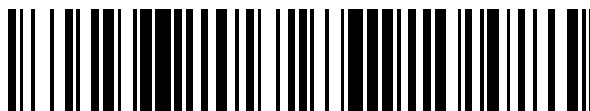


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 398**

51 Int. Cl.:

A61L 27/18 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01)
A61L 27/58 (2006.01)
A61L 26/00 (2006.01)
A61L 27/20 (2006.01)
A61L 27/24 (2006.01)
A61L 27/26 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.07.2009** **PCT/US2009/049597**
87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2010** **WO10003104**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2009** **E 09774553 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018** **EP 2307065**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para el relleno y la regeneración de tejidos**

30 Prioridad:

02.07.2008 US 77683 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.05.2018

73 Titular/es:

ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US

72 Inventor/es:

VAN EPPS, DENNIS, E.

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 668 398 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 procedimientos para el relleno y la regeneración de tejidos

5 **Antecedentes**

La presente invención se refiere, en general, al relleno, el aumento y la regeneración de tejidos, y más específicamente proporciona una composición de células y relleno combinada para uso en un procedimiento para aumentar terapéuticamente el tejido blando en un mamífero.

10 Se han inyectado diversos productos en el cuerpo humano para aumentar el tejido blando y corregir los defectos de la piel. Los primeros ejemplos de tales productos incluyen parafina, petrolato, aceites vegetales, lanolina, cera de abeja y silicona.

15 El colágeno bovino y humano se han generalizado como materiales inyectables para el aumento y el relleno de tejidos blandos. El colágeno, la principal proteína estructural extracelular del cuerpo animal, se ha utilizado como material de implante para reemplazar o aumentar el tejido conectivo, tal como la piel, los tendones, el cartílago y el hueso. Adicionalmente, el colágeno se ha inyectado o implantado en el cuerpo humano con fines cosméticos durante varios años.

20 El ácido hialurónico (AH) es un glicosaminoglicano que se encuentra de forma natural en el cuerpo humano y está ampliamente distribuido a través de los tejidos conectivo, epitelial y neuronal. En 2003, la Administración de Alimentos y Medicamentos aprobó las inyecciones a base de AH para corregir las arrugas faciales.

25 Schroeder *et al.*, solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 12/247.175, presentada el 7 de octubre de 2008 (publicada como documento US 2009/0093755 A1), describen el ácido hialurónico reticulado y el colágeno para aumentar el tejido blando en los mamíferos y procedimientos para prepararlos.

30 El documento US 2007/0104692 A1 divulga un procedimiento para tratar un defecto de las mamas que comprende diferenciar una célula estromal derivada de tejido adiposo humano aislada en una célula progenitora de tejido mamario y administrar la célula progenitora a la zona defectuosa de la mama.

35 HEMMRICH *et al.* desvelan composiciones inyectables que comprenden geles de hialuronano amidado mezclado con precursores derivados de células madre de tejido adiposo para su uso en la reconstrucción de tejido blando, incluida la corrección de incongruencias de contorno (Autologous In Vivo Adipose Tissue Engineering in Hyaluronan-Based Gels-A Pilot Study", JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH, ACADEMIC PRESS INC., SAN DIEGO, CA, EE. UU., vol. 144, n.º 1, 11 de diciembre de 2007 (11-12-2007), páginas 82-88).

40 **Resumen de la invención**

La presente invención proporciona, en general, composiciones mejoradas para aumentar y reparar la piel y los tejidos blandos para fines terapéuticos. Las presentes composiciones son útiles para el relleno y la regeneración de tejidos blandos en un paciente mamífero, por ejemplo, un ser humano.

45 En un aspecto amplio, la invención proporciona una composición inyectable para su uso en un procedimiento para aumentar terapéuticamente el tejido blando en un mamífero mediante la inyección de la composición en una región que se tiene como objetivo del mamífero donde es conveniente la voluminización del tejido y la regeneración del tejido, estando la región que se tiene como objetivo adyacente a un implante prostético; en donde la composición inyectable comprende
50 un componente celular que incluye células vivas; y un componente de relleno degradable que favorece el mantenimiento de la viabilidad de las células, comprendiendo el componente de relleno degradable ácido hialurónico reticulado.

