

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 735 923**

51 Int. Cl.:

A61K 31/19 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2016 PCT/EP2016/055868**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2016 WO16150825**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2016 E 16710738 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019 EP 3270908**

54 Título: **Una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral**

30 Prioridad:

20.03.2015 SE 1550338

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

20.12.2019

73 Titular/es:

STAYBLE THERAPEUTICS AB (100.0%)

Medicinaregatan 8A

41390 Göteborg, SE

72 Inventor/es:

OLMARKER, KJELL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 735 923 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

Una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral

5 Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a la mala alineación intervertebral, tal como la escoliosis, espondilolistesis, subluxación vertebral y fracturas vertebrales, y una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral

10

Antecedentes

Habitualmente, las vértebras separadas de una columna vertebral vertebrada, tal como la columna vertebral humana, están dispuestas en una alineación fija. Sin embargo, existen condiciones que pueden modificar esta alineación y, de esta manera, afectar al vertebrado negativamente. Una situación en la que las vértebras no cumplen con la alineación normal puede denominarse mala alineación. Debido a que la mala alineación se basa en la relación entre dos vértebras contiguas, preferentemente puede denominarse mala alineación intervertebral.

15

Una causa común de mala alineación intervertebral es la formación de curvaturas en el plano frontal, una condición generalmente denominada escoliosis. En casos progresivos de escoliosis, pueden existir motivos para reducir o evitar una mala alineación intervertebral adicional. Convencionalmente, la reducción y/o prevención de la mala alineación intervertebral puede conseguirse con diversas formas de corsé. Sin embargo, la mala alineación intervertebral con frecuencia requiere cirugía.

20

En el caso de la cirugía, la columna vertebral típicamente se fija mediante inserción de barras de acero inoxidable, denominadas barras de Harrington. Sin embargo, antes de la introducción de la cirugía actual, a principios de los 1960, la columna vertebral se fijaba dejando que el hueso obtenido de la cresta ilíaca formase uniones óseas entre las vértebras mal alineadas.

25

Otra condición común que puede causar mala alineación intervertebral es la espondilolistesis. Ésta es una condición en la que una debilidad congénita en una parte del arco vertebral produce una fractura en el arco vertebral con un desplazamiento dentro del segmento espinal en dirección antero-posterior entre dos vértebras. Es más común en la columna lumbar inferior. Esto resultará en un estrechamiento gradual del canal espinal con lesión compresiva del tejido nervioso en el canal espinal con disfunción en las piernas y esfínteres. El avance de dicha mala alineación habitualmente se reduce mediante la fijación de las dos vértebras con placas y tornillos pediculares.

30

35

La subluxación vertebral es una mala alineación menor reconocida principalmente por los quiroprácticos. La subluxación significa que dos vértebras han perdido su alineación normal y ello puede conducir a diversos síntomas. La mala alineación puede corregirse mediante terapia de manipulación en la que las vértebras se devuelven a su alineación normal. Sin embargo, no es infrecuente que las vértebras se desalineen un tiempo después de esta corrección.

40

Las fracturas vertebrales con frecuencia resultan en una mala alineación de los fragmentos de las vértebras fracturadas. Resulta especialmente perjudicial que un fragmento de la parte posterior de un cuerpo vertebral se desplace hacia el interior del canal espinal, con la consiguiente lesión del tejido nervioso intraespinal. Esto requiere cirugía inmediata. En la realineación de los fragmentos vertebrales, puede resultar útil reducir la movilidad de un segmento vertebral lesionado.

45

Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de proporcionar nuevos modos más seguros y menos complicados de reducción y/o prevención de la mala alineación intervertebral.

50

Descripción resumida de la invención

El objetivo de la presente invención es proporcionar una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral, tal como la escoliosis, la espondilolistesis, la subluxación vertebral y las fracturas vertebrales.

55

La composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral puede formularse de manera que pueda administrarse en una cantidad terapéuticamente eficaz mediante una inyección local en un disco intervertebral.

60

Se dispone un disco intervertebral entre dos vértebras contiguas. El disco intervertebral típicamente es flexible y permite el movimiento entre las vértebras contiguas. Está formado por un anillo de tejido conectivo que comprende principalmente colágeno y un centro semilíquido que comprende, p.ej., colágeno y proteoglicanos. El anillo se denomina anillo fibroso y el centro se denomina núcleo pulposo.

65

El concepto de la presente invención es reducir la mala alineación intervertebral adicional mediante la aceleración del

5 envejecimiento de un disco intervertebral, rigidificando de esta manera el disco intervertebral, p.ej., mediante transformación del disco intervertebral en un tejido conectivo sólido y denso. La transformación de un disco intervertebral en tejido conectivo sólido y denso lo hace más estable, y en consecuencia, el disco intervertebral consigue un rango de movimiento reducido. Un disco intervertebral transformado en tejido conectivo sólido y denso proporcionará una estabilidad mejorada de un segmento espinal.

10 La presente invención puede producir una situación similar a la fusión ósea utilizada en tratamientos anteriores de la escoliosis mediante la transformación del disco intervertebral en tejido conectivo, reduciendo de esta manera la mala alineación progresiva de la columna vertebral.

15 La presente invención puede producir una situación similar a las placas y tornillos mediante la transformación del disco intervertebral en tejido conectivo, reduciendo de esta manera la mala alineación progresiva de la columna vertebral.

La presente invención puede reducir el riesgo de reaparición de subluxaciones mediante transformación del disco intervertebral en tejido conectivo, reduciendo de esta manera el riesgo de mala alineación de la columna vertebral.

La presente invención puede reducir la movilidad de un segmento espinal mediante transformación del disco intervertebral en tejido conectivo.

20 El inventor de la presente invención ha encontrado inesperadamente que la sustancia podría ser con éxito ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 El ácido láctico es un ácido carboxílico con la fórmula química $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$. Tal como se muestra en la fórmula (I), posteriormente, el ácido láctico en una solución acuosa puede perder un protón de su grupo carboxilo, produciendo el ion lactato, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$. La fracción molar de ácido láctico a ion lactato es 1:1.



30 El ion lactato puede, junto con un contraión, formar una sal farmacéuticamente aceptable. El contraión puede ser un ion metálico seleccionado del grupo que consiste en los iones de los elementos siguientes: Li, Be, Na, Mg, K y Ca. Alternativamente, el contraión puede ser un ion orgánico, tal como amonio o colina. El ácido láctico, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se encuentra naturalmente presente en el cuerpo humano.

35 La concentración de ion lactato en el agua tisular de un disco intervertebral lumbar de un paciente con dolor de espalda se estimó que se encontraba dentro del intervalo de 1 mmol/l a prácticamente 16 mmoles/l, típicamente en el intervalo de 4 mmoles/l a 6 mmoles/l. Estos valores medidos se presentan en la página 5 y en la figura 5 del artículo científico titulado "Oxygen and lactate concentrations measured *in vivo* in the intervertebral discs of patients with scoliosis and back pain" by Bartels et al., publicado en Spine 23(1): pp. 1-8, 1998.

40 Tal como se observa en la Tabla 1, el peso molecular del ion lactato es 89,07 g/mol. Una concentración molar de 1 mmol de ion lactato por litro de agua tisular en el disco intervertebral lumbar corresponde, de esta manera, a una concentración másica de 89,07 mg/l. De manera similar, una concentración molar de 16 mmoles de ion lactato por litro de agua tisular en el disco corresponde a una concentración másica de 1425 mg/l.

45 En el ser humano, el espacio discal de un disco intervertebral lumbar presenta un volumen estimado en aproximadamente 1,5 ml a 3,0 ml.

50 En vista de lo anteriormente expuesto, el experto en la materia podrá calcular fácilmente la cantidad de lactato, expresada en moles o gramos, en el disco. Se proporciona un ejemplo en la Tabla 1.

Tabla 1. Cantidades aproximadas de ion lactato en discos intervertebrales escolióticos de un paciente.

Concentración observada de ion lactato en el agua tisular de discos escolióticos	1 a 16 mmoles/l
Volumen medio del espacio discal de un disco intervertebral que comprende el agua tisular	1,5 a 3 ml
Moles calculados de ion lactato en el agua tisular	0,0015 a 0,048 mmoles
Peso molar del ion lactato	89,07 g/mol
Masa calculada de ion lactato en el agua tisular	0,134 a 4,28 mg

55 El ácido láctico, el ion lactato o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos puede interferir negativamente con la función de las células del disco intervertebral, en particular las células que producen los proteoglicanos necesarios para evitar el envejecimiento del disco.

El envejecimiento de un disco intervertebral se inicia mediante un suministro reducido de nutrientes y oxígeno mediante

difusión de los vasos sanguíneos en las vértebras contiguas y de las estructuras circundantes. Esto inducirá gradualmente una acumulación de productos de desecho metabólico en el disco intervertebral, tal como en el núcleo pulposo. Un tipo de producto de desecho metabólico que puede encontrarse presente es el ácido láctico y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

5 El ácido láctico, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puede contribuir a varios mecanismos que provocarán la muerte celular en los discos intervertebrales, tal como la acumulación intracelular de grasa, el hinchado mitocondrial, la compactación de la cromatina y la liberación de glutamato excitotóxico.

10 El ácido láctico, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puede liberar PGE₂, causando inflamación y producción de tejido conectivo. Además, el ácido láctico, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puede estimular la liberación de TGF-beta, que a su vez estimula a los fibroblastos a producir colágeno.

15 El ácido láctico, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, también puede contribuir a coagulación intravascular diseminada y coagulopatía de consumo, que incrementa la tendencia de los glóbulos rojos a agregarse, formando "sangre espesada" y provoca que los glóbulos rojos sean más rígidos, a su vez, incrementando la viscosidad de la sangre y alterando la circulación en los vasos pequeños.

20 De esta manera, un incremento de la concentración de ácido láctico, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en un disco intervertebral mediante administración de una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el espacio discal del disco intervertebral aceleraría por lo tanto el envejecimiento del disco e induciría la transformación del núcleo pulposo en tejido conectivo.

25 El envejecimiento del disco intervertebral, incluyendo la transformación del núcleo pulposo en tejido conectivo, rigidifica el disco intervertebral, y mediante la administración de una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede acelerarse el envejecimiento de una manera controlable. Típicamente, la concentración de ácido láctico, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, puede incrementarse en un disco intervertebral, más específicamente en el espacio discal, con el fin de acelerar el envejecimiento.

30 El inventor ha encontrado que una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, induce una marcada transformación del disco intervertebral, rigidificándolo de esta manera. La marcada transformación se ha interpretado como un envejecimiento acelerado del disco intervertebral mediante transformación del núcleo pulposo en tejido conectivo. En consecuencia, el inventor espera mejoras para el paciente con respecto a la mala alineación intervertebral en caso de que se administre una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el núcleo pulposo del disco intervertebral, resultando en una concentración incrementada de ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dentro del espacio discal.

40 El inventor espera mejoras para el paciente con respecto a la mala alineación intervertebral, tal como escoliosis, espondilolistesis, subluxación vertebral y fracturas vertebrales, con la administración de ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en un espacio discal de un disco intervertebral que es, por lo menos parcialmente, responsable de la mala alineación intervertebral.

45 Según un primer aspecto de la invención, se proporciona una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral. La composición comprende ácido láctico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La composición se administra en un espacio discal que comprende el núcleo pulposo de un disco intervertebral.

50 El término tratamiento de la mala alineación intervertebral incluye en la presente memoria prevención y/o reducción de la progresión de la mala alineación intervertebral. La composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral puede comprender por lo menos uno de ácido láctico y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La sal farmacéuticamente aceptable es una sal farmacéuticamente aceptable que comprende un ion lactato y un contraión.

55 Las ventajas de la composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral según la presente invención es un tratamiento más seguro y más eficiente de la mala alineación intervertebral, siendo además menos caro y menos invasivo que los tratamientos, p.ej. el tratamiento quirúrgico, conocidos del estado de la técnica. Además, el ácido láctico, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, son biocompatibles. El cuerpo de un vertebrado, tal como un ser humano, es capaz de manipular, tal como degradar, ácido láctico, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, ya que estos compuestos son compuestos naturales, tales como productos de desecho, presentes en el cuerpo del vertebrado.

65 El inventor sugiere que el núcleo pulposo en el espacio discal de un disco intervertebral puede transformarse en tejido conectivo sólido y denso, similar al tejido conectivo del anillo fibroso, en el caso de que se administre una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral según la presente invención en el núcleo pulposo. Por ejemplo, además, puede tener lugar coagulación sanguínea durante la transformación del núcleo pulposo

en tejido conectivo, provocando que el disco intervertebral se torne más sólido y denso. La rigidez incrementada se espera que resulte en una estabilización incrementada del segmento que comprende el disco intervertebral tratado y, de esta manera, una prevención y/o una reducción de la mala alineación intervertebral progresiva.

5 Según una realización, la composición para la utilización se administra en una cantidad eficaz para incrementar la concentración de ácido láctico, o la concentración de ion lactato, a partir de la sal farmacéuticamente aceptable, en el espacio discal hasta más de 16 mmoles/l.

10 La composición para la utilización puede administrarse en una cantidad eficaz para incrementar la concentración de ácido láctico o lactato en el espacio discal hasta una concentración superior a la concentración que se observa durante el envejecimiento natural.

15 Según una realización, la concentración de ácido láctico, o la concentración de ion lactato de la sal farmacéuticamente aceptable, en la composición es de por lo menos 16 mmoles/l, por ejemplo se encuentra comprendida en el intervalo de 16 a 12000 mmoles/l, tal como de 100 a 10000 mmoles/l, tal como de 500 a 5000 mmoles/l, tal como de 800 a 2000 mmoles/l.

20 Según una realización, la composición para la utilización presenta un pH inferior a 4, tal como inferior a 3,5, tal como inferior a 3,0, tal como inferior a 2,5, tal como inferior a 2, y tal como inferior a 1,5.

25 Según una realización, la sal farmacéuticamente aceptable es un lactato de cualquiera de los elementos seleccionados del grupo que consiste en: los metales alcalinos y los metales alcalinotérreos. Por ejemplo, la sal farmacéuticamente aceptable es por lo menos una de lactato de litio, lactato sódico, lactato potásico, lactato de berilio, lactato de magnesio, lactato de bario y lactato de calcio.

