

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 222**

51 Int. Cl.:

A01N 43/04 (2006.01)

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

A61K 31/721 (2006.01)

A61K 31/727 (2006.01)

A61K 31/737 (2006.01)

A61P 19/04 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2010 PCT/US2010/049640**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2011 WO11037912**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2010 E 10819325 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 2480075**

54 Título: **Composiciones y métodos para inducir o mejorar la reparación del tejido conectivo**

30 Prioridad:

23.09.2009 US 272427 P

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

15.04.2021

73 Titular/es:

GLENPHARMA AB (100.0%)

Gläntv.5

757 56 Uppsala, SE

72 Inventor/es:

BUCKLEY, PETER, BYRON;

MESSMER, KONRAD y

PHILLIPS, MARK, WILLIAM

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 819 222 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para inducir o mejorar la reparación del tejido conectivo

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud está relacionada y reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. Número de serie 61/272.427, presentada el 23 de septiembre de 2009.

Campo de la invención

Esta invención se refiere a una solución acuosa que contiene un glicosaminoglicano, un polisacárido coloidal neutro y un oligómero de isomaltosa para su uso en la reparación o el tratamiento de una lesión o defecto del tejido conectivo.

10 También se describen en el presente documento composiciones y métodos para tratar y prevenir la activación plaquetaria excesiva de sujetos de sangre caliente y las secuelas patofisiológicas consecuentes, que incluyen, entre otras, el uso de tales composiciones y métodos para inducir o mejorar la reparación del tejido conectivo lesionado.

15 El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal).

Antecedentes de la invención

20 Las técnicas de reparación para tendones y ligamentos parcialmente rotos, lacerados o cortados (denominados colectivamente "cordones") varían ampliamente según la naturaleza de la lesión y el tendón/ligamento particularmente afectado. Existen grandes diferencias en el tratamiento actual de los cordones lesionados, dependiendo de la especie del sujeto (p. ej., hombres, mamíferos, aves), el grado al que se puede obtener acceso de la manera menos perniciosa, en la cantidad de excursión del cordón, el entorno circundante, las tensiones a las que normalmente están sometidos los diferentes cordones y las características de curación de los diferentes cordones. Además, a menudo no existe un consenso sobre la mejor manera general de reparar un cable determinado. Ejemplos de cordones frecuentemente lesionados que tienen diferentes técnicas de reparación aceptadas son los tendones flexores de la mano humana, el ligamento cruzado anterior (LCA) de la rodilla humana y el tendón flexor digital superficial (SDF) en el caballo.

30 Por ejemplo, la reparación de un tendón flexor largo que se ha cortado se logra típicamente suturando los extremos del tendón cortado cara a cara. Históricamente, las articulaciones a través de las cuales actúa el tendón se inmovilizaban durante tres a ocho semanas para proteger el tendón mientras sana, particularmente porque un tendón recién suturado puede soportar solo una fracción de la fuerza de tracción a la que se somete un tendón sano durante el uso normal. Sin embargo, la inmovilización del tendón puede provocar quemaduras y la formación de adherencias a lo largo del tendón, y puede afectar negativamente al rango de movimiento del tendón, particularmente en el caso de los tendones flexores.

35 Más recientemente, se ha descubierto que los tendones flexores tienen una capacidad intrínseca de curar y que el movimiento limitado en realidad acelerará la curación. Las articulaciones afectadas suelen estar parcialmente inmovilizadas para evitar la aplicación inadvertida de un exceso de fuerza.

40 En el caso de un ligamento cruzado anterior (que conecta la parte inferior del fémur y la parte superior de la tibia), las tensiones resultantes de las fuerzas aplicadas son mucho mayores, particularmente porque hay menos interacción con el tejido circundante y el hueso, la excursión del cordón es mucho menor, y las tendencias curativas son muy diferentes. A pesar de los numerosos estudios, todavía no existe un procedimiento de reparación universalmente aceptado, y los procedimientos predominantes son difíciles e intrincados. El "estándar de cuidados" actual sigue siendo la reconstrucción del LCA usando un autoinjerto de hueso-tendón-hueso (es decir, extraído del paciente). Sin embargo, existen múltiples problemas con el injerto de hueso-tendón-hueso. El LCA intacto posee importantes capacidades mecanorreceptivas y propioceptivas. La reconstrucción del injerto sacrifica estas capacidades. El autoinjerto implica una morbilidad considerable en el sitio donante. Para evitar la morbilidad del sitio donante, en ocasiones se utiliza un injerto de cadáver; sin embargo, esto conlleva el riesgo de transmisión de enfermedades.

50 En el caso de tendones rotos parcialmente, o en la manipulación quirúrgica o reconstrucción de tendones lesionados, a veces se usa una solución viscosa de hialuronano (también conocido como ácido hialurónico (HA)) principalmente como lubricante dentro de la vaina del tendón. Aunque funciona como un lubricante moderadamente eficaz en este escenario, ensayos extensivos en caballos diseñados para demostrar una mejor curación o una reducción en el tiempo de recuperación no han demostrado ningún beneficio del HA intralesional (o PSGAG, otro GAG o B-aminopropionitrilo fumarato (BAPN), los tres comúnmente recetados para la cojera equina) sobre el ejercicio controlado solo (véase Dyson S, 1977 y 2004).

En trabajos previos, y como se describe en la Patente de Estados Unidos No. 5,358,973, los presentes inventores han demostrado que una combinación de HA y dextrano también funciona como un lubricante eficaz, evitando la formación de adherencias entre superficies lesionadas opuestas, como puede ocurrir a menudo en los tendones entre el tendón y la vaina dentro de la cual normalmente se desliza libremente.

5 Con respecto a la aparición de cicatrices no elásticas después de la regeneración del tejido conectivo lesionado, es bien sabido que la curación de la piel y otros tejidos conectivos a menudo se complica por la formación de tejido cicatricial desorganizado y antiestético, como por ejemplo en heridas relacionadas, por ejemplo, con quemaduras, incisiones y úlceras. Aparte de los problemas de cicatrización en los tendones y ligamentos mencionados anteriormente, y de las obvias complicaciones estéticas y funcionales de la formación de cicatrices tópicas (piel) e
10 internas después de la mayoría de las formas de cirugía invasiva, y en la cirugía plástica (por ejemplo, aumento de senos) en particular, las composiciones descritas también se pueden aplicar para prevenir complicaciones de cicatrices en otros tejidos, que incluyen, p. ej., la prevención de la ceguera después de cicatrices debido a lesiones oculares, la facilitación de reconexiones neuronales en el sistema nervioso central y periférico mediante la eliminación de cicatrices gliales, y la restitución de la funcionalidad intestinal y reproductiva normal evitando estenosis y adherencias después de una lesión en los sistemas gastrointestinal y reproductivo.

En las indicaciones descritas anteriormente y en la reparación del tejido conectivo en general, las plaquetas desempeñan un papel fundamental y muy temprano común en la regulación de la reparación del tejido conectivo. Esto se logra en parte por la rápida liberación temprana (desgranulación) de matrices de sustancias de señalización celular (citocinas) que inician reacciones defensivas en cascada y en parte por su capacidad para unir (retraer) la red
20 de fibras de fibrina que forman la mayor parte del tapón hemostático cuando se producen coágulos de sangre. Por tanto, las plaquetas regulan la retracción, la densidad y la porosidad del coágulo de fibrina, lo que determina parcialmente la velocidad a la que las células madre, los fibroblastos y otras células implicadas en el proceso de cicatrización de heridas invaden posteriormente el coágulo hemostático (véase, S. Neuss, 2010).

De hecho, se sabe desde hace mucho tiempo que las plaquetas desempeñan un papel central en el inicio temprano de eventos que conducen a la coagulación de la sangre (hemostasia) y la respuesta inflamatoria. Durante la evolución, cuando las heridas traumáticas sucias gravemente infectadas con riesgo para la vida, a menudo con una gran pérdida de sangre, eran eventos comunes, las plaquetas y los leucocitos jugaban un papel clave en la supervivencia, funcionando como un sistema de defensa de alerta temprana rápida mediante el cual las plaquetas activadas contribuían a la inmunidad no adaptativa y la inflamación mediante la secreción rápida de quimiocinas y
30 citocinas que atraían a los leucocitos a los sitios de lesión bruta y sepsis potencial.

Actualmente, cuando los procedimientos quirúrgicos se realizan con instrumentos estériles en un entorno de baja biocarga, estas cascadas tienden a sobrepasar su función defensiva y su utilidad y, en cambio, constituyen un riesgo fisiopatológico para el paciente, precipitando complicaciones como una inflamación excesiva, trombosis postoperatoria, macro y microembolias, engrosamiento excesivo de la pared de los vasos sanguíneos (hiperplasia) y posterior reestenosis u oclusión, oclusión del catéter y desprendimiento de microembolias dañinas de plaquetas y leucocitos, que a su vez pueden desencadenar ataques isquémicos transitorios (AIT), accidentes cerebrovasculares o infartos de miocardio o puede ocluir o comprometer la microcirculación, por ejemplo, en colgajos de piel o músculos transpuestos durante una cirugía reconstructiva/plástica.

