

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 055**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/737</b>	(2006.01)	<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 35/19</b>	(2015.01)	<b>A61K 9/08</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/18</b>	(2006.01)	<b>A61K 47/36</b>	(2006.01)
<b>A61K 48/00</b>	(2006.01)	<b>A61K 35/32</b>	(2015.01)
<b>A61P 17/02</b>	(2006.01)	<b>A61K 35/35</b>	(2015.01)
<b>A61P 19/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 19/02</b>	(2006.01)		
<b>A61P 1/06</b>	(2006.01)		
<b>A61P 11/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 1/00</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.05.2016 PCT/EP2016/061906**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2016 WO16189088**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.05.2016 E 16727365 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3302523**

54 Título: **Composición para el tratamiento de lesiones tisulares**

30 Prioridad:

**28.05.2015 EP 15305807**

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

**21.04.2020**

73 Titular/es:

**ORGANES TISSUS RÉGÉNÉRATION  
RÉPARATION REMPLACEMENT (50.0%)  
4 rue Française  
75001 Paris, FR y  
BARRITAUULT, DENIS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BARRITAUULT, DENIS**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 755 055 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

Composición para el tratamiento de lesiones tisulares

## 5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica o dermatológica para su aplicación como medicamento para el tratamiento de lesiones tisulares elegidas entre lesiones del sistema locomotor, lesiones de la médula espinal, lesiones del tejido muscular, lesiones pulmonares, lesiones cutáneas, lesiones del tracto digestivo comprendiendo dicha composición (i) un polímero biocompatible de fórmula general (I)  $AaXxYy$  (I) o de fórmula (II)  $AaXxYyZz$  (II), tal como se definen las reivindicaciones, y (ii) una célula eucariota elegida entre células mesenquimales, células adipocitarias y células de la médula ósea.

La presente descripción también describe un kit farmacéutico para la prevención y/o el tratamiento de lesiones tisulares.

La presente invención encuentra una aplicación en particular en los campos farmacéuticos y veterinarios.

## 20 Estado de la técnica

El implante de células, tejidos u órganos con fines terapéuticos es un desafío importante para la medicina. Muchos trabajos distribuidos durante casi un siglo han demostrado los beneficios terapéuticos de estos implantes en múltiples aplicaciones y muchas técnicas han permitido controlar y mejorar la calidad de las muestras, su conservación y preservación, o su expansión antes implantarlas o reintroducirlas en el paciente receptor. Del mismo modo, se han realizado muchas mejoras en el rendimiento y las propiedades de los órganos, tejidos o células que se utilizan en procesos, dispositivos y productos con el fin de proporcionar un beneficio terapéutico después de la reintroducción en el paciente receptor. Por último, un mejor conocimiento y dominio de las reacciones adversas a veces asociadas con esta reintroducción también ha ayudado a garantizar un mayor éxito.

Sin embargo, después de la administración de las células, los rendimientos relacionados con su integración y/o la eficacia terapéutica en vista del número de células administradas siguen siendo muy bajos, lo que implica la necesidad de repetir el tratamiento y los costes de tratamiento muy altos. Además, los bajos rendimientos y los costes significativos limitan las patologías y/o pacientes susceptibles de ser tratados con estos métodos.

Por lo tanto, existe una necesidad real en el estado de la técnica para poder mejorar aún más estos métodos y/o herramientas biológicas utilizadas con el fin de optimizar su uso y ampliar el campo terapéutico de aplicación.

En el estado de la técnica existen compuestos capaces de mejorar el entorno del tejido. Por ejemplo, los polímeros denominados HBGFP para « Heparan Binding Growth Factors Protectors and Potentiators), siendo estos HBGFP definidos por su propiedad para proteger los factores de crecimiento con afinidad hacia la heparina (como los FGF, TGF $\beta$  y otros), frente a degradaciones por proteasas así como para potenciar la actividad de estos factores sin actividad anticoagulante significativa a las dosis utilizadas. Estos HBGFP tenían propiedades sorprendentes en la reparación de lesiones de tejido muscular, tracto digestivo de tejido nervioso y una actividad en la reacción inflamatoria, como se ilustra en particular en la solicitud internacional W01995026739 o en la solicitud de patente americana US7998922. Estos polímeros también se han definido e ilustrado químicamente como agentes de regeneración de tejidos en modelos preclínicos de lesiones de piel, hueso, córnea e isquemia. También han demostrado efectos antifibróticos, habilidades únicas para proteger frente a los efectos del estrés oxidativo en modelos de isquemia, efectos protectores frente al envejecimiento y la neurodegeneración y, en general, estimulan procesos de regeneración. Una forma particular de HBGFP, los RGTA, han demostrado, durante su uso, una aceleración y mejora de la reparación de lesiones tisulares tal como la piel, la córnea, los huesos o incluso los músculos; y posiblemente una disminución en la cicatrización y, más generalmente, en la fibrosis (véase la revisión de Van Neck *et al.*, Heparan Sulfate Proteoglycan Mimetics Promote Tissue Régénération: An Overview chapter 4 in Tissue Régénération - From Basic Biology to Clinical Application ISBN 978-953-51-0387-5, editado por Jamie Davies). También se sabe que los RGTA protegen frente a los efectos nocivos debidos a la radiaciones - (Mangoni Métal.; Int. J. Radiation OncologyBiol. Phys. 2009,74,1242-1250), al estrés oxidativo en casos de lesiones causadas por radiaciones (Yue X-L *et al.*; Cell Death and Differentiation 2009, 1-12), al estrés oxidativo durante la isquemia es (Desgranges *et al.*; FASEB J. abril de 1999; 13 (6): 761-6), o también en el caso del envejecimiento tisular (Larramendy-Gozalo C, D., *et al.*, J Gen Viral. 2007, 88: 1062-7).

En otro campo terapéutico, también se han observado otros efectos de RGTA, en particular en el tratamiento del dolor y el picor y para los cuales un experto en la materia no podía prever un vínculo con el proceso de reparación o la regeneración tisular ya que el efecto era muy rápido y, por lo tanto, independiente del proceso de reparación o regeneración, mucho más tiempo de llevar a cabo.

Los RGTA se han descrito y utilizado para reparar tejidos dañados, en particular mediante la protección de los factores de crecimiento y las comunicaciones celulares presentes en el sitio de la lesión, así como el reclutamiento

de células existentes en el paciente tratado. Por ejemplo, las publicaciones han demostrado un efecto de los RGTA en la movilización de células madre endógenas como las células progenitoras hematopoyéticas o células madre obtenidas a partir de la sangre (Albanes *et al.*, *Experimental Hematology* 2009; 37: 1072-1083) o en el crecimiento, clonogenicidad, migración y/o diferenciación de las células madre mesenquimales *in vitro* o *in vivo*.

El uso de RGTA que comprende bencilamina con células de médula ósea se ha contemplado en la solicitud internacional WO 2003101201 para el tratamiento del infarto de miocardio para aumentar la formación de vascularización colateral. Sin embargo, esta divulgación no incluye ningún experimento o resultado científico. Por lo tanto, los elementos incluidos en este documento no permiten la reproducción de los elementos descritos ni prevén ningún tratamiento. En particular, el documento de Mullanghi *et al.*, (*Coronary*; 22: 71) informa que el RGTA coinyectado con las células mesenquimales extraídas el mismo día de la médula ósea e inyectadas directamente en la zona infartada después de la ligadura de la arteria coronaria descendente en el babuino no tiene más eficacia funcional que el RGTA inyectado sólo en este músculo, reproduciendo de ese modo las observaciones de Yamauchi H *et al.*, *FASEB J.* 2000 (14): 2133-4, que mostraron que el RGTA solo tenía un fuerte capacidad para mejorar la recuperación después de un infarto de miocardio. Por lo tanto, la coinyección de células y RGTA no produce ningún efecto beneficioso adicional con respecto a la recuperación posterior al infarto de miocardio en comparación con el uso de RGTA solo. En otras palabras, no se observaron/demostraron efectos beneficiosos adicionales mediante la inyección de células y RGTA.

La bibliografía también informa numerosos estudios de terapias celulares con el objeto de implantar células con diferentes métodos de diferentes orígenes y naturalezas para recolonizar áreas de tejido dañado o funciones deterioradas. De todos estos estudios, parece una gran dificultad obtener una supervivencia de las células implantadas en la zona objetivo, aún más difícil es obtener una colonización del espacio y aún más una recuperación en la duración de las funciones del órgano. o tejido que ha sido recolonizado de esta manera. Este problema sigue siendo un verdadero desafío que aún no se resuelve de manera satisfactoria.

Por lo tanto, existe una necesidad real de encontrar un nuevo compuesto y/o método que pueda mejorar el tratamiento de las lesiones tisulares y/o la efectividad de las terapias celulares.

El uso de RGTA mezclado con un biomaterial sustituto óseo se ha descrito en la técnica anterior (Billy *et al.*, documento de patente US 2006/0257449). Este documento también considera la asociación de estos biomateriales (tricálcico), con células madre no RGTA, para tratar de estimular el implante y colonización del sustituto óseo, sin explicación o descripción de una posible implementación, etapa, etc. Además, esta divulgación no incluye ningún experimento o resultado científico. Por lo tanto, los elementos que se describen en este presente documento y su enseñanza no permiten la reproducción o el desarrollo de ninguna asociación entre un biomaterial sustituto óseo y las células, ni el uso de ninguna combinación. El documento *Stem Cell Research*, vol 12, n.º 3, p 703-715, 2014, Chevalier Fabien *et al.*, describe que los miméticos GAG pueden potenciar los efectos *in vivo* de la terapia celular. Crean un microentorno favorable antes del trasplante celular y aumentan la reparación de células y tejidos, por ejemplo, la reparación vascular. El documento *Stem Cell Research*, vol.8, n.º 2, p. 180-192,2011, Guilhem Frescaline *et al.*, divulga que OTR4120 u OTR4131 estimula la clonogenicidad, proliferación, migración y fenotipo de CSM *in vitro*. Los autores concluyen que los miméticos GAG pueden ser de interés en la terapia regenerativa ósea y pueden optimizar las propiedades terapéuticas de las CSM.

Numerosas patologías, en particular las debidas al envejecimiento, comprenden fenómenos de degeneración tisular y/o celular, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, degeneración macular y/o provocados por fenómenos biológicos tal como la disminución de la oxigenación de los tejidos/ células, etc.

Para estas patologías, y como se ha mencionado anteriormente, existe una gran necesidad en el estado de la técnica de encontrar tratamientos efectivos, y/o en particular mejorar los tratamientos existentes, en particular con respecto a las terapias celulares.

También hay muchas patologías genéticas que implican en particular el mal funcionamiento de los tejidos y/o células para los cuales los tratamientos son casi inexistentes o poco efectivos. Para estas patologías, una ruta de tratamiento consiste en terapia celular. Sin embargo, la efectividad de estas terapias es cuestionada, en particular debido a la baja implantación celular después de la inyección y/o los costes muy altos de estos tratamientos.

Por lo tanto, existe una necesidad real de encontrar una nueva composición, tratamiento que permita tratar las lesiones tisulares independientemente de su origen y/o aumentar la efectividad del tratamiento de las composiciones conocidas y/o terapias celulares al tiempo que disminuye su coste.

#### Descripción de la invención

La invención se define por las reivindicaciones. Todo objeto no relevante para el campo de aplicación de las reivindicaciones se proporciona a modo de información únicamente. En la descripción toda referencia a los métodos de tratamiento hace referencia a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención destinados a su uso en un método de tratamiento terapéutico del cuerpo humano o animal.

La presente invención precisamente tiene como objeto responder a estas necesidades proporcionando una composición farmacéutica para su aplicación como medicamento para el tratamiento de lesiones tisulares comprendiendo dicha composición

5 - un polímero biocompatible de fórmula general (I) siguiente  $AaXxYy$  (I) o de fórmula (II):  $AaXxYyZz$  (II) en la que:

A representa un monómero que es glucosa,

10 X representa un grupo  $-R_1COOR_2$ ,

Y representa un grupo  $-R_7SO_3R_8$

en las que:

15  $R_1$  representa una cadena de hidrocarburo alifático, opcionalmente ramificado y/o insaturado,  $R_2$  representa un átomo de hidrógeno o un catión,  $R_8$  es un metal alcalino elegido entre el grupo que consiste en litio, sodio, potasio, rubidio y cesio,

20  $R_7$  representa un enlace, a representa el número de monómeros de modo que la masa de dichos polímeros de fórmula (I) es superior a 2000 daltons, x representa la tasa de sustitución de los monómeros A por grupos X, x está comprendido entre un 20 y un 150 %, y representa la tasa de sustitución de los monómeros A por grupos Y, y está comprendido entre un 30 y un 150 %, y z representa la tasa de sustitución « z » por grupos Z, z está comprendido de un 0 a un 50 %, de preferencia igual a un 30 %.