La composición tiene la capacidad de proporcionar un relleno del tejido inmediato y una regeneración del tejido a largo plazo.

60 En conformidad con una realización de la invención, el componente celular de las presentes composiciones comprende células seleccionadas del grupo que consiste en cultivo *in situ* de células madre, células progenitoras, células adiposas, células madre derivadas de tejido adiposo, células madre mesenquimáticas, precursores de células endoteliales, células proliferantes, células comprometidas con la diferenciación y células regenerativas.

La composición de relleno y regeneradora inyectable se puede preparar mediante un procedimiento que incluye la etapa de combinar, por ejemplo, mezclar células madre humanas con un material de relleno a base de ácido hialurónico o premezclar el componente celular con una forma soluble del material antes de la gelación. La adición de componentes de unión a integrina proporciona adhesión y señales para conservar la viabilidad o aumentar el crecimiento celular. Dichos componentes incluyen uno o más de laminina, vitronectina, fibronectina, elastina y

péptidos y análogos de los mismos.

La composición puede estar contenida en una jeringa de un kit que también comprende una cánula e instrucciones de uso.

La composición es útil como componente de un kit junto con una herramienta para extraer células autólogas de un paciente y un dispositivo inyector para permitir la inyección de una mezcla de la composición y las células autólogas extraídas en una región que se tiene como objetivo del paciente.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una vista esquemática de un kit.

La Fig. 2 es una vista esquemática de otro kit.

Descripción detallada

La presente invención proporciona una composición altamente útil, segura y eficaz para el aumento del tejido blando en un mamífero, por ejemplo, un ser humano. La composición inyectable es útil para el relleno del tejido o la voluminización del tejido sustancialmente inmediatos, así como un sustento para la regeneración del tejido a largo plazo.

La composición de la presente invención se puede utilizar para el aumento y la reconstrucción de las mamas cuando pueda desearse una combinación de volumen y regeneración del tejido. De modo similar, el relleno de cualquier vacío de tejido, ya sea natural o creado mediante un procedimiento quirúrgico para la eliminación de tejido, tratamiento con corticoesteroides, reacción inmunológica que da como resultado una lipoatrofia, daño tisular producto de lesiones traumáticas, radioterapia o tratamiento químico o con fármacos, donde se desea rellenar y regenerar tejido en un sitio particular. De modo similar, la presente composición se puede utilizar como un medio para reducir el tejido cicatricial como resultado de la vascularización activa y la disolución de tejido cicatricial, ya sea como un procedimiento preventivo o de postratamiento basado en el suministro en el sitio, de células derivadas de tejido graso viables o células madre o progenitoras.

El componente de relleno proporciona de forma eficaz volumen y sustento para la viabilidad y el crecimiento de las células cuando la composición se inyecta en una región objetivo de un paciente.

La presente composición, cuando se inyecta en una región objetivo de un paciente, proporciona un aumento del relleno y la voluminización del tejido relativamente a largo plazo, por ejemplo, más de seis meses, con respecto a una composición sustancialmente idéntica que no incluye un componente celular. La presente composición también proporciona el sustento, la estructura y el espacio dentro del tejido para permitir el crecimiento y la regeneración de tejido. El componente celular en la presente composición también proporciona la producción o la estimulación de citocinas y estimuladores intrínsecos del crecimiento y mantenimiento de tejidos en el sitio de inyección.

El componente celular de la presente composición comprende preferentemente células progenitoras derivadas de tejido adiposo, por ejemplo, células madre derivadas de tejido adiposo. En algunas realizaciones de la invención, la composición incluye células autólogas, por ejemplo, células madre y/o progenitoras de adulto autólogas derivadas de tejido adiposo. El componente celular proporciona una regeneración del tejido relativamente a largo plazo cuando se combina con el componente de relleno después de que la composición se ha inyectado en un paciente.

