

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 962**

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

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2009** **E 18156418 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019** **EP 3357519**

54 Título: **Composiciones para el relleno y la regeneración de tejido blando**

30 Prioridad:

02.07.2008 US 77683 P

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

07.11.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

VAN EPPS, DENNIS E.

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

ES 2 729 962 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 para el relleno y la regeneración de tejido blando

5 **Antecedentes**

La presente invención se refiere en general al relleno, aumento y regeneración de tejido, y más específicamente proporciona composiciones combinadas de células y relleno para aumentar, reemplazar, potenciar a nivel cosmético y/o reparar tejido blando en mamíferos.

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

15 El colágeno humano y bovino han adquirido un uso generalizado como materiales inyectables para el aumento y relleno de tejido blando. El colágeno, la principal proteína estructural extracelular del cuerpo animal, se ha usado como material de implante para reemplazar o aumentar el tejido conjuntivo, tal como piel, tendón, cartílago y hueso. Adicionalmente, el colágeno se ha inyectado o implantado en el cuerpo humano con objetivos cosméticos durante varios años.

20 El ácido hialurónico (HA) es un glicosaminoglicano que se encuentra de manera natural en el cuerpo humano y está ampliamente distribuido en todos los tejidos conjuntivos, epiteliales y neurales. En 2003, la Administración de Alimentos y Medicamentos (*Food and Drug Administration*) aprobó inyecciones basadas en HA para corregir arrugas faciales.

25 Schroeder *et al.*, solicitud de patente estadounidense con n.º de serie n.º 12/247.175, presentada el 7 de octubre de 2008, describe ácido hialurónico y colágeno reticulados, para aumentar el tejido blando en mamíferos y métodos para preparar los mismos. Hemmrich *et al.*, *Journal of Surgical Research* 2007, 144, 82-88, "Autologous In Vivo Adipose Tissue Engineering in Hyaluronan-Based Gels-A Pilot Study" divulgan composiciones inyectables que comprenden geles de ácido hialurónico amidado con precursores derivados de células madre de tejido adiposo en la reconstrucción de tejido blando.

Sumario de la invención

35 La presente invención proporciona generalmente composiciones mejoradas para aumentar y reparar la piel y los tejidos blandos con objetivos cosméticos y terapéuticos. Las presentes composiciones son útiles para rellenar, aumentar y/o regenerar tejidos blandos en un paciente mamífero, por ejemplo un ser humano.

40 Un primer aspecto de la invención es una composición inyectable adecuada para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo la composición

un componente celular que comprende células vivas, y

45 un componente de relleno propiciador del mantenimiento de la viabilidad de las células,

en la que el componente de relleno comprende ácido hialurónico reticulado y una proteína de unión a integrina.

50 Las composiciones son composiciones inyectables que incluyen tanto un componente celular vivo como un componente de relleno propiciador del mantenimiento de la viabilidad del crecimiento celular en el componente celular. Las composiciones son capaces de proporcionar tanto relleno de tejido inmediato como regeneración de tejido a largo plazo.

55 Según una realización, el componente celular de las presentes composiciones comprende células seleccionadas del grupo de células que consiste en cultivo *in situ* de células madre, células progenitoras, células adiposas, células madre derivadas de tejido adiposo, células madre mesenquimatosas, precursores de células endoteliales, células proliferativas, células comprometidas a la diferenciación y células regenerativas.

60 La composición puede producirse mediante un método que incluye la etapa de combinar, por ejemplo, mezclar, células madre humanas con material de relleno basado en ácido hialurónico, o premezclar el componente celular con una forma soluble del material antes de la gelificación. La adición de una proteína de unión a integrina proporciona adhesión y señala para retener la viabilidad o potenciar el crecimiento celular. Tales componentes incluyen uno o más de laminina, vitronectina, fibronectina y elastina.