Según una realización, la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en: lactato amónico, lactato de colina, lactato de litio, lactato sódico, lactato potásico, lactato de berilio, lactato de magnesio, lactato de bario y lactato de calcio.

30 Según una realización, la composición para la utilización se administra en el espacio discal de un disco intervertebral que contribuye a la mala alineación intervertebral.

35 En un ejemplo, la composición para la utilización puede administrarse en cualquier o todos los discos intervertebrales que se sospecha que contribuyen a la mala alineación intervertebral.

Según una realización, se administra ácido láctico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mediante inyección local en el espacio discal que comprende el núcleo pulposo.

40 Por ejemplo, en el caso de que la mala alineación intervertebral corresponda a escoliosis, resulta deseable estabilizar la columna mediante la prevención de la mala alineación adicional y, en el mejor de los casos, también mediante la reducción de la mala alineación actual. Típicamente, una composición que comprende ácido láctico puede en la escoliosis administrarse en los espacios discales de más de una, por ejemplo de 5 a 20, tal como aproximadamente 15 discos intervertebrales, con fines de estabilización.

45 En otros casos de mala alineación intervertebral, puede resultar suficiente administrar una composición que comprende ácido láctico en un único disco intervertebral, o por ejemplo, en dos discos intervertebrales contiguos, para conseguir el efecto estabilizador.

50 La inyección local puede llevarse a cabo típicamente mediante una jeringa.

Según una realización, el ácido láctico se administra en una única dosis comprendida en el intervalo de 2 mg a 200 mg, tal como de 5 mg a 150 mg, tal como de 10 a 100 mg, tal como de 10 a 50 mg, tal como de 15 a 30 mg. La dosis única corresponde a la cantidad de ácido láctico que se administra por espacio discal.

55 En el caso de que se administre una sal farmacéuticamente aceptable, el ion lactato de la sal farmacéuticamente aceptable se administra en una cantidad correspondiente a la dosis única de ácido láctico anterior, considerando la fracción molar de ácido láctico a lactato.

60 Según una realización, la composición para la utilización que comprende ácido láctico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en una única ocasión en la dosis única.

Según una realización, la composición se encuentra en forma de una solución acuosa que comprende dicho ácido láctico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65 Típicamente, la composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral se proporciona en un estado líquido adecuado para la inyección local.

Según una realización, la mala alineación intervertebral se selecciona de escoliosis, espondilolistesis, subluxación vertebral y fracturas vertebrales.

5 En algunos ejemplos, la composición puede comprender además por lo menos un agente seleccionado de solubilizadores, estabilizadores, tampones, modificadores de la tonicidad, agentes volumétricos, potenciadores de la viscosidad, reductores de la viscosidad, surfactantes, agentes quelantes, conservantes y adyuvantes.

10 En un ser humano, la cantidad de la composición que debe administrarse puede encontrarse comprendida en el intervalo de 0,05 ml a 5 ml, tal como de 0,1 a 3 ml, p.ej. de 0,2 ml a 2 ml. Estas cantidades corresponden más o menos al volumen del núcleo pulposo en un ser humano. Para un disco intervertebral lumbar, la cantidad de la composición que debe administrarse puede ser de aproximadamente 1,5 ml a 3,0 ml. Para un disco intervertebral cervical, la cantidad de la composición que debe administrarse puede ser de aproximadamente 0,5 ml. Para un disco intervertebral coccígeo, la cantidad de la composición que debe administrarse puede ser de aproximadamente 0,2 ml.

15 La expresión "ocasión única" se refiere en la presente memoria a una única visita a una consulta médica, tal como durante la visita al médico, p.ej. en un hospital. La visita puede no prolongarse más de 24 horas, tal como de 0,5 a 5 horas. La expresión típicamente, aunque no necesariamente, implica que la dosis única se administra mediante sólo una única inyección en una única ocasión. Sin embargo, la expresión cubre además casos en que la dosis única se administra en una única ocasión, aunque mediante varias inyecciones, tal como de 2 a 10 inyecciones por cada ocasión única, p.ej., de 2 a 5 inyección por ocasión única.

20 La expresión "ocasiones repetidas" en la presente memoria se refiere a más de una visita, es decir, una pluralidad de visitas, en una consulta médica, tal como durante más de una visita al médico, p.ej. en un hospital. Cada visita puede no prolongarse más de 24 horas, tal como de 0,5 a 5 horas. La expresión típicamente, aunque no necesariamente, implica que la dosis única se administra mediante sólo una única inyección, aunque en ocasiones repetidas. Sin embargo, la expresión cubre además casos en que la dosis única se administra en ocasiones repetidas, aunque mediante varias inyecciones, tal como de 2 a 10 inyecciones por cada una de dichas ocasiones repetidas, p.ej., de 2 a 5 inyección por cada una de dichas ocasiones repetidas.

25 La expresión "disco intervertebral" se refiere a un elemento que se encuentra entre dos vértebras contiguas en la columna. Cada disco intervertebral forma una articulación cartilaginosa para permitir un ligero movimiento de las vértebras, y actúa como un ligamento para sujetar las vértebras juntas. Un disco intervertebral consiste en un anillo fibroso externo, que circunda un núcleo pulposo interno. Una columna vertebral humana comprende 23 discos intervertebrales: 6 en el cuello (región cervical), 12 en la parte media de la espalda (región torácica) y 5 en la espalda inferior (región lumbar). Además, los discos intervertebrales también se disponen entre los huesos coccígeos. Un disco intervertebral también puede denominarse 'disco'.

30 La expresión "núcleo pulposo" se refiere a la sustancia de tipo gelatina en la parte intermedia de un disco intervertebral. El núcleo pulposo comprende células de tipo condrocito, fibrillas de colágeno y proteoglicanos agregados que se agregan mediante cadenas hialurónicas. Unidas a cada molécula de agregano se encuentran las cadenas de glucosaminoglicano (GAG) de condroitín-sulfato y queratán-sulfato. El núcleo pulposo actúa como un absorbedor de choques y mantiene separadas las dos vértebras contiguas.

35 La expresión "anillo fibroso" se refiere a una lámina de tejido fibroso y fibrocartílago formada como circunferencia del núcleo pulposo. El fibroso anular sirve para distribuir la presión uniformemente en todo el disco intervertebral.

40 La expresión "espacio discal" se refiere al espacio de un disco intervertebral relleno por el núcleo pulposo y que presenta una circunferencia definida por el anillo fibroso.

45 La expresión "placa terminal craneal" se refiere a la superficie de un disco intervertebral que está orientada hacia el cráneo. La placa terminal craneal está dispuesta en la cara opuesta del disco intervertebral en comparación con la placa terminal caudal.

50 La expresión "placa terminal caudal" se refiere a la superficie de un disco intervertebral que está orientada en sentido contrario al cráneo. La placa terminal caudal está dispuesta en la cara opuesta del disco intervertebral en comparación con la placa terminal craneal.

55 La expresión "articulación facetaria" se refiere a una estructura articular emparejada que presenta típicamente una superficie articular que está cubierta por cartílago articular. La articulación facetaria está típicamente encerrada en una cápsula. La articulación facetaria forma una articulación entre el proceso articular inferior de la vértebra y el proceso articular superior de la vértebra. Una articulación facetaria típicamente está construida para permitir el movimiento y proporcionar soporte mecánico a la columna vertebral.

60 La expresión "proceso transversal" se refiere a una formación ósea que se extiende lateralmente desde el arco vertebral en ambas caras. También se denomina apófisis costiforme.

La expresión "segmento espinal" se refiere a dos vértebras contiguas con el disco intervertebral interpuesto.

5 La expresión "mala alineación intervertebral" en la presente memoria se refiere a una situación en la que las vértebras de la columna vertebral no cumplen con su alineación normal. Un tipo común de mala alineación intervertebral es la escoliosis, en la que la mala alineación habitualmente se manifiesta en una asimetría de los cuerpos vertebrales, de manera que, en una secuencia de huesos vertebrales, la columna se retuerce y/o doble hacia un lado.

10 La expresión "rigidez de flexión" en la presente memoria se refiere a una característica que describe la rigidez de un disco intervertebral dispuesto en un segmento de una columna vertebral. La rigidez de flexión puede determinarse aplicando una fuerza en el segmento de la columna vertebral hasta que alcanza un modo de flexión lateral completa y mediante, posteriormente, la medición de la distancia entre los procesos transversales de las vértebras dispuestas en las dos caras opuestas del disco intervertebral, respectivamente. El modo de flexión lateral completa se define como el estado en que el disco intervertebral del segmento de la columna vertebral no puede forzarse más sin romper
15 el segmento de la columna vertebral. Esta característica se mide en milímetros. La rigidez de flexión es un modo de caracterizar la rigidez flexural del segmento de la columna vertebral y, más específicamente, la rigidez flexural del disco intervertebral.

20 La rigidez flexural se define generalmente como el par de fuerzas requerido para doblar una estructura no rígida hasta una curvatura unidad. Es una medida de rigidez de un elemento estructural; el producto del módulo de elasticidad y el momento de inercia dividido por la longitud del elemento. En otras palabras, es la proporción entre esfuerzo y deformación en un material elástico al doblar dicho material.

25 Según un segundo aspecto, se proporciona un método para el tratamiento de la mala alineación intervertebral mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido láctico, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el núcleo pulposo de un disco intervertebral de un paciente que lo necesita. Los efectos y características de dicho segundo aspecto de la presente invención son análogos a los indicados anteriormente en relación al primer aspecto de la presente invención.

30 Según un tercer aspecto, se proporciona la utilización de ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de la mala alineación intervertebral. Los efectos y características de dicho tercer aspecto de la presente invención son análogos a los indicados anteriormente en relación a los aspectos anteriores de la presente invención.

35 Según un cuarto aspecto, se proporciona ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral. Los efectos y características de dicho cuarto aspecto de la presente invención son análogos a los indicados anteriormente en relación a los aspectos anteriores de la presente invención.

40 Se pondrán de manifiesto características y ventajas adicionales de la presente invención tras el estudio de las reivindicaciones adjuntas y la descripción a continuación. El experto en la materia reconoce que pueden combinarse diferentes características de la presente invención para crear realizaciones diferentes de las descritas a continuación, sin apartarse del alcance de la presente invención.

45 Breve descripción de los dibujos

A continuación, se describen en mayor detalle estos aspectos y otros de la presente invención, en referencia a los dibujos adjuntos que muestran una o más realizaciones de la invención.

50 En la fig. 1, se muestra esquemáticamente una sección transversal de una columna vertebral de un ser humano. En la fig. 2, se muestran esquemáticamente en una vista lateral dos vértebras contiguas de una columna vertebral humana.

En la fig. 3, se muestra esquemáticamente en una vista lateral la parte inferior de una columna vertebral de un ser humano.

55 En la fig. 4, se muestra esquemáticamente en una vista posterior un segmento vertebral.

En la fig. 5, se muestra esquemáticamente cómo se mide la longitud anterior-posterior de una sección transversal de un espacio de disco intervertebral.

En la fig. 6, se muestra esquemáticamente cómo se mide la anchura bilateral de una sección transversal de un espacio de disco intervertebral.

60 La fig. 7 muestra esquemáticamente una columna vertebral mal alineada en una vista posterior.

La fig. 8 muestra los resultados experimentales del estudio de producción de colágeno en fibroblastos tras el tratamiento con ácido láctico.

La fig. 9 muestra los resultados experimentales del estudio de producción de colágeno en células del núcleo pulposo tras el tratamiento con ácido láctico.

65 La fig. 10 muestra los resultados experimentales del estudio de producción de colágeno por fibroblastos humanos tras el tratamiento con ácido láctico con diferentes valores del pH.

Las figs. 11 a 15 muestran los resultados experimentales del Ejemplo 2, posteriormente.
Las figs. 16 y 17 muestran los resultados experimentales del Ejemplo 3, posteriormente.

5 Tal como se ilustra en las figuras, los tamaños de las capas y regiones han sido exagerados con fines ilustrativos y, de esta manera, se proporcionan a fin de ilustrar las estructuras generales de las realizaciones de la presente invención. Números de referencia similares indican elementos similares en toda la memoria.

Descripción detallada de la invención

10 Una columna vertebral de un vertebrado comprende vértebras que circundan y protegen la médula espinal. En el ser humano, la columna vertebral se sitúa en el aspecto dorsal del tórax. Entre dos vértebras contiguas, se dispone un disco intervertebral intermedio, es decir, las vértebras están alternadas por discos intervertebrales que forman la columna vertebral. La estructura específica y partes adicionales de la columna vertebral son conocidas por el experto en la materia.

15 La fig. 1 muestra esquemáticamente una sección transversal de una columna vertebral 100 de un ser humano. Contiguo a un cuerpo vertebral 15 de una vértebra, se dispone un disco intervertebral que comprende un anillo fibroso 10 y un núcleo pulposo 11. El núcleo pulposo 11 rellena el denominado espacio discal del disco intervertebral. El anillo fibroso 10 circunda el núcleo pulposo 11 y define el borde del núcleo pulposo, así como del espacio discal.

20 La médula espinal 17 está situada en el centro de la columna vertebral y contiguamente al disco intervertebral. Los nervios espinales 16, 16' se extienden hacia fuera a partir de la médula espinal 17 a lados opuestos y próximos al disco intervertebral.

25 Una articulación facetaria 14, 14' está situada entre un proceso articular inferior 13, 13' y un proceso articular superior 12, 12'. En caras opuestas de la médula espinal 17, están dispuestas dos articulaciones facetarias 14, 14', respectivamente. Las articulaciones facetarias 14, 14' están dispuestas en aproximadamente la misma sección y plano transversal.

