(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 809 999**

(51) Int. CI.:

A61L 27/36 (2006.01)
A61L 27/48 (2006.01)
A61F 2/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2011 E 18160345 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020 EP 3351273**

(54) Título: **Preparación de supercóntigos de tejido regenerativo**

(30) Prioridad:

25.03.2010 US 317443 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.03.2021

(73) Titular/es:

LIFECELL CORPORATION (100.0%)
5 Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940, US

(72) Inventor/es:

OWENS, RICK, T.;
SUN, WENDELL;
LIU, MIKE y
MAO, YONG

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

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

Preparación de supercóntigos de tejido regenerativo

La presente descripción se refiere a dispositivos para tratar defectos o lesiones de tejido u órgano, incluidos supercóntigos de tejido para tratar defectos de tejido.

Actualmente, los materiales humanos, animales y sintéticos se usan en procedimientos médicos y quirúrgicos para aumentar el tejido o reparar o corregir los defectos de tejido. Para ciertos propósitos, se necesitan materiales con formas preformadas estables. Por ejemplo, para ciertos defectos óseos y defectos de tejido blando, se requieren dispositivos estructurados tridimensionales estables que se corresponden con el sitio de defectos y permiten la regeneración de tejido con una estructura deseada. Sin embargo, varios dispositivos y métodos para reparar o corregir defectos de tejido u órgano han tenido ciertas desventajas.

En consecuencia, existe la necesidad de dispositivos mejorados con mejor estabilidad para aplicaciones médicas.

Se describe un método para fabricar un supercóntigo de tejido. El método comprende disolver un polímero en un disolvente para preparar una solución; mezclar la solución con una acellular tissue matrix (matriz de tejido acelular ATM) en forma de partículas para crear una mezcla; colocar la mezcla en un molde; secar la mezcla para formar un supercóntigo de tejido con una forma tridimensional estable, en donde el supercóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano que el polímero solo.

Se proporciona un supercóntigo de tejido. El supercóntigo de tejido comprende una ATM en forma de partículas y un polímero, en donde la ATM está envainada en el polímero, de manera que el supercóntigo de polímero rodea completamente las partículas de la ATM, para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular, y en donde el supercóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano que el polímero solo.

La invención se limita a las reivindicaciones adjuntas.

Se describe un método para tratar un defecto de tejido. El método comprende seleccionar un supercóntigo de tejido que tiene una forma tridimensional estable, comprendiendo el supercóntigo una ATM en forma de partículas; y un polímero, en donde la ATM está envainada en el polímero para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular; identificar un defecto en un tejido u órgano; e implantar el supercóntigo de tejido en el defecto.

La patente WO2004/069296 describe un método para formar un implante de tejido en 3D, el método comprende liofilizar una matriz acelular y a continuación rehidratarla con una solución polimérica biocompatible antes de implantarla.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra la implantación de un supercóntigo de tejido en un defecto, según ciertas realizaciones.

La figura 2 es un diagrama de flujo que muestra un proceso para producir un supercóntigo de tejido, según ciertas realizaciones.

La figura 3 es un gráfico de los datos de la differential scanning calorimetry (calorimetría diferencial de barrido - DSC) de una porcine acellular dermal matrix (matriz dérmica acelular porcina - pADM) tratada con disolventes orgánicos, según el ejemplo 2.

La figura 4 es un gráfico de datos de DSC de pADM en presencia de polímeros, según el ejemplo 2.

