóloga.

5 En una realización, la presente invención se dirige a un método para fabricar una composición de plasma rico en plaquetas que incluye las etapas de extracción de sangre de un individuo; obtener una fracción de plasma de la sangre; aislar plaquetas de la fracción de plasma; volver a suspender las plaquetas en una cantidad reducida de plasma; y ajustar el pH para proporcionar un pH de 7.3 a 7.5 para las plaquetas resuspendidas para proporcionar una composición de plasma rico en plaquetas, en donde el plasma rico en plaquetas no contiene un activador de la composición de plasma rico en plaquetas.

Breve descripción de los dibujos

Estas y otras características de esta invención se describirán ahora con referencia a los dibujos de realizaciones preferidas:

10 La figura 1 muestra las puntuaciones promedio de dolor analógico visual en la fase preoperatoria y 6 meses postoperatorios.

La figura 2 muestra las puntuaciones promedio de los puntajes de codo Mayo en el preoperatorio y 6 meses postoperatorios.

Descripción detallada de la realización preferida

15 El inventor ha descubierto sorprendentemente que ciertas composiciones de plaquetas de la invención son útiles para el tratamiento de varios tipos de daño o lesión tisular. Como se utiliza en este documento, el término "lesión" es un término amplio y se utiliza en el sentido corriente para referirse a cualquier daño tisular incluyendo una herida, trauma o lesión o cualquier degeneración tisular. En particular, las composiciones de plaquetas de la invención se pueden utilizar para tratar la reparación incompleta de diversos tejidos conectivos.

20 Una composición de acuerdo con la invención se puede utilizar en un método para tratar una reparación incompleta en el tejido conectivo de un paciente, que comprende: obtener una composición de plaquetas; determinar una lesión que comprende la reparación incompleta en el tejido conectivo del paciente; y la introducción mínimamente invasiva de la composición de plaquetas en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas está a o por encima del pH fisiológico. En un aspecto, la composición de plaquetas incluye opcionalmente liberación de plaquetas. En un aspecto, el método comprende, además: mezclar en la composición de plaquetas uno o más de los ingredientes seleccionados de trombina, epinefrina, colágeno, sales de calcio y agentes de ajuste del pH. También son útiles los materiales para promover la desgranulación o preservar plaquetas, factores de crecimiento adicionales o inhibidores del factor de crecimiento, fármacos de molécula pequeña tales como NSAIDS, esteroides y agentes antiinfecciosos. En un aspecto, el tejido conjuntivo del paciente se selecciona de: tendones, ligamentos, cápsulas articulares y tejidos faciales.

25 En un aspecto, la obtención de la composición de plaquetas comprende: extracción de sangre de un ser humano; y centrifugar la sangre para obtener una fracción rica en plasma. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plasma rico en plaquetas. En un aspecto, la composición de plaquetas está exenta de activadores exógenos antes de su introducción en y alrededor de la región de la reparación incompleta en el tejido conectivo del paciente. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plaquetas obtenidas del paciente.

30

35 Una composición de acuerdo con la invención se puede utilizar además en un método para tratar la reparación incompleta en el tejido conectivo de un paciente, que comprende: obtener una composición de plaquetas; determinar una lesión que comprende la reparación incompleta en el tejido conectivo del paciente; y la introducción de la composición de plaquetas en y alrededor de la lesión, con la condición de que no se añade ningún activador a la composición de plaquetas antes de su introducción en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas se introduce mínimamente invasiva en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plasma rico en plaquetas. En un aspecto, el método comprende, además: mezclar en la composición de plaquetas sustancialmente de forma simultánea con su introducción mínimamente invasiva en y alrededor de la lesión de uno o más de los ingredientes seleccionados de trombina, epinefrina, colágeno, sales de calcio y agentes de ajuste del pH. También son útiles los materiales para promover la desgranulación o preservar plaquetas, factores de crecimiento adicionales o inhibidores del factor de crecimiento, fármacos de molécula pequeña tales como NSAIDS, esteroides y agentes antiinfecciosos. En un aspecto, el tejido conjuntivo del paciente se selecciona de: tendones, ligamentos, cápsulas articulares y tejidos faciales. En un aspecto, la introducción de la composición de plaquetas en y alrededor de la lesión comprende activar plaquetas en la composición de plaquetas a través de la acción del colágeno presente en el tejido conectivo del paciente. En un aspecto, la composición de plaquetas está a o por encima del pH fisiológico. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plaquetas obtenidas del paciente.

40

45

50

En incluso otro aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende: liberación de plaquetas en donde la composición está a un pH mayor o igual que el pH fisiológico, y en donde la composición comprende sustancialmente plaquetas no inactivadas.

55 Una composición de acuerdo con la invención se puede utilizar en un método de tratamiento de lesiones resultantes de una lesión aguda o trastornos crónicos del Ligamento Colateral Medial de la rodilla o el codo, tendón del músculo extensor radial del carpo, ligamento talofibular anterior en el tobillo, tendón de Aquiles, tendón tibial posterior, tendón

rotuliano, tendón del cuádriceps, ligamento cruzado anterior, ligamento cruzado posterior, ligamentos espinales, materiales discales, tendón del manguito rotador o tendones bíceps que comprende: obtener una composición de plaquetas; determinar una localización de la lesión; y la introducción de la composición de plaquetas en y alrededor de la lesión, con la condición de que no se añade ningún activador a la composición de plaquetas antes de su introducción en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas se introduce mínimamente invasiva en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plasma rico en plaquetas. En un aspecto, el método comprende, además: mezclar en la composición de plaquetas sustancialmente de forma simultánea con su introducción mínimamente invasiva en y alrededor de la lesión de uno o más de los ingredientes seleccionados de trombina, epinefrina, colágeno, sales de calcio, agentes de ajuste de pH. También son útiles los materiales para promover la desgranulación o preservar plaquetas, factores de crecimiento adicionales o inhibidores del factor de crecimiento, fármacos de molécula pequeña tales como NSAIDS, esteroides y agentes antiinfecciosos. En un aspecto, la obtención de la composición de plaquetas comprende: extracción de sangre de un ser humano; y centrifugar la sangre para obtener una fracción rica en plasma. En un aspecto, la composición de plaquetas está a o por encima del pH fisiológico. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plaquetas obtenidas del paciente.