30 La fig. 2 muestra esquemáticamente un segmento de una columna vertebral 200 que comprende dos vértebras contiguas 20, 22. Una primera vértebra 22 y una segunda vértebra 20 están dispuestas en caras opuestas de un disco intervertebral 21. La primera vértebra 22 está dispuesta relativamente más próxima al tórax, y la segunda vértebra 20 está dispuesta relativamente más próxima al sacro. La placa terminal caudal 23 de la primera vértebra 22 y la placa terminal craneal 25 de la segunda vértebra 20 se muestran en la fig. 2. La placa terminal craneal 25 y la placa terminal caudal 23 están orientadas en caras opuestas del disco intervertebral 21.

35 La fig. 2 también muestra esquemáticamente cómo una articulación facetaria 24 está dispuesta entre el proceso articular inferior de la primera vértebra 22 y el proceso articular superior de la segunda vértebra 20. Un proceso transversal 26 se extiende lateralmente desde el arco vertebral.

40 La fig. 3 muestra esquemáticamente la parte inferior de una columna vertebral 300. La vértebra coccígea 36 de la columna vertebral está dispuesta en una parte terminal de la parte inferior de la columna vertebral 300. El sacro 39 de la columna vertebral está dispuesto contiguo a la vértebra coccígea 36 más próxima al tórax que la vértebra coccígea 36. Una quinta vértebra lumbar, en la presente memoria denominada L5 30, está dispuesta contigua al sacro 39, más próxima al tórax que el sacro 39. En una dirección de sacro 39 hacia el tórax, están dispuestas varias vértebras en una fila a partir de L5 30. Contiguas a la quinta vértebra lumbar 30, es decir, L5, las vértebras siguientes están dispuestas en orden: una cuarta vértebra lumbar 32, es decir, L4; una tercera vértebra lumbar, es decir, L3; una segunda vértebra lumbar, es decir, L2; y una primera vértebra lumbar 38, es decir, L1; la primera vértebra lumbar está dispuesta relativamente más próxima al tórax. Entre cada dos vértebras contiguas, se dispone un disco intermedio 31. Los discos intervertebrales (no mostrados) también se interponen entre las vértebras coccígeas 36.

45 La fig. 7 muestra una columna con escoliosis tal como se observa desde una vista posterior. La columna comprende los segmentos siguientes: sacro 40, columna lumbar 41, columna torácica 42 y columna cervical 43. Al contrario que una columna normal, en la que las vértebras están alineadas verticalmente, la columna con escoliosis presenta una curvatura aparente. De esta manera, las vértebras se encuentran mal alineadas y, por lo tanto, la columna sufre de un tipo de mala alineación intervertebral.

Ejemplos

60 Ejemplo 1

El procedimiento para inducir y evaluar una transformación acelerada del núcleo pulposo en tejido conectivo en un disco intervertebral en un cerdo mediante la administración de una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se describirá más completamente posteriormente en la presente memoria.

En el presente ejemplo, se administra una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el núcleo pulposo de un disco intervertebral dispuesto entre la tercera vértebra lumbar, L3, y la cuarta vértebra lumbar, L4. Un experto en la materia podrá entender fácilmente que puede aplicarse el mismo procedimiento a cualquier disco intervertebral en una columna vertebral.

De esta manera, las etapas del procedimiento son las siguientes:

100. Preparar una composición que comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
101. Anestesiarse un cerdo que comprende una columna vertebral que comprende el disco intervertebral que comprende el núcleo pulposo en el que debe administrarse la composición.
102. Proporcionar acceso al disco intervertebral mediante una incisión lateral entre la costilla más inferior y la cresta ilíaca del cerdo.
103. Realizar una incisión en el disco intervertebral.
104. Administrar, en la presente memoria mediante la inyección local, la composición en el núcleo pulposo mediante una aguja de inyección.
105. Permitir que el cerdo se mueva libremente durante siete días después de la recuperación de la anestesia.
106. Recolectar la columna lumbar en bloque, comprendiendo el segmento extraído los cuerpos vertebrales y los discos intervertebrales que comprenden el núcleo pulposo sometido a inyección, aunque sin los elementos posteriores (el arco vertebral y las articulaciones facetarias).
107. Medir la distancia entre los procesos transversales en los niveles de los discos L2-3, L3-4, L4-5 sin aplicación de ninguna fuerza externa.
108. Aplicación de una fuerza externa en el segmento de la columna vertebral hasta conseguir el modo de flexión lateral completo del espécimen de columna lumbar.
109. Medir la distancia entre los procesos transversales en los niveles de los discos L2-3, L3-4, L4-5 bajo flexión lateral completa.
110. Llevar a cabo una sección transversal de los discos y medir la longitud (dirección anteroposterior) y la anchura (dirección bilateral) del espacio discal.

Preparación de una composición que comprende ácido láctico

Se adquirió una solución pura de ácido láctico de Sigma Aldrich (número de producto: 69775 Fluka; CAS número: 50-21-5, Stockholm, Suecia). Tal como se muestra en la Tabla 2, el peso molecular del ácido láctico es 90,08 g/mol y la densidad de la solución pura de Sigma Aldrich era de 1,209 g/ml, respectivamente.

La concentración de ácido láctico en la solución pura de Sigma Aldrich se calculó en consecuencia que era de 0,0134 moles/l, equivalente a 13,4 moles/l.

La solución pura de ácido láctico seguidamente se diluyó 10 veces utilizando agua destilada a temperatura ambiente. Más explícitamente, se diluyó 1 ml de la solución pura de ácido láctico de Sigma Aldrich con 9 ml de agua destilada. La concentración resultante de ácido láctico en la composición preparada en consecuencia era de 1,34 moles/l.

Tabla 2. Cantidades de ácido láctico en la composición preparada.

Densidad de ácido láctico en la solución pura de ácido láctico.	1,209 g/ml
Peso molecular de ácido láctico.	90,08 g/mol
Concentración calculada de ácido láctico en la solución pura de ácido láctico.	13,4 mol/l
Grado de dilución	10%
Concentración calculada de ácido láctico en la solución pura diluida de ácido láctico.	1,34 moles/l

Administración de una composición que comprende ácido láctico en el núcleo pulposo de un disco intervertebral en un cerdo mediante inyección local

Se anestesiaron dos cerdos y se colocaron sobre su flanco derecho. Se ganó acceso al disco intervertebral L4-5 a través de una incisión lateral entre la costilla más inferior y la cresta ilíaca en el lado izquierdo de cada cerdo. Después, se realizó una incisión en el disco intervertebral L3-4 con un escalpelo.

La composición que comprende ácido láctico se inyectó mediante una jeringa en el núcleo pulposo del disco intervertebral L3-4. La composición que comprendía ácido láctico a una concentración total de 1,34 moles/l se inyectó en una cantidad de aproximadamente 0,2 ml en el núcleo pulposo, tal como se muestra en la Tabla 3. Se inyectó la composición en una única etapa en una única ocasión.

Ambos cerdos aparentemente toleraron bien el procedimiento y no se observó ninguna reacción adversa, tal como

movilidad o vocalización reducida durante el periodo de siete días hasta la recolección. En la recolección, se sacrificaron los cerdos.

Tabla 3. Cantidad de ácido láctico en la composición administrada en un disco intervertebral L3-4 de un cerdo.

Volumen de solución inyectada de ácido láctico puro diluido	0,2 ml
Moles calculados de ácido láctico en la inyección	0,268 mmoles
Masa calculada de ácido láctico en la inyección	23,9 mg

Evaluación de la transformación del núcleo pulposo en tejido conectivo en un disco intervertebral en el que se administra una composición que comprende ácido láctico

Se observó el sitio de inyección a ojo desnudo. No se observó ninguna reacción adversa en el sitio de inyección, tal como sangrados, inflamación o necrosis, en ninguno de los cerdos. Se extrajo el segmento de columna vertebral que se extiende entre la vértebra lumbar L2 y la vértebra sacra S1. Se extrajeron las articulaciones facetarias, permitiendo de esta manera una flexibilidad completa de los discos sin restricciones por otras estructuras.

A- Rigidez de flexión del disco intervertebral antes y después de la administración de la composición, respectivamente

En la fig. 4, se muestra un segmento de una columna vertebral que comprende discos intervertebrales 21, es decir, los discos intervertebrales L2-3, L3-4 y L4-5.

Durante la evaluación de la rigidez de flexión, se midió la distancia entre cada uno de los procesos transversales contiguos respectivos 26 de la columna vertebral, de esta manera, el segmento de columna vertebral que se extiende entre la vértebra lumbar L2 y la vértebra sacra S1, utilizando un calibrador al disponer el segmento de columna vertebral en un modo sin aplicación de ninguna carga externa.

Después, la columna vertebral, de esta manera, el segmento de columna vertebral que se extiende entre la vértebra lumbar L2 y la vértebra sacra S1, se forzó manualmente a un modo de flexión lateral completo mediante aplicación de una fuerza externa en cada una de las dos partes terminales de la región de la columna vertebral, hasta alcanzar un límite crítico, es decir, hasta alcanzar el modo de flexión completa. El movimiento de los procesos transversales con la aplicación de una fuerza se muestra esquemáticamente en la fig. 4 mediante flechas y líneas de puntos.

El límite crítico se definió como el punto inmediatamente anterior al punto de rotura del segmento de columna vertebral. De esta manera, se aplicó la fuerza externa de manera que se obtuvo una flexión lateral máxima sin romper ninguna parte del segmento vertebral.

Se asumió que la fuerza era similar para el segmento de la columna vertebral en cada uno de los dos cerdos. En la posición de flexión lateral completa, se midió con un calibrador la distancia entre los procesos transversales contiguos para los discos L2-3, L3-4 y L4-5.

La distancia entre los procesos transversales contiguos para un determinado disco en el modo sin carga externa se restó de la distancia entre los mismos procesos transversales en el modo con una carga externa aplicada para conseguir el modo de flexión lateral completa, proporcionando de esta manera un valor de la distancia equilibrada obtenida mediante la flexión lateral completa. El valor equilibrado para el disco intervertebral inyectado refleja la rigidez de flexión del disco intervertebral que se trata con una composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral en comparación con un disco intervertebral no inyectado.

La rigidez de flexión es una medida indirecta de la transformación del núcleo pulposo en tejido conectivo, ya que, a menor valor equilibrado, más rigidez del disco intervertebral. A mayor rigidez del disco intervertebral, mayor contenido de tejido conectivo sólido y denso. Por lo tanto, la rigidez de flexión indica si el núcleo pulposo ha experimentado una transformación en tejido conectivo, es decir, un envejecimiento acelerado, o no.

Las mediciones muestran que los discos inyectados (L3-4) presentaban un valor equilibrado mucho menor que los discos contiguos no inyectados (L2-3 y L4-5), lo que indica una rigidez de flexión más elevada del disco inyectado. De esta manera, una transformación acelerada del núcleo pulposo en tejido conectivo ha tenido lugar dentro del espacio discal del disco inyectado en comparación con el interior de los espacios discales de los discos no inyectados (ver la Tabla 4).

Tabla 4. Diferencia de distancia entre procesos transversales antes y con la flexión lateral completa (mm±SD).

Disco intervertebral	Distancia (mm)
L2-3	3,1 ± 1,1
L3-4	0,3 ± 0,6
L4-5	2,7 ± 0,9

B- Dimensiones del espacio discal antes y después de la administración de la composición, respectivamente

5 Los discos intervertebrales (L2-3, L3-4 y L4-5) se cortaron transversalmente y se midió con un calibrador la longitud del espacio discal (dirección anteroposterior) y la anchura (dirección bilateral) del espacio discal.

10 En las figs. 5 y 6, se muestra esquemáticamente un disco intervertebral en sección transversal. El disco intervertebral comprende un anillo fibroso 10 y un espacio discal definido por el anillo fibroso y que comprende un núcleo pulposo 11.

En la fig. 5, una flecha muestra esquemáticamente cómo se mide la longitud anteroposterior del espacio discal del disco intervertebral. En la fig. 6, una flecha muestra esquemáticamente cómo se mide la anchura bilateral del espacio discal del disco intervertebral.

15 Tal como se observa a partir de las mediciones, la longitud anteroposterior media del espacio discal era significativamente menor en los discos inyectados (L3-4) que en los discos no inyectados contiguos (L2-3 y L4-5) (ver la Tabla 5).

20 Tabla 5. Longitud anteroposterior media del espacio discal (mm±SD).

Disco intervertebral	Longitud (mm)
L2-3	22,0 ± 1,0
L3-4	13,5 ± 1,3
L4-5	21,3 ± 2,2

Tal como se observa a partir de las mediciones, la anchura bilateral media del espacio discal era significativamente menor en los discos inyectados (L3-4) que en los discos no inyectados contiguos (L2-3 y L4-5) (ver la Tabla 6).

25 Tabla 6. Anchura bilateral media del espacio discal (mm±SD).

Disco intervertebral	Anchura (mm)
L2-3	8,4 ± 0,7
L3-4	4,0 ± 1,4
L4-5	8,6 ± 2,3

Conclusión del Ejemplo 1

30 Resulta evidente que el espacio discal en los dos discos no inyectados (L2-3) y (L4-5) es mucho más profundo y ancho que en el disco (L3-4), en el que se había administrado la composición que comprendía ácido láctico. Aparentemente el espacio discal anterior se ha intercambiado con tejido conectivo de nueva formación, de manera que el anillo fibroso (formado por un anillo de tejido conectivo que comprende principalmente colágeno) se ha expandido a expensas del núcleo pulposo, cuyo tamaño se ha reducido.

35 De esta manera, se consigue una rigidez de flexión de los discos intervertebrales inyectados y la rigidez puede reducir el riesgo de progresión de una mala alineación. Una ventaja de este modo de tratamiento de la mala alineación intervertebral es que el tratamiento es menos invasivo que los actuales métodos de tratamiento, tal como en comparación con el método de tratamiento actual de artrodesis.

40 En los ejemplos descritos anteriormente, el disco intervertebral estaba dispuesto en la columna lumbar. Sin embargo, se espera que se siga un procedimiento similar en un disco intervertebral dispuesto en la columna cervical o en la columna coccígea.

45 Ejemplo 2

En el presente ejemplo, se realiza una comparación entre la utilización de una composición que comprende ácido láctico y que presenta un pH inferior a 4 (denominada posteriormente inyección activa) y una inyección de placebo que presenta un pH inferior a 4 para la administración en el núcleo pulposo de un disco intervertebral dispuesto entre la tercera vértebra lumbar, L3, y la cuarta vértebra lumbar, L4.