65 Otro aspecto de la invención es un kit adecuado para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo el kit

una jeringa que contiene una composición según el primer aspecto de la invención anteriormente definido; o

5 una jeringa que contiene un componente celular según el primer aspecto y un componente de relleno según el primer aspecto, incluyendo la jeringa un sistema de dos compartimentos que mantiene la separación entre el componente celular y el componente de relleno antes de la inyección.

10 Un aspecto adicional de la invención es un kit adecuado para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo el kit un material de relleno, una herramienta para extraer células autólogas de un paciente, y un dispositivo de inyección para permitir la inyección de una mezcla del componente de relleno y las células autólogas extraídas en una región diana de un paciente, en el que el componente de relleno comprende ácido hialurónico reticulado y una proteína de unión a integrina.

Breve descripción de los dibujos

15 La figura 1 es una vista esquemática de un kit según una realización de la invención.

La figura 2 es una vista esquemática de otro kit según una realización de la invención.

Descripción detallada

20 La invención proporciona composiciones inyectables útiles para el relleno sustancialmente inmediato de tejido o la voluminización de tejido así como el soporte para la regeneración de tejido a largo plazo.

25 Las presentes composiciones pueden usarse en métodos para aumento y reconstrucción de mama en los que puede desearse una combinación de volumen y regeneración de tejido. De manera similar, las composiciones pueden usarse en métodos de relleno de cualquier hueco de tejido, o bien natural o bien creado mediante una intervención quirúrgica para la retirada de tejido, tratamiento con corticoesteroides, una reacción inmunológica que da como resultado lipoatrofia, daño de tejido que resulta de lesiones por impacto o tratamiento radiológico, químico o farmacológico, cuando existe un deseo tanto de rellenar como de regenerar tejido en un sitio particular. De manera similar, las presentes composiciones pueden usarse como medio para reducir el tejido cicatricial como resultado de una vascularización activa y disolución del tejido cicatricial o bien como un procedimiento preventivo o bien posterior al tratamiento basado en la administración de células viables derivadas de tejido adiposo o células madre o progenitoras al sitio

35 Una composición según la invención comprende generalmente un componente celular que comprende células vivas, y un componente de relleno que proporciona de manera eficaz volumen y soporte para la viabilidad y el crecimiento de las células y/u otro tejido cuando la composición se inyecta en una región diana de un paciente.

40 Las presentes composiciones, cuando se inyectan en una región diana de un paciente, proporcionan un plazo relativamente largo, por ejemplo, mayor de seis meses o más, de relleno y voluminización aumentados de tejido, con relación a una composición sustancialmente idéntica que no incluye un componente celular. La presente composición también proporciona soporte, estructura y espacio dentro del tejido para permitir el crecimiento y la regeneración de tejido. El componente celular en la presente composición también prevé la producción o estimulación de citocinas y estimuladores intrínsecos del crecimiento y mantenimiento de tejido en el sitio de inyección.

45 El componente celular de las presentes composiciones comprende preferiblemente células progenitoras derivadas de tejido adiposo, por ejemplo, células madre derivadas de tejido adiposo. Los métodos de uso incluyen relleno y regeneración de tejido usando tales composiciones de células y de relleno que incluyen células autólogas, por ejemplo, células progenitoras y/o células, madre de adulto derivadas de tejido adiposo, autólogas. El componente celular de las composiciones proporciona regeneración de tejido en un plazo relativamente largo, cuando se combina con el componente de relleno, después de que la composición se ha inyectado o implantado en un paciente.

55 El componente de relleno de las presentes composiciones comprende generalmente un material biocompatible que puede proporcionar relleno de tejido en un plazo sustancialmente inmediato o corto, y preferiblemente, un entorno propiciador de crecimiento de células o de tejido.

60 En algunas realizaciones, el componente de relleno es un material que absorbe agua y se expande una vez inyectado en el cuerpo, para proporcionar espacio para el crecimiento de células para potenciar la regeneración de tejido. El componente de relleno comprende ácido hialurónico reticulado.