Una composición de acuerdo con la invención se puede utilizar en un método de tratamiento de lesiones resultantes de lesiones o trastornos crónicos del músculo cardíaco, músculo esquelético, sistemas de órganos, tejido vascular, material de disco, cuerpos espinales, médula espinal y tejido cerebral, que comprende: obtención de una composición de plaquetas; determinar una lesión que necesita tratamiento; y la introducción mínimamente invasiva de la composición de plaquetas en y alrededor de la lesión. En un aspecto, la composición de plaquetas incluye opcionalmente la liberación de plaquetas. En un aspecto, el método comprende, además: mezclar en la composición de plaquetas uno o más de los ingredientes seleccionados de trombina, epinefrina, colágeno, sales de calcio y agentes de ajuste del pH. También son útiles los materiales para promover la desgranulación o preservar plaquetas, factores de crecimiento adicionales o inhibidores del factor de crecimiento, fármacos de molécula pequeña tales como NSAIDS, esteroides y agentes antiinfecciosos. En un aspecto, la obtención de la composición de plaquetas comprende: extracción de sangre de un ser humano; y centrifugar la sangre para obtener una fracción rica en plasma. En un aspecto, la composición de plaquetas está a o por encima del pH fisiológico. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plaquetas obtenidas del paciente.

En un aspecto, el tejido conjuntivo del paciente se selecciona de: tendones, ligamentos, cápsulas articulares y tejidos faciales. En un aspecto, la obtención de la composición de plaquetas comprende: extracción de sangre de un ser humano; y centrifugar la sangre para obtener una fracción rica en plasma. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plasma rico en plaquetas. En un aspecto, la composición de plaquetas está exenta de activadores exógenos antes de su introducción en y alrededor de la región de la reparación incompleta en el tejido dañado o lesionado del paciente. En un aspecto, la composición de plaquetas comprende plaquetas obtenidas del paciente.

La composición de plaquetas de la invención puede ser una composición biocompatible que comprende plaquetas no activadas, plaquetas activadas, liberación(es) de plaquetas o similares. En una realización, la composición de plaquetas de la invención comprende plasma rico en plaquetas (PRP).

El término "PRP" como se utiliza en este documento es un término amplio que se utiliza en su sentido corriente y re es una concentración de plaquetas mayor que la concentración de sangre periférica suspendida en una solución de plasma, con recuentos plaquetarios típicos que van desde 500,000 hasta 1,200,000 por milímetro cúbico, o incluso más. El PRP se forma a partir de la concentración de plaquetas a partir de sangre entera, y puede obtenerse utilizando fuentes autólogas, alogénicas o combinadas de plaquetas y/o plasma. El PRP se puede formar a partir de una variedad de fuentes animales, incluyendo fuentes humanas.

Las plaquetas son porciones citoplasmáticas de megacariocitos de la médula. No tienen núcleo para replicación; la vida útil esperada de una plaqueta es de unos cinco a nueve días. Las plaquetas están implicadas en el proceso hemostático y liberan varios iniciadores de la cascada de la coagulación. Las plaquetas también liberan citoquinas implicadas en el inicio de la cicatrización de heridas. Las citoquinas se almacenan en gránulos alfa en plaquetas. En respuesta a las plaquetas o agregación de plaquetas o plaquetas al contacto de tejido conectivo, como se esperaría en lesión o cirugía, la membrana celular de la plaqueta se "activa" para secretar el contenido de los gránulos alfa. Los gránulos alfa liberan citocinas a través de la secreción activa a través de la membrana celular de plaquetas a medida que se añaden histonas y cadenas laterales de carbohidratos al esqueleto proteico para formar la citocina completa. Por lo tanto, la ruptura o fragmentación de plaquetas no da lugar a la liberación de la citocina completa.

Una amplia variedad de citocinas son liberadas por plaquetas activadas. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), el factor de angiogénesis derivado de plaquetas (PDAF) y el factor de crecimiento de células endoteliales derivadas de plaquetas (PD-ECGF) y el factor de crecimiento similar a insulina (IGF) están entre las citoquinas liberadas por la desgranulación de las plaquetas. Estas citocinas sirven a una serie de funciones diferentes en el proceso de curación, incluyendo ayudar a estimular la división celular en un sitio de lesión, también funcionan como factores quimiotácticos de gran alcance para las células mesenquimales, monocitos y fibroblastos, entre otros. Para los fines de esta patente, el término "liberar" se refiere al contenido interno de la plaqueta, incluidas las citoquinas, que tienen el potencial de afectar a la función de otras células.

5 Históricamente, el PRP se ha utilizado para formar un adhesivo de tejido de fibrina a través de la activación del PRP utilizando trombina y calcio, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos 5,165,938 de Knighton y 5,599,558 de Gordinier et al. La activación da como resultado la liberación de las diversas citoquinas y también crea una reacción de coagulación dentro de diversos constituyentes de la fracción de plasma. La reacción de coagulación forma rápidamente un gel plaquetario (PG) que se puede aplicar a diversas superficies de la herida con fines de hemostasia, sellado y adhesión.