La figura 5A es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende poli-4-hidroxibutirato (P4HB) con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 5B es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y P4HB con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 5C es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende P4HB con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 5D es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y P4HB con magnificacion 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 6A es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende P4HB con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 6B es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y P4HB con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 6C es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende P4HB con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 6D es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y P4HB con magnificacion 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 7A es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende policaprolactona (PLC) con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 7B es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y PLC con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 7C es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende PLC con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 7D es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y PLC con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 8A es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende PLC con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 8B es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y PLC con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 8C es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende PLC con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 8D es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y PCL con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 9A es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende éster bencílico de ácido hialurónico (BHA) con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 9B es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y BHA con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 9C es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende BHA con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 9D es un explante subdérmico de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y BHA con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 10A es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende BHA con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 10B es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende explante pADM y BHA con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 10C es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende BHA con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 10D es un explante subdérmico de doce semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende pADM y BHA con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 11A es un explante de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende quitosana y pADM con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 11B es un explante de ocho semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende quitosana y pADM con magnificación 100x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 11C es un explante de cuatro semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende quitosana y pADM con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

La figura 11D es un explante de ocho semanas teñido con hematoxilina y eosina que comprende quitosana y pADM con magnificación 400x, según el proceso descrito en el ejemplo 2.

Descripción de realizaciones ilustrativas

Las etapas de los métodos descritos en la presente memoria pueden llevarse a cabo en cualquier orden adecuado o simultáneamente cuando corresponda.

El término "matriz de tejido acelular", como se utiliza en la presente memoria, se refiere generalmente a cualquier matriz de tejido que está prácticamente exenta de células y/o componentes celulares. La piel, partes de la piel (p. ej., dermis), y otros tejidos tales como vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fascia, cartílago, hueso y tejido conjuntivo nervioso pueden usarse para crear matrices acelulares dentro del alcance de la presente descripción. Las matrices de tejido acelular pueden probarse o evaluarse para determinar si están prácticamente exentas de célula y/o componentes celulares de varias maneras. Por ejemplo, los tejidos procesados pueden inspeccionarse con microscopía de luz para determinar si permanecen células (vivas o muertas) y/o componentes celulares. Además, ciertos ensayos se pueden usar para identificar la presencia de células o componentes celulares. Por ejemplo, se pueden usar ADN u otros ensayos de ácido nucleico para cuantificar los materiales nucleares restantes dentro de las matrices de tejido. Generalmente, la ausencia de ADN restante u otros ácidos nucleicos será indicativa de la descelularización completa (es decir, la retirada de células y/o componentes celulares). Finalmente, se pueden usar otros ensayos que identifican los componentes específicos celulares (p. ej., antígenos de la superficie) para determinar si las matrices de tejido son acelulares.

La presente descripción proporciona supercóntigos de tejido tridimensionales para tratar defectos en tejidos u órganos. Los supercóntigos de tejido pueden incluir una ATM que tiene la capacidad biológica para soportar la regeneración tisular. En algunas realizaciones, los supercóntigos de tejido pueden soportar el crecimiento celular y la diferenciación. Por ejemplo, los supercóntigos se pueden usar para el crecimiento de tejido, cirugía ortopédica, aplicaciones periodontales, remodelación tisular, restauración tisular, cirugía plástica, cirugía cosmética y sustitución de tejido perdido, por ejemplo, debido a una lumpectomía, parotidectomía, o extirpación de tumores, como se describe más adelante. En una realización, los supercóntigos de tejido producen una respuesta de tejido regenerativo, como se demuestra por la presencia de células tipo fibroblastos y vasos sanguíneos.

Además, los supercóntigos de tejido pueden incluir uno o más materiales poliméricos, como se describe más adelante. En ciertas realizaciones, los supercóntigos de tejido de la presente descripción pueden aumentar la aceptación del componente polimérico mediante la atenuación o reducción de la respuesta inmunológica o inflamatoria. Como se utiliza en la presente memoria, los componentes poliméricos pueden incluir polímeros sintéticos y/o polímeros naturales. En ciertas realizaciones, los materiales poliméricos en los supercóntigos de tejido pueden proporcionar una estructura tridimensional estable a la ATM, lo que aumenta la integración del implante y la biocompatibilidad. Como se utiliza en la presente memoria, se entenderá que la estructura tridimensional estable se refiere a un material que tiende a mantener una forma predeterminada (p. ej., formada para conformarse a un sitio de implante) cuando está en un estado de reposo.