25 - una célula eucariota seleccionada entre células mesenquimales, células adipocitarias y células de la médula ósea.

De forma ventajosa, los inventores han demostrado de manera sorprendente y a diferencia de las enseñanzas del estado de la técnica que la asociación de polímeros biocompatibles de fórmula general (I) tal como se ha definido anteriormente, también denominados RGTA en la presente, y células permite preparar o acondicionar a la vez los tejidos y órganos, por ejemplo, del paciente receptor, para favorecer el implante, expansión y colonización de las células externas y/o trasplantes de órganos y/o tejidos, por ejemplo en el paciente receptor.

35 En particular, los inventores han demostrado de manera sorprendente que el uso de polímeros biocompatibles de fórmula general (I) combinado con células, órganos y extractos de plaquetas permite de manera ventajosa y sorprendente mejorar significativamente la recuperación de las funciones alteradas de los tejidos y/u órganos tratados de esta manera para el mayor beneficio del paciente.

40 Además, los inventores han demostrado que la combinación de polímeros biocompatibles de fórmula general (I) con células de acuerdo con la invención se puede usar/aplicar para un gran número de patologías/lesiones, etc. De hecho, la presente divulgación encuentra aplicación independientemente de los tejidos u órganos lesionados/implantados o injertados, independientemente de las células utilizadas, por ejemplo inyectadas, por ejemplo solas o en combinación por ejemplo para usar con lisados de plaquetas por ejemplo enriquecidos con factores de crecimiento o por ejemplo con inyección de factores de crecimiento purificados, en particular factores de crecimiento que tienen afinidad hacia los RGTA o hacia los sulfatos de heparano.

50 Los inventores también han demostrado de manera sorprendente que el efecto obtenido en la recuperación funcional del tejido tratado es superior al efecto obtenido por separado, ya sea por el RGTA solo o por las células solas o por el tejido o el órgano o los biomateriales o lisados de plaquetas o factores de crecimiento puros implantados o inyectados solos.

55 Los inventores también han demostrado de manera sorprendente e inesperada que la posología, esquema terapéutico de administración de la composición permite de forma ventajosa optimizar los efectos terapéuticos y además presenta un fuerte efecto sinérgico observado en la recuperación funcional y cicatricial de los tejidos u órganos tratados.

60 Los resultados observados son aún más inesperados ya que las células utilizadas de acuerdo con la invención pueden tener propiedades y orígenes diferentes a los de las células presentes en los tejidos u órganos en los que es probable que se implanten. De una manera sorprendente, la composición de acuerdo con la invención favorece la colonización de las células implantadas en el sitio, por ejemplo reconstruir un tejido u órgano nuevo funcional a pesar de que estas células implantadas pueden ser de un fenotipo y un origen de tejido diferente. Además, sin la necesidad de inducir experimentalmente la aparición de células madre pluripotentes o ya comprometidas en la vía de diferenciación de las células del tejido u órgano a colonizar.

65 Los inventores han demostrado de manera sorprendente que la utilización del RGTA de acuerdo con la invención permite obtener un efecto técnico/terapéutico nuevo e inesperado, es decir, en particular un acondicionamiento del

sitio de la lesión mediante la preparación del sitio de implantación y obtener un implante celular/ una eficacia del tratamiento terapéutico mucho más alta que la obtenida durante el uso de RGTA solo y/o la de las células utilizadas solas, en particular con respecto a la efectividad del tratamiento celular y/o la capacidad de implante de las células o tejidos u órganos.

5 Por lo tanto, los inventores han demostrado de manera sorprendente e inesperada que la presente invención, a través de por ejemplo la administración secuencial, es decir, según una posología/régimen posológico, de RGTA seguido después de un cierto plazo que varía, por ejemplo de varios minutos a varios días, mediante la administración de células de todas las naturalezas y/o o de origen elegidas ventajosamente permite favorecer, de  
10 manera inesperada, la adquisición de estos injertos o el implante funcional de estas células, siendo algunas de ellas en su origen, su etapa de desarrollo y el modo de preparación del sujeto con la condición de controlar, si fuera el caso, los aspectos de rechazo relacionados con el sistema inmunitario del receptor.

15 Además, los inventores han demostrado, en particular en los ejemplos, que la aplicación de la presente invención, en particular las lesiones susceptibles de ser tratadas por la composición de acuerdo con la divulgación, puede ser para todo tipo de lesiones tisulares sea cual sea su origen y cualquier tipo de tejido u órgano. En particular, el experto en la materia, a la lista de los ejemplos que siguen a continuación en los que una amplia diversidad de lesiones son tratadas de manera efectiva, comprende fácilmente y puede, a la dista de estos conocimientos, extrapolar las otras lesiones tisulares susceptibles de ser tratadas por la presente divulgación.

20 En la presente por « lesiones tisulares » se entiende cualquier lesión de cualquier tejido biológico de un mamífero conocido por el experto en la materia. Se puede tratar de una lesión de tejido conectivo, tejido muscular, tejido nervioso, tejido óseo, cartílago y/o tejido epitelial. Se puede tratar por ejemplo de cualquier lesión de cualquier órgano, orgánulo de mamífero conocido por el experto en la materia. Se puede tratar de una lesión de los tejidos del tracto digestivo, de los tejidos del tracto gastrointestinal, del sistema digestivo alimentario y excretor, del tracto genital, del sistema reproductivo, del sistema óptico, olfativo o auditivo, del sistema sensorial, circulatorio y/o cardiovascular, del sistema respiratorio, del sistema muscular, del sistema locomotor. Se puede tratar por ejemplo de una lesión del tejido gástrico, lesión oral, lesión corneal, lesión timpánica, lesión coclear, lesión cutánea por ejemplo, una herida, una herida crónica, por ejemplo, una herida diabética, una herida ulcerosa, una escara, una quemadura cutánea, una herida necrótica, una lesión venosa, una lesión isquémica, por ejemplo una necrosis isquémica, una lesión debida a un infarto, por ejemplo un infarto de miocardio, una lesión ósea, por ejemplo una fractura, una fractura con defecto óseo, una osteonecrosis (« fractura ósea sin unión »), una lesión osteocondral, una lesión cartilaginosa, una lesión del tendón, una lesión quirúrgica, una lesión por cirugía, una lesión debida a un tratamiento médico, por ejemplo radioterapia, una lesión del tejido nervioso, por ejemplo una lesión cerebral, por ejemplo una  
25 lesión debida a una extirpación de un tumor, una lesión de la médula espinal, una lesión de fibra nerviosa, por ejemplo del sistema locomotor y/o sensorial, una lesión del sistema respiratorio, por ejemplo lesiones pulmonares, una lesión del sistema circulatorio, por ejemplo una lesión de las arterias y/o vasos, una lesión del sistema digestivo renal, urinario.

40 En la presente por monómero se entiende por ejemplo un monómero seleccionado entre el grupo que consiste en azúcares, ésteres, alcoholes, aminoácidos o nucleótidos.

45 En la presente, los monómeros A que constituyen los elementos de base de los polímeros de fórmula I que pueden ser idénticos o diferentes. De acuerdo con la invención, A representa un monómero que es glucosa.

En la presente, la asociación de monómeros puede hacer posible formar una cadena principal polimérica, por ejemplo, una cadena principal polimérica de tipo poliéster, polialcohol, polisacárido, del tipo de ácidos nucleicos o proteínas.

50 En la presente, entre los poliésteres, se puede tratar por ejemplo de copolímeros de biosíntesis o síntesis química, por ejemplo poliésteres alifáticos o de origen natural por ejemplo polihidroxialconoatos.

55 En la presente, los polisacáridos y sus derivados pueden ser de origen bacteriano, animal, fúngico y/o de origen vegetal. Se puede tratar, por ejemplo, de polisacáridos de cadena sencilla, por ejemplo, poliglucosas, por ejemplo, dextrano, celulosa, beta glucano, u otros monómeros que comprenden unidades más complejas, por ejemplo, xantanos, por ejemplo, glucosa, manosa y ácido glucurónico o incluso glucuronanos y glucoglucuronano.

60 En la presente, los polisacáridos de origen vegetal pueden ser de cadena sencilla, por ejemplo celulosa (glucosa), pectinas (ácido galacturónico), fucanos, almidón o más complejos como los alginatos (ácido galurónico y ácido manurónico).

En la presente, los polisacáridos de origen fúngico pueden ser por ejemplo esteroglucanos.

65 En la presente, los polisacáridos de origen animal pueden ser por ejemplo quitinas o quitosano (glucosamina).

El número de monómeros A definido en la fórmula (I) por « a » es de modo que la masa de dichos polímeros de

fórmula (I) sea superior a 2000 daltons (lo que corresponde a 10 monómeros de glucosa). El número de monómeros A definido en la fórmula (I) por « a » puede ser de modo que la masa de dichos polímeros de fórmula (I) sea inferior a aproximadamente 2000000 daltons (lo que corresponde a 10000 monómeros de glucosa). De forma ventajosa, la masa de dichos polímeros de fórmula (I) puede estar comprendida de 2 a 100 kdaltons.

5 En la presente, en el grupo  $-R_1COOR_2$  que representa X,  $R_1$  puede ser un alquilo en  $C_1$  a  $C_6$ , por ejemplo un metilo, un etilo, un butilo, un propilo, un pentilo, de preferencia un grupo metilo, y  $R_2$  puede ser un grupo  $R_{21}R_{22}$  en el que  $R_{21}$  es un anión y  $R_{22}$  un catión elegido entre el grupo de los metales alcalinos.

10 De preferencia, el grupo X es el grupo de fórmula  $-R_1COOR_2$  en la que  $R_1$  es un grupo metilo  $-CH_2-$  y  $R_2$  un grupo  $R_{21}R_{22}$  en el que  $R_{21}$  es un anión y  $R_{22}$  un catión elegido entre el grupo de los metales alcalinos, de preferencia el grupo X es un grupo de fórmula  $-CH_2-COO^-$ .

15 En la presente, el grupo Y es el grupo de fórmula  $-R_7SO_3R_8$  en la que  $R_7$  es un enlace y  $R_8$  es un metal alcalino elegido entre el grupo que consiste en litio, sodio, potasio, rubidio y cesio. De preferencia, el grupo Y es un grupo  $-SO_3^-Na^+$

20 La tasa de sustitución del conjunto de los monómeros A por los grupos Y definidos en la fórmula general (I) por « y » está comprendida de un 30 a un 150 %, y de preferencia del orden de un 100 %.

25 En la presente, la definición de las tasas de sustitución que se han mencionado anteriormente, se refiere a una tasa de sustitución « x » de un 100 %, el hecho de que cada monómero A del polímero de la invención contiene estadísticamente un grupo X. Además, por una tasa de sustitución « y » de 100 %, se entiende el hecho de que cada monómero del polímero de la invención contiene estadísticamente un grupo Y. Las tasas de sustitución superiores a un 100 % traducen el hecho de que cada monómero lleva estadísticamente más de un grupo del tipo considerado; por el contrario, las tasas de sustitución inferiores a un 100 % traducen el hecho de que cada monómero lleva estadísticamente menos de un grupo del tipo considerado.

30 Los polímeros también pueden comprender grupos químicos funcionales, denominados Z, diferentes de X e Y.

En la presente descripción, los grupos Z pueden ser idénticos o diferentes, y se pueden elegir independientemente entre el grupo que consiste en aminoácidos, ácidos grasos, alcoholes grasos, ceramidas, o derivados de los mismos, o secuencias de nucleótidos de direccionamiento.

35 Los grupos Z también pueden representar agentes activos idénticos o diferentes. Se puede tratar por ejemplo agentes terapéuticos, agentes de diagnóstico, un antiinflamatorio, un antimicrobiano, un antibiótico, un factor de crecimiento, una enzima.