10 Por ejemplo, PG se ha empleado para ayudar con la hemostasia en la cirugía de columna vertebral y en un modelo de laceración de hígado de rata. Una investigación reciente mostró que el uso de PG produjo una reducción significativa en el uso de narcóticos postoperatorios, una reducción en la caída de la hemoglobina postoperatorio y un retorno más rápido del rango funcional de movimiento después del reemplazo total de la rodilla. PG también se ha utilizado en el sellado de heridas. Un estudio utilizó PG autóloga como sellante para procedimientos de craneotomía y señaló el éxito en 39 de 40 pacientes. También se ha observado PG para aumentar la cicatrización del hueso. Un ensayo prospectivo aleatorizado controlado de 88 pacientes reveló un aumento de 2 veces en la maduración ósea radiográfica y una mejora del 50% en la densidad ósea histológica cuando se usó PG (Marx, et al., Oral Surg. Oral Med. Oral Path. 1998, vol. 15 85(6): 638-646). En la cirugía cardíaca y vascular se está empleando PG para reducir la incidencia de dehiscencia e infección de la herida post-operatoria (Kjaergard, et al., Eur J Cardio-Thoracic Surg. 1996, vol 10: 727-733; Slater, et al., J Ortho Res. 1995, vol 13: 655-663; Sumner et al. J. Bone Joint Surg. (Am) 1995, vol 77:1135-1147; Sethi, et al. Presented at International Society for the Study of Lumbar Spine, June 2001).

20 Sin embargo, en ninguna de las solicitudes y documentos publicados anteriormente se ha descrito que el PRP podría usarse quirúrgicamente fuera del contexto de PG para cualquier propósito que no sea la transfusión de plaquetas a un paciente. Es una característica única de esta invención que las plaquetas no necesitan ser activadas antes de su introducción en un paciente durante la práctica de la presente invención.

25 En otra realización, la composición de plaquetas de la invención puede comprender la liberación de plaquetas, además de las propias plaquetas. La liberación comprende las diversas citoquinas liberadas mediante la desgranulación de las plaquetas tras la activación. Existen muchos activadores de plaquetas; estos incluyen iones de calcio, trombina, colágeno, epinefrina y difosfato de adenosina. Las liberaciones de acuerdo con la invención se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales, incluyendo los métodos descritos en las Patentes de los Estados Unidos 5,165,938 de Knighton y 5,599,558 de Gordinier et al.

30 Una desventaja de estrategias de liberación convencionales asociadas con el uso de PRP como PG es el uso de trombina como activador preferido. En particular, gran parte de la trombina utilizada en la PG es la trombina bovina, lo que puede crear problemas debido a problemas de contaminación relacionados con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Muchos materiales bovinos son sospechosos debido a la posible contaminación por priones, y por lo tanto el uso de trombina bovina es desfavorable en cirugía. La trombina agrupada humana es igualmente desfavorecida debido al potencial de contaminación con diversos materiales tales como virus, priones o bacterias. También se puede utilizar trombina humana recombinante, pero es bastante costosa

35 Es una ventaja particular de la presente invención que los activadores exógenos o adicionales no necesitan administrarse a un paciente. El colágeno, un componente importante de los tejidos conectivos, es un fuerte activador de las plaquetas. Por lo tanto, cuando la composición de plaquetas de la invención se introduce en y/o alrededor de tejido conectivo, las plaquetas en la composición de plaquetas se pueden unir al colágeno y luego activarse. Esto reduce o elimina la necesidad de administrar un activador exógeno tal como trombina. Las desventajas del uso de trombina se han observado anteriormente. Otros activadores fuertes, tales como los iones de calcio, pueden causar dolor intenso, coagulación no intencional y otros efectos secundarios indeseables. Por lo tanto, en una realización de la invención, ninguno, o sustancialmente, ningún activador exógeno presente o añadido como parte de la composición de plaquetas de la invención, o se utiliza en la preparación de la composición de plaquetas de la invención. Por supuesto, los 45 activadores exógenos pueden todavía ser empleados si un médico determina que son médicamente necesarios o deseables.

50 La composición de plaquetas se puede preparar utilizando cualquier método convencional de aislamiento de plaquetas de sangre entera o fracciones de sangre que contienen plaquetas. Estos incluyen métodos de centrifugación, filtración o columnas de afinidad. Si la composición de plaquetas comprende PRP, entonces se pueden utilizar métodos convencionales para obtener PRP, tales como los descritos en las Patentes de los Estados Unidos 5,585,007 y 5,788,662 ambos de Antanavich et al..

55 La composición de plasma rico en plaquetas se puede suministrar a un individuo que lo necesite por medios convencionales que incluyen inyección utilizando una jeringa, catéter. La composición de plasma rico en plaquetas también se puede administrar mediante un parche dérmico, un dispositivo de pulverización o en combinación con un ungüento, injerto óseo o fármaco. Adicionalmente se puede utilizar como revestimiento sobre sutura, stents, tornillos, placas o algún otro dispositivo médico implantable. Por último, se puede utilizar junto con un fármaco o dispositivo bioreabsorbible.

5 El sitio de administración de la composición de plasma rico en plaquetas está en o al rededor del sitio de lesión tisular y/o daño. El sitio de lesión o daño tisular se determina por métodos bien establecidos, incluyendo estudios de imagen y retroalimentación del paciente o una combinación de los mismos. El estudio de imagen preferido utilizado está determinado por el tipo de tejido. Los métodos de imagen utilizados comúnmente incluyen MRI, rayos X, barrido CT, la tomografía por emisión de positrones (PET), la tomografía computarizada de emisión de fotones individuales (SPECT), la tomografía de impedancia eléctrica (EIT), la imagenología de fuente eléctrica (ESI), la imagenología óptica con láser (MSI) y técnicas de ultrasonido. El paciente también puede ayudar a localizar el sitio de lesión o daño en el tejido señalando áreas de dolor y/o incomodidad en particular.