En varias realizaciones, los supercóntigos de tejido de la presente descripción se pueden usar para el tratamiento en numerosos sitios anatómicos diferentes. Según varias realizaciones, los supercóntigos de tejido pueden usarse en una amplia variedad de aplicaciones. Ciertas aplicaciones ilustrativas incluyen, aunque no de forma limitativa, apósito de absorción, regeneración dérmica (por ejemplo, para tratamientos de todos los tipos de úlceras y quemaduras), regeneración de nervios, regeneración de cartílago, regeneración de tejido conjuntivo o reparación (por ejemplo, tendón/ligamento del manguito), regeneración ósea, aplicaciones periodontales, revestimiento de espuma/heridas, vendaje integrado, sustrato/base para injertos de piel, regeneración vascular, cirugía estética, recubrimiento de implante de metal y/o polímero (por ejemplo, para aumentar la integración del implante y la biocompatibilidad), y sustitución de tejido perdido (p. ej., después de traumatismos, reducción de senos, mastectomía, lumpectomía, parotidectomía, o extirpación de tumores). En una realización, el uso de supercóntigos de tejido que comprenden una acellular tissue matrix (matriz de tejido acelular - ATM) en forma de partículas; y un polímero; en donde la ATM se envaina en el polímero para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular, y en donde el supercóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida una vez colocado en un humano que el polímero solo, para su uso en al menos uno de apósitos absorbentes, regeneración dérmica, regeneración de los nervios, regeneración del cartílago, regeneración o reparación del tejido conjuntivo, regeneración ósea, aplicaciones periodontales, revestimiento de espuma/heridas, vendaje integrado, como un sustrato o base para injertos de piel, regeneración vascular, cirugía estética, recubrimiento de implante de metal y/o polímero y sustitución del tejido perdido.

El supercóntigo de tejido provoca una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano comparado con el polímero o polímeros utilizados para producir el supercóntigo solo. En algunas realizaciones, el efecto del supercóntigo de tejido en el huésped se puede probar mediante varios métodos. En algunas realizaciones, el efecto del supercóntigo de tejido en el huésped puede probarse mediante la medición de la respuesta inmunológica o inflamatoria al supercóntigo implantado. En algunas realizaciones, la respuesta inmunológica o inflamatoria al supercóntigo de tejido se puede medir mediante varios métodos. En algunas realizaciones, la respuesta inmunológica o inflamatoria se puede medir utilizando métodos histológicos. Por ejemplo, el supercóntigo explantado se puede teñir y observar en el microscopio para la evaluación histológica, como se describe más adelante. En algunas realizaciones, la respuesta inmunológica o inflamatoria al

supercóntigo se puede demostrar midiendo el número de células inflamatorias (p. ej., leucocitos). En algunas realizaciones, la respuesta inmunológica o inflamatoria atenuada al supercóntigo puede demostrarse mediante un número reducido de células inflamatorias, como se describe más adelante. Por ejemplo, las células inflamatorias se pueden medir mediante métodos de tinción inmuno-histoquímica diseñados para identificar linfocitos, macrófagos y neutrófilos. También se pueden usar métodos inmuno-histoquímicos para determinar la presencia de citoquinas inflamatorias, incluidas interleulina-1, TNF-alfa, y TGF-beta. En una realización, se proporciona el uso de ATM para reducir la respuesta inmunológica de un material polimérico cuando se implanta en el cuerpo. El tejido polimérico puede incluir polímeros sintéticos o naturales.

En una realización, se proporciona un supercóntigo de tejido que produce una respuesta de tejido regenerativo. El supercóntigo puede incluir una matriz de tejido acelular (ATM) en forma de partículas; y un polímero; en donde la ATM se envaina en el polímero para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular, y en donde el supercóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano que el polímero solo. La respuesta de tejido regenerativo se demuestra por la presencia de células tipo fibroblastos y vasos sanguíneos.