El componente de relleno de la presente composición comprende ácido hialurónico reticulado que puede proporcionar relleno del tejido sustancialmente inmediato o a corto plazo, y un entorno que favorece el crecimiento celular o tisular.

El ácido hialurónico reticulado tiene la capacidad de absorber agua y expandirse una vez inyectado en el cuerpo, para proporcionar espacio para el crecimiento celular para aumentar la regeneración del tejido.

En una realización, el componente de relleno puede adicionalmente incluir uno o más materiales o agentes adicionales que son componentes de una matriz extracelular natural o péptidos, derivados o análogos de moléculas de unión a integrina, que tienen la capacidad de optimizar la viabilidad de las células implantadas y/o mantener el crecimiento celular durante un período relativamente prolongado o sostenido después de la inyección de la composición.

El componente de relleno puede comprender ácido hialurónico reticulado combinado con uno o más de otros materiales beneficiosos, por ejemplo, moléculas de unión a integrina, derivados de unión a integrina o análogos de los mismos, o péptidos o análogos de péptidos con la posibilidad de unirse a integrinas en la población celular inyectada. Dichos materiales se pueden seleccionar basándose en su capacidad de unirse a receptores de factores de crecimiento para estimular así el crecimiento celular, por ejemplo, las células adiposas inyectadas y/o la entrada de progenitores tisulares intrínsecos o citocinas.

Las proteínas de unión a integrina adecuadas útiles en el contexto de la presente invención incluyen, pero sin limitación, colágeno, elastina, laminina, vimentina y componentes de unión a células no proteicos, tales como sulfato de heparina u otros materiales.

En una realización de la invención, el componente de relleno comprende una composición a base de ácido hialurónico (AH) reticulado, o una composición a base de AH reticulado y colágeno, tal como se describe en Schroeder *et al.*, solicitud de patente de Estados Unidos n.º 12/247.175, presentada el 7 de octubre de 2008, que tiene un cesionario común con la presente.

En algunas realizaciones, el componente de relleno comprende adicionalmente un polímero termosensible, por ejemplo, un hidrogel de transformación sol-gel, por ejemplo, una composición de hidrogel de polisacárido de transformación sol-gel. Los hidrogeles de transformación sol-gel adecuados presentan las propiedades de encontrarse en el estado de un líquido (sol) a temperatura ambiente o inferior, pero forman un hidrogel que es lo suficientemente parecido a un gel para mantener su forma cuando se encuentran a temperatura fisiológica o a temperatura corporal (37 °C). Los materiales de transformación sol-gel adecuados incluyen el biopolímero natural quitosano y derivados del mismo. En combinación con el fosfato de glicerol (sal de sodio de GP), este polielectrolito catiónico se vuelve termosensible en ácidos diluidos y puede experimentar gelación aproximadamente a temperatura corporal.

Los bloques hidrófobos termogelificantes ejemplares útiles en los componentes de relleno en conformidad con la invención incluyen, por ejemplo, pero sin limitación, poli (propilen óxido), ácido poli (láctido-co-glicólico), poli (N-isopropilacrilamida), poli (propilen fumarato), poli (caprolactona), poli (uretano) y poli (organofosfaceno).

Las composiciones de la presente invención son útiles para el "esculpido" del tejido, el reemplazo o la regeneración del tejido, para mejorar la formación de cicatrices o reducir el tejido cicatricial existente, o aumentar la elasticidad del tejido, la regeneración del tejido después de una mastectomía o lumpectomía, y en otros contextos clínicos donde es conveniente la voluminización y la regeneración del tejido. En algunas realizaciones específicas de la invención, las composiciones son útiles para el tratamiento de tejido dañado, por ejemplo, daño tisular inducido por radiación, lipatrofia inducida por esteroides o pérdida de tejido blando inducida por cirugía o traumatismo. Por ejemplo, las composiciones se pueden utilizar como un medio eficaz para suministrar células a un área con daño tisular inducido por radiación para reducir la cicatrización, reponer los progenitores tisulares perdidos o mejorar, en general, la respuesta global del paciente. Las presentes composiciones pueden utilizarse adicionalmente en el tratamiento de tejido cicatricial existente o para la cobertura de heridas y la prevención de la formación de cicatrices. Algunas de las presentes composiciones son útiles en el tratamiento del daño tisular inducido por radiación.