10 El ajuste del pH de las composiciones de plaquetas se ha utilizado para prolongar el tiempo de almacenamiento de plaquetas inactivadas, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos 5,147,776 de Koerner Jr. y 5,474,891 de Murphy. El pH se puede ajustar utilizando una variedad de agentes de ajuste del pH, que son preferiblemente soluciones reguladoras fisiológicamente toleradas, pero también pueden incluir otros agentes que modifican el pH, incluyendo agentes que modifican la producción de ácido láctico mediante plaquetas almacenadas. Especialmente útiles son aquellos agentes de ajuste del pH que dan como resultado que el pH de la composición de plaquetas sea mayor o igual que el pH fisiológico. En una realización, el agente de ajuste de pH comprende bicarbonato de sodio. El pH fisiológico, para los propósitos de esta invención, se puede definir como un pH que van desde aproximadamente 7.35 a aproximadamente 7.45. Los agentes de ajuste del pH útiles en la práctica de esta invención incluyen soluciones reguladoras de bicarbonato (tales como bicarbonato sódico), gluconato de calcio, cloruro de colina, dextrosa (d-glucosa), ácido etilénbis(oxietilénitrilo) tetraacético (EGTA), ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES), ácido maleico, ácido 4-morfolinopropanosulfónico (MOPS), ácido 1,4-piperazinabis (ácido etanosulfónico) (PIPES), sacarosa, ácido N-tris(hidroximetil)metil-2-aminoetanosulfónico (TES), tris(hidroximetil)aminometano (BASE TRIS), tris(hidroximetil) aminometano clorhidrato (TRIS.HCl), y urea. En una realización preferida, el agente de ajuste del pH es una solución reguladora de bicarbonato, más preferiblemente, bicarbonato de sodio.

25 Para los propósitos de esta patente, el término "tejidos" incluye músculo cardíaco y esquelético, material de disco, cuerpos vertebrales, órganos internos, tejido cerebral y de médula espinal, tejido vascular tal como arterias y venas y tejido no diferenciado.

30 Para los fines de esta patente, los tejidos conectivos comprenden tendones, ligamentos, tejidos faciales y cápsulas articulares. En una realización preferida, los tejidos conectivos comprenden el ligamento colateral medial de la rodilla o el codo, el tendón del músculo extensor radial del carpo (codo de tenista), el ligamento talofibular anterior en el tobillo, el tendón de Aquiles, el ligamento cruzado anterior, el ligamento cruzado posterior, el tendón tibial posterior, el tendón del patelar, el tendón del cuádriceps, el tendón del manguito rotador y los tendones del bíceps.

35 La reparación incompleta, como se utiliza en el contexto de esta solicitud de patente, se puede definir como una reparación es decir desorganizada, sustancialmente inexistente (tal como en el caso de un desgarro no cicatrizado), o patológica de otro modo. La reparación desorganizada se caracteriza por una displasia angiofibroblástica desorganizada, con tejido degenerativo, inmaduro y avascular. Este tejido es más débil que el tejido conjuntivo normal y carece de la fuerza necesaria para funcionar normalmente. Este tejido también limita al paciente causando dolor e impactando negativamente en la calidad de vida del paciente. Reparación sustancialmente inexistente puede ocurrir en una situación donde un tejido conectivo se desgarra y no se cura correctamente después del desgarro. De otra manera, la reparación patológica puede ser cualquier otro tipo de reparación en la cual el tejido no se repara para ser 40 sustancialmente el mismo que el tejido antes de que fuera necesaria la reparación del tejido.

#### Ejemplos

##### Ejemplo 1

45 El PRP se preparó utilizando una unidad centrífuga fabricada por Harvest (Plymouth, MA). (Unidades similares están disponibles como el sistema GPS Biomet, la máquina Depuy Symphony y la máquina Medtronic Magellan). Se extrajeron aproximadamente 55 cc de sangre del paciente utilizando una jeringa estéril estándar, junto con 5 cc de una solución de citrato de dextrosa para la anticoagulación, y luego se centrifugó para aislar las plaquetas de acuerdo con el protocolo del fabricante. Estas plaquetas se volvieron a suspender luego en aproximadamente 3 cc de plasma. La solución de plasma rico en plaquetas resultante (PRP) fue bastante ácida y se neutralizó utilizando aproximadamente 0.05 cc de una solución reguladora de bicarbonato sódico al 8.4% por cc de PRP en condiciones estériles hasta 50 aproximadamente pH fisiológico de 7.4. El PRP no se activó mediante la adición de activadores exógenos. Esta composición de PRP se denomina en este documento como extracto plaquetario autólogo (APEX).

##### Ejemplo 2

55 Se extraen cincuenta cc de sangre entera de un paciente, y luego se prepara de acuerdo con el método de la Patente de los Estados Unidos, Knighton 5,165,938, columna 3. El PRP se activa de acuerdo con Knighton utilizando trombina humana recombinante. Las plaquetas desgranuladas se centrifugan y se recupera el sobrenadante que contiene el liberador. El liberador puede estar opcionalmente ajustado en pH a un pH de 7.4, utilizando solución reguladora de bicarbonato de sodio.

Ejemplo 3

Se extrajeron treinta mL de sangre entera de un paciente. Se preparó una composición de plaquetas de acuerdo con el Ejemplo 1 de la Patente de los Estados Unidos 5,510,102 de Cochrum, excepto que no se añadió alginato a la composición de plaquetas.

5 Ejemplo 4

10 Un estudio de los efectos de las composiciones de PRP descritas en este documento se realizó utilizando pacientes que presentaban epicondilitis lateral (codo de tenista) que habían fracasado en el tratamiento no quirúrgico (medicación antiinflamatoria, descanso de apoyo y terapia física). La duración media de los síntomas de estos pacientes fue de 16.6 meses. Después de obtener el consentimiento informado, los pacientes fueron inscritos formalmente en el estudio y asignados al azar al grupo de tratamiento APEX o control.

15 Se evaluaron los pacientes para obtener una puntuación de dolor visual, una puntuación de codo Mayo y fuerza de agarre. Para la puntuación analógica visual de dolor, cero es igual a "sin dolor" y 100 es igual a "el peor dolor posible". La puntuación del codo Mayo es una puntuación global de la función con una puntuación más alta que indica una mejor función general. Los valores de las dos puntuaciones se evaluaron estadísticamente utilizando una prueba T de muestras pareadas con una significación establecida en  $p < 0.05$ .