La formación de agregados plaquetarios en la superficie de las placas de ateroma y la posterior organización de estos trombos blancos en lesiones fibrosas de la íntima oclusiva es sin duda un mecanismo por el cual las lesiones ateroscleróticas progresan a una obstrucción grave y una oclusión total; la trombosis de la arteria coronaria que conduce a un infarto de miocardio casi siempre se produce en el sitio de una placa de ateroma. La angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) se ha convertido en un procedimiento importante para restablecer el flujo sanguíneo al corazón a través de vasos sanguíneos parcialmente ocluidos. Desafortunadamente, aproximadamente
40 del 30% al 40% de los pacientes que se someten a angioplastia coronaria sufren reestenosis del vaso tratado durante los 6 meses posteriores al tratamiento; actualmente, no existe ningún método confiable para prevenir la reestenosis vascular. Por lo tanto, a menudo se requiere un procedimiento de revascularización, como una cirugía de derivación u otro procedimiento de ACTP.

Estas complicaciones son particularmente devastadoras en la mayoría de las formas de cirugía vascular, pero también presentan un desafío en los procedimientos vasculares menos invasivos como la PCTA (angioplastia con balón) y en diversas afecciones médicas caracterizadas por un suministro de sangre deficiente como, p. ej., los accidentes cerebrovasculares agudos, pancreatitis aguda, congelación/gangrena, pérdida de audición, etc. Las plaquetas activadas no solo están involucradas en la etiología de estas afecciones, sino que también son fundamentales a través de su interacción con los leucocitos para desencadenar una "lesión por isquemia-reperusión", que generalmente ocurre cuando el flujo sanguíneo oxigenado se restablece al lecho vascular isquémico después de la extracción de una pinza, embolia u otra obstrucción del flujo como, por ejemplo, en el trasplante de órganos o tejidos, lisis de un coágulo que se ocluye o en la restauración del volumen sanguíneo después de un choque hemorrágico. Esta "lesión por reperusión" posterior está mediada generalmente por la liberación de radicales libres de los leucocitos que, a su vez, han sido activados por la liberación de citocinas de las
50 plaquetas activadas (véase, Salter 2001).

Así, las interacciones entre las plaquetas activadas, por un lado, y el endotelio, leucocitos, otras células, superficies y fibrina en la retracción del coágulo, etc., por otro lado, inician y definen en gran medida el destino de la defensa temprana del cuerpo contra lesiones y sepsis. La activación/desgranulación plaquetaria después de una lesión tisular es generalmente el desencadenante que activa la adhesión irreversible y la adherencia de los leucocitos al endotelio vascular y, en algunos escenarios de lesión, puede preceder al reclutamiento y la movilización de leucocitos hasta en 3-5 horas, como por ejemplo en las lesiones endotoxémicas a la microcirculación del hígado (véase, Croner, 2006). En otras situaciones, sin embargo, este lapso de tiempo puede ser solo de minutos o segundos.

Por lo tanto, los eventos que se desencadenan en gran medida por la activación de las plaquetas, como la activación de los leucocitos, la adhesión irreversible y la adherencia al endotelio de la microvasculatura después de la lesión por isquemia-reperusión (I/R), pueden usarse como indicadores indirectos de la activación plaquetaria subyacente.

Por lo tanto, se especula que los sorprendentes efectos sinérgicos de la combinación de polisacáridos y HA que se describen a continuación pueden tener una etiología multifactorial que involucra varios factores sinérgicos interrelacionados que incluyen la supresión de la activación plaquetaria, la presencia de hialuronano y cambios inducidos por polímeros en la morfología, fragilidad y lisabilidad del coágulo de fibrina formado en respuesta a la lesión aguda.

En muchos de los escenarios quirúrgicos y médicos descritos anteriormente, los polisacáridos como el dextrano y, hasta cierto punto, el HES (y, más recientemente, los GAG como el HA, como se discute en la patente de EE. UU. 5,585,361) se han utilizado durante mucho tiempo para suprimir la hiperactivación plaquetaria y sus complicaciones inflamatorias pero a menudo las dosis necesarias para lograr una protección eficaz y sostenida están por encima de las dosis seguras recomendadas de estos agentes.

Por ejemplo, los riesgos de hemorragia significativa o complicaciones renales tanto con dextrano como con HES están directamente relacionados con la dosis y, en situaciones en las que se administran heparina u otros anticoagulantes al mismo tiempo, las dosis de dextrano o HES deben reducirse u omitirse aún más para minimizar el riesgo de hemorragia.

Tanto el dextrano como el HES también son expansores del volumen sanguíneo eficaces. En algunos escenarios de tratamiento, como en los accidentes cerebrovasculares o en las gangrenas graves en las que el paciente no ha sufrido una pérdida de sangre significativa, la expansión de volumen a menudo puede ser indeseable o estar contraindicada.

Una interacción sinérgica entre el dextrano u otros polisacáridos y HA ofrece por tanto una importante ventaja terapéutica en el sentido de que el efecto deseado se puede lograr mediante dosis mucho más bajas y más seguras de cada uno de los componentes.

Una combinación sinérgica eficaz de HA junto con dextrano o HES, o ambos, por lo tanto, permite una reducción en la dosis total de dextrano o HES sin perder la supresión beneficiosa del exceso de activación plaquetaria, mejorando así radicalmente la seguridad del paciente y ofreciendo al médico una mayor flexibilidad para diseñar los regímenes de dosificación.

El documento WO2009/064617 describe soluciones acuosas que comprenden hialuronato de sodio y dextrano, y el uso de las mismas para mejorar la curación corneal.

La presente invención está destinada a mejorar y resolver algunas de estas deficiencias conocidas dentro de la técnica relevante discutida anteriormente.

Sumario de la invención

La presente invención está definida por la reivindicación independiente y las reivindicaciones dependientes de la misma.

La presente invención proporciona composiciones y métodos para atenuar la activación plaquetaria excesiva y las secuelas o complicaciones fisiopatológicas posteriores después de una lesión tisular, que incluyen complicaciones tales como trombogénesis, microembolia, reestenosis, lesión por isquemia-reperusión, inflamación y cicatrización. Las composiciones y métodos son particularmente útiles para inducir o mejorar la reparación del tejido conectivo sin la formación indebida de fibrosis y tejido cicatricial no elástico. De acuerdo con ciertos aspectos de la presente invención, las composiciones comprenden una combinación sinérgica de polímeros biocompatibles en solución acuosa en la que las combinaciones comprenden un glicosaminoglicano (GAG) junto con un polisacárido neutro y un oligómero de isomaltosa.

De acuerdo con ciertas realizaciones de la presente invención, se proporciona una composición capaz de atenuar la hiperactivación plaquetaria que comprende una solución acuosa que contiene de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 7,0% en peso de un glicosaminoglicano y de aproximadamente 1,0% a 25% en peso de un polisacárido neutro y de 0,3% a 35% en peso de un oligómero de isomaltosa. El glicosaminoglicano se selecciona de

al menos uno de hialuronano, condroitina, dermatina, queratina, heparán y heparina, mientras que el polisacárido neutro se selecciona de al menos uno de dextrano, un almidón de hidroxietilo y fucoidan.

5 De acuerdo con otras realizaciones más, el componente glicosaminoglicano puede ser hialuronano y el componente polisacárido neutro puede ser dextrano. De acuerdo con esta realización, el hialuronano tiene un peso molecular promedio en peso de aproximadamente 2 kD a aproximadamente 5000 kD, mientras que el dextrano tiene un peso molecular promedio en peso de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 100 kD.

En ciertos aspectos de la presente invención, el polisacárido neutro de la composición capaz de atenuar la hiperactivación plaquetaria puede ser un hidroxietil almidón que tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 100 kD.

10 De acuerdo con otros aspectos más de la presente invención, el oligómero de isomaltosa tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 0,4 kD a aproximadamente 4 kD.

En una forma de la misma, el glicosaminoglicano de la composición de la invención capaz de atenuar la hiperactivación plaquetaria es un hialuronano parcialmente reticulado que tiene un grado de reticulación que es inferior a aproximadamente el 25%.

15 En otras realizaciones más, la composición capaz de atenuar la hiperactivación plaquetaria comprende además al menos uno de un antioxidante, un agente secuestrante, una citocina, un factor de crecimiento, una interleucina, un agente de terapia génica, un agente viscoelástico y una célula madre.

20 Según otra realización más de la presente invención, se proporciona un método para tratar la hiperactivación plaquetaria y enfermedades asociadas, afecciones o secuelas fisiopatológicas de la misma. De acuerdo con esta realización, se administra a un sujeto una cantidad eficaz de una solución acuosa que contiene un glicosaminoglicano y un polisacárido neutro.