En varias realizaciones, los supercóntigos de tejido de la presente descripción se pueden usar para tratar cualquiera de una amplia variedad de trastornos. Los defectos de tejido pueden surgir de diversas condiciones médicas, que incluyen, por ejemplo, malformaciones congénitas, lesiones traumáticas, infecciones y resecciones oncológicas. Por lo tanto, los supercóntigos de tejidos pueden usarse para reparar defectos en cualquier tejido blando, p. ej., tejidos que conectan, soportan o rodean otras estructuras y órganos del cuerpo. Los supercóntigos de tejido también pueden usarse para tratar defectos óseos, p. ej., como un injerto articular para soportar la regeneración del cartílago. El tejido blando puede ser cualquier tejido no óseo.

Los supercóntigos de tejido pueden usarse para tratar tejidos blandos en muchos sistemas de órganos diferentes. Estos sistemas de órganos pueden incluir, aunque no de forma limitativa, el sistema muscular, el sistema genitourinario, el sistema gastrointestinal, el sistema integumentario, el sistema circulatorio y el sistema respiratorio. Los supercóntigos de tejido también son útiles para tratar tejido conjuntivo, que incluye la fascia, una capa especializada que rodea los músculos, huesos y articulaciones, del pecho y de la pared abdominal y para reparar y reforzar la debilidad tisular en anatomía urológica, ginecológica y gastroenterológica.

En otra realización, el defecto de tejido u órgano se selecciona del grupo que consiste en piel, hueso, cartílago, menisco, dermis, miocardio, periostio, arteria, vena, estómago, intestino delgado, intestino grueso, diafragma, tendón, ligamento, tejido neural, músculo estriado, músculo liso, vejiga, uretra, uréter y gingival. En una realización, el uso de supercóntigos de tejido que comprenden una matriz de tejido acelular (ATM) en forma de partículas; y un polímero; en donde la ATM se envaina en el polímero para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular, y en donde el supecóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano que el polímero solo, para su uso en la regeneración, reparación, y/o sustitución de un defecto en al menos uno de piel, hueso, cartílago, menisco, dermis, miocardio, periostio, arteria, vena, estómago, intestino delgado, intestino grueso, diafragma, tendón, ligamento, tejido neural, músculo estriado, músculo liso, vejiga, uretra, uréter, y gingival.

Por ejemplo, la figura 1 ilustra la implantación de un supercóntigo de tejido en un defecto de cartílago, según ciertas realizaciones. Como se muestra, un supercóntigo 180 de tejido se puede usar para tratar un defecto de cartílago en un hueso largo 500 (p. ej., fémur o húmero). En varias realizaciones, un supercóntigo 180 se puede usar para tratar una superficie articular o cartílago 510 de cualquier articulación. En varias realizaciones, el supercóntigo 180 de tejido se puede colocar en un defecto o área escindida de una superficie articular o cartílago 510.

Como se observó anteriormente, el supercóntigo 180 de tejido comprende una ATM y un polímero. En algunas realizaciones, la ATM comprende tejidos de dos fuentes de tejido diferentes, por ejemplo, el cartílago 190 y el hueso desmineralizado 200. En algunas realizaciones, el supercóntigo 180 de tejido se puede usar para reparar otros defectos de tejido u órgano. En algunas realizaciones, el supercóntigo 180 de tejido puede comprender dermis y cartílago. En algunas realizaciones, el supercóntigo de tejido comprende cartílago 190 sin hueso desmineralizado 200. En algunas realizaciones, el supercóntigo 180 de tejido puede comprender hueso desmineralizado 200 sin cartílago 190. En algunas realizaciones, el supercóntigo 180 de tejido puede comprender dermis.

En ciertas realizaciones, un método para fabricar un supercóntigo de tejido comprende disolver un polímero en una solución; mezclar la solución con una ATM en forma de partículas para formar una mezcla; y moldear y dar forma al supercóntigo de tejido en una estructura tridimensional estable eliminando el disolvente.