La composición de la invención es para su uso en un procedimiento para rellenar tejido emplazado o cerca de un implante protésico implantado anteriormente, por ejemplo, un implante de mama convencional. El procedimiento puede incluir la etapa de colocar un implante protésico en un paciente y colocar posteriormente una composición que comprende un componente de transformación sol-gel combinado y un componente celular adyacente al implante mamario, para "esculpir" o alisar la mama, por ejemplo, para reducir o eliminar depresiones u otras anomalías en el tejido mamario cerca del implante.

La composición se puede preparar proporcionando un material de relleno, proporcionando un material celular y combinando o mezclando el material de relleno con el material celular, para producir una composición regeneradora y de relleno útil.

Por ejemplo, la etapa de proporcionar el componente de relleno incluye producir un componente de relleno de AH/colágeno. Por ejemplo, la etapa incluye poner en contacto AH con un reticulante para permitir la reticulación del AH por el reticulante, formando de este modo una primera composición, poner en contacto la primera composición con colágeno para permitir la reticulación del colágeno por el reticulante, formando de este modo una segunda composición, y poner en contacto la segunda composición con una solución de AH para permitir la reticulación del AH en la solución por el reticulante, produciendo de este modo un componente de relleno de AH/colágeno. La siguiente etapa incluye combinar o mezclar el componente de relleno de AH/colágeno con un componente celular que incluye una preparación de células vivas, formando de este modo una composición de relleno y regeneradora inyectable.

En un procedimiento especialmente ventajoso, la etapa de proporcionar un componente celular puede incluir obtener células vivas, que incluyen preferentemente células madre adultas, para mezclar con el componente de relleno. Por ejemplo, la invención puede incluir las etapas de extraer tejido, por ejemplo, tejido adiposo, de un paciente a tratar con la composición de relleno y regeneradora. El tejido extraído se puede procesar de una forma adecuada para obtener, por ejemplo, aislar sustancialmente, células madre adultas de allí.

En una realización de la invención, las células madre derivadas de tejido adiposo forman al menos una parte del componente celular de la composición de relleno y regeneradora inyectable. Las células adiposas se pueden recolectar de un paciente mediante técnicas convencionales de liposucción o aspiración. El tejido graso retirado se

separa, por ejemplo, mediante centrifugación, para producir una capa de líquido tisular, una capa de células grasas y una capa de aceites o lípidos. La capa de células grasas se recolecta.

5 La centrifugación se puede lograr en una jeringa, una bolsa tipo "bolsa de sangre" o un sistema de centrifugación automatizado tal como los comercializados por Cytori Therapeutics.

10 Se puede utilizar cualquier mecanismo adecuado convencional que pueda proporcionar la separación de las células del tejido extraído. Por ejemplo, se pueden utilizar técnicas de sedimentación por gravedad simple para proporcionar la separación de las células de los componentes acelulares no deseados o innecesarios. Se contempla adicionalmente que también se puedan usar productos celulares purificados o enriquecidos, tales como células madre mesenquimáticas enriquecidas u otros tipos de células madre o progenitoras que tengan la capacidad de diferenciación a células de tejido maduras.

15 Resulta ventajoso utilizar materiales celulares que no se cultivan durante ningún período significativo. Por ejemplo, se puede utilizar material celular extraído de un paciente como componente de un producto de relleno para el paciente en el mismo día. En otros métodos, el material celular se crioconserva y se descongela para su uso posterior como un componente de un producto de relleno para inyección en un momento posterior. Las células cultivadas se pueden utilizar mediante incubación en un medio nutritivo con o sin factores de crecimiento que sustentarían la viabilidad y la expansión de las células progenitoras capaces de formar grasa, células de vasos sanguíneos, células dérmicas o miocitos. El procesamiento se describe anteriormente y, en general, las células se utilizan en un período relativamente corto ese día.