25 De acuerdo con ciertos aspectos ilustrativos de la presente invención, las enfermedades, afecciones o secuelas fisiopatológicas asociadas de la afección de hiperactivación plaquetaria tratada incluyen un trastorno seleccionado del grupo que consiste en trombosis, una complicación trombotica de una enfermedad aterosclerótica, una complicación trombotica de una intervención de una enfermedad aterosclerótica, una complicación trombotica asociada con daño quirúrgico o mecánico, una activación plaquetaria inducida mecánicamente, una oclusión de la derivación, trombosis seguida de daño vascular e inflamación, una indicación con un componente trombotico difuso o consumo de plaquetas, trombosis venosa, trombosis de arteria coronaria, un efecto patológico de la aterosclerosis y arteriosclerosis, una agregación plaquetaria y formación de coágulos en la sangre y productos sanguíneos durante el almacenamiento, un estado crónico o agudo de capacidad hiperagregación, una nueva oclusión de una arteria o vena después de una terapia fibrinolítica, adhesión plaquetaria asociada con circulación extracorpórea, complicaciones tromboticas asociadas con la terapia trombolítica, complicaciones tromboticas asociadas con la angioplastia coronaria y de otro tipo, complicaciones tromboticas asociadas con los procedimientos de derivación de la arteria coronaria y trastornos, procedimientos o secuelas caracterizados por cascadas inflamatorias desencadenadas por la desgranulación plaquetaria, incluido un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en una hiperplasia de la íntima, ateroma y reestenosis de arterias o venas, micro y macroembolia de plaquetas-leucocitos-fibrina, ictus, infarto de miocardio, activación elevada de leucocitos, agregación, adhesión y lesión de radicales libres en asociación con isquemia-lesión por reperfusión después de la trombólisis del coágulo, declampación, angioplastia, trasplante de órganos y tejidos, cirugía reconstructiva de recuperación de tejido o restauración del volumen sanguíneo en hipovolemia, trastornos inflamatorios de las articulaciones y las secuelas de la retracción excesiva del coágulo de fibrina, incluida la fibrosis y cicatrización en el tejido conectivo.

40 En una forma de la misma, la etapa de administrar al sujeto una cantidad eficaz de la solución acuosa comprende al menos uno de aplicar tópicamente la solución acuosa al sujeto o inyectar la solución acuosa en el sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto que está siendo tratado comprende un mamífero, como un animal de sangre caliente, incluido un ser humano.

45 En otros aspectos más de la presente invención, un método para reparar, regenerar, tratar o inducir la reparación de una lesión, un defecto o una condición de un tejido conectivo mediante la administración a un sujeto de una solución acuosa que contiene de aproximadamente 0,1% a aproximadamente el 7,0% en peso de un glicosaminoglicano, se proporciona desde aproximadamente el 1,0% hasta aproximadamente el 25% en peso de un polisacárido coloidal neutro y desde aproximadamente el 0,3% hasta aproximadamente el 35% en peso de un polisacárido cristaloides subcoloidal neutro. De acuerdo con esta realización ejemplar, el glicosaminoglicano tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 2 kD a aproximadamente 5.000 kD, el polisacárido coloidal neutro tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 100 kD y el polisacárido cristaloides subcoloidal tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 0,4 kD a aproximadamente 4 kD.

55 Descripción detallada

Las realizaciones de la presente invención descritas a continuación no pretenden ser exhaustivas o limitar la invención a las formas precisas descritas en la siguiente descripción detallada. Más bien, las realizaciones se eligen

y describen de modo que otros expertos en la técnica puedan apreciar y comprender los principios y prácticas de la presente invención.

5 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente cualquier experto en la técnica a la que pertenece esta invención, aunque cualquier método y materiales similares o equivalentes a los descritos en este documento se pueden usar en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales específicos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "tejido conectivo" incluye, p. ej., tejido de ligamentos, tejido de tendones, tejido de cartílago, piel, córnea y tejido cicatricial.

10 Como se usa en el presente documento, el término "ligamento" pretende referirse tanto a las estructuras en forma de cuerda del tejido conectivo fibroso blanco, que unen las extremidades anteriores de los huesos que interactúan, como al tejido que define una cápsula sinovial. De acuerdo con realizaciones ilustrativas y no limitantes de la presente invención, el ligamento puede ser un ligamento cruzado anterior, un ligamento cruzado posterior, un ligamento colateral tibial, un ligamento colateral peroneo, un ligamento transverso, un ligamento menisco-femoral posterior, un ligamento posterior ligamento tibiofibular superior, o ligamento colateral lateral, que es un complejo de tres ligamentos que ayuda a sostener el lado lateral de la articulación del tobillo.

20 Como se usa en este documento, el término "tendón" está destinado a definir la estructura del tejido conectivo, que une el músculo al hueso, por ejemplo, e incluye, p. ej., el tendón de Aquiles, que es un tendón formado por la unión de dos músculos, el gastrocnemio y el sóleo, que se unen en la zona media de la pantorrilla y se conocen como el complejo gastroc-soleal o Latissimus Dorsi Tendon, el tendón tibial posterior, el tendón rotuliano, la unidad músculo-tendinosa plantar flexor y el tendón del manguito rotador.

25 Como se contempla en esta invención, el implante o trasplante puede estar en el sitio de la lesión, defecto o condición o puede estar adyacente a dicha lesión, defecto o condición. La diferenciación, reparación, regeneración o tratamiento se puede controlar mediante la evaluación periódica de la formación de tejido similar a tendón/ligamentos, o el crecimiento y/o reparación de tendones o ligamentos. El progreso se puede controlar mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, rayos X (TC), ultrasonidos, MRI, artroscopia y determinaciones histomorfométricas.

30 La composición de la invención puede comprender, además de una proteína inductora de tendón/ligamento como BMP-12 o VL-1 (BMP-13), otros agentes terapéuticamente útiles que incluyen, p. ej., MP52, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento transformantes (TGF- α y TGF- β), factor de crecimiento de fibroblastos-4 (FGF-4), hormona paratiroidea (PTH), factor inhibidor de la leucemia (LIF/HILDA/DIA), factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II), plasma rico en plaquetas (PRP)) y células mesenquimales u otras células madre o progenitoras. Además, debe entenderse y apreciarse en el presente documento que porciones de estos agentes también se pueden usar en composiciones de la presente invención y tales composiciones pueden ser útiles para tratar defectos de la articulación embrionaria donde el tendón, los ligamentos y el hueso se forman simultáneamente en áreas anatómicas contiguas. ubicaciones, y puede ser útil para regenerar tejido en el sitio de unión del tendón al hueso.

40 Se contempla que las composiciones de la presente invención también se pueden usar en la curación de heridas, como la curación de la piel y la reparación de tejidos relacionados para evitar fibrosis o cicatrices no deseadas. Los tipos de heridas incluyen, p. ej., quemaduras, incisiones y úlceras.

La preparación y formulación de tales composiciones farmacéuticamente/fisiológicamente aceptables, teniendo debidamente en cuenta el pH, la isotonicidad, la estabilidad y similares, está dentro del conocimiento de la técnica, y los métodos de administración incluyen tópica, sistémica o localmente como un inyectable y/o implante o dispositivo.

45 Cuando se administra, la composición para uso de acuerdo con la presente invención está, por supuesto, en una forma fisiológicamente aceptable, libre de pirógenos. Además, la composición puede inyectarse deseablemente en una forma viscosa para su administración en el sitio del daño tisular. Además, la administración tópica puede ser adecuada para la curación de heridas y la reparación de tejidos.

50 Además, las composiciones de la presente invención pueden usarse junto con los tratamientos actualmente disponibles para lesiones de tendones/ligamentos, tales como suturas (por ejemplo, suturas de vicriol o suturas quirúrgicas de intestino) o aloinjertos o autoinjertos de tendones/ligamentos, con el fin de mejorar o acelerar el potencial de curación de la sutura o injerto. Por ejemplo, la sutura, el aloinjerto o el autoinjerto pueden empaparse en las composiciones de la presente invención antes de la implantación. También puede ser posible incorporar interleucinas o terapia génica a través de vectores en la composición de la invención o incorporar la composición sobre materiales de sutura, por ejemplo, mediante liofilización.

55 Las composiciones pueden estar en un vehículo tal como una matriz apropiada y/o un agente secuestrante. Por ejemplo, la matriz puede soportar la composición o proporcionar una superficie para la formación de tejido similar a un tendón/ligamento y/u otra formación de tejido. Con este fin, la elección de un material de soporte puede basarse