Métodos y formulaciones

Se anestesiaron ocho cerdos y se colocaron sobre su flanco derecho. Mediante una incisión lateral se expuso el disco L3-4. En el disco se inyectó un volumen total de 0,2 ml con inyección activa o inyección de placebo.

- 5
- Inyección activa: 120 mg/ml de ácido láctico (PURAC PF 90, n° de lote: 1406001940) + 180 mg/ml de Iohexol (Histodenz CAS n° 66108-95-0 LOTE n° WXBB5310V) en una solución salina (NaCl al 0,9%); se estimó el pH en 1,5.
 - Inyección de placebo: 180 mg/ml de Iohexol en una solución salina (NaCl al 0,9%); se ajustó el pH a 1,5 con HCl (ácido clorhídrico, Titrisol).

10

Tras cuatro semanas, se sacrificaron los cerdos y se extrajo la columna lumbar. Se extrajo toda la musculatura, además de las articulaciones facetarias y el ligamento amarillo entre las vértebras L2-3, L3-4 y L4-5. Lo anterior se llevó a cabo para permitir una evaluación de la flexión. Se midieron las variables finales siguientes:

- 15
- A. Se midió con un calibrador la distancia entre los procesos transversales en flexión controlateral e ipsilateral completa.
 - B. Se midió con un calibrador el espacio discal anteroposterior y bilateral.
 - C. Se radiografió el día de la inyección y el día de la recolección a fin de evaluar que la inyección se había realizado correctamente y que los discos eran radioopacos después de cuatro semanas.

20

Resultados

A) Reducción de la flexión lateral:

25

Podía observarse una diferencia significativa de flexión entre los discos tratados con activo y los tratados con placebo (fig. 11). Esto indica claramente que el ácido láctico y no el Iohexol, el pH o la inyección *per se*, inducen esta reducción de la flexión. Los resultados del estudio son estadísticamente significativos.

30

B) Reducción del espacio del núcleo

En las figuras 12a-c, resulta evidente que el espacio discal presenta un espacio similar en un disco no tratado, fig. 12a, y en un disco en el que se ha inyectado placebo, fig. 12b, mientras que el disco tratado, fig. 12c, presenta un tamaño significativamente menor. Los números absolutos se presentan en las figs. 13 y 14. Los resultados del estudio son estadísticamente significativos.

35

C) Ninguna reducción de la altura visual del disco después de la inyección.

40

Un problema conocido relacionado con el envejecimiento natural del disco es la reducción de la altura del disco debido a la degeneración del mismo. Se cree que, debido al rápido proceso de transformación del disco causado por el tratamiento, la geometría estimada del disco será fija y el disco perderá muy poca o ninguna altura. Esta hipótesis se verificó mediante análisis visual de las radiografías del disco inyectado (L3-L4) 4 semanas después del tratamiento. Tal como se muestra en la figura 15, no puede observarse ninguna diferencia de altura de disco en discos tratados y no tratados.

45

Conclusiones del Ejemplo 2

Las conclusiones del estudio *in vivo* en el Ejemplo 2 son que el tratamiento transforma eficazmente el núcleo pulposo en tejido conectivo, causando una reducción de la flexión y una drástica reducción del espacio discal, y que además no se observa ninguna reducción de la altura del disco. El efecto es estadísticamente significativo en comparación con el placebo. Puede concluirse además que un ajuste del pH *per se* no presenta ningún efecto. De esta manera, los resultados del estudio proporcionan una prueba de concepto para la técnica.

50

Ejemplo 3

55

En el presente ejemplo, se realizó una comparación entre la utilización de una composición que comprendía ácido láctico a dos dosis diferentes y una inyección de placebo para la administración en el núcleo pulposo de un disco intervertebral localizado en cualquier sitio entre la primera y la segunda vértebra lumbar (L1/2), y la tercera y cuarta vértebra lumbar (L3/4).

60

Métodos y formulaciones

Se anestesiaron once cerdos y se colocaron sobre su flanco derecho. A través de una incisión lateral se expusieron los discos en los que debían realizarse inyecciones. En el disco se inyectó un volumen total de 0,2 ml con ácido láctico o placebo.

65

- Formulación de ácido láctico: 120 o 240 mg/ml de ácido láctico (Merck 1.00366.2500, lote nº K46446066.) + 180 mg/ml de lohexol (Histodenz, se utilizaron varios lotes) en agua estéril; se estimó el pH en 1,4-1,6.
- Formulación de placebo: 180 mg/ml de lohexol en agua estéril; no se ajustó el pH.

5 Tras 2, 28 o 84 días, se sacrificaron los cerdos y se extrajo la columna lumbar. Se extrajo toda la musculatura, además de las articulaciones facetarias y el ligamento amarillo entre las vértebras L1/2, L2/3 y L3/4. Se utilizaron las variables siguientes:

- 10 A. Se obtuvieron radiografías el día de la inyección y el día de la recolección, a fin de determinar que la inyección se había realizado correctamente y para determinar si los discos eran radioopacos tras 2, 28 y 84 días.
 B. Se utilizaron las radiografías obtenidas post-mórtem para medir la altura del disco.
 C. Los discos seccionados se fotografiaron y se evaluó visualmente el grado de fibrotización.

15 Resultados

- 15 A. Las radiografías confirmaron que todas las inyecciones excepto una se habían realizado en el disco deseado. En este caso, se había inyectado involuntariamente tanto placebo como ácido láctico (240 mg/ml) en el mismo disco, de manera que el disco en el que se había planificado la inyección de ácido láctico se dejó sin tratar. Los discos no eran radioopacos en ningún punto temporal de supervivencia.
 20 B. Las radiografías mostraron que no existía ninguna diferencia de altura entre discos inyectados con ácido láctico o placebo (fig. 16). Lo anterior era cierto tanto para dosis de ácido láctico como para todos los puntos temporales (2, 28 y 84 días). Debe indicarse que no existía control de placebo en el grupo de 28 días.
 C. Fibrotización del espacio del núcleo: En algunos discos tratados con ácido láctico, existía una tendencia a la fibrotización tras 2 días. Tras 28 días, la fibrotización era evidente después de la administración con ácido láctico.
 25 En algunos de los discos inyectados con ácido láctico 84 días antes, la fibrosis era prácticamente completa, ver la fig. 17a. La textura de dichos discos era marcadamente diferente de los discos en los que se había inyectado placebo, en el sentido de que eran mucho más duros en la sección, sugiriendo una incipiente osificación. Se muestra un disco con inyección de placebo en la fig. 17b.

30 Conclusiones del Ejemplo 3

Las conclusiones del estudio *in vivo* en el Ejemplo 3 son que el tratamiento transforma eficazmente el núcleo pulposo en tejido conectivo en ausencia de ningún efecto sobre la altura del disco. Además, los resultados muestran que, con el tiempo, los discos se osifican, imitando de esta manera el efecto de cirugía de fusión espinal, en el que se injerta tejido óseo entre las vértebras para estabilizar el segmento. De esta manera, los resultados del estudio proporcionan una prueba de concepto adicional para la técnica.

35 Con el fin de observar los efectos del ácido láctico al nivel celular, se llevaron a cabo estudios con fibroblastos, comúnmente presentes en tejido conectivo, tal como el anillo fibroso, y en células del núcleo pulposo, comúnmente presentes en el núcleo pulposo, respectivamente. Como medida de cómo las células se transformaron en respuesta al tratamiento de ácido láctico, se estudió la producción de colágeno en las células.

Ejemplo 4: Estudio de la producción de colágeno en los fibroblastos con el tratamiento con ácido láctico

45 Cultivo de fibroblastos dérmicos humanos adultos (FDHa)

Se cultivaron y estudiaron fibroblastos dérmicos humanos aislados a partir de piel adulta, denominados FDHa (Life Technologies Frederick, EE.UU.). Se han descrito células de disco intervertebral humano maduro como fibrocíticas (o de tipo fibroblasto) en el anillo fibroso externo. Los fibroblastos son el tipo más común de célula observado en el tejido conectivo. Los fibroblastos pueden secretar naturalmente proteínas de colágeno que se utilizan para mantener un marco estructural para muchos tejidos y también desempeñan un papel importante en la cicatrización de heridas.

En primer lugar, se descongelaron fibroblastos crioconservados en un baño de agua a 37°C. A continuación, se dispersaron fibroblastos descongelados mediante la utilización de una pipeta de 1 mililitro para hacer subir y bajar en el vial la suspensión de fibroblastos descongelados. A continuación, se diluyeron los fibroblastos dispersados en solución de azul tripán (nº de cat. 15250-061, lote nº 1311086, Gibco Life Technologies) y se determinó la concentración de fibroblasto viable con un hemocitómetro.

60 A continuación, los fibroblastos dispersados se diluyeron nuevamente, esta vez en medio 106 complementado hasta una concentración de $2,5 \times 10^4$ fibroblastos viables por mililitro. A continuación, se añadieron 5 ml de suspensión de fibroblastos a un matraz de cultivo celular T25 que presentaba un volumen de 25 cm³ para alcanzar una densidad inicial de $5,0 \times 10^3$ fibroblastos viables por mililitro en el matraz T25 mediante dilución adicional con medio 106 complementado.

65 El medio 106 complementado consistía en medio 106 (nº de cat. M-106-500, Life Technologies, Paisley, Reino Unido)

complementado con suplemento de crecimiento bajo en suero, LSGS (por sus siglas en inglés) (Life Technologies, Paisley, Reino Unido) a una concentración de suero fetal bovino al 2% en volumen.

5 El matraz T25 que comprendía los fibroblastos preparados se agitó para distribuir los fibroblastos en el medio. Después, el cultivo celular se incubó en un incubador de cultivo celular a 37°C, con 5% de CO₂/95% de aire humidificado, durante 72 horas.

En la confluencia, se diluyeron los fibroblastos en el medio complementado para evitar alternancias de fenotipo celular.

10 Preparación de ácido láctico

Se pesó el ácido láctico (Fluka 69775, Sigma-Aldrich, Stockholm, Suecia) en un tubo de 10 ml o 50 ml estéril. Se añadió agua Milli-Q (>18,2 Ω) para preparar una solución madre de ácido láctico. Se mezcló la solución madre y se almacenó antes de preparar soluciones finales de ácido láctico con concentraciones variables. El periodo de almacenamiento era inferior a 1 hora a temperatura ambiente o, alternativamente, inferior a 24 horas a una temperatura de 4°C.

Efecto del ácido láctico sobre la producción de colágeno en fibroblastos dérmicos humanos adultos (FDHa)

20 Se desprendieron fibroblastos cultivados tal como se ha indicado anteriormente, del matraz de cultivo celular y se introdujeron en placas de 6 pocillos a una densidad inicial de 6,0x10⁴ células viables por pocillo. Los fibroblastos se cultivaron en medio 106 complementado. Los fibroblastos en algunos de los pocillos también se trataron con ácido láctico (Fluka 69775, Sigma-Aldrich, Stockholm, Suecia) a diversas concentraciones: 0, 0,5, 2, 5, 10, 20 y 50 mg/ml, respectivamente. Los fibroblastos se incubaron en un incubador de cultivo celular a 37°C, con 5% de CO₂/95% de aire humidificado.

Para estudiar el efecto del ácido láctico sobre la producción de colágeno en los fibroblastos, se aplicó un método espectrofotométrico denominado ensayo de colágeno soluble (QuickZyme Biosciences, Leiden, Países Bajos) basado en la unión de pigmento rojo Sirius al colágeno. El estudio se llevó a cabo dos veces.

30 Se recolectó el medio celular de cada pocillo y se pipetearon 140 µl en una placa de 96 pocillos. Las muestras se extrajeron por duplicado. Las muestras de medio se mezclaron a fondo con 60 µl de solución de pigmento rojo Sirius mediante el pipeteado hacia arriba y abajo por lo menos cinco veces. La placa de 96 pocillos se centrifugó a 3000 x g durante 1 hora. Todas las etapas se llevaron a cabo a una temperatura inferior a 25°C; por ejemplo, la centrifugación se llevó a cabo a 4°C.

La muestra centrifugada se lavó y se separó el sobrenadante. El pellet celular se resuspendió en 150 µl de solución de detección mediante la mezcla a fondo mediante pipeteado hacia arriba y abajo por lo menos diez veces. Después, se transfirieron 100 µl de cada muestra a una nueva placa de 96 pocillos y se midió espectrofotométricamente el contenido de colágeno a una densidad óptica de 540 nm.

A partir de los dos estudios, cada uno llevado a cabo por duplicado, se demostró claramente que la adición de ácido láctico a fibroblastos incrementa la producción media de colágeno en los fibroblastos, tal como se indica en la Tabla 7 y en la figura 8. Se midió la producción media tras 2 días de tratamiento con ácido láctico.

45 En la figura 8, se presentan los resultados del primer grupo de estudio mediante rombos, mientras que los resultados del segundo grupo de estudio se presentan mediante cuadrados. Se ha incluido una línea de tendencia de media móvil en dos periodos para mostrar esquemáticamente la tendencia de la producción de colágeno para cada grupo. La línea de tendencia para el primer grupo se presenta mediante una línea de puntos, y la línea de tendencia para el segundo grupo se presenta mediante una línea discontinua, respectivamente. El eje x muestra la concentración de ácido láctico añadida a los pocillos que comprenden fibroblastos, y el eje y muestra la cantidad media de colágeno producido en dichos pocillos tras la medición dos días después de la adición del ácido láctico a los pocillos.

Más particularmente, el incremento de producción de colágeno era significativo al añadir ácido láctico al pocillo a una concentración de por lo menos 2 mg/ml, tal como de por lo menos 5 mg/ml. Además, se demostró que la producción de colágeno se incrementaba con una concentración creciente de ácido láctico hasta por lo menos 20 mg/ml o por lo menos 50 mg/ml, tal como también se indica en la figura 8.

Tabla 7. Efecto sobre la producción de colágeno en fibroblastos de ácido láctico.