La figura 2 ilustra la preparación de un supercóntigo de tejido tridimensional. Los supercóntigos pueden incluir una ATM (etapa 100). En algunas realizaciones, la ATM puede derivarse de, por ejemplo, dermis, cartílago, hueso, hueso desmineralizado, vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fascia o tejido conjuntivo nervioso. En algunas realizaciones, la ATM en forma de partículas comprende partículas de tamaño uniforme. En algunas realizaciones, la ATM en forma de partículas comprende una ATM dérmica. En algunas realizaciones, la ATM dérmica es una matriz de tejido humano. En algunas realizaciones, la ATM dérmica es una matriz de tejido porcino. En algunas realizaciones, la ATM en forma de partículas es una matriz de tejido de cartílago, que se deriva de cartílago humano.

En algunas realizaciones, la matriz del tejido de cartílago se deriva de cartílago porcino. En algunas realizaciones, la ATM en forma de partículas comprende una matriz de tejido óseo. En algunas realizaciones, la matriz de tejido óseo se deriva del hueso humano. En algunas realizaciones, la matriz de tejido óseo se deriva de hueso de porcino.

La ATM puede seleccionarse para proporcionar una serie de diferentes propiedades biológicas y mecánicas. Por ejemplo, la ATM se puede seleccionar para permitir el crecimiento y la remodelación tisular, para permitir la regeneración del tejido que se encuentra normalmente en el sitio donde se implantará la matriz. Por ejemplo, la ATM, cuando se implanta sobre o dentro del cartílago, puede seleccionarse para permitir la regeneración del cartílago sin excesiva fibrosis o formación de cicatrices. Además, la ATM no debe provocar una reacción inflamatoria excesiva y, finalmente, debe ser remodelada para producir un tejido similar al tejido huésped original. En algunas realizaciones, la ATM comprende colágeno, elastina y canales vasculares. En ciertas realizaciones, la ATM puede incluir ALLODERM® o Strattice™, que son matrices dérmicas acelulares de porcino y humano respectivamente. Ejemplos de estos materiales pueden encontrarse en las patentes US-6.933.326 y US-7.358.284. Alternativamente, se pueden usar otras matrices de tejido acelular adecuadas, como se describe más adelante.

Una ATM en forma de partículas se puede preparar mediante molienda criogénica (cryomilling) de ATM (etapa 110). La ATM en forma de partículas puede derivarse de muchas fuentes diferentes de tejido. Las fuentes de tejido pueden ser, por ejemplo, dermis, cartílago, vasos sanguíneos óseos, válvulas cardíacas, fascia y tejido conjuntivo nervioso. Se describen en detalle más adelante. En algunas realizaciones, dos o más tipos diferentes de tejidos se pueden utilizar para preparar ATM en forma de partículas.