- 5 en la biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas, apariencia cosmética y propiedades de interfaz. La aplicación particular de las composiciones definirá la formulación apropiada. Las matrices potenciales para las composiciones pueden ser biodegradables y definidas químicamente. Los materiales biodegradables, como las películas de celulosa o las mallas quirúrgicas, también pueden servir como matrices. Dichos materiales podrían suturarse en el sitio de la lesión o envolverse alrededor del tendón/ligamento.
- Las clases específicas de vehículos de acuerdo con la presente invención pueden incluir matrices poliméricas, tales como polímeros de poli(ácido glicólico) y copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico. Estas matrices pueden estar en forma de esponja o en forma de partículas porosas y también pueden incluir un agente secuestrante.
- 10 Componentes opcionales adicionales útiles en la práctica de la aplicación al sujeto incluyen, p. ej., conservantes antimicrobianos tales como metil y propil parabenos y alcohol bencílico; antioxidantes tales como EDTA, hidralazina, glutatión, citrato y BHT (hidroxitolueno butilado); antibióticos, tensioactivos tales como poli(sorbatos) y poli(oxietilenos); y agentes viscoelásticos como AH de PM alto o muy alto para ajustar la viscosidad, etc.
- 15 Ventajosamente, las composiciones incluyen componentes adicionales, tales como materiales osteoinductivos u osteoconductores, medicamentos, células madre o progenitoras y armazones estructurales tridimensionales.
- Como se explicará con detalle a continuación, la presente invención se refiere al descubrimiento sorprendente de que las combinaciones descritas de polímeros biocompatibles, que comprenden un glicosaminoglicano (GAG) junto con uno o más polisacáridos neutros, actúan sinérgicamente para inducir, potenciar o acelerar la reparación y regeneración organizada de una lesión del tejido conectivo sin la formación de tejido cicatricial indeseable, fibrosis y cicatrices no elásticas.
- 20 De acuerdo con ciertos aspectos del presente documento, las composiciones y los métodos de la invención se basan en el sorprendente hallazgo de que las combinaciones de GAG y polisacáridos neutros interactúan sinérgicamente para suprimir la activación excesiva de las plaquetas después de una lesión tisular, bloqueando o atenuando así una amplia gama de cascadas inflamatorias implicadas en la etiología de muchas complicaciones médicas y quirúrgicas.
- 25 Dado el papel crucial de la activación plaquetaria excesiva en la etiología de una amplia gama de procesos patofisiológicos y complicaciones, incluidos los descritos anteriormente, la regulación de la activación plaquetaria excesiva por las composiciones descritas en este documento puede ser una herramienta invaluable para reducir el riesgo de vida indeseable o las complicaciones potencialmente mortales de tratamientos quirúrgicos o médicos.
- 30 La supresión sinérgica de la activación plaquetaria excesiva por la combinación de polímeros actualmente descrita afecta naturalmente a muchos otros procesos fisiológicos y cascadas en las que la activación plaquetaria juega un papel clave. Un ejemplo bien documentado es la formación y retracción de un coágulo de sangre o trombo, que implica una cascada compleja de eventos mediados por una serie de sustancias señalizadoras liberadas principalmente por plaquetas atrapadas en la red de fibras de fibrina del coágulo del coágulo o trombo. La estabilización y retracción del coágulo en particular está mediada por plaquetas activadas que unen y acercan las fibras de fibrina componentes, aumentando la densidad del coágulo y reduciendo la porosidad (ver Carr y Carr, 1995).
- 35 Naturalmente, cualquier supresión de la función plaquetaria a este respecto afectará a estos procesos, reduciendo las fuerzas de retracción que unen la red de fibrina, reduciendo la densidad del coágulo y aumentando su porosidad y penetrabilidad a las células madre mesenquimales invasoras (MSC) y los fibroblastos, los cuales secretan enzimas fibrinolíticas que les permitirá penetrar mejor en el coágulo de fibrina. No es sorprendente que la facilidad y la velocidad a la que estas células progenitoras penetran en el coágulo sean factores importantes para acelerar la regeneración ordenada de las fibrillas de colágeno (véase Neuss, S., 2010).
- 40 Al mismo tiempo, la polimerización de la fibrina para formar la red de fibras del coágulo se modifica radicalmente por la presencia de los coloides en la composición, ya que las fibras formadas son mucho más gruesas pero también menos densas y más fáciles de lisar por las CMM y las propias enzimas del cuerpo.
- 45 Este efecto adicional sobre la morfología y la porosidad de la malla de fibrina permite una lisis y eliminación más rápidas del coágulo o trombo desorganizado inicial, allanando el camino para el influjo más temprano de fibroblastos y otras células involucradas en la reparación organizada. Los presentes hallazgos indican sorprendentemente que este último aspecto puede ser particularmente importante en la reparación de tendones o ligamentos rotos cuando es importante que los coágulos de fibrina formados en la lesión (desgarro o lesión) por filtración de sangre o linfa de capilares rotos no formen tejido cicatricial no elástico desorganizado persistente, sino que sean lisados endógenamente en una etapa temprana para crear espacio y un entorno organizado para la neogénesis de fibrillas de colágeno alineadas principalmente coaxialmente y obtener una máxima elasticidad.
- 50 Tanto los glicosaminoglicanos (GAG) como los polisacáridos (como los dextranos o HES) son polímeros que contienen mezclas de moléculas de diferentes tamaños, cada una compuesta de unidades básicas repetidas, que para los polisacáridos son glucosa y para los GAG como HA son disacáridos compuestos de ácido D-glucurónico y DN-acetil-glucosamina.
- 55

Debido a que los polímeros son polidispersos, no tienen un peso molecular exacto, pero deben definirse por pesos moleculares promedio en peso (Mw) o promedio en número (Mn), o más precisamente por una curva de distribución de peso molecular. Como se usa en este documento, los términos Mw y Mn pretenden implicar los significados definidos anteriormente. Además, el uso de la expresión "dextrano 60", por ejemplo, o "HES 130", etc., significará un dextrano con un Mw de aproximadamente 60.000 Daltons (o 60 kD), así como "HES 130" significará HES con un Mw de aproximadamente 130.000 Daltons (o 130 kD).

Estos polímeros también son "polidispersos". Por ejemplo, aproximadamente el 80% de las moléculas en el dextrano 60 de grado clínico (es decir, Mw = 60kD o 60.000 Daltons (Da)), referido en el Ejemplo 1 a continuación, generalmente estará entre 14kD y 115kD pero el dextrano 60 también contiene porciones significativas (> 5%) de dextranos pequeños en los intervalos 0,5kD - 10kD final, y una proporción similar de moléculas muy grandes que superan los 200 kD.

Los componentes GAG de la invención pueden incluir, p. ej., proteoglicanos naturales y los restos glicosaminoglicanos de proteoglicanos. Los GAG pueden estar sulfatados como condroitina, dermatina, queratina o heparán, o pueden no estar sulfatados como hialuronano (HA) o heparina. Alternativamente, se pueden usar análogos de glicosaminoglicanos, como sulfato de dextrano o sulfato de pentosano. De acuerdo con todavía otras realizaciones en este documento, se puede usar hialuronano (HA). Algunos de los denominados GAG "reticulados", como HA reticulado (p. ej. Synvise (Genzyme)), contienen un contenido relativamente bajo de material reticulado. En tales casos, cuando la mayoría de las moléculas existen como HA libre no unido, la preparación se considera HA para los propósitos de esta invención.

El hialuronano se degrada rápidamente en la circulación por al menos dos formas de hialuronidasa. Por tanto, la semivida intravascular (en plasma) de un HA de alto peso molecular (por ejemplo, que tiene un Mw de 2.000 kD) es relativamente corta, generalmente menos de una hora, dependiendo de la dosis total administrada. A nivel celular, el HA se degrada progresivamente por una serie de reacciones enzimáticas que generan polímeros de tamaños decrecientes, las diversas fracciones pequeñas a menudo desencadenan diferentes vías de transducción de señales.

Por tanto, puede administrarse un HA de alto peso molecular mediante inyección parenteral y funcionar como profármaco para la generación in vivo de fracciones más pequeñas como las fracciones de HA utilizadas en el Ejemplo 1. En el Ejemplo 1 siguiente sobre los efectos de HA y polisacáridos en la activación plaquetaria, se investigaron los efectos de varias fracciones agudas de HA con pesos moleculares (Mw) entre 1,53 kD y 250 kD. Aunque todas las fracciones dentro de este intervalo redujeron significativamente la activación plaquetaria, los efectos fueron más pronunciados a un Mw de aproximadamente 2,67 kD.

A diferencia del HA, los dextranos normalmente no se degradan en el plasma, sino que solo los descompone el hígado, el sistema retículo-endotelial (RES). Por tanto, las semividas intravasculares (plasmáticas) de los dextranos son mucho más prolongadas que las de HA, desde aprox. 30 minutos para pequeños fragmentos de dextrano de Mw aprox. 1 kD hasta más de 10 horas para el dextrano de 70 kD, en parte dependiendo de la función renal, ya que las moléculas más pequeñas de aprox. 20kD se excretan libremente a través de los riñones (véase, Arfors, Buckley, 1997). La semivida plasmática de HES depende de Mw, pero también es mucho más larga que para HA.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las semividas de tanto HA como de los polisacáridos pueden ser mucho más prolongadas cuando se administran en tejidos con un suministro de sangre relativamente escaso, como el tejido conectivo (por ejemplo, cartílago, tendón, ligamento, cornea, etc.) o en compartimentos avasculares, como el espacio sinovial (articulación).

Por lo tanto, es posible para los expertos en la técnica ajustar las dosis y las proporciones relativas y los pesos moleculares de cada componente en las combinaciones de polímeros descritas para hacer formulaciones "a medida" para una duración óptima del efecto en cada aplicación y tejido específicos, y para cada tipo de tejido específico y alcance de la lesión.

Un componente polisacárido específico de las composiciones descritas es el dextrano clínico que, al igual que otros polímeros, se produce como una mezcla de moléculas de diferentes tamaños que varían en tamaño desde oligómeros de isomaltosa con Mw de aproximadamente 0,3 kD hasta macromoléculas con Mw muy por encima de 100 kD. Las fracciones de dextrano dentro de esta amplia gama de pesos moleculares están bien documentadas para suprimir la activación plaquetaria excesiva y sus secuelas fisiopatológicas posteriores, incluida la activación de leucocitos, trombogénesis, etc. (véase, Arfors, Buckley, 1997).