65 El componente de relleno puede incluir además uno o más materiales o agentes adicionales que son componentes de una matriz natural extracelular, o péptidos, derivados o análogos de moléculas de unión a integrina, que son capaces de optimizar la viabilidad de células implantadas y/o mantener el crecimiento de células durante un plazo relativamente largo o periodo de tiempo mantenido después de la inyección o implantación de la composición.

5 El componente de relleno puede comprender, por ejemplo, un material de hidrogel 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 el potencial de unirse a integrina en la población de células inyectada. Tales materiales pueden seleccionarse basándose en su capacidad para unirse a receptores de factores de crecimiento para estimular de ese modo el crecimiento de células, por ejemplo, las células de tejido adiposo inyectadas y/o el flujo de entrada de citocinas o células progenitoras de tejido intrínsecas.

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

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

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

25 Los bloques hidrófobos de termogelificación a modo de ejemplo útiles en el componente de relleno según la invención incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a poli(óxido de propileno), ácido poli(lactida-co-ácido glicólico), poli(N-isopropilacrilamida), poli(fumarato de propileno), poli(caprolactona), poli(uretano) y poli(organofosfazeno).

30 Las composiciones de la presente invención son útiles para el “esculpido”, reemplazo o la regeneración de tejido, la mejora de la formación de cicatrices o la reducción de tejido cicatricial existente o el aumento de la elasticidad de tejido y la regeneración de tejido después de mastectomía o tumorectomía de mama, y otras situaciones clínicas en las que se desea voluminización y regeneración de tejido. En algunas realizaciones específicas de la invención, las composiciones son útiles para el tratamiento de tejido dañado, por ejemplo, daño de tejido inducido por radiación, lipoatrofia inducida por esteroides o pérdida de tejido blando quirúrgica o inducida por traumatismo. Por ejemplo, las composiciones pueden usarse como medio eficaz de administración de células a un área con daño de tejido inducido por radiación para reducir la cicatrización patológica, reponer progenitores de tejido perdidos, o mejorar generalmente el desenlace global del paciente. Las presentes composiciones pueden ser ventajosas además como revestimiento dérmico o producto inyectable, por ejemplo, para su uso 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 de daño de tejido inducido por radiación.

35 40 45 50 Los métodos de relleno incluyen métodos para rellenar tejido ubicado en o cerca de un implante protésico implantado previamente, por ejemplo, pero sin limitarse a, un implante de mama convencional. Más específicamente, los métodos de relleno incluyen métodos para rellenar una región diana de tejido blando en los que la región diana es la región de las mamas de un ser humano. El método puede incluir la etapa de colocar un implante protésico en un paciente y colocar posteriormente una composición que comprende un componente de transformación de sol-gel y un componente celular combinados de manera adyacente al implante de mama para “esculpir” o alisar la mama, por ejemplo, para reducir o eliminar depresiones u otras anomalías en el tejido de mama cerca del implante.

55 Un método a modo de ejemplo para preparar una composición de relleno y regeneración de tejido inyectable comprende proporcionar un material de relleno, proporcionar un material celular y combinar o mezclar el material de relleno con el material celular para producir una composición de relleno y regeneración útil.

60 65 Por ejemplo, la etapa de proporcionar el componente de relleno incluye producir un componente de relleno de HA/colágeno. Por ejemplo, la etapa incluye poner en contacto el HA con un agente de reticulación para permitir la reticulación del HA por el agente de reticulación, formándose de ese modo una primera composición, poner en contacto la primera composición con colágeno para permitir la reticulación del colágeno por el agente de reticulación, formándose de ese modo una segunda composición, y poner en contacto la segunda composición con una disolución de HA para permitir la reticulación del HA en la disolución mediante el agente de reticulación, produciéndose de ese modo un componente de relleno de HA/colágeno. La siguiente etapa incluye combinar o mezclar el componente de relleno de HA/colágeno con un componente celular que incluye una preparación de células vivas, formándose de ese modo una composición de relleno y regeneración inyectable.