Concentración de ácido láctico [mg/ml]	pH	1º grupo de estudio: cantidad media de colágeno producido por pocillo [µg]	Desviación estándar en el 1º grupo de estudio	2º grupo de estudio: cantidad media de colágeno producido por pocillo [µg]	Desviación estándar en el 2º grupo de estudio
0	-	0,033	0,1	0,0711	0,111
0,5	3,1	10,8	12	0,0995	0,0435

2	2,8	9,57	4	8,94	5,72
5	2,6	21,2	0,8	12,0	0,281
10	2,4	16,7	1	18,8	4,46
20	2,3	19,3	1,5	25,5	2,15
50	2,1	20,6	1	28,2	0,24

Debido a que la producción media de colágeno se correlaciona con el número de células capaces de producir colágeno, la ligera diferencia de producción media de colágeno entre el primer grupo y el segundo grupo del estudio puede deberse a la varianza natural del número de células en los pocillos estudiados.

5

Ejemplo 5. Estudio de la producción de colágeno en células de núcleo pulposo tras el tratamiento con ácido láctico

Cultivo de células de núcleo pulposo humano

10 Se cultivaron células de núcleo pulposo (NP) aisladas de seres humanos (4800, ScienCell, EE.UU.) y se estudiaron. Las células NP son células de disco intervertebral en el núcleo pulposo.

15 En primer lugar, se descongelaron células NP criopreservadas, en un baño de agua a 37°C. A continuación, las células NP descongeladas se suspendieron en medio celular de núcleo pulposo suplementado y después se sembraron en un matraz de cultivo celular T75 que presentaba un volumen de 75 cm³ y recubierto en el interior con poli-L-lisina (0413, ScienCell, EE.UU.). La densidad de siembra inicial era de 5,0x10³ células NP viables por mililitro.

20 El medio celular de núcleo pulposo suplementado consistía en medio celular de núcleo pulposo (4801, ScienCell, EE.UU.) complementado con 2% en volumen de suero de feto bovino (0010, ScienCell, EE.UU.), 1X suplemento de crecimiento celular de núcleo pulposo (4852, ScienCell, EE.UU.) y 1X solución de penicilina/estreptomicina (0503, ScienCell, EE.UU.).

25 El matraz T75 que comprendía las células NP preparadas se agitó para distribuir las células NP en el medio. Después, el cultivo celular se incubó en un incubador de cultivo celular a 37°C, con 5% de CO₂/95% de aire humidificado, durante la noche.

En la confluencia, los fibroblastos se diluyeron en el medio suplementado para evitar alternancias del fenotipo celular, la proliferación celular y/o la diferenciación celular.

30 Preparación de ácido láctico

35 Se pesó el ácido láctico (PURAC PF 90, lote nº 1406001940, Corbion Purac, Países Bajos) y se introdujo en un tubo de 10 ml o de 50 ml estéril. Se añadió agua Milli-Q (>18,2 Ω) para preparar una solución madre de ácido láctico. Se mezcló la solución madre y se almacenó antes de preparar soluciones finales de ácido láctico con concentraciones variables. El periodo de almacenamiento era inferior a 1 hora a temperatura ambiente o, alternativamente, inferior a 24 horas a una temperatura de 4°C.

Efecto del ácido láctico sobre la producción de colágeno en células de núcleo pulposo humano

40 Se desprendieron células NP cultivadas tal como se ha indicado anteriormente, del matraz de cultivo celular y se introdujeron en placas de 6 pocillos a una densidad inicial de 4,5x10⁴ células viables por pocillo. Las células NP se cultivaron en medio celular de núcleo pulposo suplementado. Las células NP en algunos de los pocillos también se trataron con ácido láctico (PURAC PF 90, lote nº 1406001940, Corbion Purac, Países Bajos) a diversas concentraciones: 0, 0,5, 5, 10, 20 y 50 mg/ml, respectivamente (para el pH específico ver la Tabla 7, anteriormente).
45 Las células NP se incubaron en un incubador de cultivo celular a 37°C con 5% de CO₂/95% de aire humidificado, durante 48 horas.

50 Para estudiar el efecto del ácido láctico sobre la producción de colágeno en las células NP, se aplicó un método espectrofotométrico denominado ensayo de colágeno soluble (QuickZyme Biosciences, Leiden, Países Bajos) basado en la unión del pigmento rojo Sirius al colágeno.

55 Se recolectó el medio celular de cada pocillo y se introdujeron mediante pipeteado 140 µl en una placa de 96 pocillos. Las muestras se extrajeron por triplicado. Las muestras de medio se mezclaron a fondo con 60 µl de solución de pigmento rojo Sirius mediante el pipeteado hacia arriba y abajo por lo menos cinco veces. La placa de 96 pocillos se centrifugó a 1500 x g durante 2 horas. Todas las etapas se llevaron a cabo a una temperatura inferior a 25°C; por ejemplo, la centrifugación se llevó a cabo a 4°C.

La muestra centrifugada se lavó y se separó el sobrenadante. El pellet celular se resuspendió en 150 µl de solución de detección mediante la mezcla a fondo mediante pipeteado hacia arriba y abajo por lo menos diez veces. Después,

se transfirieron 100 µl de cada muestra a una nueva placa de 96 pocillos y se midió espectrofotométricamente el contenido de colágeno a una densidad óptica de 540 nm.

5 Con el fin de adaptarse al aparato de medición, las células se diluyeron en solución de tampón fosfato (PBS, por sus siglas en inglés) en una proporción 1:1.

10 A partir del estudio realizado por triplicado, se demostró claramente que la adición de ácido láctico a las células NP incrementa la producción media de colágeno en las células NP, tal como se indica en la Tabla 8 y en la figura 9. Se midió la producción media tras 2 días de tratamiento con ácido láctico.

15 En la figura 9, se presentan los resultados del estudio como rombos. Se ha incluido una línea de tendencia de media móvil en dos periodos para mostrar esquemáticamente la tendencia de la producción de colágeno. El eje x muestra la concentración de ácido láctico añadida a los pocillos que comprendían células NP, y el eje y muestra la cantidad media de colágeno producido en dichos pocillos tras la medición dos días después de la adición del ácido láctico a los pocillos.

20 Más particularmente, el incremento de la producción de colágeno era significativo al añadir ácido láctico a una concentración de por lo menos 5 mg/ml al pocillo. Además, se demostró que la producción de colágeno se incrementaba con la concentración creciente de ácido láctico, hasta aproximadamente 10-20 mg/l, donde se alcanzaba una meseta, tal como también se indica en la figura 9. La reducción de la producción de colágeno a 50 mg/ml se interpreta como posibles efectos citotóxicos del tratamiento con ácido láctico a una concentración tan alta, causando muerte celular.

Tabla 8. Efecto sobre la producción de colágeno en células NP de ácido láctico.

Concentración de ácido láctico [mg/ml]	pH	cantidad media de colágeno producido por pocillo [µg]	Desviación estándar
0	-	2,33	0,267
0,5	3,1	3,58	1,48
5	2,8	16,4	0,339
10	2,6	25,3	1,11
20	2,4	27,2	0,513
50	2,3	25,2	2,82

25 Ejemplo 6. Estudio de la producción de colágeno en fibroblastos humanos tras el tratamiento con ácido láctico que presenta valores de pH diferenciados

30 Cultivo de fibroblastos humanos

Se cultivaron células de fibroblastos humanos adultos (Detroit 551, ATCC nº CCL-110) y se estudiaron.

35 En primer lugar, se descongelaron células Detroit criopreservadas, en un baño de agua a 37°C. Las células descongeladas se transfirieron a un tubo de centrifuga que contenía 9 ml de medio esencial mínimo de Eagle 1x (Gibco Life Technologies) complementado con aminoácidos no esenciales (Thermo Scientific HyClone), piruvato sódico 1 mM (Thermo Scientific HyClone), L-glutamina 2 mM (Lonza) y suero de feto bovino al 10% (v/v) (GE Healthcare/PAA). A continuación, la suspensión celular se centrifugó a 125 x g durante 5 min. El pellet celular se resuspendió en 1 ml de medio completo y se sembró en un matraz T75 que contenía 15 ml de medio completo. Las células se cultivaron hasta la confluencia a 37°C en un incubador humidificado con 5% de CO₂. En la confluencia, las células Detroit se subcultivaron desprendiéndolas con tripsina/verseno (Thermo Scientific Hyclone SV30037.01, Gibco Life Technologies 15040033). Las células se diluyeron en medio completo y se sembraron en nuevos recipientes de cultivo en una proporción de subcultivo de 1:2 a 1:5.

45 Preparación de formulaciones

Para minimizar el riesgo de contaminación, todas las formulaciones se prepararon en una campana de flujo laminar, apartadas del pesado de Iohexol donde esto no resultase posible.

50 *Formulación de solución IOHEXOL:* se pesó (Histodenz nº CAS 66108-95-0 LOTE nº WXBB5310V) en un tubo de 50 ml estéril. Se calculó el iohexol en peso de yodo por ml de solución expresada como mg/ml según la receta suministrada. Se añadió solución de ácido láctico (PURAC PF 90, nº de lote 1406001940) y medio y las muestras se mezclaron utilizando un dispositivo de agitación vertical durante 30 minutos y después se dejaron en reposo refrigeradas durante 72 horas antes de fijar el pH.

55 *Ajuste del pH:* se ajustó el pH con NaOH 1 M (hidróxido sódico, Titrisol) o HCl 1 M (ácido clorhídrico, Titrisol).

La formulación de compuestos se realizó de acuerdo con la Tabla 9, a continuación.

Tabla 9. Formulación nº 1-8 utilizada en el presente experimento.

Nombre	Compuesto	Concentración	pH (ajustado)	Medios
nº 1	Ácido láctico	20 mg/ml	No (pH 3)	Detroit 551
nº 2	Ácido láctico	20 mg/ml	hasta pH 3,5 con NaOH	Detroit 551
nº 3	Ácido láctico	20 mg/ml	hasta pH 4 con NaOH	Detroit 551
nº 4	Ácido láctico	20 mg/ml	hasta pH 4,5 con NaOH	Detroit 551
nº 5. Control 1	-	-	hasta pH 3 con HCl	Detroit 551
nº 6. Control 2	-	-	hasta pH 3,5 con HCl	Detroit 551
nº 7. Control 3	-	-	hasta pH 4 con HCl	Detroit 551
nº 8. Control 4	-	-	hasta pH 4,5 con HCl	Detroit 551

5 Tratamiento con formulaciones

Las células Detroit se desprendieron de los recipientes de cultivo y se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de 80.000 células/pocillo. Las células se cultivaron en medio Detroit 551 suplementado. Todas las formulaciones se diluyeron en medio Detroit 551 suplementado. El día 1, el medio de cultivo celular en todos los pocillos se sustituyó por formulaciones basadas en ácido láctico (Sigma-Aldrich, Stockholm, Suecia) descritas en la Tabla 1. Las células se cultivaron por triplicado. Las células se incubaron durante dos días a 37°C en un incubador humidificado con 5% de CO₂. Las células se trataron con formulaciones a una confluencia celular de 80%.

15 Análisis de la producción de colágeno

Se midió el contenido de colágeno en el medio celular utilizando un método espectrofotométrico analizando el colágeno que se unía al pigmento rojo Sirius (ensayo de colágeno soluble, QuickZyme Biosciences, Leiden, Países Bajos). Brevemente, se recolectó el medio celular de cada pocillo y se pipetearon 140 µl en placas de 96 pocillos. Las muestras se extrajeron por duplicado. Se mezclaron las muestras de medio con 60 µl de solución de pigmento rojo Sirius y la placa de 96 pocillos se centrifugó a 1500 x g a 4°C durante 2 horas. Los pellets se resuspendieron en 150 µl de solución de detección. A continuación, se transfirieron 100 µl de cada muestra a una nueva placa de 96 pocillos y se midió espectrofotométricamente el contenido de colágeno a una densidad óptica de 540 nm.

25 Mediciones de pH

Se midió el pH antes del tratamiento, 10 min después del tratamiento y dos días después del tratamiento con ácido láctico o formulaciones (Tabla 10).

Tabla 10. Mediciones de pH en Detroit 551.

30

Nombre	pH inicial	pH después de 10 min	pH después de 2 días
nº 1	7,5	3	3
nº 2	7,5	3,5	3,5
nº 3	7,5	4	4
nº 4	7,5	4,5	4,5
nº 5. Control 1	7,5	3	3
nº 6. Control 2	7,5	3,5	3,5
nº 7. Control 3	7,5	4	4
nº 8. Control 4	7,5	4,5	4,5

Resultados

35 No se observaron diferencias de morfología celular o de densidad celular en la inspección ocular tras el tratamiento con formulación nº 1-4 en comparación con los controles correspondientes nº 5-8. También se inspeccionó ocularmente la viabilidad celular en el microscopio dos días después del tratamiento y en este punto del tiempo, se recolectó el medio celular y se analizó para la producción de colágeno.

40 Las células Detroit se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de 80.000 células/pocillo. Las células se trataron con formulaciones a una confluencia celular de 80%. Se analizó la producción de colágeno dos días después de la adición de las formulaciones (medición tras diluir las muestras 1:4, 1:1 y después 1:1 para que los niveles de absorbancia de las muestras se encontrasen en el rango lineal del instrumento). Los puntos de datos se ilustran como valores medios ± SD en la fig. 10.

45 Las formulaciones nº 1 y nº 2 proporcionaron una producción significativa de colágeno. Basándose en las diferentes diluciones, la formulación nº 1 que contenía 20 mg/ml de ácido láctico sin ningún ajuste del pH era la más eficaz con

respecto a la producción de colágeno, seguido de la nº 2, que también contenía 20 mg/ml de ácido láctico, aunque con un ajuste del pH de 3,0 a 3,5, que resultó en aproximadamente 35% menos colágeno en comparación con la formulación nº 1. El tratamiento con las otras formulaciones resultó en la falta de producción significativa de colágeno.

5 Conclusiones

Los inventores creen que la utilización según realizaciones de la presente invención puede tratar la mala alineación intervertebral también en el ser humano mediante la estabilización de la columna y la prevención y/o reducción de la progresión de la mala alineación intervertebral.