40 En la presente descripción, el grupo Z puede ser ventajosamente un ácido graso saturado o insaturado. Se puede tratar por ejemplo de un ácido graso seleccionado entre el grupo que consiste en ácido acético, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido behénico, ácido lignocérico, ácido cerótico, ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido elaidico, ácido trans-vaccénico, ácido linoleico, ácido linoleaídico, ácido  $\alpha$ -linolénico, ácido  $\gamma$ -linolénico, ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido clupanodónico o ácido docosahexaenoico. De acuerdo con la invención, el ácido graso es el ácido acético.

50 En la presente descripción, el grupo Z puede ser ventajosamente un aminoácido de la serie L o D elegido entre el grupo que consiste en alanina, asparagina, una cadena aromática, por ejemplo tirosina, fenilalanina, triptófano, tiroxina o histidina.

De forma ventajosa, los grupos Z pueden proporcionar a los polímeros propiedades biológicas o fisicoquímicas adicionales. Por ejemplo, los grupos Z pueden aumentar la solubilidad o la lipofilia de dicho polímero permitiendo por ejemplo una mejor difusión o penetración en el tejido.

55 Los polímeros en los que Z está presente responden a la siguiente fórmula II:



60 en la que, A, X, Y, a, x, y son tal como se ha definido anteriormente y z representa la tasa de sustitución por grupos Z.

En la presente la tasa de sustitución por grupos Z representado por « z » está comprendida de un 0 a un 50 %, de preferencia igual a un 30 %.

65 Los grupos X, Y y Z se pueden fijar independientemente sobre el monómero A y/o se pueden fijar independientemente los unos a los otros. Cuando al menos uno de los grupos X, Y y Z se fija independientemente

sobre un grupo X, Y y Z diferente del primero, uno de dichos grupos X, Y o Z se fija al monómero A.

Por lo tanto, los grupos Z se pueden fijar mediante enlace covalente directamente sobre los monómeros A se pueden fijar mediante enlace covalente sobre los grupos X y/o Y.

5 En la presente, la composición puede comprender una concentración de 0,01 microgramos a 100 mg en peso de polímero biocompatible con respecto al peso total de la composición. Por ejemplo la composición puede comprender de 10 microgramos a 10 miligramos en peso con respecto al peso total de la composición.

10 En la presente, la composición se puede formular y/o adaptar de acuerdo con su administración. Por ejemplo, para una administración por vía intravenosa o por vía intramuscular la composición se puede administrar con el fin de suministrar una dosis de polímero biocompatible comprendida de 0,1 a 5 mg por kilogramo de peso corporal, o para una administración por vía oral la composición se puede administrar, por ejemplo en 2 a 5 dosis iguales al día por un máximo de un total diario por ejemplo de 1 a 500 mg, por ejemplo 10 microgramos a 5 mg por kg de polímero biocompatible, por ejemplo de 10 microgramos a 5 mg por kg, por ejemplo para un adulto de 100 kg de masa corporal durante varios días a varias semanas. Por ejemplo, para una administración por vía intracraneal, se puede tratar de una administración única de 1 a 5 ml, o mediante minibomba durante varios días, la composición puede comprender una concentración de 0,001 a 1 mg.ml<sup>-1</sup> de polímero biocompatible, o para una administración, por ejemplo diaria de 1 a 5 ml, por vía sublingual la composición puede comprender una concentración de 0,1 a 100 mg.ml<sup>-1</sup> de polímero biocompatible, o por vía aérea la composición se puede administrar con el fin de suministrar una dosis comprendida de 0,1 a 5 mg de polímero biocompatible por kilogramo de peso corporal de dicho polímero.

25 Por ejemplo, para una administración por vía oral, el polímero puede estar en solución, por ejemplo en agua o en cualquier disolvente adecuado para una administración por vía oral conocida por el experto en la materia. La composición también puede estar en forma de sobrecito, cápsula de gelatina o cualquier otra forma compatible con una dosis oral conocida por el experto en la materia. se puede tratar de una solución acuosa de un volumen de 10 a 50 ml que comprende por ejemplo una concentración de 0,1 mg.ml<sup>-1</sup> de polímero en la solución. Por ejemplo, para una administración por vía sistémica, el polímero puede estar por ejemplo en solución en suero fisiológico, por ejemplo suero fisiológico de calidad inyectable o cualquier otra forma compatible con la inyección, por ejemplo soluciones con glucosa y/ u otros excipientes adecuados conocidos por el experto en la materia, por ejemplo que comprenden polisacáridos, por ejemplo heparina. Por ejemplo, el polímero puede estar a una concentración de 0,1 a 5 mg.kg<sup>-1</sup>, de preferencia de 1 a 2,5 mg.kg<sup>-1</sup>, por ejemplo para una administración por vía Intra-Venosa (IV) y/o Intra-Muscular (IM).

35 De acuerdo con la invención, la composición puede comprender además factores de crecimiento. Se puede tratar cualquier factor de crecimiento conocido por el experto en la materia susceptible de favorecer, estimular el crecimiento celular. Se puede tratar por ejemplo factores de crecimiento elegidos entre el grupo que consiste en factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), por ejemplo FGF1 o FGF2, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o una mezcla de los mismos. De acuerdo con la invención, la composición puede comprender 10 nanog.ml<sup>-1</sup> a 100 microg.ml<sup>-1</sup> de factores de crecimiento.

40 De acuerdo con la invención, la composición puede comprender además un extracto o lisado de plaquetas crudo o enriquecido en factores de crecimiento. Se puede tratar por ejemplo cualquier extracto o lisado de plaquetas conocido por el experto en la materia y/o disponible en el mercado.

45 En la presente por « célula eucariota » se hace referencia a cualquier célula eucariota conocida por el experto en la materia. Se puede tratar por ejemplo de una célula eucariota de mamífero, por ejemplo una célula eucariota animal o humana. Se puede tratar por ejemplo de cualquier célula eucariota sea cual sea su estado de diferenciación, por ejemplo una célula elegida entre el grupo que consiste en células eucariotas adultas o embrionarias, células madre embrionarias, células madre adultas. Se puede tratar por ejemplo de células eucariotas de sangre de cordón umbilical, células de médula ósea, células de tejido adiposo, células mesenquimales. Se puede tratar también de un grupo de células, un injerto y/o un órgano.

55 Se puede tratar por ejemplo de una célula heteróloga, homóloga o autóloga de un individuo. De preferencia, las células son células autólogas.

60 Se puede tratar también de una célula madre pluripotente o totipotente, o células involucradas en vías de diferenciación, por ejemplo células madre mesenquimales. Se puede tratar también una célula madre pluripotente o totipotente con la excepción de las células madre embrionarias.

De forma ventajosa, cuando las células son autólogas, la composición de acuerdo con la invención la presente invención puede ser preferente por razones regulatorias, de seguridad, de viabilidad, de eficiencia y económicas.

65 De forma ventajosa, cuando las células son autólogas, éstas se aíslan de preferencia del individuo y se utilizan en la composición de acuerdo con la invención y/o se utilizan en un tratamiento en las 24 horas después de la toma de la muestra y aislamiento sin otras adiciones. De forma ventajosa, esta administración única permite superar y de

cumplir con los requisitos/imitaciones de regulación. De acuerdo con la invención, la célula eucariota se elige entre células mesenquimales, células adipocitarias y células de la médula ósea.

En la presente la cantidad de células incluidas en la composición puede ser de 1 a  $5 \times 10^7$  células.

De forma ventajosa, célula madre pluripotente o totipotente, o células involucradas en vías de diferenciación inventores han demostrado de manera sorprendente que la presente invención se aplica por lo tanto a todas las células, sean cuales sean sus procedencias y las manipulaciones de selección que conducen a involucrar a las células en formas de diferenciación o desdiferenciación en la medida en la que la administración del RGTA permita de forma ventajosa, en particular durante su asociación con la administración de células, la creación/formación de un microentorno adecuado para la célula que permite ventajosamente una cooperación sinérgica entre el RGTA y las células permitiendo aumentar el implante celular.

De acuerdo con la invención, cuando la composición comprende un injerto u órgano para injerto, o un material implantable la administración del polímero y del injerto u órgano o del material implantable puede ser simultánea. Por ejemplo el órgano que se va a injertar o el material implantable pueden impregnarse, por ejemplo bien sumergiéndolo en una solución que comprende el biopolímero, o mediante perfusión, ya sea mediante pulverización o cualquier otro método adecuado conocido por el experto en el material. En el caso de material implantable, el polímero se puede incorporar a partir de la fabricación del material implantable permitiendo ventajosamente una incubación previa o impregnación.

De acuerdo con la invención, la duración de la impregnación puede estar comprendida desde varios minutos a varias horas, por ejemplo de 1 minutos a 18 horas, de 5 minutos a 16 horas una noche.

De forma ventajosa, cuando el injerto u órgano se impregna durante un período superior a 5 minutos, por ejemplo 16 horas, la impregnación también permite mejorar la eficacia del injerto. De hecho, los inventores han demostrado de manera sorprendente que la presencia del polímero en la solución de conservación de injerto y/u órgano tiene ventajosamente un efecto protector y antiapoptótico.

De forma ventajosa, el injerto, órgano o material impregnado con el polímero puede recibir, antes o después del reimplante o el injerto, una administración de factores de crecimiento o extracto de plaquetas para favorecer la colonización por las células administradas en el momento del implante o después.

En la presente, por « composición farmacéutica » se hace referencia a cualquier forma de composición farmacéutica conocida por el experto en la materia. En la presente, la composición farmacéutica puede ser por ejemplo una solución inyectable, por ejemplo para una inyección local o sistémica, por ejemplo en suero fisiológico, en solución de glucosa inyectable, en presencia de excipientes, por ejemplo de Dextranos, por ejemplo a concentraciones conocidas por el experto en la materia, por ejemplo de microgramos a varios miligramos por ml.

La composición farmacéutica puede ser por ejemplo un medicamento para una administración oral elegido entre el grupo que consiste en una formulación líquida, una forma posológica efervescente oral, un polvo oral, un sistema multiparticulado, una forma galénica orodispersable.

Por ejemplo, cuando la composición farmacéutica es para administración oral, puede estar en forma de una formulación líquida elegida entre el grupo que consiste en una solución, un jarabe, una suspensión, una emulsión. Cuando la composición farmacéutica está en forma de una forma posológica efervescente oral, puede estar en una forma elegida entre el grupo que consiste en comprimidos, gránulos, polvos. Cuando la composición farmacéutica está en forma de un polvo oral o un sistema multiparticulado, puede estar bajo una forma elegida entre el grupo que consiste en perlas, gránulos, minicomprimidos y microgránulos. Cuando la composición farmacéutica está en forma de una forma posológica orodispersable, puede estar en una forma elegida entre el grupo que consiste en comprimidos orodispersables, obleas liofilizadas, películas delgadas, un comprimido masticable, un comprimido, una cápsula o un chicle médica para masticar.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica para administración por vía oral, por ejemplo bucal y/o sublingual, por ejemplo elegida entre el grupo que consiste en comprimidos orales o sublinguales, pastillas, gotas, una solución para pulverizaciones.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica para administración tópica, transdérmica, por ejemplo elegida entre el grupo que consiste en pomadas, cremas, geles, lociones, parches y espumas.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica para administración nasal, por ejemplo elegida entre el grupo que consiste en gotas nasales, pulverización nasal, polvo nasal.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica para

administración parenteral, por ejemplo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intratecal.

La composición de la presente invención también puede comprender al menos otro principio activo, en particular otro ingrediente terapéuticamente activo, por ejemplo para una utilización simultánea, separada o extendida a lo largo del tiempo siguiendo la formulación galénica utilizada. Este otro ingrediente puede ser por ejemplo un principio activo usado por ejemplo en el tratamiento de enfermedades oportunistas que se pueden desarrollar en un paciente que presenta una lesión tisular.

En la presente, la administración del polímero biocompatible y de la célula puede ser simultánea, sucesiva o concomitante.

De acuerdo con la invención, al menos una de las administraciones se puede realizar por vía oral o mediante inyección. Las dos administraciones se pueden llevar a cabo de la misma manera o de manera diferente. Por ejemplo, la administración del polímero biocompatible y de las células se puede llevar a cabo mediante inyección, la administración del polímero biocompatible puede ser por vía oral y la de las células se puede llevar a cabo por inyección local. La administración también puede ser una función del sitio de la lesión.