En un método especialmente ventajoso, la etapa de proporcionar un componente celular puede incluir obtener células vivas, incluyendo preferiblemente células madre adultas, para que se mezclen con el componente de relleno. Por ejemplo, el método puede incluir las etapas de extraer tejido, por ejemplo, tejido adiposo, de un paciente para que se trate con la composición de relleno y regeneración. El tejido extraído puede procesarse de manera adecuada para obtener, por ejemplo, aislar sustancialmente, células madre adultas del mismo.

En una realización de la invención, células madre derivadas de tejido adiposo forman al menos una porción del componente celular de la composición de relleno y regeneración inyectable. Pueden recogerse células adiposas de un paciente mediante técnicas de aspiración y liposucción convencionales. El tejido adiposo extraído se separará, por ejemplo, mediante centrifugación, para producir una capa de fluido de tejido, una capa de células adiposas y una capa de aceites o lípidos. Se recoge la capa de células adiposas.

La centrifugación puede conseguirse en una jeringa, una bolsa similar a una "bolsa de sangre", o un sistema de centrifugación automatizado tal como el disponible de Cytori Therapeutics.

Puede utilizarse cualquier mecanismo convencional adecuado que pueda proporcionar la separación de células del tejido extraído. Por ejemplo, pueden usarse técnicas de sedimentación por gravedad simples para proporcionar la separación de células de componentes acelulares no deseados o innecesarios. Se contempla además que también puedan usarse productos de células enriquecidos o purificados tales como células madre mesenquimatosas enriquecidas u otros tipos de células madre o progenitoras capaces de producir diferenciación en células de tejido maduras. Éstas incluirán líneas de células madre y progenitoras.

Es ventajoso utilizar materiales celulares que no se han cultivado durante un periodo de tiempo significativo. Por ejemplo, en algunas realizaciones de la invención, el material celular que se extrae de un paciente puede usarse como componente de un producto de relleno para el paciente durante el mismo día. En otras realizaciones de la invención, se somete a criopreservación material celular y se descongela para su uso posterior como componente de un producto de relleno para inyecciones en un momento posterior. Pueden utilizarse células en cultivo mediante la incubación en un medio con nutrientes con o sin factores de crecimiento que soportarán la viabilidad y expansión de células progenitoras capaces de formar tejido adiposo, células de vasos sanguíneos, células dérmicas o células musculares. El procesamiento se describió anteriormente y generalmente se utilizarán células en un periodo de tiempo relativamente corto ese día.

Más específicamente, en algunos métodos, el material celular se almacena o conserva, por ejemplo, usando criopreservación, antes de que se mezcle con el componente de relleno. La criopreservación implica congelación y almacenamiento controlados de material celular en nitrógeno líquido o en congeladores capaces de alcanzar temperaturas de -80°C o inferior.

Antes de que se mezcle con el componente de relleno/voluminización, el material celular criopreservado se descongela rápidamente, por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 37°C. En algunos métodos, puede ser necesaria la centrifugación del material celular descongelado para retirar cualquier desecho celular, lípido o material acelular antes de mezclar las células criopreservadas descongeladas con el componente de relleno/voluminizador.

Pasando ahora a la figura 1, en un aspecto adicional de la invención, se proporciona un kit 10 para su uso en el relleno y la regeneración de tejido. El kit 10 comprende una jeringa 12, una composición 14 inyectable que es la composición de células/relleno para el relleno y la regeneración de tejido descritos en otra parte en el presente documento, e instrucciones 18 de uso. Por ejemplo, la composición 14 comprende un componente celular que incluye células progenitoras vivas y el componente de relleno comprende gel basado en ácido hialurónico.