10 La transformación esperada del disco intervertebral sometido a la inyección de una sustancia, tal como ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede observarse *in vivo*. Típicamente, el procedimiento se lleva a cabo bajo anestesia o sedación suave, y mediante la utilización de orientación radiológica. De esta manera, el procedimiento de tratamiento será similar a una evaluación radiológica del disco intervertebral, una denominada discografía, en el caso de que se inyecte un medio de contraste en el disco intervertebral bajo orientación radiológica.

15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición para la utilización en el tratamiento de la mala alineación intervertebral, en la que dicha composición comprende ácido láctico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que dicha composición se administra en un espacio discal que comprende el núcleo pulposo de un disco intervertebral.
- 10 2. Composición para la utilización según la reivindicación 1, en la que la composición se administra en una cantidad eficaz para incrementar la concentración de ácido láctico, o la concentración de ion lactato a partir de la sal farmacéuticamente aceptable, en dicho espacio discal hasta un nivel superior a 16 mmoles/l.
- 15 3. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que la concentración de ácido láctico, o la concentración de ion lactato de la sal farmacéuticamente aceptable, en la composición es de por lo menos 16 mmoles/l, por ejemplo dentro del intervalo de 16 a 12000 mmoles/l, tal como de 100 a 10000 mmoles/l, tal como de 500 a 5000 mmoles/l, tal como de 800 a 2000 mmoles/l.
- 20 4. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es un lactato de cualquiera de los elementos seleccionados del grupo que consiste en: los metales alcalinos y los metales alcalinotérreos.
- 25 5. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en: lactato amónico, lactato de colina, lactato de litio, lactato sódico, lactato potásico, lactato de berilio, lactato de magnesio, lactato de bario y lactato de calcio.
- 30 6. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición presenta un pH inferior a 4, preferentemente inferior a 3,5.
- 35 7. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicha composición se administra en el espacio discal de un disco intervertebral que contribuye a la mala alineación intervertebral.
- 40 8. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicho ácido láctico o una sal farmacéutica del mismo, se administra mediante inyección local en el espacio discal que comprende el núcleo pulposo.
- 45 9. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el ácido láctico se administra en una única dosis dentro del intervalo de 2 mg a 200 mg, tal como de 5 mg a 150 mg, tal como de 10 a 100 mg, tal como de 10 a 50 mg, tal como de 15 a 30 mg.
- 50 10. Composición para la utilización según la reivindicación 9, en la que dicho ácido láctico o una sal farmacéutica del mismo, se administra en una única ocasión en dicha dosis única.
- 55 11. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que dicha composición se encuentra en forma de una solución acuosa que comprende dicho ácido láctico o una sal farmacéutica del mismo.
12. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicha mala alineación intervertebral es escoliosis.
13. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicha mala alineación intervertebral es espondilolistesis.
14. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicha mala alineación intervertebral es subluxación vertebral.
15. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicha mala alineación intervertebral es una fractura vertebral.