20 Más específicamente, en algunos procedimientos, el material celular se almacena o conserva, por ejemplo, utilizando crioconservación, antes de mezclarse con el componente de relleno. La crioconservación comprende la congelación y el almacenamiento controlados de material celular en nitrógeno líquido o en congeladores que tengan la capacidad de alcanzar temperaturas de -80 °C o inferiores.

30 Antes de mezclarse con el componente de relleno/voluminización, el material celular crioconservado se descongela rápidamente, por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En algunos procedimientos, la centrifugación del material celular descongelado puede ser necesaria para eliminar cualquier residuo celular, lípido o material acelular antes de mezclar las células crioconservadas descongeladas con el componente de relleno/voluminización.

35 Con referencia a la Fig. 1, se proporciona un kit 10 para su uso en el relleno y la regeneración de tejido. El kit 10 puede comprender un dispositivo de inyección, por ejemplo, una jeringa 12, una composición inyectable 14 que es una composición celular/de relleno para el relleno y la regeneración del tejido, como se describe en otras partes del presente documento, e instrucciones de uso 18. Por ejemplo, la composición 14 comprende un componente celular que incluye células progenitoras vivas y el componente de relleno comprende gel a base de ácido hialurónico.

40 Con referencia a la Fig. 2, se proporciona un kit 40 que comprende un componente de relleno 44, una herramienta adecuada 46 para extraer células de una región de un cuerpo de un paciente e instrucciones de uso 48. El kit 40 puede comprender adicionalmente un recipiente de mezcla 50 para combinar las células extraídas con la herramienta 46, con el componente de relleno 44 para producir una composición inyectable que es una mezcla de células/relleno, como se describe en otras partes del presente documento. El kit 40 puede incluir adicionalmente un dispositivo de inyección, por ejemplo, una jeringa 52, para permitir la inyección de la mezcla de células/relleno en el paciente, por ejemplo, en una región distinta, por ejemplo, una región mamaria, del cuerpo del paciente, en donde la región distinta se beneficiaría tanto por el volumen de relleno como por la regeneración del tejido.

50 En algunas realizaciones de la invención, la composición comprende un componente celular y un componente de gel, en donde el componente celular comprende células mezcladas u homogeneizadas con el componente de gel. Los usos ventajosos de la presente realización incluyen el recubrimiento de una herida o un tejido cicatricial existente para acelerar la cicatrización, prevenir o reducir la aparición de cicatrización, o invertir posiblemente el daño tisular foto- o termoinducido, o inducido por radiación. Dicha composición se puede inyectar alrededor y/o debajo de una cicatriz existente para proporcionar la regeneración del tejido y reblandecer la región cicatrizada.

55 Las aplicaciones de las presentes composiciones incluyen su uso en el "esculpido", el reemplazo o la regeneración de tejido, la mejora de la formación de cicatrices, la regeneración del tejido después de una mastectomía o lumpectomía, y en otros contextos clínicos donde es conveniente el volumen y la regeneración del tejido. Las presentes composiciones se utilizan junto con un implante protésico, por ejemplo, un implante mamario convencional, como un relleno tisular, por ejemplo, para alisar o rellenar depresiones y/u otras zonas del cuerpo que pueden aparecer adyacentes al implante protésico.

Ejemplo de referencia

65 Se preparó una composición útil para rellenar y regenerar tejido blando del siguiente modo:

- Se recoge tejido adiposo utilizando procedimientos de liposucción típicos. El lipoaspirado se puede separar adicionalmente mediante centrifugación para eliminar el líquido en exceso o los lípidos libres. Se recogería el material celular que contiene células grasas, células endoteliales, células mesenquimáticas y células madre y progenitoras, y se ajustaría si es necesario con una solución compatible hasta una concentración celular apropiada para la mezcla con el componente de relleno. La mezcla se realizó mediante agitación de los dos componentes o la utilización de un sistema de cámara bifurcada o doble que mezclaría los dos componentes antes o durante el procedimiento de inyección. Si está implicada una transformación de sol-gel en el componente de relleno, se conseguiría un catalizador tal como un cambio de sal o pH cuando se mezclan los dos componentes. Si se necesita una transformación de sol-gel dependiente de la temperatura para el relleno, esto se puede conseguir mediante un cambio de temperatura *in vivo* posterior a la inyección o mediante manipulación externa de la temperatura de la mezcla antes de la inyección. La inyección en el sitio que se tiene como objetivo se puede conseguir utilizando una aguja o una cánula conectada a una jeringa o dispositivo de suministro.