Pasando ahora a la figura 2, en algunas realizaciones, se proporciona un kit 40 que comprende un componente 44 de relleno, una herramienta 46 adecuada para extraer células de una región del cuerpo de un paciente, e instrucciones 48 de uso. El kit 40 puede comprender además un recipiente 50 de mezclado para combinar las células extraídas con la herramienta 46 con el componente 44 de relleno para producir una composición inyectable, por ejemplo una mezcla de células/relleno, tal como se describió en otra parte en el presente documento. El kit 40 incluye además 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 diferente, por ejemplo una región de mama, del cuerpo del paciente, en la que la región diferente se beneficiará tanto de volumen de relleno como de regeneración de tejido.

En algunas realizaciones de la invención, se proporcionan composiciones tal como se describen en otra parte en el presente documento, estando las composiciones en forma de un recubrimiento tópico, una cobertura de heridas, o una forma similar. En estas realizaciones, las composiciones pueden comprender un elemento que incluye un componente celular y componente de gel, en las que el componente celular comprende células mezcladas en u homogeneizadas con el componente de gel. Los usos ventajosos de esta realización incluyen recubrir una herida o tejido cicatricial existente para acelerar la curación, prevenir o reducir la aparición de cicatrización patológica, o posiblemente revertir daño de tejido fotoinducido, inducido térmicamente o por radiación. Tal composición también puede inyectarse alrededor y/o bajo una cicatriz existente para proporcionar regeneración y ablandamiento de tejido

de la región cicatricial.

5 Las aplicaciones de las presentes composiciones, procedimientos, métodos y kits incluyen su uso en esculpir, reemplazar o regenerar tejido, mejorar la formación de cicatrices, regenerar tejido después de mastectomía o tumorectomía de mama, y otras situaciones clínicas en las que se desean volumen y regeneración de tejido. También se contempla que las presentes composiciones pueden usarse junto con un implante protésico, por ejemplo un implante de mama convencional, como relleno de tejido, por ejemplo, para alisar o rellenar depresiones y/u otras áreas del cuerpo que puedan producirse de manera adyacente al implante protésico.

10 **Ejemplo**

Se prepara una composición útil para rellenar y regenerar tejido blando de la siguiente manera:

15 Se recoge tejido adiposo usando procedimientos de liposucción típicos. Puede separarse adicionalmente el material lipoaspirado, mediante centrifugación para eliminar los lípidos libres o el fluido en exceso. Se recogerá material celular que contiene células adiposas, células endoteliales, células mesenquimatosas y células madre y progenitoras y ajustarse si es necesario con una disolución compatible hasta una concentración de células adecuada para el mezclado con el componente de relleno. El mezclado puede ser o bien mediante agitación de los dos componentes o bien mediante la utilización de un sistema bifurcado o bicameral que mezclará los dos componentes antes de o
20 durante el procedimiento de inyección. Si está implicada una transformación de sol-gel con el componente de relleno, se conseguirá un catalizador tal como una sal o un cambio de pH cuando se mezclan los dos componentes. Si se requiere una transformación de sol-gel dependiente térmicamente para el relleno, esta puede conseguirse 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 diana puede conseguirse usando una aguja
25 o cánula unida a una jeringa o un dispositivo de administración.

REIVINDICACIONES

1. Composición inyectable adecuada para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo la composición
- 5 un componente celular que comprende células vivas, y
- un componente de relleno propiciador del mantenimiento de la viabilidad de las células,
- 10 en la que el componente de relleno comprende ácido hialurónico reticulado y una proteína de unión a integrina.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que la proteína de unión a integrina se selecciona de colágeno y elastina.
- 15 3. Composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el componente celular comprende células seleccionadas del grupo que consiste en cultivo *in situ* de células madre, células progenitoras, células madre derivadas de tejido adiposo, precursores de células endoteliales, células proliferativas, células comprometidas a la diferenciación y células regenerativas.
- 20 4. Kit adecuado para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo el kit
- una jeringa que contiene una composición según la reivindicación 1; o
- 25 una jeringa que contiene un componente celular según la reivindicación 1 y un componente de relleno según la reivindicación 1, incluyendo la jeringa un sistema de dos compartimentos que mantiene la separación entre el componente celular y el componente de relleno antes de la inyección.
- 30 5. Kit adecuado para rellenar y regenerar tejido blando en un mamífero, comprendiendo el kit un componente de relleno, una herramienta para extraer células autólogas de un paciente, y un dispositivo de inyección para inyectar una mezcla del componente de relleno y las células autólogas extraídas en una región diana de un paciente, en el que el componente de relleno comprende ácido hialurónico reticulado y una proteína de unión a integrina.