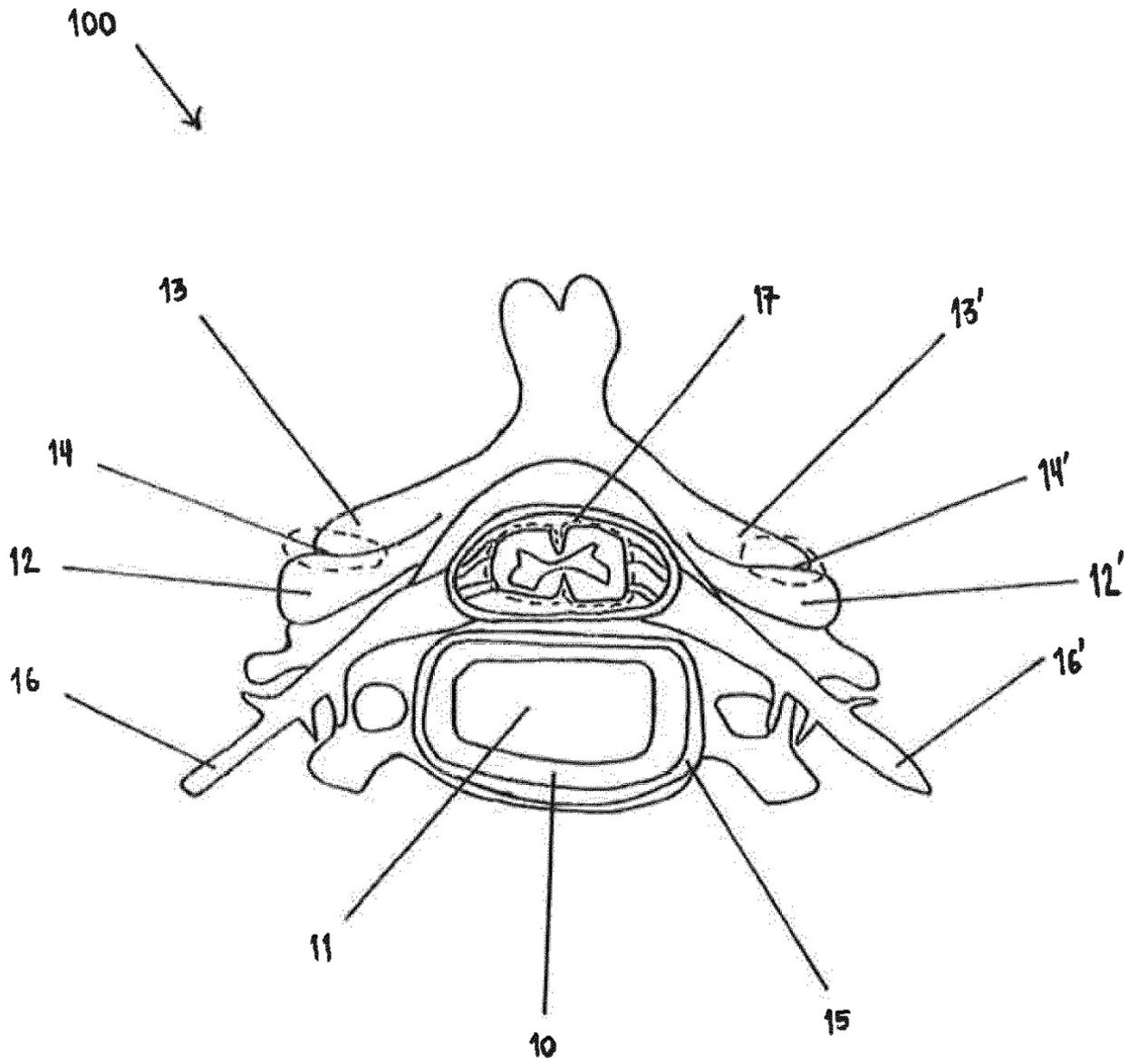


Figura 1

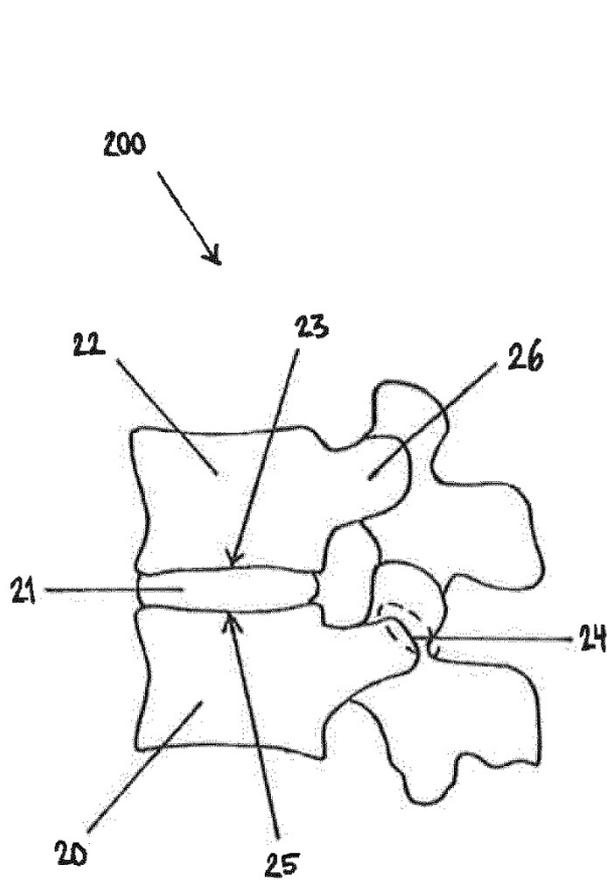


Figura 2

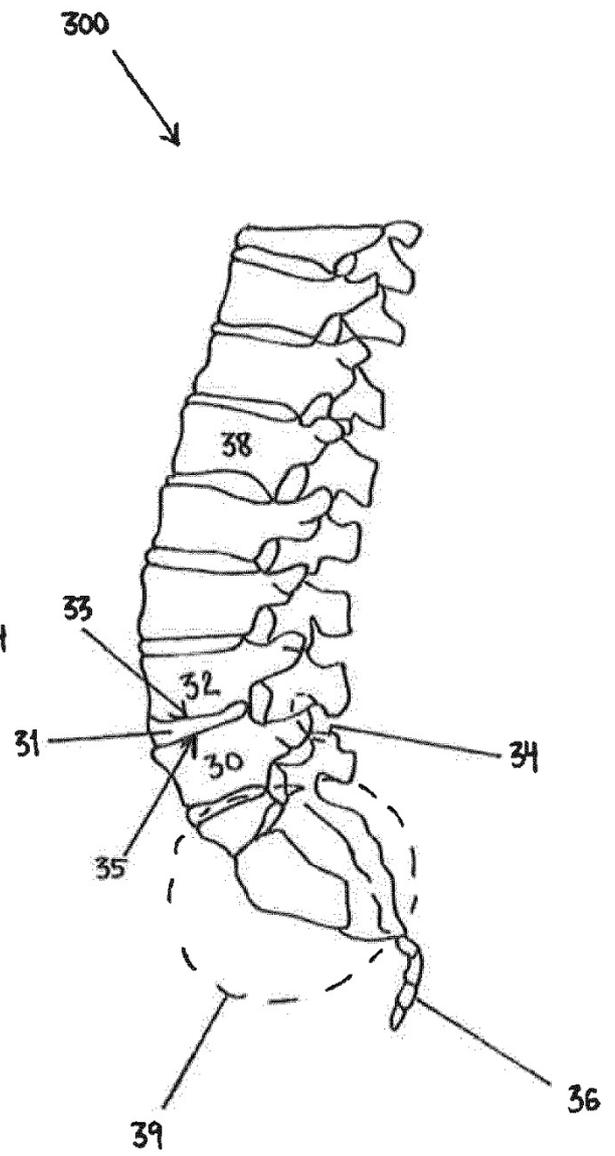


Figura 3

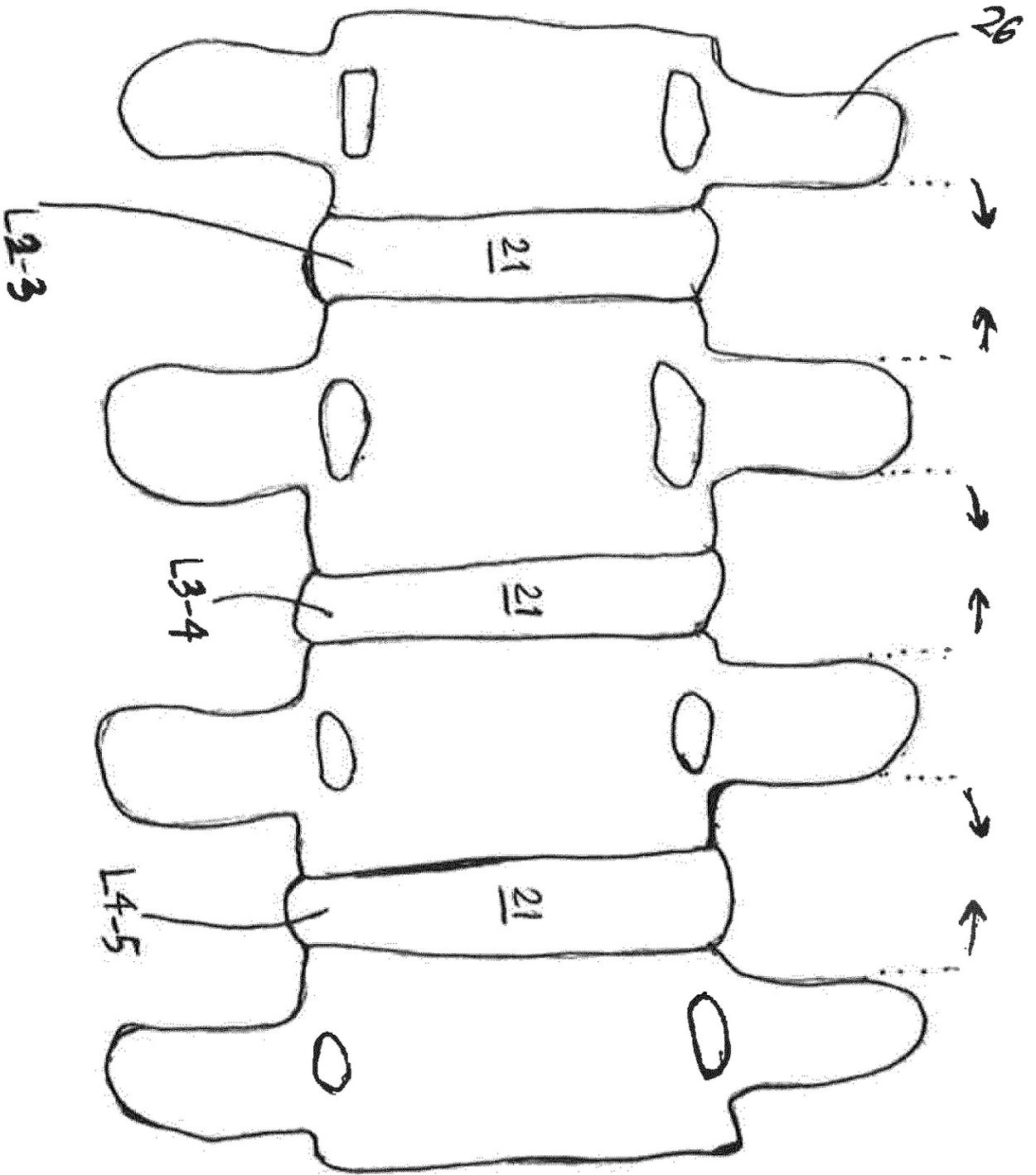


Figura 4

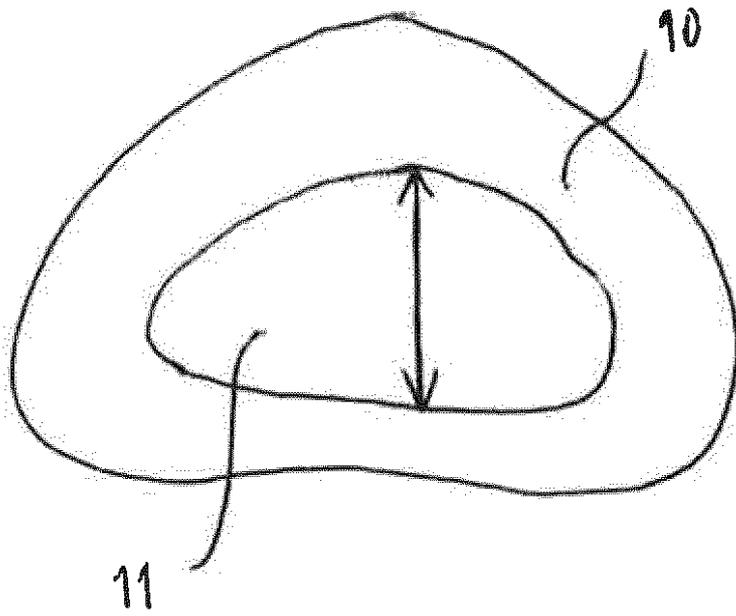


Figura 5

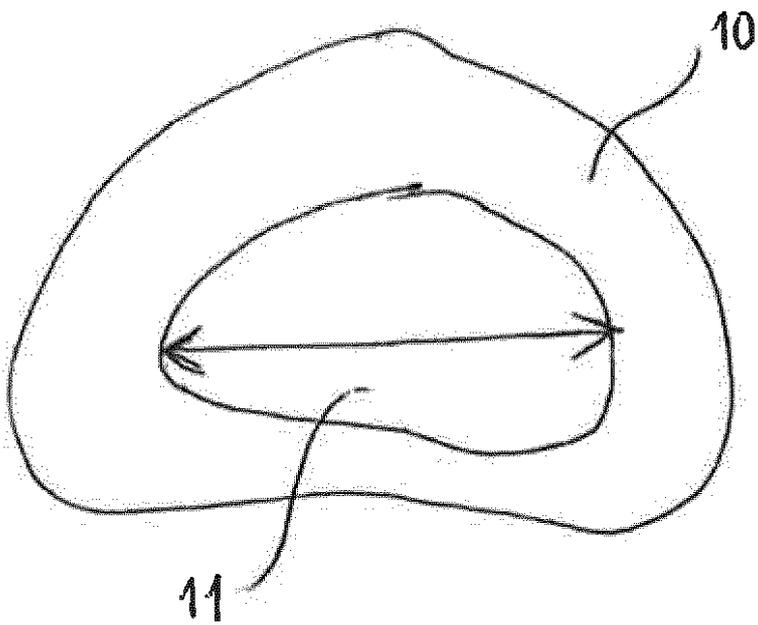


Figura 6

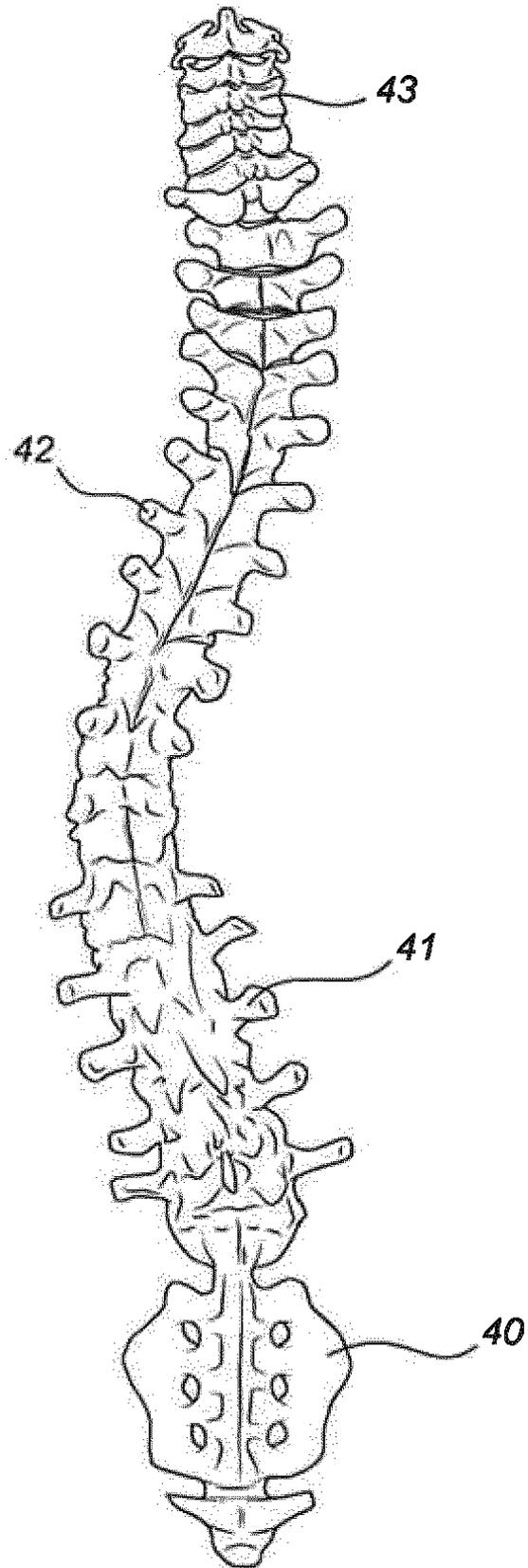


Fig. 7

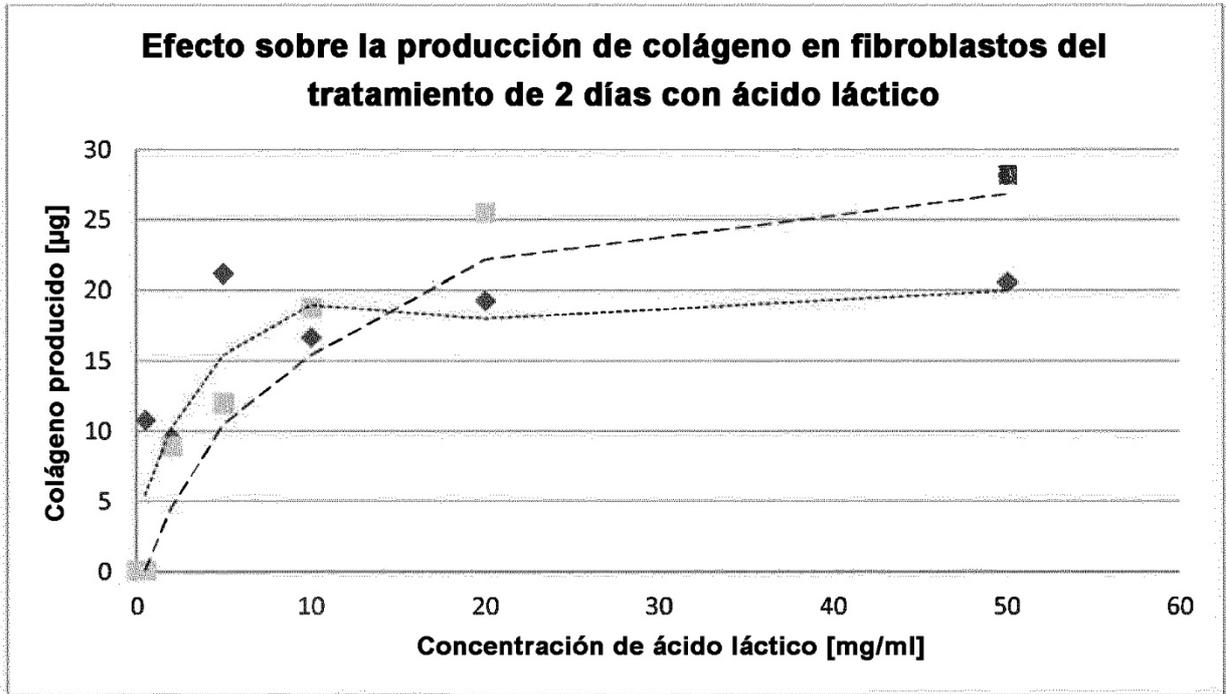


Figura 8

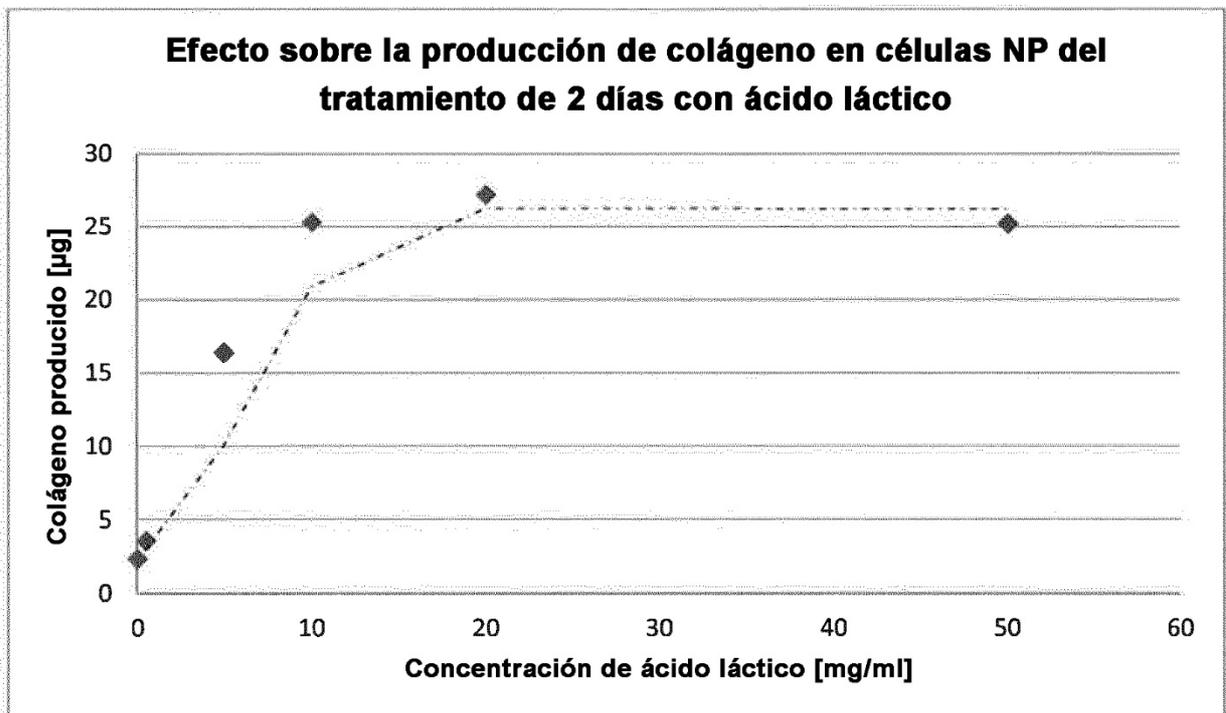


Figura 9

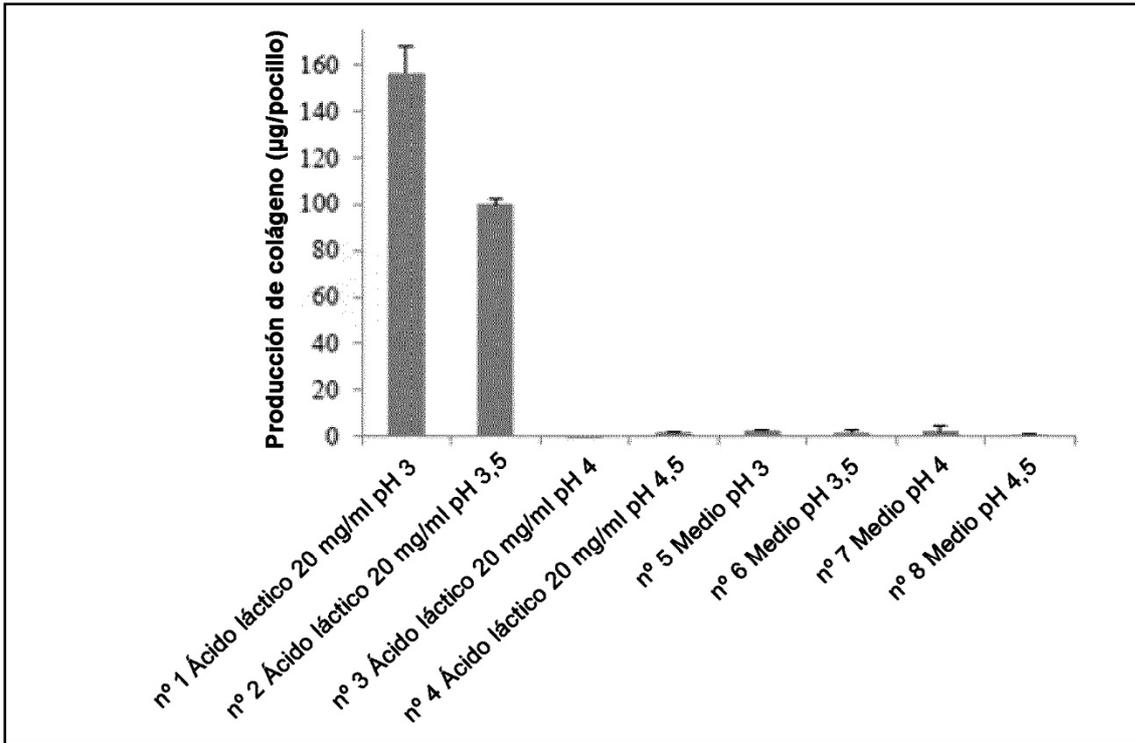