REIVINDICACIONES

1. Una composición inyectable para su uso en un procedimiento para aumentar terapéuticamente el tejido
blando en un mamífero inyectando la composición en una región que se tiene como objetivo del mamífero
5 donde son convenientes la voluminización del tejido y la regeneración del tejido, estando la región que se
tiene como objetivo adyacente a un implante protésico;
- en donde la composición inyectable comprende
un componente celular que incluye células vivas; y
10 un componente de relleno degradable que favorece el mantenimiento de la viabilidad de las células,
comprendiendo el componente de relleno degradable ácido hialurónico reticulado.
2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el componente celular
comprende células seleccionadas del grupo que consiste en cultivo *in situ* de células madre, células
15 progenitoras, células madre derivadas de tejido adiposo, precursores de células endoteliales, células
proliferantes, células comprometidas con la diferenciación y células regenerativas.

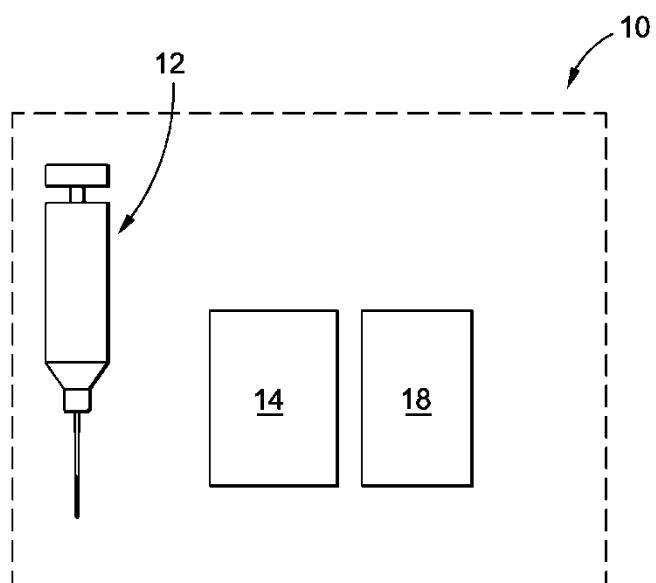


FIG. 1

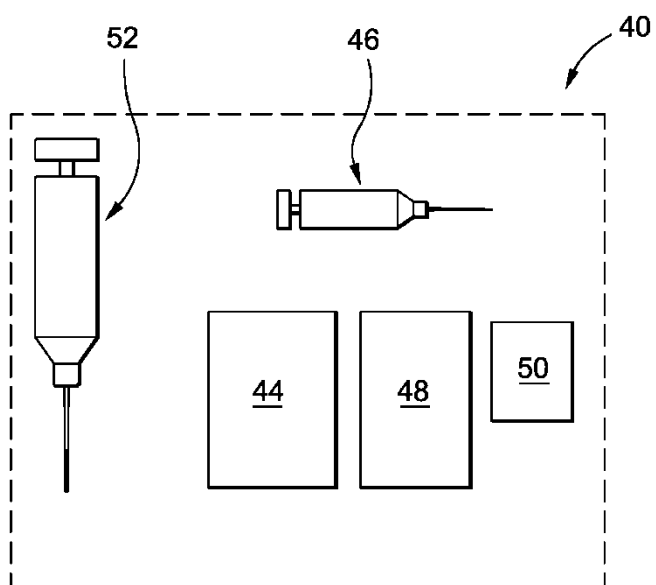


FIG. 2