De acuerdo con la invención, la utilización de célula eucariota, en particular su administración se puede llevar a cabo en un plazo de 5 minutos a 1 una semana después de la primera administración de dicho polímero biocompatible.

En el caso de injerto de tejidos, órganos o del uso de materiales implantables impregnados previamente con el polímero, la administración de la célula se puede llevar a cabo antes del implante o justo después, por ejemplo, en una hora.

De acuerdo con la invención, la composición se puede administrar, por ejemplo, diariamente, dos veces al día y semanalmente. Se puede tratar por ejemplo de una administración una vez al día, dos veces al día o más.

De acuerdo con la invención, la composición se puede administrar, por ejemplo, durante un período de 1 día a 3 meses, por ejemplo durante 2 meses. Por ejemplo, la composición se puede administrar durante un período de 3 meses con una frecuencia de administración cada 15 días.

De acuerdo con la invención, el biopolímero se puede administrar, por ejemplo, durante un período de 1 día a 3 meses, por ejemplo durante 2 meses, con por ejemplo una frecuencia de 1 vez al día y la célula eucariota se puede administrar para una duración idéntica o diferente, por ejemplo una duración de 1 día a 3 meses, con una frecuencia semanal.

De acuerdo con la invención, cuando la administración de los polímeros y de las células es sucesiva, la posología para cada administración puede ser una administración de polímeros seguida por la administración de las células. Por ejemplo, las células se pueden administrar de 1 minuto a 24 horas después de la administración de los polímeros, de 30 minutos a 12 horas después de la administración de los polímeros, de 45 minutos a 6 horas después de la administración de los polímeros, 1 hora después de la administración de los polímeros.

De acuerdo con la invención, la composición puede comprender además un extracto de plaquetas. Se puede tratar por ejemplo de cualquier extracto de plaquetas conocido por el experto en la materia adecuado para su administración a un mamífero. Se puede tratar por ejemplo de un estrato de plaquetas disponible en el mercado, de un estrato de plaquetas obtenidas de acuerdo con el método que se describe en el documento D R Knighton, *et al.*, Ann Surg. Sep 1986; 204 (3): 322-330 « Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF) » o en los documentos Everts, P.A.M *et al.*, Autologous platelet gel growth factor release and leukocyte kinetics using three devices. Transf. Med., 2006, 16 (5), 363-368 o « Is Use of Autologous Platelet-Rich Plasma Gels in Gynecologic, Cardiac, and General, Reconstructive Surgery Beneficial ?" Pharmaceutical Biotechnology, 2012, Vol. 13N.º13). Se puede tratar de extracto de plaquetas que corresponde a lisados plaquetarios enriquecidos en actividad del factor de crecimiento administrable, por ejemplo por vía local, inyectable o depositados en soportes variados, por ejemplo en o sobre geles, cremas, pulverizaciones y/o en tejidos lesionados. De acuerdo con la invención, en este acto de plaquetas puede ser un extracto autólogo o heterólogo de un individuo que se va a tratar. De preferencia, el extracto de plaquetas es un extracto autólogo. Se puede tratar por ejemplo de un extracto y/o lisado de plaquetas concentrado, por ejemplo mediante métodos y/o kits conocidos por el experto en la materia y/o disponible en el mercado.

De acuerdo con la invención, la composición puede comprender de 0,1 ml a 100 ml de extracto y/o de lisado de plaquetas.

De forma ventajosa, el extracto de plaquetas comprende factores de crecimiento que favorecen la formación de un « entorno » propicio para el implante de células. Estos factores se pueden añadir al extracto de plaquetas o se pueden usar solos sin extractos. De acuerdo con la invención el factor FGF1 o FGF2 o VEGF o TGF beta1 o BMP u otros factores de crecimiento, de preferencia al menos un factor elegido entre el grupo que comprende el factor FGF1 o FGF2 o VEGF o TGF beta1 o BMP se pueden añadir. De acuerdo con la invención, los factores comprendidos en el

extracto de plaquetas se pueden añadir a concentraciones de 10 ng a 100 microg/ml de extracto.

5 De acuerdo con la invención, previamente a la administración de la composición, el tejido lesionado puede ser « reactivado » por ejemplo por reapertura de la lesión, por raspado o por desbridado mecánico con un bisturí. La reactivación se puede llevar a cabo, por ejemplo, en heridas viejas, por ejemplo fracturas óseas consolidadas, cicatrices viejas o heridas crónicas.

10 La presente descripción también divulga una composición farmacéutica o dermatológica para su aplicación como medicamento para la prevención y/o el tratamiento de lesiones tisulares, comprendiendo dicha composición un biopolímero de fórmula AaXxYy o AaXxYyZz y al menos un extracto de plaquetas.

15 La presente descripción también divulga una composición farmacéutica o dermatológica para su aplicación como medicamento para la prevención y/o el tratamiento de lesiones tisulares, comprendiendo dicha composición un biopolímero de fórmula AaXxYy o AaXxYyZz y al menos un factor de crecimiento.

La presente descripción también se refiere a un método de claramente un paciente que ha sufrido una lesión tisular que comprende, en un orden cualquiera, las siguientes etapas:

- 20 i. la administración de al menos un polímero biocompatible, y  
ii. la administración de al menos una célula eucariota,

en el que, las administraciones son simultáneas, sucesivas o alternativas.

25 El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

La célula eucariota es tal como se ha definido anteriormente.

30 De acuerdo con la invención, el paciente puede ser cualquier mamífero. Se puede tratar por ejemplo un animal o un ser humano.

De acuerdo con la invención, la célula eucariota administrada puede ser una célula heteróloga u homóloga de dicho paciente.

35 De acuerdo con la invención, el modo y/o la vía de administración del polímero biocompatible puede o pueden ser tal como se ha definido anteriormente.

De acuerdo con la invención, el modo y/o la vía de administración de la célula puede o pueden ser tal como se ha definido anteriormente.

40 De acuerdo con la invención la frecuencia de administración del polímero biocompatible puede ser tal como se ha definido anteriormente.

De acuerdo con la invención la frecuencia de administración de la célula eucariota puede ser tal como se ha definido anteriormente.

45 De acuerdo con la invención, cuando la administración de los polímeros biocompatibles y de las células son sucesivas, la posología para cada administración puede ser una administración de los polímeros biocompatibles seguida por la administración de las células. Por ejemplo, las células se pueden administrar de 1 minuto a 48 horas después de la administración de los polímeros biocompatibles, de 30 minutos a 12 horas después de la administración de los polímeros, de 45 minutos a 6 horas después de la administración de los polímeros, 1 hora después de la administración de los polímeros.

De forma ventajosa, la célula eucariota es una célula madre adulta mesenquimal.

55 La presente descripción también se refiere a un método de tratamiento de un paciente que ha sufrido una lesión tisular que comprende, en un orden cualquiera, las siguientes etapas:

- 60 i. la administración de al menos un polímero biocompatible, y  
ii. la administración de al menos un extracto y/o lisado plaquetario,

en el que, las administraciones son simultáneas, sucesivas o alternativas.

El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

65 El extracto y/o lisado plaquetario es tal como se ha definido anteriormente.

5 De acuerdo con la descripción, cuando la administración de los polímeros biocompatibles y del extracto y/o las plaquetario son sucesivas, la posología para cada administración puede ser una administración de los polímeros biocompatibles seguida por de la administración del extracto y/o lisado plaquetario. Por ejemplo, el extracto y/o lisado plaquetario se puede administrar inmediatamente, es decir, de manera simultánea, o en varios minutos, de preferencia de 10 minutos a varias horas, por ejemplo de 1 minutos a 120 minutos, de preferencia de 10 a 60 minutos después de la administración, por ejemplo, local o una inyección de los polímeros biocompatibles, después de varias horas, de preferencia de 4 h a 24 h, por ejemplo después de la administración del polímero biocompatible por vía oral.

10 La presente descripción también se refiere a un método de tratamiento de un paciente que sufrió una lesión tisular que comprende, en un orden cualquiera, las siguientes etapas:

- 15 i. la administración de al menos un polímero biocompatible, y
- ii. la administración de al menos un factor de crecimiento,

en el que las administraciones son simultáneas, sucesivas o alternativas.

El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

20 El factor de crecimiento es tal como se ha definido anteriormente.

25 De acuerdo con la descripción, cuando la administración de los polímeros biocompatibles y de dicho al menos un factor de crecimiento son sucesivas, la posología para cada administración puede ser una administración de los polímeros biocompatibles seguida por la administración de dicho al menos un factor de crecimiento. Por ejemplo, dicho al menos un factor de crecimiento se puede administrar inmediatamente, es decir, de manera simultánea, o por ejemplo de 1 minutos a varias horas, por ejemplo de 1 minutos a 120 minutos, de preferencia de 10 a 60 minutos después de la administración por ejemplo, local o una inyección de los polímeros biocompatibles, después de varias horas, de preferencia de 4 h a 24 h, después de la administración del polímero biocompatible por vía oral.

30 En otras palabras, incluso si en la presente descripción se hace referencia a una composición, se comprende bien que cada uno de los compuestos de la composición se puede administrar de forma simultánea a los otros compuestos (por ejemplo en una sola composición o en dos composiciones, comprendiendo cada una de estas composiciones uno o varios de los componentes mencionados anteriormente, el modo de administración de cada uno de los compuestos o composición(s) pudiendo ser idéntico o diferente), o independientemente los unos de los otros, por ejemplo sucesivamente, por ejemplo administración independiente de un polímero biocompatible y administración independiente de una célula eucariota, siendo estas administraciones realizadas en un mismo paciente, de forma simultánea o sucesiva o alternativa, en un orden que es el que se ha mencionado anteriormente o en otro orden. Estas diferentes administraciones se pueden llevar a cabo, independientemente la una de la otra o de una manera relacionada (composición o co-administración), mediante un modo de administración idéntico diferente (inyección, ingestión, aplicación tópica, etc.), una o varias veces a la semana, durante una o varias semanas sucesivas o no.

45 La presente descripción también tiene como objeto un kit farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de lesiones tisulares que comprende:

- i. un polímero biocompatible, y
- ii. al menos una célula eucariota.

50 El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

La célula eucariota es tal como se ha definido anteriormente.

55 La presente descripción también tiene como objeto un kit farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de lesiones tisulares que comprende:

- i. un polímero biocompatible, y
- ii. al menos un el extracto y/o lisado plaquetario.

60 El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

El extracto y/o lisado es tal como se ha definido anteriormente.

La presente descripción también tiene como objeto la utilización de una composición farmacéutica que comprende

- 65 i. un polímero biocompatible, y
- ii. al menos un factor de crecimiento

para la fabricación del medicamento para el tratamiento de lesiones tisulares.

El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

5 El factor de crecimiento es tal como se ha definido anteriormente.

En este modo de realización, por medicamentos se hace referencia a una composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente.

10 De forma ventajosa, los inventos han demostrado que la administración secuencial de RGTA seguida después de un cierto plazo que varía de varios minutos a varios días de células, sean cuales sean sus naturalezas y orígenes permite de forma ventajosa y de manera inesperada favorecer el implante funcional de dichas células o la adaptación de un injerto. Además, los inventores también han demostrado que las ventajas mencionadas anteriormente también se han observado sea cual sea el origen, la etapa de desarrollo y/o el modo de preparación de las células utilizadas.

15 De forma ventajosa, la invención proporciona por lo tanto una respuesta general y sencilla a un problema técnico complejo y para el que existe una necesidad real y persistente en el estado de la técnica. En particular se ilustra de manera no limitante en los ejemplos que siguen a continuación fácilmente extrapolables por el experto en la materia a todos los tipos de lesiones tisulares sea cual sea su origen así como a cualquier tipo de tejido urbano.

20 En particular, los inventores han demostrado que la presente invención se puede generalizar al conjunto de las lesiones tisulares en particular debido a ciertas características comunes de las lesiones tisulares que comprenden una destrucción de las células y de la matriz extracelular al nivel del sitio de la lesión.

25 La presente descripción también divulga un método *ex vivo* de preparación de injerto que comprende la impregnación de un injerto y/u órgano que se va a injertar en una solución que comprende polímero biocompatible.

30 La presente descripción también divulgada la utilización del biopolímero de fórmula AaXxYy o AaXxYyZz tal como se ha definido anteriormente para la preparación *ex vivo* de un injerto y/u órgano.

El polímero biocompatible es tal como se ha definido anteriormente.