Figura 10

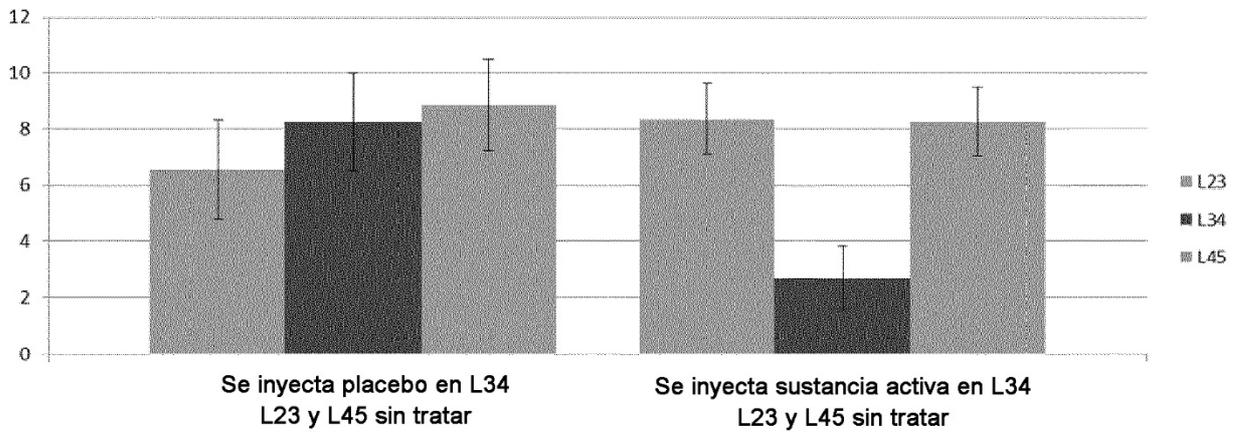


Figura 11

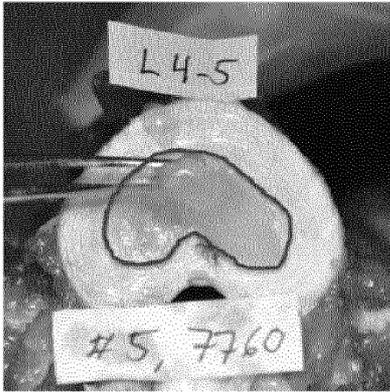


Figura 12a

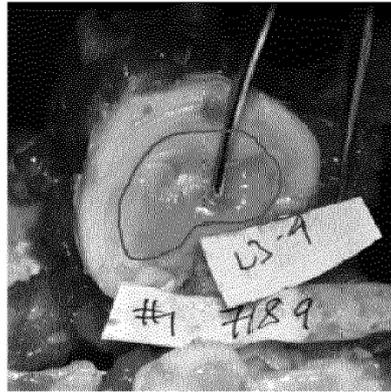


Figura 12b



Figura 12c

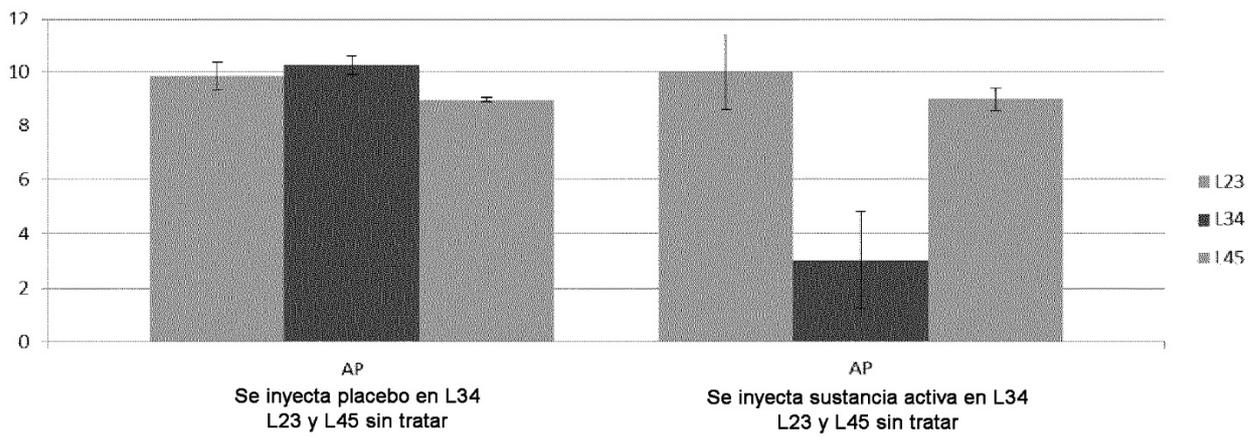
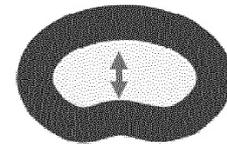


Figura 13

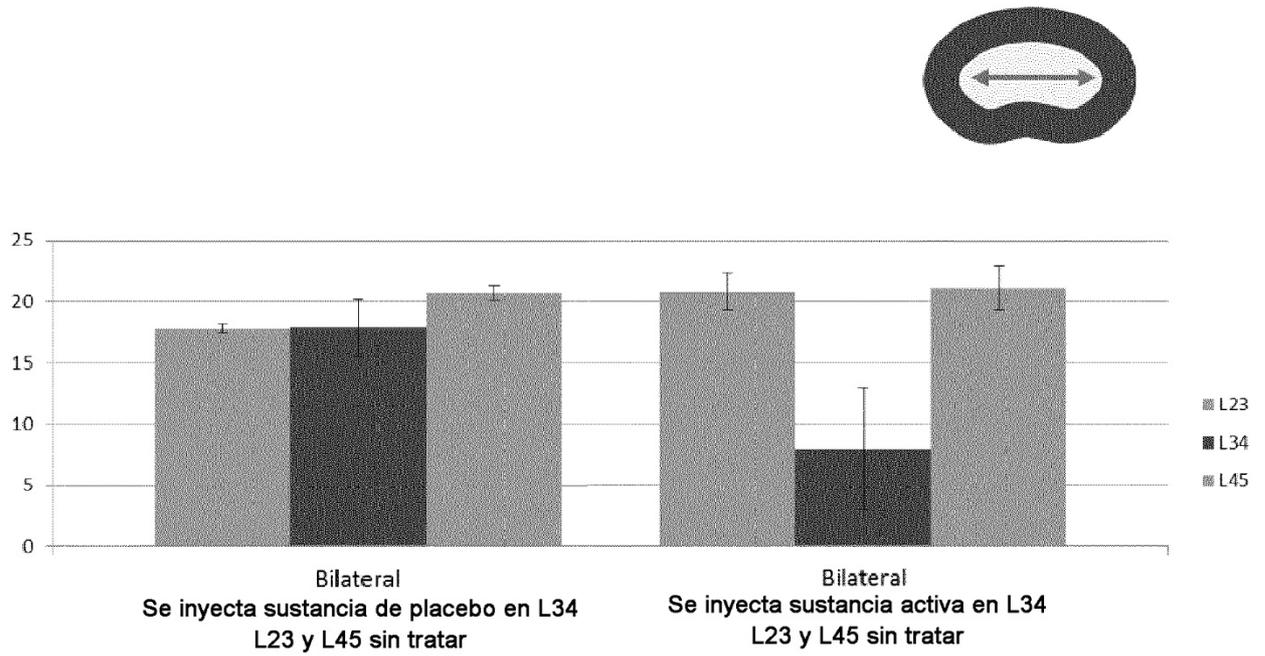


Figura 14

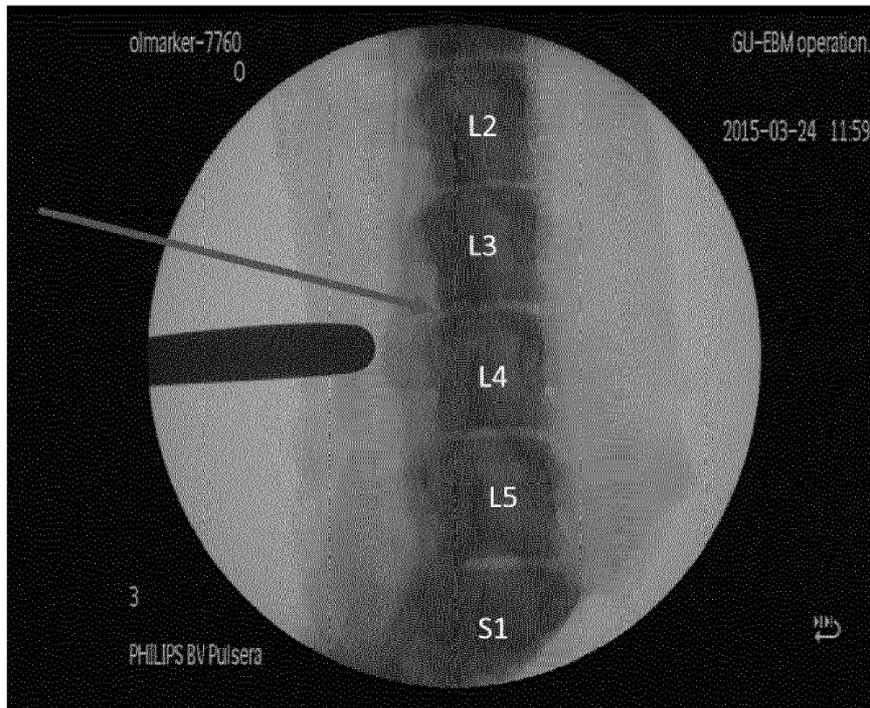


Figura 15

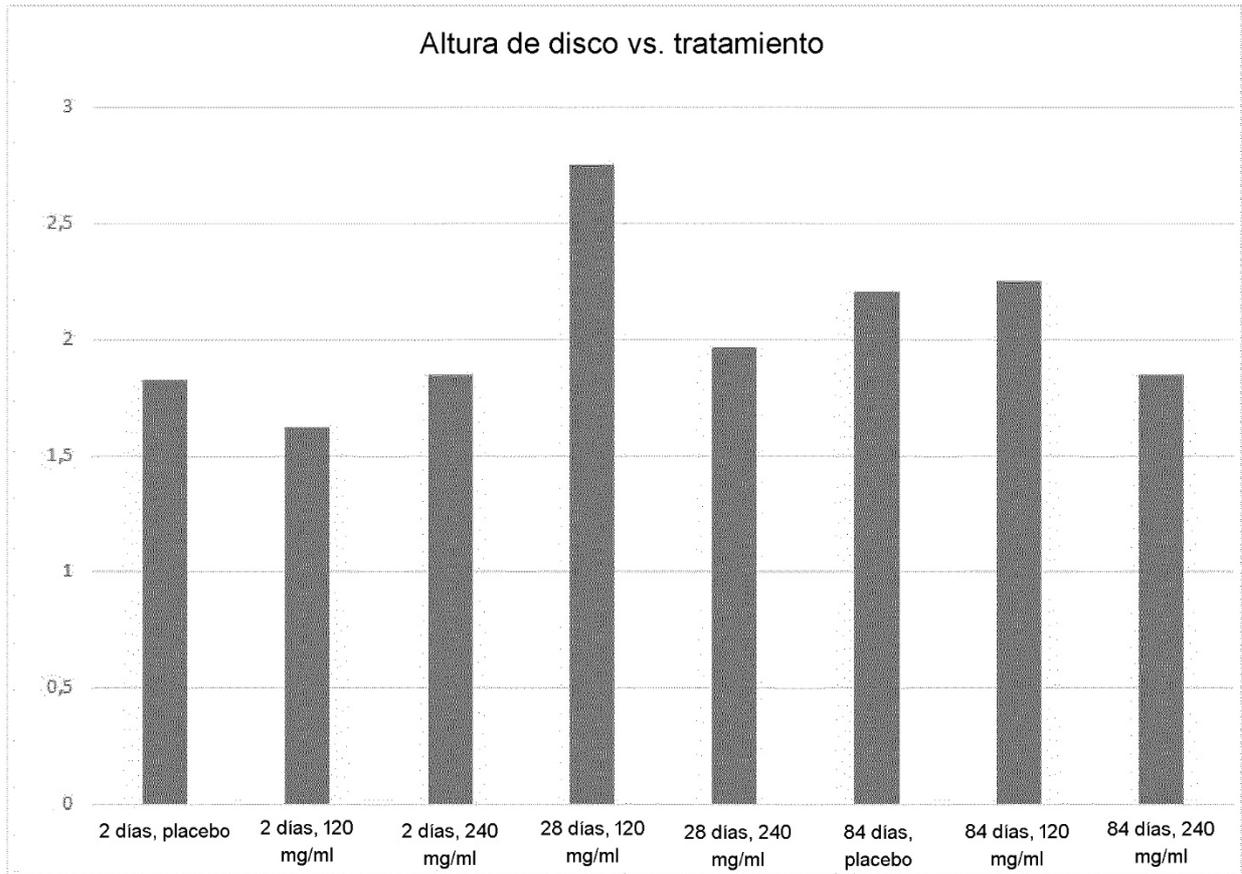


Figura 16

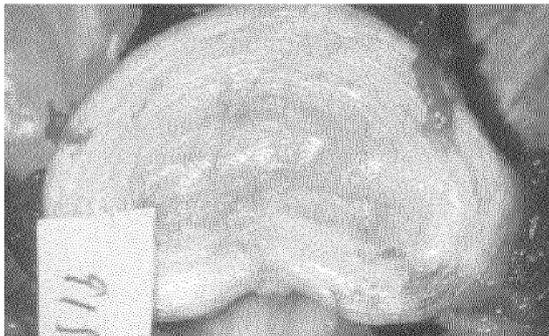


Figura 17a



Figura 17b