Como se indicó anteriormente, el peso molecular de la fracción de dextrano utilizada determinará su semivida plasmática o tisular, particularmente si la mayor parte de la fracción se encuentra por debajo del umbral renal para el dextrano, que es aproximadamente 20 kD. Por lo tanto, moléculas muy pequeñas de dextrano (p. ej., oligómeros de isomaltosa) se eliminan rápidamente de la circulación. Sin embargo, cuando se estudian diferentes fracciones de dextrano a concentraciones plasmáticas equivalentes o fijas, sus efectos sobre las plaquetas y las cascadas posteriores parecen ser esencialmente similares, al menos para las fracciones de dextrano dentro del intervalo de Mw "clínico" aceptado (aprox. 0,5 kD a aproximadamente 110 kD).

Steinbauer et al., 1997 y 1998, por ejemplo, no encontraron diferencias significativas entre los efectos de las fracciones de dextrano con valores de Mw de 1 kD, 40 kD, 60 kD, 70 kD, 110 kD y 150 kD en un marcador sustituto de activación plaquetaria, adherencia de leucocitos, en un modelo estándar de lesión por isquemia-reperusión de hámster 30 minutos después de la reperusión. Sin embargo, como se esperaba, las mediciones en puntos de tiempo posteriores después de la reperusión reflejaron semividas plasmáticas más cortas de las fracciones de dextrano más pequeñas particularmente. Así, en el Ejemplo 1 a continuación, se eligió una fracción amplia representativa de dextrano 60 en la que el 80% de las moléculas se encuentran entre aprox. 14 kD y 180 kD y > 5% están por debajo de aprox. 10 kD para representar el intervalo clínico de Mw del dextrano de 1 kD a 110 kD con efectos específicos del dextrano sobre la activación y desgranulación de las plaquetas y la posterior adherencia de los leucocitos 30 minutos después de la reperusión.

El componente polisacárido de la invención, que se utilizará en combinación con uno o más de los GAG anteriores, puede constar de una o más fracciones de un polisacárido neutro clínicamente aceptable, como un dextrano, o un almidón sustituido como hidroxietil almidón (HES) o fracciones biocompatibles de polietilenglicol (PEG) o fucoidan.

El componente polisacárido puede ser una pequeña fracción subcoloidal (Mw <15 kD) tal como oligómeros de isomaltosa (es decir, dextrano hidrolizado) o manitol. Alternativamente, puede ser una fracción coloidal de mayor peso molecular donde la mayoría de las moléculas de polisacárido se encuentran por encima de los umbrales renal y capilar (> 20 kD), como Dextran 40 o 60 o HES 130 o 200. El componente polisacárido puede ser alternativamente una mezcla farmacéuticamente aceptable de polisacáridos tanto subcoloidales como coloidales.

En otro aspecto más de la presente invención, el componente polisacárido es una mezcla bimodal de una fracción subcoloidal de dextrano (también conocido como oligómeros de isomaltosa) y una fracción coloidal de dextrano.

Las secuelas o complicaciones para las que se puede usar la composición descrita para prevenir o tratar incluyen, p. ej., cualquier consecuencia patofisiológica o indeseable, activación plaquetaria excesiva directa o indirecta, que incluya p. ej. trombogénesis, formación de macro y micro-embolias, hiperactivación de leucocitos, formación de ateroma o hiperplasia y reestenosis, lesión por isquemia-reperusión y retracción excesiva del coágulo de fibrina, incluida la curación subóptima de las lesiones del tejido conectivo, lo que da como resultado cicatrices no elásticas o formación de fibrosis en los cordones, la piel o la córnea.

En un aspecto de la presente invención, se proporciona un método de tratamiento o profilaxis de una condición traumática o isquémica en un sujeto de sangre caliente (por ejemplo, un ser humano). De acuerdo con este aspecto de la presente invención, el método comprende administrar a un sujeto una composición terapéutica que contiene ácido hialurónico (HA) y un polisacárido neutro en una dosis eficaz para inhibir la activación, adherencia y agregación excesivas de plaquetas dentro del sistema vascular del sujeto. En ciertos aspectos, la condición traumática o isquémica es un accidente traumático, como una lesión contusa o penetrante y puede implicar una pérdida importante de sangre, una fractura, un tendón o ligamento roto, un traumatismo intencional, como una operación quirúrgica, particularmente una cirugía mayor prolongada, pérdida de sangre u oclusión vascular, que puede conducir al desarrollo de émbolos pulmonares (por ejemplo, trombosis iliofemoral, trombosis de la vena mesentérica y síndrome de Budd-Chiari).

En una forma de la presente, la presente invención es particularmente útil para tratar o prevenir trombosis o microembolias en pacientes que no han sufrido una pérdida importante de sangre y, por lo tanto, que pueden no tolerar grandes dosis de dextrano u otros expansores de volumen como, por ejemplo, en un accidente cerebrovascular hemorrágico. En otra forma de la presente, la afección isquémica es la trombosis arterial, particularmente la trombosis de la arteria coronaria, en la que la activación adicional de plaquetas puede ser perjudicial.

De acuerdo con otros aspectos más de la presente invención, se proporciona un método para prevenir o reducir la trombogénesis o la formación de microembolias en un sujeto de sangre caliente con riesgo de desarrollar tales complicaciones. De acuerdo con este aspecto de la presente invención, a un sujeto se le administra una composición terapéutica que contiene ácido hialurónico más polisacárido en una dosis eficaz para inhibir la adherencia y agregación de plaquetas. De acuerdo con una realización ejemplar de este aspecto de la invención, el sujeto puede tener un mayor riesgo de desarrollar un trombo debido a una condición médica que interrumpa la hemostasia, incluyendo trombocitopenia inducida por heparina, enfermedad de las arterias coronarias, aterosclerosis, embarazo, accidente cerebrovascular, neoplasia, obesidad, lupus eritematoso sistémico, síndrome nefrótico, policitemia vera, enfermedad inflamatoria intestinal, homocistinuria, hiperhomocisteinemia, hemoglobinuria paroxística nocturna, shock e insuficiencia cardíaca congestiva. En otros aspectos, el mamífero puede tener un mayor riesgo de desarrollar un trombo o microembolia debido a un procedimiento médico, que incluye cirugía cardíaca, derivación cardiopulmonar, cateterismo, angioplastia coronaria transluminal percutánea y aterotomía, así como procedimientos que implican la colocación de una prótesis sintética o bioprotésica (por ejemplo, una válvula cardiovascular).

Debe entenderse y apreciarse en el presente documento que de acuerdo con algunos de los aspectos descritos de la presente invención, la combinación de HA y polisacárido puede administrarse sistémica o localmente. Además, la

administración de HA y polisacárido puede ocurrir antes, durante o después de un procedimiento médico o quirúrgico, o tratamiento con otros agentes (por ejemplo, agentes trombolíticos).

En otro aspecto más de la presente invención, se proporciona un método para inhibir la adherencia de las plaquetas a la superficie de un dispositivo protésico recubriendo el dispositivo con ácido hialurónico más polisacáridos en una cantidad suficiente para inhibir la interacción de las plaquetas con la superficie del dispositivo antes de la exposición del dispositivo a las plaquetas. De acuerdo con este aspecto de la invención, el dispositivo puede estar hecho de cualquier material biocompatible adecuado, total o parcialmente sintético; que se use comúnmente en procedimientos médicos. En ciertas realizaciones, el dispositivo protésico es una válvula coronaria, un injerto vascular o un stent.

En otro aspecto más de la presente invención, se proporciona un método para inducir o mejorar la reparación y regeneración del tejido conectivo o piel lesionados sin la formación indeseable de tejido cicatricial no elástico. De acuerdo con esta realización, la composición descrita se pone en contacto con el tejido conectivo lesionado, tal como un tendón o ligamento, piel o córnea.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la invención también proporciona métodos para tratar lesiones intra y extraarticulares en un sujeto (por ejemplo, un mamífero) poniendo en contacto los extremos de un tejido roto del sujeto con las composiciones de la invención. De acuerdo con este aspecto de la presente invención, las lesiones intraarticulares incluyen, por ejemplo, desgarros de meniscos y ligamentos, mientras que las lesiones extraarticulares incluyen, por ejemplo, lesiones del ligamento, tendón o músculo.

De acuerdo con ciertos aspectos de la presente invención, se proporciona un método para tratar la inflamación aguda de una articulación como, por ejemplo, después de un traumatismo o sobrecarga aguda como en la osteoartritis de rodilla relacionada con lesiones (deportivas) introduciendo las composiciones descritas en la articulación. Debe entenderse y apreciarse en el presente documento que los métodos y composiciones de la invención también se pueden usar de manera similar para tratar estados inflamatorios crónicos tales como trastornos articulares artríticos reumatoides en los que recientemente se ha informado que la liberación de citocinas de plaquetas activadas juega un papel clave en la generación de la inflamación (véase, Boilard, 2010).