35 La impregnación se debe llevar a cabo mediante cualquier método conocido por el experto en la materia. Se puede tratar por ejemplo de sumergir el órgano y/o la solución de inmersión en una solución que comprende el biopolímero, ya sea por perfusión, o bien por pulverización.

40 La presente descripción también divulga la utilización del biopolímero de fórmula AaXxYy o AaXxYyZz tal como se ha definido anteriormente para la preparación *in vitro* y/o *ex vivo* de un biomaterial implantable.

45 Por ejemplo para biomateriales implantables, el polímero biocompatible se puede añadir por ejemplo mediante impregnación después de la fabricación del biomaterial, por ejemplo para un tejido o un órgano. También se puede añadir por ejemplo durante la fabricación del bio material desde la partida, por ejemplo el biopolímero de fórmula AaXxYy o AaXxYyZz tal como se define a continuación se puede añadir en capas sucesivas por ejemplo de de manera similar a impresiones en 3D.

50 En la presente, por « biomateriales implantables » se hace referencia a cualquier biomaterial implantable conocido por el experto en la materia y/o disponible en el mercado. Se puede tratar por ejemplo de un material implantable compatible, por ejemplo de cualquier naturaleza, biodegradable, reticulados o no, colonizable de preferencia. Se puede tratar de biomateriales implantables basados en reticulación de proteínas, por ejemplo colágenos, fibrina, polisacáridos por ejemplo dextrano, quitina, ácido hialurónico, alginato, celulosa y sus derivados, copolímeros biodegradables y biocompatibles a base de ácido glicólico, láctico, málico, polímeros, por ejemplo que se pueden tomar a partir del mismo líquido y gel mediante polimerización controlable por la temperatura, o mediante enzimas o radiaciones u otros métodos. Se puede tratar por ejemplo de polímero a base de policaprolactona, poliuretano, silicona de politetrafluoroetileno, a base de sales inorgánicas por ejemplo fosfatos de calcio o hidroxiapatita. Se puede tratar por ejemplo de materiales de base o de cerámica, de metal, por ejemplo de aluminio, acero, titalen y/o aleaciones de los mismos. De forma ventajosa cuando el material es un material de base o cerámico y/o metálico, la impregnación permite la recuperación de la superficie externa del material, la impregnación se puede llevar a cabo ventajosamente por pulverización.

60 La solución de impregnación puede comprender una concentración de 0,1 microg.ml<sup>-1</sup> a 1 mg.ml<sup>-1</sup> de polímero biocompatible tal como se ha definido anteriormente.

65 La duración de la impregnación puede ser de 5 minutos a 24 horas. De forma ventajosa, la duración de la impregnación puede ser una función de la estructura del injerto y/u órgano y/ o material implantable implantables.

De forma ventajosa, la impregnación además permite mejorar la eficacia del injerto. De hecho, los inventores han mostrado de manera sorprendente que la presencia de polímero en la solución de conservación del injerto y/o del órgano presenta de forma ventajosa un efecto protector y antiapoptótico.

5 La impregnación se puede completar de forma ventajosa, después de la impregnación con el polímero biocompatible mediante la impregnación con factores de crecimiento y/o extractos plaquetarios tal como se ha mencionado anteriormente. De acuerdo con la invención, la duración de la impregnación con factores de crecimiento y/o extractos plaquetario puede comprender de 5 minutos a 24 horas.

10 La impregnación se puede completar de forma ventajosa, mediante impregnación y/o deposición *ex vivo* y/o *in vitro* de células en el biomaterial implantable impregnado con el polímero biocompatible.

Las células son tal como se han definido anteriormente.

15 La solución de impregnación y/o de posición de células puede comprender una concentración de varios miles a unos varios millones de células, preferencia de de 10 000 a 1 000 000 células.

La duración de la impregnación y/o deposición *ex vivo* y/o *in vitro* de células puede comprender de 5 minutos a 24 horas.

20 En la presente, la impregnación y/o la deposición de células en el biomaterial implantable impregnado con el polímero biocompatible se puede llevar a cabo mediante cualquier método adecuado conocido por el experto en la materia.

25 Además, la impregnación de los biomateriales implantables se puede completar ventajosamente después de la impregnación con el polímero biocompatible y/o impregnación o deposición *ex vivo* y/o *in vitro* de células, mediante una impregnación con al menos un factor de crecimiento.

30 La impregnación en el biomaterial implantable impregnado con al menos un factor de crecimiento se puede llevar a cabo mediante cualquier método adecuado conocido por el experto en la materia.

El factor de crecimiento es tal como se ha definido anteriormente.

35 La solución de impregnación de al menos un factor de crecimiento fue de comprender una concentración de 10 ng/ml a 100 microg/ml de factores de crecimiento.

40 El extracto de plaquetas y/o lisado plaquetario es tal como se ha definido anteriormente. Se puede tratar por ejemplo de un estrato plaquetario concentrado, por ejemplo a partir de 5 a 100 ml de sangre mediante, por ejemplo, la utilización de kits de concentración plaquetaria conocidos por el experto en la materia y disponibles en el mercado, por ejemplo los Kit de Curasan (marca registrada), Plateltex (marca registrada), GPS (marca registrada) II y RegenLab (marca registrada).

La solución de impregnación puede comprender una concentración de 0,1 a 6 ml de extracto de plaquetas.

45 Otras ventajas aún podrán ser evidentes para el experto en la materia con la lectura de los ejemplos que siguen a continuación, proporcionados a modo ilustrativo.

### Ejemplos

50 Ejemplo 1: Preparación de los RGTA y modo de administración

La síntesis de los RGTA se ha descrito ampliamente en la técnica anterior, por ejemplo, en la patente titulada - « MÉTODO DE SULFONACIÓN DE COMPUESTOS QUE COMPRENDEN GRUPOS HIDROXILO (OH) LIBRES O AMINAS PRIMARIAS O SECUNDARIAS » y también en la referencia bibliográfica: Yasunori I. *et al.*, Biomaterials 2011, 32: 769e776) y Petit E. *et al.*, Biomacromolecules. Mar-Abr 2004; 5 (2): 445-52.

55 En los ejemplos que siguen a continuación, se han utilizado varios RGTA conocidos y descritos, incluyendo OTR4120 (descrito en Khammari-Chebbi *et al.*, J Fr Ophtalmol. Mayo de 2008; 31 (5): 465-71) y OTR4131 (descrito en Frescaline G. *et al.*, Tissue Eng Part A. Jul de 2013, 19 (13-14): 1641-53. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0377) disponibles en el mercado. Además, el compuesto OTR4131 es un compuesto que comprende un radical Z que es un ácido graso, es decir, el ácido acético descrito por Virginie Coudry, *et al.* Long-Term Follow-up of Superficial Digital Flexor Tendonitis Treated by a Single Intralesional Injection of a ReGeneraTing Agent in 51 Horses Journal of Equine Veterinary Science 34 (2014) 1357-1360 y un compuesto en el que Z es un aminoácido tal como fenilalanina descrito en la Patente de Estados Unidos N.º US 7.998.922 y en la Patente de Estados Unidos N.º 8.790.631  
60 también se han utilizado en los ejemplos que siguen a continuación.  
65

En los ejemplos que siguen a continuación, la administración se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente. En otras palabras, cuando el RGTA no se mezcla en una solución única con las células, este se administró de acuerdo con los modos de administración conocidos para este compuesto.

5 De forma ventajosa, cuando el RGTA se administra a través de una composición independiente, uno de los efectos obtenidos puede ser una preparación del tejido o del órgano que se va a tratar para favorecer un implante, colonización y expansión por células seleccionadas, lo que permite que el tejido de reparación y regeneración sea más efectivo y sinérgico por la combinación RGTA y células.

10 La frecuencia de administración puede ser única o repetida cada semana o quince días o incluso mensualmente, raramente para una duración total de varios meses, dependiendo del éxito de la colonización y el número de células requeridas para inyección/administración, el tiempo necesario para la preparación del nicho antes implante.

15 Las concentraciones y dosis del RGTA administradas dependieron de las formas de administración locales o sistemáticas, frecuencias, tejidos, órganos o zonas que se van a tratar, volúmenes o ejercicio de la lesión.

20 En los ejemplos que siguen a continuación cuando la administración se lleva a cabo por vía oral, los RGTA pueden estar en solución en agua o en cualquier otra presentación oral pero también en sobrecito, cápsula blanda o cualquier otra forma compatible con una dosis oral. Además, de forma ventajosa, los RGTA administrados por vía oral tienen una resistencia a la degradación notable por el ácido y por los jugos digestivos. De forma ventajosa, el producto no tiene sabor y es perfectamente soluble en agua, la toma preferente está en forma de una solución acuosa en un volumen de 10 a 25 ml y a una concentración de 0,1 mg.ml<sup>-1</sup> con el fin de que la cantidad sea de 1 a 2,5 mg por dosis, de dos a cinco veces al día. En la mayoría de los ejemplos, estas dosis fueron por la mañana en ayunas y por la noche a la hora de acostarse para pesos de pacientes que varían de 50 a 100 kg, las dosis y frecuencias también pudiendo variar, por lo que, en general, la dosis de diaria fue entre 1 y 500 mg/día. La duración de esta administración puede ser de varios meses sin que se hayan observado efectos adversos. En particular, una dosis para un individuo de 25 mg/día durante más de un año no indujo ninguna molestia o efectos secundarios aparentes.

30 En el caso del tratamiento del tracto digestivo con células con el fin de reparar y regenerar lesiones, las cantidades de RGTA se pueden reducir ventajosamente. De hecho, de manera ventajosa las moléculas de RGTA pueden volver directamente al tejido dañado y, por ejemplo, recrear un nicho, permitiendo ventajosamente un mejor implante de células y, si fuera apropiado, favorecer su proliferación. Las dosis utilizadas en el tratamiento del tracto digestivo pueden ser, por ejemplo de 1 a 50 ml a 100 microg.ml<sup>-1</sup> al día. Se puede tratar por ejemplo de dosis idénticas o similares a las que se describen en el documento de Meddahi *et al.*, J Biomed Mater Res 60: 497-501 2002, por ejemplo para el tratamiento de úlceras gástricas o digestivas, dosis idénticas o similares a las que se describen en el documento de Alexakis *et al.*, Gut 2004; 53: 85-90 para el tratamiento de patologías de Crohn, o dosis idénticas o similares a las que se describen en el documento de Alexakis *et al.*, FASEB J. 2001, 15, 1546-1554 para tejidos dañados después de irradiación.

40 En los ejemplos que siguen a continuación cuando la administración se lleva a cabo por inyección sistémica, los RGTA estaban de preferencia en solución en suero fisiológico de calidad inyectable o cualquier otra forma compatible con la inyección, en particular soluciones con glucosa u otro excipientes habituales con polisacáridos como heparina, o mezclados con productos terapéuticos que tienen otras propiedades con la condición de que se haya evaluado el riesgo de interacciones con otros principios activos. Los RGTA se usaron en concentraciones de 0,1 a 5 mg.kg<sup>-1</sup>, de preferencia de 1 a 2,5 mg.ml<sup>-1</sup> por vía Intra-Venosa (IV) o Intra-Muscular (IM). Para esta vía de inyección, se puede tratar de una inyección única, diaria o semanal.

50 En los ejemplos que siguen a continuación cuando fue posible la administración local en o cerca del tejido o del sitio dañado fue preferente. En particular, esta vía de administración de precedente para las mucosas, por ejemplo bucales, vaginales, uretrales, digestivas con acceso endoscópico o vascular o cardíaco, y/o en las zonas de acceso más difíciles, pero susceptibles de ser directamente accesibles como la médula espinal, la zona perirretiniana, la zona intraventricular, las vías respiratorias pulmonares, o incluso durante la cirugía que abre el acceso directo o incluso directamente a través de otros tejidos u órganos con catéteres, agujas o endoscopios adaptados.

55 El RGTA también se puede administrar como una pulverización sobre una superficie de tejido en el caso de implantes de células aisladas o en láminas o incluso impregnados en soporte de materiales implantados para una colonización celular existente o futura.

60 Con respecto a las vías respiratorias, la administración también se puede considerar mediante inhalación.

Con respecto a las membranas mucosas y/o las paredes del tracto digestivo o los músculos uterinos o ligamentos, fue preferente la vía rectal o vaginal cuando era accesible.