A cada paciente se le administraron entonces 5 mg de Valium p.o. 30 minutos antes del procedimiento del tendón de la invención. A continuación, los pacientes se prepararon y se cubrieron de una manera estéril. Un anestésico local de bupivacaína al 0.5% con epinefrina se infiltró en la piel, en estructuras subcutáneas y en el tendón del músculo extensor radial del carpo. Se tomó precaución para mantener la anestesia local fuera de la articulación del codo.

20 Dos o tres minutos después de la administración del anestésico local, se introdujeron aproximadamente 3-5 cc de la composición de APEX del Ejemplo 1 en el tendón del músculo extensor radial del carpo en el codo a través de una aguja de calibre 22. El grupo de control recibió un disparo anestésico (Bupivacaína). Se realizaron múltiples punciones en el tendón a aproximadamente 0.5-1 cm desde su origen. Inmediatamente después de la introducción mínimamente invasiva de ya sea la composición de APEX del Ejemplo 1 o de la inyección anestésica, el brazo del paciente se inmovilizó a aproximadamente 90% de flexión sin elevación del brazo o de la mano. la zona quirúrgica fue luego vestida estérilmente y se le pidió al paciente no mover su brazo durante 30 minutos. El estado neurovascular, doloroso y funcional de cada paciente se evaluó poco después de la inyección y 30 minutos después del final del procedimiento. A cada paciente se le administró analgésicos narcóticos orales como se necesitaba durante las primeras 24-48 horas después del procedimiento. Un programa formal de estiramiento y fortalecimiento postoperatorio puede iniciarse a los 2-3 días después del procedimiento. La puntuación de dolor visual, puntuación de codo Mayo y fuerza de agarre fueron monitoreados después del procedimiento.

35 Las Tablas 1 y 2 comparan los pacientes tratados y control preoperatoriamente y a las 8 semanas. 5 pacientes han sido tratados con las composiciones de PRP de un aspecto de la presente invención (APEX), mientras que 3 pacientes recibieron una inyección anestésica y proporcionaron un control. Las puntuaciones de dolor analógico visual (Tabla 1) mejoraron un promedio de 66% para el grupo tratado con PRP frente a una mejora media de 20.4% en el grupo de control. La puntuación del codo MAYO (Tabla 2) que prueba la función del codo mejoró en un promedio del 44% en el grupo tratado con PRP comparado con el 30.5% en el grupo de control.

Tabla 1

Estudio del codo de tenista. Puntuaciones de dolor analógico visual promedio (0-100) para 5 pacientes tratados con APEX y 3 pacientes de control preoperatorio y a las 8 semanas de seguimiento.

	APEX	Control (Bupivacaína)
Preoperatorio	77	90
Postoperatorio-8 semanas	26	72
% de mejora	66%	20.4%
n	5	3

Tabla 2

Estudio del codo de tenista. Puntuaciones de codo Mayo promedio para 5 pacientes tratados con APEX y 3 pacientes de control preoperatorio y a las 8 semanas de seguimiento.

	APEX	Control de (Bupivacaína)
Preoperatorio	57.5	49
Postoperatorio de 8 semanas	83	64
% de mejora	44%	30.5%
n	5	3

5 La mejora observada en el control se puede atribuir al fenómeno observado de que la inserción de una aguja en una zona dolorosa sin suministro de fármaco (punción seca), dará como resultado cierto alivio de los síntomas del dolor. Sin embargo, las mejoras significativamente mayores en la función del codo (Tabla 2) y el nivel de dolor (Tabla 1) demuestran claramente la eficacia de los tratamientos con PRP, que son un aspecto de la presente invención.

Ejemplo 5

10 La muestra del paciente del Ejemplo 4 se evaluó nuevamente al momento determinado de 6 meses. Hasta la fecha, se han evaluado cinco pacientes que están al menos seis meses después del tratamiento con la composición de APEX utilizando el método inventivo descrito en este documento. Los resultados se resumen a continuación en las Tablas 3 y 4. Se muestran los valores medios para 5 pacientes ensayados hasta ahora.

Tabla 3

Puntuación visual del dolor analógico	
Puntuación promedio de dolor analógico visual preoperatorio:	77
Puntuación promedio de dolor analógico visual postoperatorio de seis meses:	16
Mejora	79%

Tabla 4

Puntuación del codo Mayo modificada (Una medida de la función general)	
Puntuación promedio de dolor analógico visual preoperatorio:	57.5
Puntuación promedio del codo Mayo postoperatorio de seis meses:	88
Mejora	53%

15 La puntuación de dolor analógico visual (Tabla 3) representa un promedio de 79% de mejoría en las puntuaciones de dolor a los seis meses. La Tabla 4 representa un promedio de 53% de mejoría en la puntuación de codo Mayo a los seis meses. Los datos se representan gráficamente en la Figura 1 (puntuaciones analógicas visuales de dolor) y en la Figura 2 (Mejora de la puntuación del codo Mayo). Es importante destacar que 4 de cada 5 pacientes son excelentes (> 90 por la puntuación del codo Mayo) y un paciente está en la categoría buena. Todos los pacientes eran justos o pobres antes del tratamiento. Incluso con esta pequeña muestra, la mejora fue estadísticamente significativa (valores  $p = < 0.05$ ).

Ejemplo 6

20 Un paciente que se presenta con tendinitis de Aquiles recibe 5 mg de Valium p.o. 30 minutos antes del procedimiento del tendón de la invención. A continuación, el paciente se prepara y se cubre de una manera estéril. Un anestésico local

de bupivacaína al 0.5% con epinefrina se infiltra en la piel, estructuras subcutáneas y tendón de Aquiles. Se toma cuidado para mantener la anestesia local fuera de la articulación del tobillo.