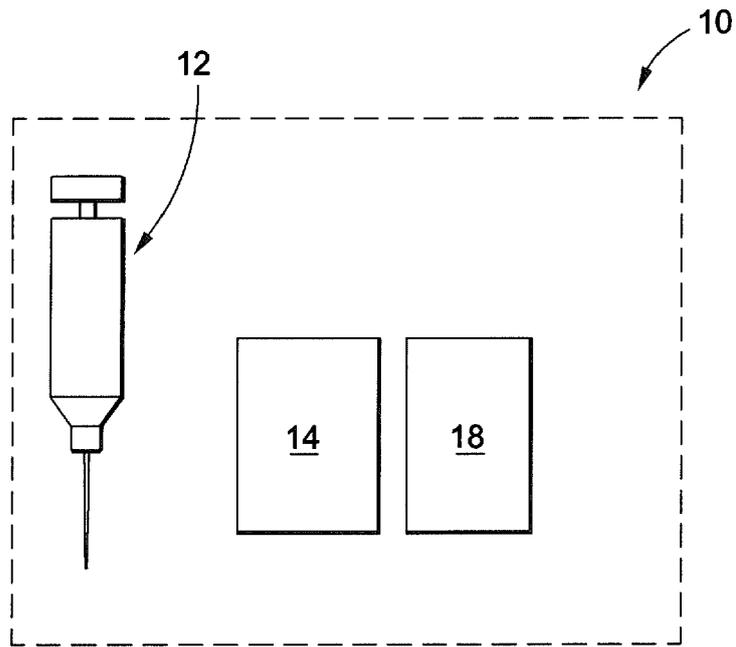


FIG. 1

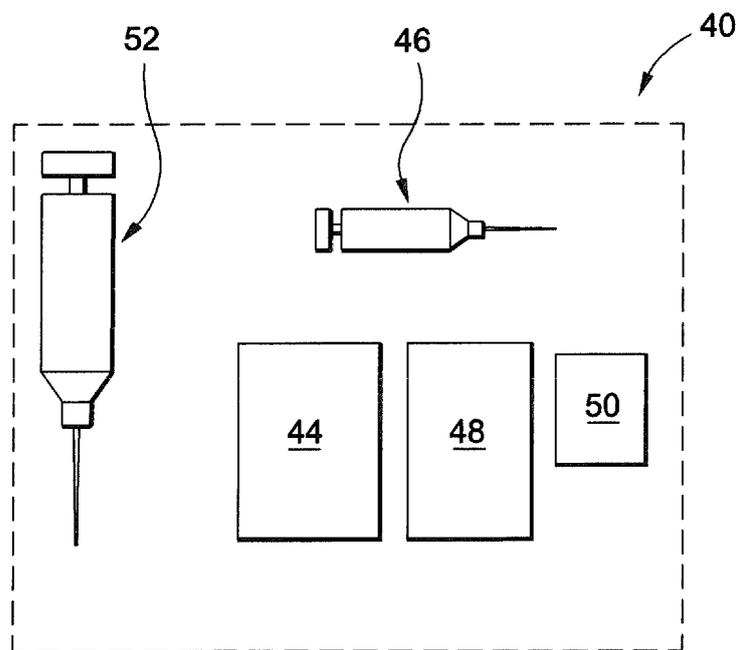


FIG. 2