65 Para el tratamiento de los tejidos oculares, la forma de administración preferente fue por ejemplo en colirio, por ejemplo para el tratamiento de la córnea, mediante inyección transcorneal por ejemplo para el tratamiento de la

membrana de Decemet, en el tratamiento de tejidos que revisten la parte inferior del globo ocular, por ejemplo para su uso en el tratamiento de defectos de visión, o incluso por ejemplo para el tratamiento de lesiones tisulares relacionadas con la audición, por ejemplo para el implante de células ciliares de la cóclea.

5 En los ejemplos, la administración o inyección local puede ser única, diaria o semanal, estando la dosis relacionada con la superficie o el volumen de la lesión. En particular, en los ejemplos, la concentración de RGTA era, de preferencia, con 100 microg/ml siendo la concentración preferente y el volumen utilizado elegido con el fin de cubrir la superficie dañada o para impregnar el volumen de la lesión. Por lo tanto, la inyección perilesional en el tejido u  
 10 órgano o en el sitio de 0,1 a 0,5 ml de RGTA permitió impregnar un tejido con un volumen de 5 a 100 veces superior. En la aplicación de superficie o pulverización, el RGTA penetrando por absorción, el revestimiento de la zona lesionada era suficiente. Por lo tanto de tres a cuatro « pulverizaciones » de 140 ml cada una a 5 cm de distancia de la lesión fueron suficientes para impregnar una superficie de 10 cm<sup>2</sup>, alternativamente, varios mililitros de crema, gel o pomada se pueden extender sobre el lesión o cerca y garantizar de ese modo un acceso al RGTA. Las formas galénicas de cremas, pomadas, geles, leches, espumas, emulsiones, pastas en polvo, etc., son las conocidas por los  
 15 expertos en la materia y las elegidas por sus propiedades hidrófilas e hidratantes compatibles con los polisacáridos, por ejemplo, ácido hialurónico.

En los ejemplos, otro modo de administración del RGTA utilizado fue el de la impregnación de los tejidos, por ejemplo para el caso de injertos de tejido u órgano como riñón, hígado, corazón, pulmón, piel, córnea, tímpano, músculos, nervios, tendones, ligamentos, huesos, vasos o intestinos, cólones tanto en las zonas de anastomosis como en implantes, vejiga, etc., sin que este listado sea exhaustivo. En esta realización, que se puede usar para todos los tejidos o injertos, el órgano de injerto se puede impregnar, por ejemplo ya sea sumergiéndolo en una solución de RGTA, o mediante infusión, pulverización o cualquier otro método conocido por el experto en la materia. De forma ventajosa, la impregnación de los tejidos como se ha mencionado anteriormente permite ventajosamente  
 20 recrear el microentorno del tejido. De hecho, ventajosamente el RGTA se une específicamente a los sitios de « unión a heparanos » disponibles después de la lesión e inducidos por la eliminación del injerto o la preparación del receptor de trasplante. De forma ventajosa esta fijación permite recrear un nicho que favorece la colonización por las células. Las concentraciones preferentes de RGTA fueron de 0,01 a 100 microgramos (mg) por ml La duración de la internación fue corta ya que son suficientes varios minutos. De forma ventajosa, una internación de varias horas o  
 25 día(s) puede permitir simplificar el procedimiento ya que el RGTA se puede añadir las soluciones de conservación y ser un agente protector y antiapoptótico como se describe en la técnica anterior (Barritault D., Caruelle J-P. BIP121532, « POLÍMEROS BIOCOMPATIBLES, SU MÉTODO DE PREPARACIÓN Y LAS COMPOSICIONES QUE LOS CONTIENEN »; y Yue X-L, Lehri S, Li P, Barbier-Chassefière V, Petit V, Huang Q-F, Albanese P, Barritault D, Caruelle J-P, Papy-Garcia D y Morin C. Insights on a new path of pre-mitochondrial apoptosis régulation by a glycosaminoglycan mimetic; Yue X-L *et al*, Cell Death and Differentiation, 2009, 1-12). A continuación los tejidos se expusieron a soluciones o suspensiones enriquecidas, si fuera el caso, en células de una especificidad deseada, antes o después del implante. A esta técnica se le pueden añadir extractos o lisados de plaquetas enriquecidos con factores de crecimiento.

40 Las células autólogas se añadieron con el injerto antes o después del implante ventajosamente para facilitar la colonización de las zonas de unión entre huésped e injerto favorecer el injerto. Este método permite el injerto, evita la necrosis y aumenta la recuperación funcional.

En los ejemplos, los extractos de plaquetas se administraron solos después de administrar el RGTA o con el RGTA. En este caso, la mezcla se preparó con una relación de extracto RGTA/extracto de PRP de modo que el lisado de plaquetas obtenido a partir de 10<sup>9</sup> plaquetas suspendidas en 1 ml de suero fisiológico ya sea puestas en presencia de trombina o 100 mg de RGTA. Al final de la desgranulación de las plaquetas, la solución se centrifugó a baja velocidad. El sobrenadante que contiene factores plaquetarios y el RGTA se administraron a continuación en el sitio de la lesión.

50 En otro modo de realización, los RGTA solos o mezclados con extractos propietarios (PRP) o factores aislados se inyectaron con las células terapéuticas.

En los ejemplos, la administración del RGTA se llevó a cabo a más tardar en el momento de la primera administración de las células, o de preferencia varias horas o días antes. Por lo tanto, en el caso de dosis orales de RGTA los inventores observaron que una o varias dosis diarias una semana antes de la terapia celular aumentaba el resultado final de la regeneración tisular, siendo la dosis preferente beber 25 ml del 25 ml del RGTA OTR4120 a 100 mg/ml por la mañana en ayunas y por la noche antes de acostarse durante al menos una semana. Durante una inyección IV o local de RGTA, la terapia celular podría implementarse desde el momento que seguía a la  
 60 administración de RGTA.

En los ejemplos que se describen a continuación, las células son autólogas y se administran de preferencia el mismo día que las de su toma de muestra.

65 Ejemplo 2: Ejemplo de tratamiento de una lesión tisular con la administración de RGTA y células madre mesenquimales (CSM) en un modelo murino

En el presente ejemplo, los ratones utilizados fueron 70 ratones Charles River (C57/BL6) hembra de 10 semanas de edad divididos en 7 grupos de 10 ratones y corresponden a un modelo de ratón reconocido en el estado de la técnica.

5 Se realizó una herida cutánea en la parte posterior de los ratones utilizando un punzón de 6 mm de diámetro (utilizado para biopsias clínicas) y a continuación la herida se dejó al aire libre. En cada animal se hicieron 4 heridas.

10 El polímero utilizado fue OTR4120 y se administró mediante inyección subcutánea (SC) a razón de 25 microlitros ( $\mu$ l) de una solución a 100  $\mu$ l en dos puntos (diametralmente opuestos). Las células madre mesenquimales (CSM) que provienen de médula ósea ((tibia) aislada de acuerdo con protocolos convencionales como los que se describen en « Un protocolo para aislamiento y cultivo de células madre mesenquimales a partir de médula ósea de ratón », Soleimani M, Nadri S. Nat Protoc. 2009; 4 (1): 102-6, se suspendieron en solución salina tamponada con fosfato PBS a una concentración de  $1 \times 10^6$  células por ml y se inyectaron a razón de 2 inyecciones de 50  $\mu$ l por herida en dos puntos (simétrica ortogonal a las del RGTA) en diferentes momentos y la herida se midió a los 3, 5, 7, 10 días después de la lesión.

Durante los experimentos, para cada ratón, se realizaron varias heridas y se hizo una comparación entre:

- 20 - dos inyecciones diametralmente opuestas con respecto a la herida para el RGTA,
- dos inyecciones diametralmente opuestas con respecto a la herida para los CSM, y
- cuatro inyecciones para los 4 puntos cardinales que acoplan el RGTA y el CSM

Se han definido diferentes grupos de ratones en función de la composición administrada de acuerdo con los métodos mencionados anteriormente y se detallan a continuación:

- 25 - Grupo 1 Control (Placebo): administración de Suero fisiológico en los 15 minutos que siguen a la herida/lesión.
- Grupo 2 Administración de CSM: 1 millón de CSM por administración en 2 puntos simétricos en oposición a los sitios de inyección del RGTA, 24 horas después de la lesión.
- 30 - Grupo 3: administración de RGTA después de la lesión
- Grupo 4: administración de RGTA mezclado con CSM (coinyectado)
- Grupo 5: administración de RGTA después de la lesión seguida de administración de CSM 5 minutos después.
- Grupo 6: administración de RGTA después de la lesión seguida de administración de CSM 6 horas después.
- 35 - Grupo 7: administración de RGTA después de la lesión seguida de administración de CSM 12 horas después.
- Grupo 8: administración de RGTA después de la lesión seguida de administración de CSM 24 horas después

La tabla que sigue a continuación resume los resultados que se refieren a la cinética de cierre de la herida medida en % en cada animal de acuerdo con los tratamientos. En el momento Cero, la superficie de la lesión es, por definición, un 100 % para cada animal, con respecto a la herida cerrada al valor es igual a un 0 %.

40 Tabla 1: evolución de la herida en función del tiempo

Grupo/días	0	3	5	7	10
1-PBS	100	53+/-15	29+/-15	15+/-10	5+/-5
2-CSM	100	38+/-10	20+/-5	10+/-5	0
3-RGTA	100	40+/-5	25+/-5	10+/-5	0
4-RGTA+CSM coinyección	100	35+/-5	20+/-5	8+/-5	0
5-RGTA+ CSM 5 min	100	38+/-5	20+/-5	8+/-5	0
6-RGTA+ CSM 6 h	100	30+/-5	15+/-5	5+/-5	0
7-RGTA+ CSM 12 h	100	15+/-5	5+/-5	0	0
8-RGTA+ CSM 24 h	100	10+/-5	0	0	0

45 La tabla 1 demuestra que la administración de CSM y de RGTA permite mejorar la reparación tisular y en particular permite acelerar de forma significativa la cicatrización. En particular, la administración de las células 24 horas después del RGTA permite un cierre de la herida, que es mucho mayor que el obtenido con el RGTA solo o con los CSM solos.

Un efecto comparable se obtuvo con células que provenían de adipocitos de ratón de la misma camada.

Ejemplos de la invención observados en clínica

50 Numerosos ejemplos realizados en clínica mencionados a continuación ilustran los efectos de la invención. El

producto RGTA en su forma comercial OTR4120 o CACIPLIQ® es de fácil acceso. Por el contrario, la objetivación es imposible y solo las observaciones clínicas documentan los efectos de la invención.

5 Ejemplo 3: Efecto del tratamiento combinado con RGTA y células madre mesenquimales (CSM) autólogas automático (CSM) en la cicatrización de heridas crónicas.

10 En estos ejemplos, los pacientes con diferentes tipos de heridas crónicas de diversa etiología, como úlceras diabéticas, venosas, isquémicas, úlceras por presión, quemaduras e injertos, presentaron fracaso terapéutico durante meses. Se habían sometido a ensayo varios tratamientos sin éxito, incluyendo un tratamiento local con CACIPLIQ® (RGTA OTR4120) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

15 Este experto también estaba acostumbrado a combinar la tecnología del RGTA con los estratos plaquetarios o realizar terapias celulares de CSM autólogas obtenidas tomando 5 ml de médula ósea del esternón del paciente que dio su consentimiento. La muestra filtrada y enriquecida por centrifugación de acuerdo con las técnicas descritas para CSM se suspendieron en 1,5 ml de solución salina fisiológica y la solución celular se inyectó en los bordes de la herida por vía subcutánea y en el centro de la herida. En total una docena de inyecciones de 0,1 ml según la circunferencia de la úlcera (y de acuerdo con la imagen asimilando la úlcera al cuadrante de un reloj e inyectando a cada posición de las horas). De acuerdo con este experto, el uso de RGTA solo o terapia celular no permitió la curación de la herida.

20 Una administración combinada de acuerdo con la invención de RGTA y de las células también se llevó a cabo. El CACIPLIQ® se aplicó por vía local de acuerdo con el protocolo recomendado para el producto CACIPLIQ: la solución de 5 ml a 100 µl de CACIPLIQ® (RGTA OTR4120) se vertió en una compresa de 15 x 15 cm y la compresa impregnada se aplicó 5 minutos en la herida bien limpia y a continuación se retiró. A continuación se inyectaron las CSM como se ha descrito anteriormente (ejemplo 1) en su momento después de la aplicación del RGTA. CACIPLIQ® se administró localmente dos veces por semana. Para algunos pacientes, se tomó una segunda muestra de médula ósea 3 semanas después, y los pacientes fueron tratados nuevamente como antes con una inyección de CSM. El resultado fue muy rápido ya que se observó el cierre de todas las úlceras en menos de 6 semanas.