Además, los supercóntigos de tejido pueden incluir uno o más materiales poliméricos. En algunas realizaciones, los materiales poliméricos pueden seleccionarse de varios polímeros. En ciertas realizaciones, los polímeros pueden seleccionarse, por ejemplo, de quitosana, éster bencílico de ácido hialurónico (BHA), policaprolactona (PCL), o poli-4-hidroxibutirato (P4HB). En algunas realizaciones, el polímero puede disolverse en un disolvente adecuado seleccionado de varios disolventes (etapa 120). En algunas realizaciones, el disolvente puede seleccionarse, por ejemplo, de dioxano, N-metil-2-pirrolidona (NMP), DMSO, o ácido acético. En una realización, la PCL se disuelve en dioxano. En otra realización, la PCL en dioxano o el disolvente NMP usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser de aproximadamente 5-30 % (p/v). En otra realización, la PCL en dioxano o el disolvente NMP usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser 5 %, 8 %, 10 %, 12 %, 15 %, 18 %, 20 %, 25 % o 30 % (p/v), 5 % a 30 % (p/v), 10 % a 30 % (p/v) y cualquier valor entre ellos. En otra realización, el P4HB se disuelve en dioxano o NMP. En aún otra realización, el P4HB en dioxano o el disolvente NMP usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser de aproximadamente 5-40 % (p/v). En otra realización, el P4HB en dioxano o el disolvente NMP usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser 5 %, 8 %, 10 %, 12 %, 15 %, 18 %, 20 %, 25 %, 30 % o 40 % (p/v), o 5 % a 40 % (p/v), 10 % a 30 % (p/v) y cualquier valor entre ellos. En otra realización, el BHA se disuelve en DMSO. En aún otra realización, el BHA en DMSO usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser de aproximadamente 5-50 % (p/v). En otra realización, el BHA en DSMO usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser 5 %, 8 %, 10 %, 12 %, 15 %, 18 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % (p/v), 5 % a 50 % (p/v), o 10 % a 40 % (p/v) y cualquier valor entre ellos. En aún otra realización, la quitosana se disuelve en ácido acético. En otra realización, la concentración de ácido acético es 0,1-0,5 M (intervalo de pH 2,53-2,88). En otra realización, el pH de la mezcla de la quitosana y el ácido acético puede ser 4,0-5,5. En aún otra realización, la quitosana en ácido acético usado en la preparación del supercóntigo de tejido puede ser 1 %, 2 %, 3 %, 4 % o 5 % (p/v), y cualquier valor entre ellos. Cada uno de estos materiales de supercóntigo puede impartir propiedades diferentes al producto final, que permiten las manipulaciones de remodelado/persistencia in vivo, propiedades biomecánicas, y respuesta biológica global.

La solución polimérica se puede mezclar con la ATM en forma de partículas (etapa 130). Las mezclas de ATM y de polímero/disolvente se colocan o se compactan a continuación en moldes u otros recipientes para producir la forma tridimensional deseada (etapa 140). En algunas realizaciones, los moldes pueden seleccionarse de varios moldes. En algunas realizaciones, los moldes pueden seleccionarse de tubo eppendorf, tubo de metal, tubo de inyección o un molde en forma de un defecto de tejido u órgano para cuya reparación se diseña el supercóntigo de tejido.

El disolvente se puede eliminar mediante un proceso de secado (etapa 150). En algunas realizaciones, el disolvente puede eliminarse a través de varios procesos de secado. En algunas realizaciones, los procesos de secado pueden seleccionarse de liofilización, secado al aire, secado por calentamiento, secado en una atmósfera de argón o nitrógeno, o secado ayudado por vacío. Los supercóntigos de tejido resultantes consisten en partículas de tejido regenerativo envainadas en un supercóntigo de soporte polimérico/sintético y son estables bajo esfuerzo mecánico. Además, el proceso de secado puede incluir secado pasivo, en donde el disolvente se evapora en una atmósfera normal.

En ciertas realizaciones, la forma y la estabilidad del supercóntigo de tejido son importantes. En algunas realizaciones, la forma y el tamaño deseados o realizados del supercóntigo de tejido resultante se determinan por la forma y el tamaño de un molde usado para producir el supercóntigo. En algunas realizaciones, la forma deseada o realizada del supercóntigo de tejido es una forma tridimensional estable. En algunas realizaciones, el molde usado para preparar el supercóntigo de tejido tridimensional estable puede ser un tubo eppendorf, un tubo de metal, un tubo de inyección o un molde en forma de un defecto de tejido u órgano en el que se implantará el supercóntigo de tejido. En algunas realizaciones, el supercóntigo de tejido tiene forma cilíndrica. En algunas realizaciones, el supercóntigo de tejido tiene forma tubular. En algunas realizaciones, la forma del supercóntigo

de tejido corresponde a la forma del defecto o lesión del tejido u órgano. En algunas realizaciones, la resistencia mecánica, la porosidad, la hidratación y la conductancia del fluido se controlan mediante el control de la velocidad de congelación, la temperatura de congelación y la composición del recipiente de moldeo.