En este contexto, puede observarse que se ha demostrado que la inyección de dextrano solo (fracciones mono o bimodales) en articulaciones inflamadas reduce la inflamación y el dolor, según lo informado por uno de los presentes inventores en la patente de EE.UU. nº 5,902,800. Si bien es conocido por los expertos en la técnica que el HA endógeno de alto peso molecular está presente en el líquido sinovial articular y que el ajuste de la viscosidad o las propiedades lubricantes de la solución de dextrano puede realizarse mediante la adición de agentes viscoelásticos (que podrían incluir HA), los presentes inventores no conocen ninguna enseñanza o sugerencia en la que se dé una interacción sinérgica específica entre dextrano y HA en términos a sus efectos actualmente descritos, o con respecto a estos, en la activación plaquetaria y sus secuelas asociadas, incluida la inflamación, o en sus nuevos efectos sinérgicos sobre la regeneración del tejido conectivo lesionado.

A la luz de los nuevos efectos sinérgicos del dextrano y el HA como se describe en este documento, todo experto en la materia podría diseñar estrategias de dosificación más racionales y flexibles para la enfermedad inflamatoria de las articulaciones, particularmente cuando la expansión de volumen de la articulación sinovial inducida por polisacáridos en exceso es indeseable o está contraindicada. En este sentido, la combinación de HA con altas concentraciones de moléculas muy pequeñas de dextrano u oligómeros de isomaltosa (Mw 0,3 kD - 10 kD) reducirá el exceso de expansión de volumen y los efectos secundarios asociados con dextranos de alto Mw, pero aún así cumplirá las condiciones para la sinergia con HA, como se describe a continuación.

Además, los hallazgos descritos en el Ejemplo 1 a continuación, indican que la sinergia entre dextrano y HA es óptima cuando HA tiene un Mw bajo (<250 kD). Dado que la degradación enzimática de HA de alto Mw ocurre en la sangre circulante, la administración intravascular de HA de alto Mw (p. ej. Mw 2.000 kD) en el torrente sanguíneo funcionará como un profármaco para el suministro de restos de HA con Mw más bajos al tejido inflamado.

En los compartimentos avasculares, sin embargo, como el espacio sinovial (articular), esta rápida degradación no ocurre. Dado que el espacio sinovial normalmente contiene HA endógeno con un Mw muy alto (> 3000 kD) y hay poco acceso a la hialuronidasa circulante, la velocidad de degradación (y la generación de restos de HA <250 kD) es sustancialmente más lenta que en la sangre. Por tanto, la inyección de dextrano solo en la articulación (es decir, su mezcla in vivo con HA endógeno de Mw muy alto) no creará las condiciones óptimas para promover la interacción sinérgica entre dextrano y HA ya que el Mw del HA sinovial es demasiado alto.

Aunque el Mw del HA sinovial endógeno a menudo es más bajo en los brotes inflamatorios graves de la articulación, rara vez cae por debajo de 2000 kD, aún mucho más alto que el intervalo óptimo de Mw del HA (<250 kD) para el dextrano u otro polisacárido. Por lo tanto, de acuerdo con ciertos aspectos de la presente invención, un método para tratar un trastorno inflamatorio de las articulaciones en animales de sangre caliente (incluidos los humanos) puede comprender la inyección intraarticular de una co-mezcla de un polisacárido neutro biocompatible, tal como dextrano, oligómeros de isomaltosa, HES, PEG o fucoidan y HA, que pueden tener un Mw por debajo de 2.000 kD, o más

específicamente por debajo de 500 kD. De acuerdo con este aspecto de la presente invención, el Mw del dextrano puede estar entre aproximadamente 0,3 kD y aproximadamente 110 kD.

5 Debe entenderse y apreciarse en este caso, sin embargo, que los métodos descritos actualmente no excluyen la adición de una cantidad adecuada de HA de alto o muy alto peso molecular (lineal o reticulado) u otros agentes viscoelásticos únicamente con el fin de ajustar la viscosidad o lubricación como se menciona en la patente de EE.UU. nº 5,902,800.

10 En ciertos aspectos específicos de la presente invención, el componente HA de la composición descrita, cuando se usa para la administración sistémica en la sangre en la prevención de la activación o adhesión plaquetaria y sus secuelas patofisiológicas, se administra en el intervalo de aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 600 mg/kg, en el que el componente polisacárido de la composición para el mismo propósito se da en el intervalo de aproximadamente 3 mg/kg a aproximadamente 2000 mg/kg.

La viscosidad de la composición descrita de HA y polisacárido como solución debe ser menor de 1000 centipoise y mayor de 15 centipoise. Los pesos moleculares de los componentes tanto de HA como de polisacárido se pueden ajustar de acuerdo con la viscosidad deseada para una concentración específica de HA y polisacárido.

15 De acuerdo con determinadas realizaciones, el peso molecular medio del HA es superior a aproximadamente 1,5 kD; más específicamente, entre aproximadamente 2,6 kD y aproximadamente 3000 kD e incluso más específicamente, entre aproximadamente 100 kD y aproximadamente 2000 kD. En otras realizaciones más, el peso molecular medio del polisacárido está entre aproximadamente 0,3 kD y 110 kD, más específicamente entre aproximadamente 0,5 kD y aproximadamente 70 kD, e incluso más específicamente, el polisacárido tiene una
20 distribución de peso bimodal obtenida mezclando un polisacárido con peso molecular muy bajo con un intervalo de Mw de aproximadamente 500 D a aproximadamente 10 kD junto con un polisacárido de mayor peso molecular con un intervalo de Mw de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 75 kD.

25 Para la administración local de la solución de HA y polisacárido en el sitio de acción pretendida que previene la activación plaquetaria excesiva o la retracción del coágulo, la concentración del componente HA se encuentra entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 7% y el componente de polisacárido se encuentra entre aproximadamente el 1% y aproximadamente 32% y la viscosidad de la combinación de HA más polisacárido se encuentra en el intervalo de aproximadamente 20 centipoise a aproximadamente 300.000 centipoise.

30 De acuerdo con ciertas realizaciones de la presente invención, la composición es una solución acuosa de biopolímeros que contiene hialuronano en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 7% (p/v), y dextrano o HES, en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 25% (p/v), el hialuronano tiene un peso molecular promedio en peso (Mw) dentro del intervalo de aproximadamente 1,5 kD a aproximadamente 6.000 kD, el dextrano tiene un Mw dentro del intervalo de aproximadamente 0,3 kD a aproximadamente 110 kD y el HES tiene un Mw dentro del intervalo de aproximadamente 10 kD a aproximadamente 500 kD.

35 De acuerdo con otras realizaciones más de la presente invención, se proporcionan métodos para implantar o inyectar la combinación polimérica descrita anteriormente en una lesión, defecto o condición del tejido que necesita tal tratamiento, mientras que de acuerdo con otras realizaciones más, las composiciones son útil para regenerar tejido conjuntivo, y se puede administrar a un área que tiene lesión o pérdida de tejido conjuntivo, tal como hueso, cartílago, tendón y ligamento.

40 Las ventajas y mejoras de los procesos, métodos y composiciones de la presente invención se demuestran en los ejemplos conocidos. Estos ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden limitar o excluir otras realizaciones de la presente invención.

Ejemplo 1

45 Se investigaron los efectos de varias fracciones concentradas de hialuronano (HA) y dextrano con respecto a adhesiones irreversibles y coágulos de plaquetas en la microcirculación in vivo en un modelo estandarizado de intestino delgado de ratón mediante microscopía de fluorescencia intravital utilizando plaquetas marcadas ex vivo con rodamina-6G infundida i.v. durante la reperfusión.

50 Bajo anestesia, se sometieron ratones Balb/c hembras a laparotomía de la línea media y se exteriorizó suavemente un segmento yeyunal; se indujeron 90 minutos de isquemia intestinal por oclusión de la arteria segmentaria mediante microclip, seguido de reperfusión durante 30 minutos para simular la lesión por isquemia-reperfusión (I/R). Esta lesión estándar indujo un aumento muy significativo en la adhesión irreversible de plaquetas y la adhesión al endotelio de arteriolas y vénulas en comparación con los controles simulados.

55 A otros grupos de animales se les administraron dosis intravenosas (i.v) bajas (10-30 mg/kg) de varias fracciones concentradas (monoméricas) diferentes de HA libre de pirógenos puro, desde un Mw de 1.530D hasta un Mw de aproximadamente 250.000D. Todos los grupos consistieron en 5 o 6 animales, valores registrados como media +/- SEM. Tanto a los niveles de dosis de 30 mg/kg como a los de 10 mg/kg, todas las fracciones de HA redujeron

significativamente los efectos de la lesión por I/R sobre la adhesión irreversible de plaquetas y la adhesión en las arteriolas ($p < 0,05$ vs. I/R).

5 Se obtuvieron los siguientes resultados cuando se compararon los efectos de la dosis más baja de HA (10 mg/kg) sobre la activación plaquetaria con dosis muy bajas de dextrano 60 (5 mg/kg) y con combinaciones de estos mismos polímeros en las mismas dosis en el mismo modelo.

10 En las arteriolas, la adherencia firme de las plaquetas se redujo de una media de 805 mm² en el grupo sometido a I/R solo, a una media de 410 mm² en los sometidos a I/R seguido de HA (10 mg/kg). La adherencia plaquetaria media en los que recibieron 5 mg/kg de dextrano 60 solo después de I/R fue de aproximadamente 190 mm². El valor medio correspondiente para el grupo que recibió una combinación de 10 mg/kg HA y 5 mg/kg Dextran 60 después de I/R fue 130 mm² ($p < 0,05$ vs. I/R).