30 También se llevó a cabo otra serie de ensayos clínicos en otros pacientes, mediante inyección de CACIPLIQ® (RGTA) y a continuación inyección de las células en la hora que siguió a su toma de muestra (el tiempo para preparar las células). El resultado fue aún más sorprendente, ya que todos los pacientes pudieron cicatrizar por completo en menos de un mes. Además, incluso señaló que algunos de estos pacientes tenían sus heridas cerradas en 15 días mientras duraban meses sin ningún signo de mejoría. Este experto nunca había observado tal rapidez, independientemente del tratamiento aplicado, especialmente durante el tratamiento con CACIPLIQ® solo o las CSM solas.

40 Por lo tanto este ejemplo demuestra claramente que la composición de acuerdo con la invención permite de manera ventajosa y sorprendente tratar eficazmente las lesiones tisulares, en particular las heridas crónicas, y permite de forma ventajosa una aceleración importante de la cicatrización.

45 Además este ejemplo demuestra claramente que la composición de acuerdo con la invención proporciona una nueva alusión a un problema para el cual no existía ninguna solución en el estado de la técnica.

50 Además, se ha observado un efecto comparable o incluso mejor en los pacientes mediante la administración conjunta de RGTA, PRP y células. En un modo de realización preferente, la administración de RGTA fue seguida por una inyección de PRP y a continuación de células, administración que se llevó a cabo por razones reglamentarias en el mismo período operativo, el RGTA se administró solo (de 1 ml a 100 mg/ml de OTR4120), con o secuencialmente PRP (que proviene de lisado de plaquetas a partir de una muestra de sangre de un paciente por ejemplo 50 ml), con los secuencialmente células autólogas mesenquimales por ejemplo, pero sin que esto tenga limitación, a diferentes fuentes de tejido.

55 En otro modo de realización, una toma de muestra de células madre mesenquimales se llevó a cabo a partir de los tejidos adiposo es del paciente que se iba a tratar por liposucción. El método de aislamiento de las CSM fue idéntico al proceso que se ha descrito en el ejemplo 1 que se ha mencionado anteriormente.

60 En otro ejemplo de tratamiento utilizando la composición de acuerdo con la invención, un paciente que presenta una herida profunda que recubre una parte de la parte inferior del pie, incluyendo el dedo gordo del pie y que comprende una zona de necrosis visible en una buena mitad de la parte inferior del dedo del pie. Un fuerte olor a descomposición llenó la sala de consulta. Un primer tratamiento mediante una terapia celular con inyecciones de 0,1 ml en varios puntos alrededor de la herida de un total de 1 ml de células mesenquimales que provienen directamente de la médula ósea del esternón del paciente se llevó a cabo sin otro éxito más que el estado de la herida se había agravado. Un segundo tratamiento utilizando la administración solo de CACIPLIQ (marca registrada) localmente no permitió mejorar la ira y permitió únicamente evitar una degradación más fuerte y « mantener » un estado de *statut quo* en la evolución y agravamiento de la herida evitando de ese modo una amputación inmediata.

Después de estos casos, una inyección de 0,5 ml en 5 puntos de 0,1 microg.ml<sup>-1</sup> a 100 microg. ml<sup>-1</sup> del RGTA (CACIPLIQ) al nivel de la unión de las zonas incluso sanas con respecto a las anecdóticas del dedo del pie después de una hora después de 5 inyecciones de 0,1 ml cada una de células que provenían directamente de una nueva extracción muestra de 0,5 ml de células por punción a nivel del esternón. Después de la administración de la composición de acuerdo con la invención se observó una regresión de la herida, permitiendo evitar cualquier amputación, llevaría hasta una curación completa de la herida. En particular, la zona necrótica se eliminó por completo y se reemplazó por la gemación de los tejidos aún sanos adyacentes a la herida brotando de tejido sano aún adyacente a la herida hasta que la herida esté completamente cubierta. En este ejemplo una secuencia de inyección única (RGTA a continuación células mesenquimales autólogas) fue suficiente para tratar a este paciente y permitió el cierre de su herida

Ejemplo 4: Efecto del tratamiento combinado con RGTA y terapia celular en la cicatrización de los tejidos óseos (referencia)

En este ejemplo, el tratamiento de una fractura con defecto de unión se llevó a cabo utilizando la composición de acuerdo con la invención.

Además la técnica anterior describió en A una asociación ineficaz y disuasoria de la administración de RGTA con una terapia celular que se llevó a cabo en el estado de la técnica pero no permitió obtener ninguna mejora de las fracturas y aquellas después de varios meses. Los resultados en heridas abiertas permitieron una notable aceleración del proceso cicatricial.

Para pacientes con una fractura de la tibia con defecto óseo (« fractura ósea sin unión ») que no han mejorado mediante la aplicación de RGTA solo o después de la administración de células de médula ósea de acuerdo con los protocolos de la técnica que se han descrito anteriormente o el descrito por (Hernigou P, Homma Y, Flouzat-Lachaniette CH, Poignard A, Chevallier N, Rouard H. Cancer risk is not increased in patients treated for orthopaedic diseases with autologous bone marrow cell concentrate. J Bone Joint Surg Am. 2013; 95: 2215-21).

Los pacientes que no respondieron ni al tratamiento con RGTA solo ni al tratamiento con células autólogas tomadas directamente de la médula ósea fueron tratados con la composición de acuerdo con la invención. Sorprendente e inesperadamente, especialmente a la vista de la enseñanza del estado de la técnica, el uso de la composición del acuerdo con la invención, en particular la combinación de RGTA con las células obtenidas a partir de la médula ósea, permitió iniciar el proceso cicatricial en estos pacientes y lograr que ningún tratamiento haya tenido éxito solo, mostrando de ese modo el interés de la invención. En particular, tres pacientes en fracaso terapéutico fueron tratados con la composición de acuerdo con la invención y se beneficiaron de este doble tratamiento. En estos casos, las células de la médula ósea se administraron 1 hora después de la administración de 1 ml de RGTA para inyección local en la zona sin unión y 1 ml de células mesenquimales, por punción desde el esternón del paciente y reinyectadas en la zona de los defectos óseos sin otra etapa de tratamiento.

También se ha practicado una combinación que comprende además extractos plaquetarios y proporciona excelentes resultados cuando se usa entre la administración del RGTA y las células. En particular, se obtuvieron resultados muy positivos durante la administración del RGTA, a continuación una hora después del PRP y a continuación células.

En este otro ejemplo, también se estudió el efecto de la composición de la invención sobre la conservación ósea y la acción sobre la necrosis isquémica de la cabeza del fémur. Se llevó a cabo tratamiento con RGTA y células o RGTA, PRP y células. Los pacientes presentando isquemia de la cabeza del fémur en etapa temprana antes de la instalación de necrosis profunda y provocando dolor severo. El tratamiento con las células RGTA y acuerdo con invención previno la destrucción de la cabeza femoral y la necesidad de cirugía para implantar una prótesis. El tratamiento consistió en la inyección local de 1 ml de RGTA OTR4131 a 10 microg.ml<sup>-1</sup> en la zona isquémica periósea cercana a la lesión, seguida 30 minutos después de la inyección local de 5 ml de células autólogas de médula ósea. tomado de la fosa ilíaca el mismo día.

En otro caso, se realizó un tratamiento conjunto con PRP, el PRP se preparó a partir de una muestra de 10 ml de sangre periférica de acuerdo con los métodos habituales y se inyectó localmente unos minutos antes de las células de la muestra. Los resultados obtenidos a través de estos dos tratamientos mostraron una conservación de la cabeza del fémur. Cabe señalar que en muchos de estos pacientes con necrosis tisular ya establecida, la desaparición completa de la necrosis sugiere un proceso de regeneración y reemplazo de tejido necrótico. La combinación del RGTA y células autólogas permite ventajosamente obtener esta regeneración con un efecto sinérgico y sorprendente, mejorado por la inyección de PRP. En este ejemplo, se estudió el efecto de la composición de acuerdo con la invención en el tratamiento de la destrucción ósea en el caso de una osteonecrosis postinfección.

La destrucción del tejido óseo es una consecuencia frecuente y una complicación del tratamiento de las heridas crónicas después de una osteomielitis de origen infeccioso bacteriano que normalmente se trata con antibióticos a largo plazo. La composición/método de acuerdo con la invención se ha implementado y ha permitido salvar y reformar el tejido óseo. La acción sinérgica del RGTA complementada con terapia celular permitió la regeneración del tejido óseo lesionado como nunca se vio con RGTA solo o con terapia celular sola. Varios pacientes tratados de

este modo con varias inyecciones locales de 0,1 ml de CACIPLIQ (OTR4120 a 100 microg.ml<sup>-1</sup>) en la parte del tejido sano alrededor de la zona necrótica, seguido de la inyección del mismo volumen de células mesenquimales tomadas del esternón del paciente sin otra preparación permitió recuperar tejido óseo antes de su destrucción completa, lo que hubiera sido imposible sin esta terapia. Cabe señalar que este tratamiento se llevó a cabo mientras se mantenía la terapia con antibióticos y que, sin embargo, no se observó un crecimiento óseo completo, permitiendo el tratamiento salvar o incluso recuperar, pero no un crecimiento *ex nihilo* de un hueso totalmente destruido.

Ejemplo 4: Tratamiento de lesiones articulares y tendinosas con un ejemplo de composición de acuerdo con la invención.

La técnica anterior describe los efectos de la inyección de RGTA solo, en particular OTR4131 en el tratamiento de las lesiones de tendones y articulaciones en caballos deportivos (Coudry V *et al.*, Journal of Equine Veterinary Science, 2014, 34 Páginas 1357-1360, David Carnicer, memoria de investigación « Preliminary report: ultrasonographic évolution of tendon lésions treated with RGTA in horses » escuela nacional veterinaria de Maison Alfort), lo mismo se aplica al uso de la terapia celular, especialmente las células mesenquimales tomadas del caballo al nivel de la fosa ilíaca o más comúnmente del esternón (Pechayre M. y Betizeau C. S0704, Congreso AVAC, 2-4 de diciembre de 2011). Congreso anual de Lyon.

El PRP también se ha utilizado en las mismas indicaciones (<http://fr.slideshare.net/dvmfun/platelet-rich-plasma-prp-therapy>)

Un estudio comparativo se llevó a cabo utilizando caballos tratados o bien combinando RGTA y las células de acuerdo con invención, RGTA y PRP, RGTA, PRP y terapia celular en comparación con un tratamiento únicamente con células.

En este ejemplo los caballos presentaban o bien lesiones tendinosas (al nivel del tendón SFD) o lesiones articulares (osteocondrosis disecante, quiste óseo subcondral, lesiones de menisco). En todos los casos, el tratamiento combinado de RGTA y células mesenquimales permitió una recuperación mucho más rápida de los caballos en la carrera (recuperación aproximadamente a los 5-6 meses es decir una ganancia de uno a dos meses en comparación con el tiempo de recuperación después del tratamiento con RGTA solo o tratamiento celular solo). Siendo esta recuperación evaluada al nivel de recuperación de la cojera, se observa un retorno más rápido al entrenamiento y a los rendimientos anteriores para casi todos los caballos tratados. Para estos caballos, el RGTA se inyectó por primera vez en la semana siguiente a la lesión del tendón con ecografía. La inyección de células se realizó según los casos, el mismo día pero después del RGTA (lo más a menudo de aproximadamente 30 minutos a hora correspondiente al tiempo necesario de preparación de las células). La inyección de RGTA en ocasiones fue seguida por varios minutos después de la inyección de PRP y después de la inyección de células autólogas.

Las cantidades de RGTA, células y PRP fueron respectivamente 1 ml de OTR4131, 1,5 ml de lisado de PRP (a partir de 10 ml de sangre extraída) y 1 ml de células autólogas y la administración del PRP y células siendo realizada una hora después de la primera inyección de RGTA.