En algunas realizaciones, el supercóntigo de tejido tiene un tamaño o forma tal que puede corresponder a la forma del defecto de tejido u órgano. En algunas realizaciones, el supercóntigo de tejido se puede preparar usando dos o más tipos diferentes de tejidos. Por ejemplo, uno de los tejidos en el supercóntigo de tejido puede ser el cartílago y el segundo tejido puede ser hueso desmineralizado. En algunas realizaciones, el supercóntigo de cartílago/hueso desmineralizado puede utilizarse para reparar defectos osteocondrales (figura 1).

Matrices de tejido acelular

El término “matriz de tejido acelular”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere generalmente a cualquier matriz de tejido que está prácticamente exenta de células y/o componentes celulares. La piel, partes de la piel (p. ej., dermis), y otros tejidos tales como vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fascia, cartílago, hueso y tejido conjuntivo nervioso pueden usarse para crear matrices acelulares dentro del alcance de la presente descripción. Las matrices de tejido acelular pueden probarse o evaluarse para determinar si están prácticamente exentas de célula y/o componentes celulares de varias maneras. Por ejemplo, los tejidos procesados pueden inspeccionarse con microscopía de luz para determinar si permanecen células (vivas o muertas) y/o componentes celulares. Además, ciertos ensayos se pueden usar para identificar la presencia de células o componentes celulares. Por ejemplo, se pueden usar ADN u otros ensayos de ácido nucleico para cuantificar los materiales nucleares restantes dentro de las matrices de tejido. Generalmente, la ausencia de ADN restante u otros ácidos nucleicos será indicativa de la descelularización completa (es decir, la retirada de células y/o componentes celulares). Finalmente, se pueden usar otros ensayos que identifican los componentes específicos celulares (p. ej., antígenos de la superficie) para determinar si las matrices de tejido son acelulares. La piel, partes de la piel (p. ej., dermis), y otros tejidos tales como vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fascia, cartílago, hueso y tejido conjuntivo nervioso pueden usarse para crear matrices acelulares dentro del alcance de la presente descripción.

Generalmente, las etapas implicadas en la producción de una ATM incluyen recoger el tejido de un donante (p. ej., un cadáver humano o una fuente animal) y retirar las células en condiciones que conserven la función biológica y estructural. Por ejemplo, las funciones biológicas y estructurales deseadas incluyen la capacidad de soportar el crecimiento celular y la regeneración tisular, para proporcionar soporte mecánico (p. ej., a un sitio quirúrgico o defecto), para evitar una respuesta inmunológica excesiva, inflamación, fibrosis y/o cicatrices. En ciertas realizaciones, el proceso incluye un tratamiento químico para estabilizar el tejido y evitar la degradación bioquímica y estructural simultáneamente a, o antes de, la retirada de las células. En diversas realizaciones, la solución estabilizadora detiene o impide la degradación osmótica, hipóxica y proteolítica, protege frente a la contaminación microbiana y reduce el daño mecánico que puede producirse con tejidos que contienen, por ejemplo, componentes del músculo liso (p. ej., vasos sanguíneos). La solución estabilizadora puede contener un tampón apropiado, uno o más antioxidantes, uno o más agentes oncóticos, uno o más antibióticos, uno o más inhibidores de proteasa y/o uno o más relajantes de músculos lisos.

El tejido se coloca a continuación en una solución de descelularización para retirar las células viables (p. ej., células epiteliales, células endoteliales, células del músculo liso y fibroblastos) de la matriz estructural sin dañar la integridad biológica y estructural de la matriz de colágeno. La integridad de la matriz de colágeno se puede probar de varias maneras. Por ejemplo, se puede usar calorimetría diferencial de barrido para identificar cambios en la temperatura de transición térmica que indican la reticulación (elevación en la temperatura de transición) o degradación por colágeno (disminución en las temperaturas de transición). Además, la microscopía electrónica puede demostrar cambios en los patrones normales de colágeno y los ensayos de digestión enzimática pueden demostrar el daño del colágeno. Además, la pérdida de varios glicosaminoglicanos (p. ej., sulfato de condroitina y ácido hialurónico) puede indicar un cambio no deseable en la matriz del tejido.