- 5 Dos o tres minutos después de la administración del anestésico local, aproximadamente 3-5 cc de la composición de APEX del Ejemplo 1 se introduce en el tendón de Aquiles justo por encima del tobillo a través de una aguja de calibre 22. Se realizan punciones múltiples en el tendón a aproximadamente 0.5-1 cm de su inserción. Inmediatamente después de la introducción mínimamente invasiva de la composición de plaquetas del Ejemplo 1, la pierna y el pie inferiores del paciente se inmovilizan sin elevación de la pierna. A continuación, la zona quirúrgica se esteriliza y se le pide al paciente que no mueva la pierna durante 30 minutos. El estado neurovascular, el dolor y el estado de la función del paciente se evalúan poco después de la inyección y 30 minutos después del final del procedimiento. El paciente recibe medicación para el dolor narcóticos orales según sea necesario durante las primeras 24-48 horas después del procedimiento. El tendón de Aquiles permanece inmovilizado durante una semana después del procedimiento, seguido de un programa formal de estiramiento y fortalecimiento postoperatorio iniciado 8-10 días después del procedimiento.

#### Ejemplo 7

- 15 Un paciente que se presenta con una rotura del ligamento colateral mediano del codo recibe 5 mg de Valium p.o. 30 minutos antes del procedimiento del tendón de la invención. A continuación, el paciente se prepara y se cubre de una manera estéril. Un anestésico local de bupivacaína al 0.5% con epinefrina se infiltra en la piel, estructuras subcutáneas y ligamento colateral medial en el codo. Se toma cuidado para mantener la anestesia local fuera de la articulación del codo.

- 20 Dos o tres minutos después de la administración del anestésico local, se introducen aproximadamente 3-5 cc de la composición APEX del Ejemplo 1 en el ligamento colateral mediano en el codo a través de una aguja de calibre 22. Se realizan múltiples punciones en el ligamento a aproximadamente 0.5-1 cm de su origen. Inmediatamente después de la introducción mínimamente invasiva de la composición de plaquetas del Ejemplo 1, el codo y el brazo del paciente se inmovilizan a aproximadamente 90% de flexión sin elevación del brazo o de la mano. A continuación, la zona quirúrgica se esteriliza y se pide al paciente que no mueva el brazo durante 30 minutos. El estado neurovascular, el dolor y el estado de la función del paciente se evalúan poco después de la inyección y 30 minutos después del final del procedimiento. El paciente recibe analgésicos narcóticos orales según sea necesario durante las primeras 24-48 horas después del procedimiento. Se puede iniciar un programa opcional de estiramiento y fortalecimiento post-operatorio formal a los 2-3 días después del procedimiento.

#### Ejemplo 8: Músculo cardíaco

- 30 Un paciente presenta una disfunción aguda (esto es, ataque cardíaco) o crónica (esto es, insuficiencia cardíaca congestiva) del músculo cardíaco. Se prepara una composición de APEX como se describe en el Ejemplo 1. Aproximadamente 0.05 cc de una solución reguladora de bicarbonato de sodio al 8.4% por cc de extracto se utiliza para elevar el pH a o ligeramente por encima de 7.4. El extracto no se activa mediante la adición de agente(s) exógeno(s).

- 35 A continuación, el APEX se introduce en la zona de músculo cardíaco disfuncional a través de un catéter. El APEX también se puede combinar con un dispositivo implantable tal como un stent.

#### Ejemplo 9: Músculo esquelético

Un paciente presenta debilidad o atrofia del músculo esquelético. Esto podría ser el resultado de una lesión o después de un procedimiento quirúrgico. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

- 40 Se identifica la zona de debilidad o atrofia y luego después de usar bupivacaína al 0.5% con epinefrina como anestésico local, el APEX se introduce en el músculo a través de una aguja de 22 g. Esto se puede hacer una sola vez o puede requerir inyecciones múltiples. Postoperatoriamente, se inicia el paciente en un protocolo de estiramiento y fortalecimiento específico del sitio.

#### Ejemplo 10: Material del disco/cuerpos vertebrales

- 45 Un paciente presenta dolor de espalda baja y discos abultados o negros en un barrido de MRI. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta el pH fisiológico.

- 50 El disco en cuestión se identifica por guía de rayos X y después el APEX se introduce en el espacio discal a través de un catéter de pequeño calibre. Este procedimiento se podría realizar solo o en combinación con un procedimiento de ablación térmica/radiofrecuencia. El APEX también se podría inyectar en un cuerpo vertebral que ha sufrido una fractura por compresión con o sin el uso de un globo antes de la inyección.

Ejemplo 11: Páncreas/cualquier órgano interno

Un paciente presenta diabetes y pobre producción de insulina. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

5 Bajo guía de CT y sedación consciente, el APEX se introduce a través de un catéter de pequeño calibre en el páncreas. El APEX se inyecta entonces en las células de los islotes para estimular la reparación de estas células y así restaurar la producción de insulina.

Ejemplo 12: Cerebro/médula espinal

10 Un paciente presenta un déficit neurológico agudo tal como una lesión de la médula espinal o un accidente cerebrovascular. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

Bajo guía de MRI y sedación consciente, el APEX se introduce en la zona de lesión o déficit. El APEX inicia o asiste con la reparación de las células dañadas localmente.

Ejemplo 13: Tejido vascular

15 Un paciente presenta una zona de hipovascularidad en sus extremidades inferiores. El paciente tiene un diagnóstico de enfermedad vascular oclusiva periférica. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

La zona de hipovascularidad se bloquea con bupivacaína y después se introduce el APEX en ya sea el músculo o tejido blando. El APEX induce la angiogénesis y la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Ejemplo 14: Cicatrización de heridas

20 Un paciente presenta una herida crónica que no se cura adecuadamente. Esto podría ser una úlcera de pie diabético. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

25 La herida se limpia cuidadosamente y se desbrida según sea necesario. A continuación, el APEX se inyecta cuidadosamente en y alrededor de la herida crónica y sus bordes. Se mantiene en su lugar con un vendaje oclusivo o combinado con un ungüento. Este proceso se puede repetir según sea necesario hasta que la herida haya cicatrizado.