Los mejores resultados se obtuvieron en el caso de lesiones articulares cuando las células se inyectaron mezcladas con un biomaterial, como colágeno o ácido hialurónico o una combinación de ambos. En estos casos, estos productos inyectables de calidad en solución (utilizados en cirugía plástica para arrugas o articulaciones en seres humanos) se añadieron directamente a la solución de las células antes de la inyección. La solución celular se diluyó entonces aproximadamente dos veces: 1 ml de células y 1 ml de solución de biomateriales de preferencia entre 0,1 y 3 mg.ml<sup>-1</sup>.

En otro modo de realización, se llevó a cabo una administración en bolo que comprendía o bien RGTA y células o RGTA, PRP y células. Los resultados obtenidos mostraron un tratamiento efectivo y significativamente mejor en comparación con un tratamiento que comprende la administración de solo uno de los elementos mencionados anteriormente. Además, se obtuvieron resultados aún más sorprendentes espaciando la administración de RGTA y células durante un periodo de 30 a 60 minutos a varias horas (de preferencia el mismo).

En la actualidad, el tratamiento de lesiones y problemas articulares de pacientes se lleva a cabo mediante terapias celulares y, en particular, mediante la inyección local de células mesenquimales autólogas que provienen de médula ósea o tejido adiposo.

Sin embargo, este tratamiento no permite obtener un tratamiento efectivo y presenta fallos. Además, se practicó un tratamiento utilizando la composición del acuerdo con la invención mediante la administración (inyección) de RGTA en el líquido sinovial seguido de la inyección de células mesenquimales autólogas o adipocitos autólogos en varios pacientes en fracaso de una terapia celular sola. Para hacer esto, las cantidades de RGTA y células fueron respectivamente de 1 ml a 100 microg.ml<sup>-1</sup>, de 1 a 5 ml de células autólogas enriquecidas en células mesenquimales adipocitarias por centrifugación e inyectadas el mismo día, en general de 30 minutos a una hora después de la inyección de RGTA. El tiempo de administración de la inyección de las células se llevó a cabo en la hora siguiente a la inyección de RGTA o una inyección de dos soluciones, una de RGTA seguida inmediatamente por una inyección

de las células o la administración simultánea del RGTA y de las células mediante una solución única.

La adición de ácido hialurónico después de la inyección de RGTA pero antes o con la inyección celular, así como la combinación con otros biomateriales como los colágenos de tipo 2 han dado resultados aún mejores en algunos pacientes.

Después de este tratamiento y de manera sorprendente, las lesiones y dolor asociados se han reabsorbido permitiendo ventajosamente a los pacientes caminar de nuevo de forma progresiva sin la necesidad de implantar una prótesis de rodilla y sin dolor.

En particular, en una docena de pacientes con lesiones osteocondrales, muy discapacitadas en sus movimientos y por el dolor, que habían sido tratados previamente sin éxito con células y ni con el RGTA solo. Después del tratamiento mencionado anteriormente, ocho de ellos pudieron recuperar una capacidad motora gracias al doble tratamiento de RGTA y luego células autólogas, lo que demuestra claramente las ventajas sorprendentes e inesperadas de la composición del acuerdo con la invención.

Ejemplo 5: Tratamiento de lesiones de tejidos del sistema digestivo con una composición de acuerdo con la invención

La técnica anterior describe las propiedades del RGTA en las mucosas del tracto digestivo, bucales (Morvan *et al.*, Am J Pathol. Febrero de 2004; 164 (2): 739-46), gingivales (Escartin *et al.*, FASEB J. abril de 2003; 17 (6): 644-51), a nivel de ulceraciones en el estómago o intestinos (Meddahi *et al.*, J Biomed Mater Res. 2002, 60 (3): 497-501); así como su capacidad para reducir fibrosis actuando sobre la síntesis de colágeno en células aisladas, normales o irradiadas (Alexakis C. *et al.*, FASEB J. julio de 2001; 15 (9): 1546-54) así como en biopsias de tejido de pacientes con enfermedad de Crohn (Alexakis C. *et al.*, Gut. Enero de 2004; 53 (1): 85-90). Sin embargo, no se ha observado ni identificado ningún efecto de los RGTA en las lesiones de los tejidos del sistema digestivo, en particular con respecto a la posible reparación de las lesiones.

En este ejemplo, un tratamiento que utiliza la composición de acuerdo con la invención, es decir, un RGTA y células, se ha aplicado a un paciente que padece la enfermedad de Crohn y que padece una fístula perineal desde hace varios años. En este ejemplo, el RGTA utilizado a una concentración de 100 microg.ml<sup>-1</sup> de 0,5 ml fue inyectado cerca de la fístula (0,1 ml/por inyección y en 3 sitios) seguido en los 30 minutos de la inyección de la fracción enriquecida en células de una muestra de 10 ml de liposucción) (0,1 ml por inyección en dos o tres sitios de células).

La administración de la composición de acuerdo con la invención permitió cerrar la fístula perianal, mientras que ni el RGTA solo, ni la administración de estas mismas células había permitido obtener este cierre y curación.

Un segundo paciente que se sometió a una extirpación quirúrgica de un carcinoma epidermoide muy cerca del esfínter seguido de una quimio-radioterapia que había perdido la función de su esfínter se pudo beneficiar de una inyección local de RGTA OTR4120 (de 0,1 ml a 100 microg.ml<sup>-1</sup>) en varios sitios seguidos después de 30 minutos de una inyección local de células de adipocitos autólogos (100 microlitros/inyección que provenía de un volumen inicial de liposucción de 10 ml). Después de esta administración, se observó una rápida colonización de las células del sitio de la lesión, lo que permitió al paciente una recuperación funcional del esfínter que parecía imposible.

Ejemplo 6: Tratamiento de lesiones tisulares que comprende la administración de una composición de acuerdo con la invención:

En estos ejemplos, no ha habido objetivación del efecto aditivo que combina RGTA y terapia celular, porque cada caso es aislado y único, lo que no permite una objetivación del efecto o efectos. El único criterio observado y susceptible de ser estudiado es la mejora o no del paciente después del tratamiento.

En este ejemplo, se estudió el efecto de la composición de acuerdo con la invención en la regeneración pulmonar. Los pacientes con lesiones de la mucosa pulmonar causadas por la exposición a vapores tóxicos de incendios inhalaban RGTA OTR4120 colocado en un vaporizador y las células adipocitarias autólogas se inyectaron el mismo día una hora después de la inhalación. El vaporizador contenía una solución de 100 microg.ml<sup>-1</sup> de OTR4120, y la inhalación fue durante 10 minutos permitiendo una inhalación de aproximadamente 5 ml. En la siguiente media hora, se inyectaron células autólogas tomadas el mismo día mediante liposucción (sin concentración) (5 ml por vía IV). Esta administración permitió de manera sorprendente e inesperada una recuperación rápida y funcional del paciente, es decir, una respiración mejorada mientras que el paciente tratado estaba en fallo terapéutico durante varios meses.

En este ejemplo, se observó el efecto de la composición de acuerdo con la invención en tejidos lesionados después de la instalación de un stent. Para hacer esto, se llevó a cabo una administración de RGTA por vía oral el día del establecimiento del stent y se siguió desde las 24 horas de la administración de células adipocitarias autólogas por vía I.V. (que provenían de una liposucción de 50 ml). La dosis oral de RGTA OTR4120 fue 50 ml de una solución a 100 microg.ml<sup>-1</sup> se mantuvo durante 1 mes. La inyección de células se repitió a los 10 D y a los 20 días

Se observó la recolonización de la zona lesionada después de la colocación del stent, pero no se documentó, mostrando de manera sorprendente una reendotelización de la zona de implante del stent, que nunca se había observado con RGTA solo o con células individuales.

5 En este ejemplo, el efecto de la composición de acuerdo con la invención en los tejidos lesionados aquí un músculo irradiado accidentalmente y que ha sufrido una pérdida funcional de su función. Para hacer esto una administración oral de RGTA, es decir, de 25 ml a 100 mg/ml durante dos días seguido de la administración en el área del músculo irradiado de las células, es decir, 5 inyecciones de 1 ml de una solución de células de 50 ml muestra de médula ósea  
10 solución salina. Después de la administración se realizó una evaluación de su actividad funcional. De manera e inesperada, el tratamiento permitió una recuperación motora funcional que parecía imposible.

En este ejemplo, se estudió el efecto de la composición de acuerdo con la invención en la reepitelización de la córnea. Para hacer esto se llevó a cabo una siembra el día de la toma de muestra de células extraídas a partir de la  
15 mucosa bucal del paciente en córneas previamente tratadas por vía local con dos gotas de RGTA por córnea. Este tratamiento permitió obtener una reparación del tejido lesionado y, en particular, el efecto aumentó considerablemente por la administración del CACICOL solo.

Por último, también se llevó a cabo una evaluación del efecto de un ejemplo de composición de acuerdo con la invención en una lesión de la médula espinal. Un paciente de 20 años que presentaba una degradación de la función motora después de una lesión reciente de la médula espinal que paralizó las extremidades inferiores. Un tratamiento de tres días usando un ejemplo de composición de acuerdo con invención para el cual las cantidades de RGTA y de células fueron respectivamente 25 ml/día de RGTA por vía oral de una solución a 100 mg/ml de OTR4120 y una  
20 punción local (en la zona periférica de la lesión de la médula espinal) de 1 ml en 4 puntos de células de una punción de 50 ml de médula ósea de la fosa ilíaca. Esta inyección se renovó a los 10 y 20 días, mientras que la ingesta oral diaria de RGTA se mantuvo durante un período de dos meses.

De manera inesperada y muy positiva con el paciente comenzó a recuperar una pequeña función neuro-motora después de los tres primeros días de tratamiento y de forma progresiva una ligera mejora hasta una recuperación motora.  
30

**REIVINDICACIONES**

1. Composición farmacéutica o dermatológica para su aplicación como medicamento para el tratamiento de lesiones tisulares elegidas entre lesiones del sistema locomotor, lesiones de la médula espinal, lesiones del tejido muscular, lesiones pulmonares, lesiones cutáneas, lesiones del tracto digestivo comprendiendo dicha composición
- 5 - un polímero biocompatible de fórmula general (I):  $AaXxYy$  (I) o de fórmula (II):  $AaXxYyZz$  (II) en la que:
- 10 A representa un monómero que es glucosa  
X representa un grupo  $R_1COOR_2$ ,  
Y representa un grupo  $R_7SO_3R_8$   
Z es un grupo ácido acético,  
15  $R_1$  representa una cadena de hidrocarburo alifático, opcionalmente ramificado y/o insaturado,  $R_2$  representa un átomo de hidrógeno o un catión,  
 $R_8$  es un metal alcalino elegido entre el grupo que consiste en litio, sodio, potasio, rubidio y cesio, y  $R_7$  representa un enlace,  
a representa el número de monómeros de modo que la masa de dichos polímeros de fórmula (I) es superior a 2000 daltons,  
20 x representa la tasa de sustitución de los monómeros A por grupos X, x está comprendido entre un 20 y un 150 %, y representa la tasa de sustitución de los monómeros A por grupos Y, y está comprendido entre un 30 y un 150 %, y z representa la tasa de sustitución « z » por grupos Z, z está comprendido de un 0 a un 50 %, de preferencia igual a un 30 %.
- 25 - una célula eucariota seleccionada entre células mesenquimales, células adipocitarias y células de la médula ósea.
- 30 2. Composición para su aplicación de acuerdo con la reivindicación 1 en la que dicho polímero biocompatible se administra en el tratamiento de lesiones tisulares:
- 35 - por vía intravenosa o por vía intramuscular a una dosis comprendida de 0,1 a 5 mg/kg de peso corporal, o  
- por inyección local a una dosis comprendida de 1 a 100 microgramos por mililitro,  
- por vía oral en 2 a 5 dosis iguales al día como máximo para un total diario de 10 microgramos a 5 mg/kg de peso corporal  
- por vía sublingual en ayunas de una solución acuosa concentrada de 1 a 100 mg/ml,  
- por administración en aerosol o pulverización nasal de una solución,
- 40 y en la que dicha célula eucariota se administra en el tratamiento de lesiones tisulares mediante inyección en un plazo de 5 minutos a 24 h después de la primera dosis de dicho polímero biocompatible.
3. Composición para su aplicación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en la que la composición comprende al menos un factor de crecimiento seleccionado entre el grupo que consiste en factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PGDF) o una mezcla de los mismos.
- 45 4. Composición para su aplicación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la que la composición comprende un extracto plaquetario y/o lisado plaquetario.