15 La adhesión irreversible de plaquetas en las arteriolas respondió a I/R, HA y Dextran 60 de una manera similar; I/R indujo un fuerte aumento en la laminación de plaquetas de 2 mm⁻¹ por s/mm (simulado) a 30 mm⁻¹/s/mm, mientras que 10 mg/kg de HA después de I/R redujeron la adhesión irreversible a 24 mm⁻¹/s/mm. Dextran 60 solo (a 5 mg/kg) redujo la adhesión irreversible después de I/R a aproximadamente 21 mm⁻¹/s/mm mientras que la combinación de 10 mg/kg HA + 5 mg/kg Dextran 60 redujo la adhesión irreversible después de I/R a 6 mm⁻¹/s/mm. ($p < 0,05$ vs. I/R).

A pesar de los sorprendentes efectos antiadherentes anteriores tanto del HA como del dextrano en las arteriolas, en el lado venular, la adhesión plaquetaria no se redujo significativamente ni con 10 mg/kg de HA ni con 5 mg de Dextran 60.

20 Sin embargo, la adhesión irreversible de plaquetas en las vénulas se redujo significativamente tanto con HA solo como con dextrano solo y en un grado mucho mayor con la combinación de 10 mg/kg de HA + 5 mg/kg de dextrano (los valores correspondientes para la simulación, I/R, 10 mg/kg HA, 5 mg/kg de Dextrano y siendo la combinación HA/Dextrano: 3, 34, 20, 15 y 10 mm⁻¹/s/mm, respectivamente).

25 Por tanto, en el momento elegido (30 minutos después de la reperfusión) tanto el HA como el dextrano inyectados por separado en dosis muy bajas redujeron significativamente la activación plaquetaria intensa y la adherencia inducida en 90 minutos de isquemia.

La combinación de una dosis muy baja (5 mg/kg) de dextrano (es decir, a una dosis demasiado baja para ejercer cualquier expansión de volumen, hemodilución u otros efectos reológicos en la circulación) administrada junto (simultáneamente) con HA revirtió los efectos de I/R en las plaquetas con un efecto mucho mayor que el HA o el dextrano administrados por separado y solo; por lo tanto, exhibiendo un efecto sinérgico pronunciado.

30 Como se señaló anteriormente, todas las fracciones de dextrano dentro del intervalo de peso molecular "clínico" (1 kD a 110 kD) exhiben una supresión similar bien documentada de la hiperactividad plaquetaria y de cascadas inducidas por plaquetas posteriormente, como las involucradas con la activación y el reclutamiento de leucocitos, a concentraciones intravasculares equivalentes. Por esta razón, una fracción relativamente amplia de dextrano 60 en la que aproximadamente el 80% de la distribución de masa molar se encuentra entre 14 kD y 180 kD con fracciones significativas (> 5%) en los intervalos de 0,5 kD - 10 kD y 190 kD-210 kD se utilizó como dextrano representativo en el Ejemplo 1 anterior.

40 Aunque la semivida intravascular del AH es mucho más corta que la del dextrano, debería ser suficiente para reforzar sinérgicamente los efectos del dextrano en la atenuación de la activación plaquetaria excesiva y la desgranulación en la fase temprana crucial después del trauma cuando se desencadenan inicialmente las cascadas inflamatorias. La supresión de esta fase temprana en la generación en cascada es importante si se quieren prevenir las complicaciones posteriores del exceso de activación plaquetaria.

45 Por lo tanto, una combinación justa de AH i.v. y el dextrano no solo aseguran el máximo control del exceso de hiperactividad plaquetaria justo en la fase inicial crucial de la activación plaquetaria inmediatamente después del trauma, sino que también permiten un control sostenido durante un período más largo de hasta 8-10 horas (por ejemplo, durante la noche después de la cirugía) para asegurar una óptima prevención de complicaciones. A este respecto, el uso de HA solo para suprimir las plaquetas hiperactivadas no es una opción en muchos escenarios de tratamiento.

Ejemplo 2

50 Como antecedentes, los tendones y ligamentos son la principal causa de sufrir un "tiempo de inactividad" en las industrias relacionadas con los equinos. La lesión del tendón flexor digital superficial (SDFT) en particular es a menudo una lesión que limita la carrera con una alta incidencia de nuevas lesiones (véase, Dyson S, 2004). Estas lesiones llevan mucho tiempo para curarse y gastan recursos valiosos con la plétora de nuevas opciones de tratamiento generalmente ineficaces que se ofrecen en la actualidad. Aunque se han reivindicado algunos avances limitados, como por ejemplo con las células madre autólogas, el tiempo de inactividad (tiempo de convalecencia improductivo) todavía supera los 12 meses (véase Stashak, 2002, p. 617).

Estudios previos que emplearon hialuronano intralesional (HA) (Dyson S, 1977, 2004) concluyeron que "no parece haber ningún beneficio en el tratamiento con hialuronano o PSGAG en comparación con un ejercicio controlado solo".

5 Por lo tanto, se estableció un estudio para investigar si los resultados históricos previamente deficientes en el tratamiento de lesiones del tendón SDF con hialuronano (HA) al 1% intralesional solo podrían mejorarse mediante la inyección intralesional de una combinación de hialuronano con una mezcla de polisacáridos coloidales y subcoloidales (GLV11 codificado, que constaba de 1% de HA (Mw aprox. 500 kD), 10% de dextrano 70 y 1,2% de oligosacáridos de isomaltosa como se describe en la presente invención).

10 La combinación de HA y dextrano se inyectó directamente en la lesión en el núcleo del tendón, no en la vaina o los tejidos adyacentes, para diferenciar claramente entre sus propiedades lubricantes físicas y su sorprendente capacidad ahora revelada para acelerar la regeneración del tejido conectivo lesionado en el núcleo del tendón.

15 Hasta la fecha, se habían incluido en el estudio 246 caballos con evidencias ultrasónicas de lesiones agudas del tendón o del ligamento suspensorio. La población en cuestión incluía todas las razas principales, sexo, edad y niveles de rendimiento: 54% de razas estándar, 12% de cuarto de milla, 8% de pura sangre, 8% de caballos de barril, 13% de cazadores y 4% de otros.

20 Las edades se encontraban entre los 3 y los 17 años, siendo la edad media de 7,12 y la edad mediana de 7. El 50% de los caballos tenían lesiones suspensorias, el 31% tenían lesiones superficiales del tendón flexor y el 13% tenían lesiones en el ligamento XYZ o en el ligamento sesmoideo distal. Las lesiones se encontraban entre el 1% y el 80% en los tendones y entre el 5% y el 50% por daño del ligamento suspensorio. De estos caballos, el 69% estaban castrados, el 25% eran sementales y el resto yeguas.

Métodos:

25 Todos los caballos fueron sometidos a una ecografía entre las 24 y 48 horas posteriores a la lesión. Las áreas de las lesiones se prepararon quirúrgicamente y GLV11 se inyectó asépticamente por vía intralesional a una dosis de aproximadamente 1 cc por cm cúbico de tejido dañado. Se aplicó un Gelocast y se cambió después de 48 horas. El segundo Gelocast se retiró después de 48 horas adicionales.

30 Cuando era posible, los caballos se sometían a terapia con agua durante los siguientes 14 días. En el caso de que la terapia con agua no estuviera disponible, el caballo se paseaba manualmente dos veces al día durante 40 minutos. Después del día 18, el caballo volvía a un trabajo ligero durante 14 días y luego reanudaba el entrenamiento después de un examen con ultrasonidos de seguimiento. La mayoría de los caballos se ejercitaban 6 millas al día al trote extendido. A continuación, se permitía que los caballos reanudaran la carrera o la exhibición de acuerdo con las decisiones de los entrenadores.

Resultados hasta la fecha: De las 246 lesiones agudas de tendones/suspensiones (ligamentos) tratadas hasta la fecha, el 94% habían regresado a la competición en menos de 50 días y el 92% permanecía sano durante un mínimo de 3 meses o 12 carreras, según la raza.

35 Esto es drásticamente comparable con los 12 meses que normalmente se requieren para que un caballo vuelva al tratamiento de carreras con HA solo. Según la Dra. Sue Dyson, una autoridad internacional líder en lesiones de tendones equinos, la incidencia de lesiones recurrentes en tendones de caballos tratados con 1% de HA solo variaba de aproximadamente 20 a 57% en un estudio realizado previamente por ella en una población de caballos similar (véase, Dyson S., 2004). Otros datos históricos sobre lesiones de tendones indicaban que solo el 20-60% de estos caballos regresan a las carreras. Alrededor del 80% se vuelven a lesionar en las carreras y el 44% de los caballos de exhibición también se vuelven a lesionar.