Ejemplo 15: Tejido neoplásico

Un paciente presenta ya sea un tumor o proceso benigno o maligno. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico. El APEX se puede utilizar in vivo o in vitro para iniciar o inducir la muerte de las células tumorales.

30 Específicamente, el APEX se inyecta en un tumor sólido con guía CT o MRI a través de un pequeño catéter. Alternativamente, las células cancerosas después de ser cultivadas en un medio de APEX podrían ser reintroducidas de nuevo en el cuerpo para atacar y matar el tumor restante. Sin la intención de ser limitado por la teoría, se plantea la hipótesis de que los medios de APEX tiene ya sea la capacidad de causar apoptosis de células tumorales (muerte celular) in vivo o puede tener la capacidad de transformar las células cancerosas en células normales.

35 Ejemplo 16: Infecciones

Un paciente presenta una infección superficial o profunda. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

40 La zona de la infección se identifica y a continuación, el APEX se aplica directamente o se introduce percutáneamente. Esto podría hacerse bajo anestesia local o general y con o sin guía de imagen. El APEX por lo general tiene un número concentrado de glóbulos blancos junto con plaquetas. Esta combinación de glóbulos blancos y plaquetas ya sea controla o elimina una infección.

Ejemplo 17: Cultivos celulares de cualquier tejido

45 Un investigador o clínico desea cultivar un cultivo celular de ya sea fibroblastos o células de cartílago osteoartrítico. Utilizando la técnica del Ejemplo 1, se obtiene un extracto autólogo de plaquetas (APEX) y se estandarizó hasta pH fisiológico.

5 A continuación, las células se aíslan y crecen en un medio rico en el APEX en diversas condiciones y diluciones. El APEX promueve la diferenciación celular y la producción de proteínas tales como colágeno. El APEX puede aumentar o promover la capacidad de las células para transformarse en células normales. Sin pretender ser limitado por la teoría, se supone que el APEX puede convertir las células del cartilago osteoartrítico a una línea celular más funcional que se reinyecta en una articulación enferma o lesionada. Alternativamente, el APEX se introduce directamente en una articulación osteoartrítica para invertir el curso de la enfermedad. Esto se hace bajo anestesia local de una manera estéril.

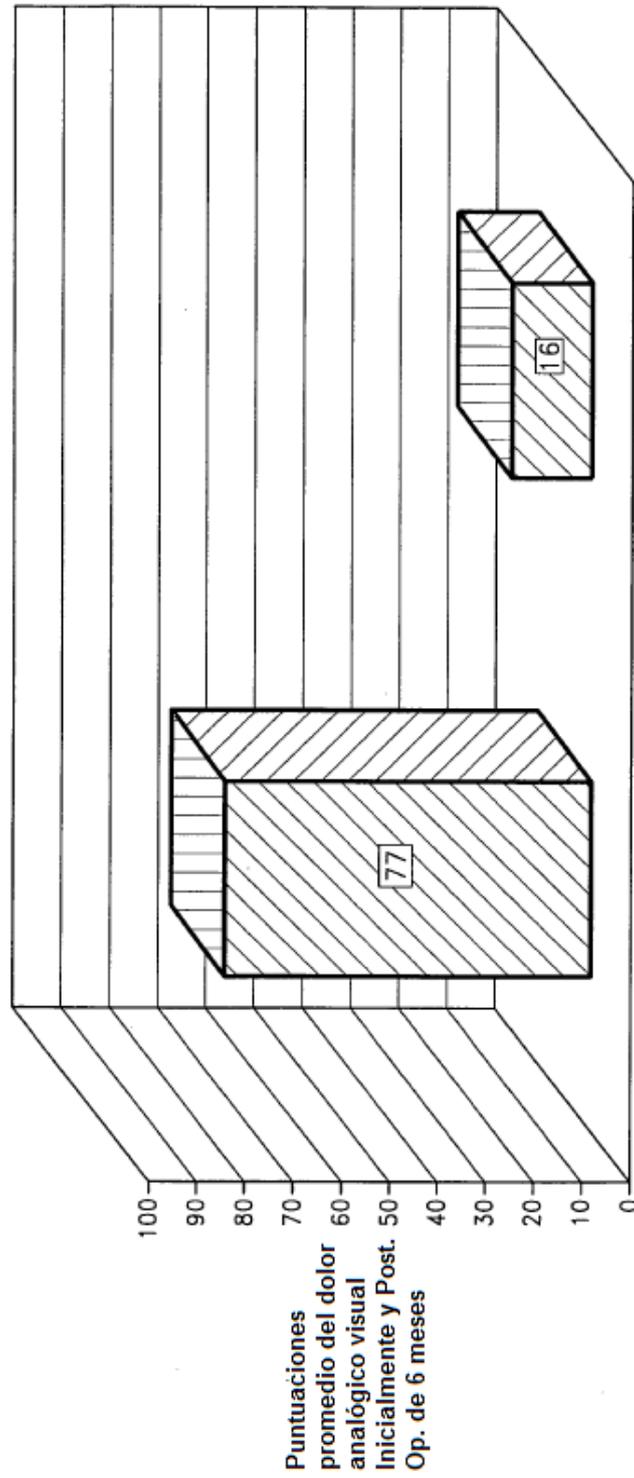
Por último, el APEX se puede utilizar para ayudar a cultivar y diferenciar cualquier tejido o línea celular in vivo o in vitro.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de una composición de plasma rico en plaquetas en la preparación de un medicamento para tratar una lesión tisular en un individuo introduciendo dicha composición de plasma rico en plaquetas en y al rededor del sitio de lesión tisular, en donde el medicamento no comprende un activador exógeno.
- 5 2. El uso de la reivindicación 1, en donde el tejido se selecciona del grupo que consiste en tejido conectivo, músculo cardíaco, músculo esquelético, material de disco, un cuerpo vertebral, cerebro, médula espinal y tejido vascular.
3. El uso de la reivindicación 1, en donde el tejido es una parte de un órgano interno.
4. El uso de la reivindicación 2, en donde el tejido es un tejido conectivo.
5. El uso de la reivindicación 3, en donde el órgano interno es el páncreas.
- 10 6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el plasma rico en plaquetas tiene un pH de 7.3 a 7.5.
7. El uso de la reivindicación 6, en donde el pH del plasma rico en plaquetas se ajusta utilizando una solución reguladora de bicarbonato.
8. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la composición de plasma rico en plaquetas comprende plaquetas obtenidas a partir del individuo.
- 15 9. Una composición de plasma rico en plaquetas para uso en el tratamiento de un tejido lesionado que consiste en:  
plasma rico en plaquetas; y  
un agente de ajuste del pH que proporciona un pH de 7.3 a 7.5,  
en donde la composición de plasma rico en plaquetas no contiene un activador del plasma rico en plaquetas.
- 20 10. La composición de plasma rico en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el agente de ajuste de pH es una solución reguladora de bicarbonato.
11. La composición de plasma rico en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en donde un plasma utilizado para el plasma rico en plaquetas procede de una fuente autóloga.
- 25 12. Una composición de plasma rico en plaquetas para uso en el tratamiento de un tejido lesionado mediante la introducción de dicha composición de plasma rico en plaquetas dentro y al rededor del sitio de lesión tisular, en donde la composición no contiene un activador exógeno.
- 30 13. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 12, en donde el tejido lesionado se selecciona del grupo que consiste en tejido conectivo, músculo cardíaco, músculo esquelético, material de disco, un cuerpo vertebral, cerebro, médula espinal y tejido vascular.
14. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 12, en donde el tejido lesionado es una parte de un órgano interno.
- 35 15. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el tejido lesionado es un tejido conectivo.
16. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el órgano interno es el páncreas.
- 40 17. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la composición se titula para obtener un pH de 7.3 a 7.5.
18. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde la titulación se realiza utilizando solución reguladora de bicarbonato.
19. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la composición rica en plaquetas comprende plaquetas obtenidas a partir de una fuente autóloga.
20. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 12, para uso como una composición inyectable.

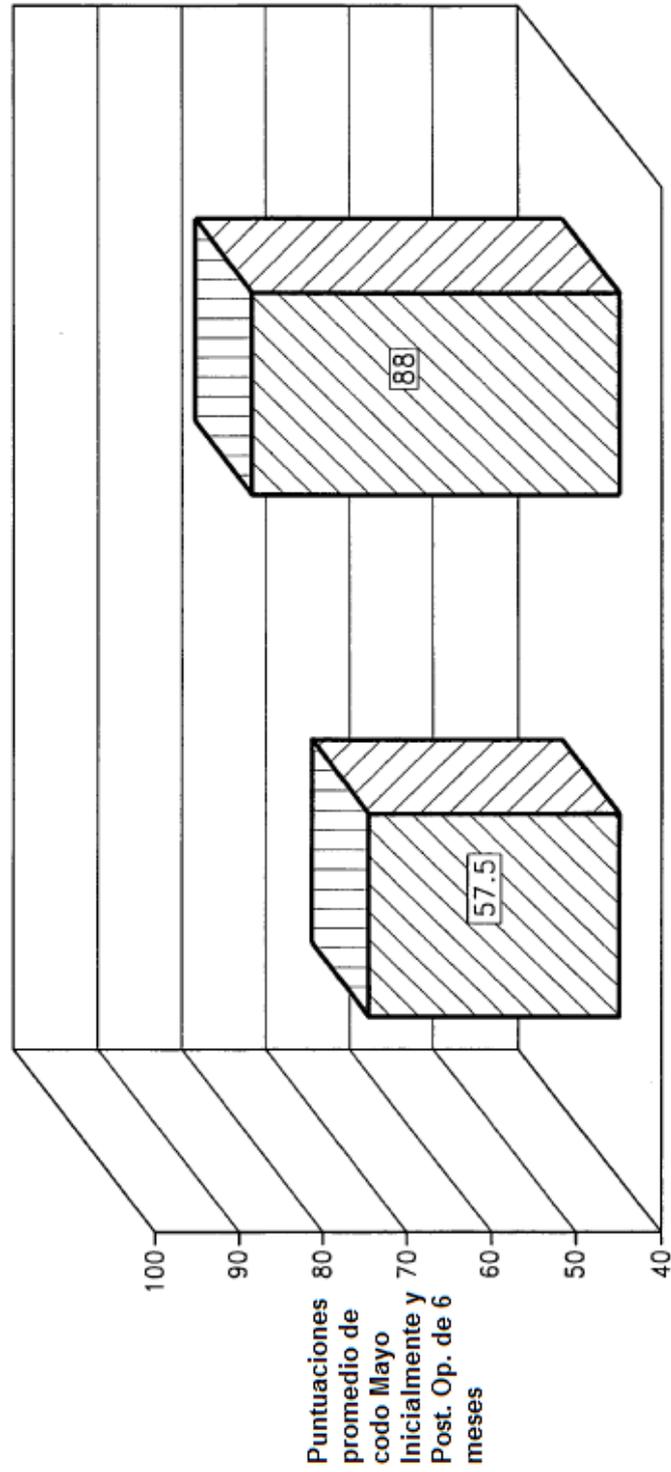
21. La composición rica en plaquetas para uso de acuerdo con la reivindicación 20, en donde la composición inyectable está en una jeringa.

**ESTUDIO DEL CODO DEL TENISTA APEX  
N=5**



*FIG. 1*

**ESTUDIO DEL CODO DEL TENISTA APEX  
N=5**



*FIG. 2*