Conclusiones:

45 Teniendo en cuenta la amplia gama de edades, razas y variaciones de sexo de los caballos, el tiempo de retorno a los niveles de rendimiento, dadas las distintas lesiones, fue extremadamente corto. Esta sorprendente reducción en el "tiempo de inactividad", junto con las tasas muy bajas de lesiones recurrentes indican que la combinación de HA con oligómeros isomaltosa y dextrano coloidal no solo acelera la reparación del tendón/ligamento, sino que también restaura la fuerza y elasticidad de estos tejidos hasta su condición original previa a la lesión.

50 Los resultados exhibidos muestran de manera bastante objetiva mediante imágenes ecográficas y un retorno temprano a la carrera normal sin tasas indebidas de nuevas lesiones que la regeneración y la curación sostenida de lesiones ocurren en menos de una cuarta parte del tiempo normalmente requerido en caballos tratados convencionalmente con un ejercicio controlado o con hialuronano, PSGAGr o BAPN solo. A este respecto, los beneficios económicos de reducir el "tiempo de inactividad" del rendimiento para la industria equina son muy importantes. Los mismos beneficios en términos de reducción del sufrimiento y los costos también se aplican a las lesiones del tejido conectivo humano, especialmente a las lesiones de tendones y ligamentos en deportistas o

55 pacientes con traumatismos.

Los resultados de los estudios equinos muestran que no solo el tiempo de recuperación se reduce significativamente, sino que también las tasas de nuevas lesiones, después de la reanudación de las carreras, son sorprendentemente bajas, lo que indica que la elasticidad y fuerza de las nuevas fibrillas de colágeno regeneradas en la lesión son bien comparables con aquellos en el tendón no lesionado, es decir, que la regeneración de la mayoría de las fibrillas de colágeno se ha producido en una buena alineación coaxial con el gradiente de tensina. Esto contrasta con el problema de la cicatrización no elástica desorganizada y la neogénesis de colágeno subóptima persistente, que se sabe que ocurren durante al menos 14 meses después de la lesión del tendón cuando la lesión se deja curar sin un tratamiento específico (véase Williams, IF, 1985).

Con respecto a la prevención de tejido cicatricial no elástico después de una lesión aguda del tendón u otro tejido conectivo, los presentes inventores especulan que otros factores o componentes de la composición descrita también pueden contribuir a la sorprendente sinergia observada en los ejemplos anteriores entre los componentes clave de la composición descrita.

Está bien documentado, por ejemplo, que el hialuronano (HA) se encuentra en tejidos embrionarios y fetales en concentraciones mucho más altas que en los tejidos correspondientes en adultos. Dado que las heridas fetales cicatrizan con una respuesta inflamatoria mínima y sin cicatrices evidentes, y esto parece (véase, en el trabajo in vitro de Olutove, O, 1997) estar relacionado con la presencia de HA, es tentador especular que el componente HA de las presentes composiciones inventivas puede contribuir a los sorprendentes resultados descritos in vivo en este documento. Sin embargo, otros autores (véase, Dyson, S, 1997 y 2004) no han podido mostrar ninguna mejora significativa en la reparación del tendón utilizando HA solo en un extenso ensayo in vivo con 219 caballos.

También está bien documentado que la fibrina formada en presencia de polímeros de carbohidratos neutros como dextrano, hidroxietil almidón (BBS) o fucoidina, tiende a formar fibras mucho más gruesas durante la polimerización, y el coágulo resultante es más frágil y más fácil de lisar por las enzimas fibrinolíticas endógenas tPA (véase, Strauss 1985 Carr, 1995).

Referencias:

1. DYSON S.J., Treatment of superficial digital flexor tendonitis: a comparison of conservative management, sodium hyaluronan and glycosaminoglycan polysulphate, Proc. Am. Ass. Equine Practurs. 43, 297-300, 1977;
2. DYSON S.J, Medical Management of Superficial Digital Flexor Tendonitis: A Comparative Study in 219 horses (1992-2000) Equine Veterinary Journal 2004; 36: 415-419;
3. WILLIAMS et al., Development of collagen fibril organization and collagen crimp patterns during tendon healing, International Journal of Biological Macromolecules. Vol 7, Issue 5, Oct 1985, Pages 275-282;
4. NEUSS S. et al., Secretion of fibrinolytic enzymes facilitates human mesenchymal stem cell invasion into fibrin clots. Cells Tissues Organs. 2010; 191(1):36-46;
5. SALTER J W, W, et al., Platelets modulate ischemia/reperfusion-induced leukocyte recruitment in the mesenteric circulation. Am J Physiol GastroIntest Liver Physiol. 2001 Dec; 281(6):G1432-9;
6. CRONER RS, et al. Hepatic platelet and leukocyte adherence during endotoxemia. Crit Care 2006 Feb;10(1):R15;
7. OLUTOYE OO, et al Hyaluronic acid inhibits fetal platelet function: implications in scarless healing. J. Pediatr Surg. 1997 Jul; 32(7):1037-40;
8. STRAUSS RG, et al., Effects of hydroxyethyl starch on fibrinogen, fibrin clot formation, and fibrinolysis. Transfusion. Volume 25, Issue 3, ages 230-234, May-June 1985;
9. CARR, M. et al., Fibrin structure and concentration alter clot elastic modulus but do not alter platelet mediated force development. Blood Coagulation & Fibrinolysis. 6(1):79, Feb. 1995;
10. ARFORS K. E, et al., Pharmacological characteristics of artificial colloids. (1997) Bailliere's Clinical Anaesthesiology, 11 (1), pp.15-47;
11. STEINBAUER M, et al., Effects of dextran on microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle. Am. J. Physiol. 272: H1710-H1716, 1997;
12. STEINBAUER M, et al., Impact of dextran on micro vascular disturbances and tissue injury following ischemia/reperfusion in striated muscle. Shock, 9, 5, 345-351, 1998;
13. STASHAK T S, (ed) Adams' Lameness in Horses 5th Edition, pages 612-617 Publisher: Lippincott, Williams & Wilkins (June 2002);
14. BOILARD E., et al., Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. Science, 2010, Jan 29: 327(5965); 580-3.

15. Bowling BA, Dart AJ, Hodgson Dr, et al. Superficial Digital Flexor Tendonitis in the Horse. *Equine Veterinary Journal* 2000; 32: 369-378;
16. Ross MW, Dyson SJ, Superficial Digital Flexor Tendonitis, IN: Ross MW, Dyson SJ, eds *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*, St. Louis: Saunders, 2003; 628-643;
- 5 17. Silver 1A, Brown PM, Goodship AE; A Clinical and Experimental Study of Tendon Injury, Healing and Treatment, in the Horse. *Equine Veterinary Journal Supplement* 1983; 1: 1-43;
18. Davis CS, Smith RW, *Diagnosis and Management of Tendon and Ligament Disorders*. In: Aver JA, eds. *Equine Surgery* 3rd edition St. Louis: Saunders, 2006; 1086-1111;
- 10 19. Chesan AB, Dabarciner RM, Chattin M, Carter GK. Tendonitis of the Proximal Aspect of the Superficial Flexor Tendon in Horses: 12 cases (2000-2006) *JAVMA* June 1, 2009, Volume 234, November 11 1432-1436;
20. Szabo R, Langa V, Klein M, The Inhibition of Flexor Tendon Adhesions. *Bull Hosp JT Dis Orthopedic Institute*; 1986 Spring; 46 (1); 16-21;
21. Robinson RJ, Brown JW, Deschner WB, Highes B, King H., *Annual of Thoracic Surg.* 1984 June; 37 (6): 488-490;
- 15 22. Eriksson M, Saldeen T; Effect of Dextran on Plasma Tissue Plasminogen Activator (T-PA) and Plasminogen Activator Inhibitor- 1 (PAT-1) During Surgery. *Acta Anesthesiol Scand.* 1995 Feb; 39 (2): 163-166 ; y
23. Smith RkW, *Ultronographic Imaging of the Flexor Tendons in a Clinical Context*. *Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association*, Jan 28- Feb 1, 2008 Moscow Russia, p. 269-273.

REIVINDICACIONES

1. Una solución acuosa que contiene de 0,1% a 7,0% en peso de un glicosaminoglicano (GAG) seleccionado de al menos uno de hialuronano, condroitina, dermatina, queratina, heparán y heparina, de 1,0% a 25% en peso de un polisacárido coloidal neutro seleccionado de al menos uno de dextrano, un hidroxietil almidón y fucoidan, y de un 5 0,3% a un 35% en peso de un polisacárido cristalóide subcoloidal neutro que es un oligómero de isomaltosa, en el que el glucosaminoglicano (GAG) tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 2 kD a aproximadamente 5.000 kD, el polisacárido coloidal neutro tiene un peso molecular medio ponderado de aproximadamente 20 kD a aproximadamente 100 kD y el polisacárido cristalóide subcoloidal neutro tiene un peso 10 molecular medio ponderal de aproximadamente 0,4 kD a aproximadamente 4 kD, para su uso en la reparación, regeneración, tratamiento o inducción de la reparación de una lesión o un defecto en un tejido conectivo.
2. Una solución acuosa para su uso según la reivindicación 1, en la que el tejido conjuntivo se selecciona de al menos uno de un tendón, un ligamento, cartílago, hueso, piel y una córnea y tejido cicatricial.
3. Una solución acuosa para su uso según la reivindicación 1, en la que la solución acuosa se implanta para aumentar la reparación directa del tejido conectivo.