La solución de descelularización puede contener un tampón, una sal, un antibiótico, uno o más detergentes (p. ej., TRITON X-100™, desoxicolato de sodio, monooleato de polioxietileno (20) sorbitano), uno o más agentes para impedir la reticulación, uno o más inhibidores de proteasas, y/o una o más enzimas. Los métodos adecuados para producir una ATM se describen, por ejemplo, en H. Xu y col., A Porcine-Derived Acellular Dermal Scaffold That Supports Soft Tissue Regeneration: Removal of Terminal Galactose-α-(1,3)-Galactose and Retention of Matrix Structure. Tissue Eng. Part A 15: 1807 (2009).

Después del proceso de descelularización, la muestra de tejido se lava concienzudamente con solución salina. En algunas realizaciones ilustrativas, p. ej., cuando se usa material xenogénico, el tejido descelularizado se trata a continuación durante la noche a temperatura ambiente con una solución de desoxirribonucleasa (ADNasa). En algunas realizaciones, la muestra de tejido se trata con una solución de ADNasa preparada en tampón ADNasa (HEPES 20 mM (ácido 4-(2- hidroxietil)-1-piperacinetano sulfónico), $CaCl_2$ 20 Mm y $MgCl_2$ 20 mM). Opcionalmente puede añadirse una solución de antibiótico (p. ej., gentamicina) a la solución de DNasa. Puede usarse cualquier tampón adecuado, siempre y cuando el tampón proporcione una actividad de DNasa adecuada.

Si bien una ATM se puede fabricar a partir de uno o más individuos de la misma especie que el receptor del supercóntigo de tejido, este no es necesariamente el caso. Así, por ejemplo, una ATM en el supercóntigo de tejido se puede fabricar de tejido porcino. Las especies que pueden servir como receptores de una ATM y como donantes de tejidos u órganos para la producción de la ATM incluyen, sin limitación, mamíferos, tales como humanos, primates no humanos (p. ej., monos, babuinos o chimpancés), cerdos, vacas, caballos, cabras, ovejas, perros, gatos, conejos, cobayas, jerbos, hámsteres, ratas, o ratones.

La eliminación de los epítopos de α-gal del material que contiene colágeno puede reducir la respuesta inmune contra el material que contiene colágeno. El epítopo de α-gal se expresa en mamíferos no primates y en monos del Nuevo Mundo (monos de América del Sur) sobre macromoléculas tales como las glicoproteínas de los componentes extracelulares. U. Galili y col., J. Biol. Chem. 263: 17755 (1988). Sin embargo, este epítopo está ausente en los primates del Mundo Antiguo (monos de Asia y África y simios) y seres humanos. Los anticuerpos dirigidos contra Gal se producen en seres humanos y primates como resultado de una respuesta inmunitaria a las estructuras de carbohidratos del epítopo α-gal en las bacterias gastrointestinales. U. Galili y col., Infect. Immun. 56: 1730 (1988); R. M. Hamadeh y col., J. Clin. Invest. 89: 1223 (1992).

Puesto que los mamíferos no primates (p. ej., los cerdos) producen epítopos de α-gal, el xenotrasplante de material que contiene colágeno de estos mamíferos en primates con frecuencia provoca rechazo debido a la unión de anti-gal de primate a estos epítopos sobre el material que contiene colágeno. La unión da lugar a la destrucción del material que contiene colágeno por la fijación del complemento y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. U. Galili y col., Immunology Today 14: 480 (1993); M. Sandrin y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 11391 (1993); H. Good y col., Transplant. Proc. 24: 559 (1992); B. H. Collins y col., J. Immunol. 154: 5500 (1995). Además, los xenotrasplantes dan como resultado una activación importante del sistema inmunológico para producir cantidades crecientes de anticuerpos dirigidos contra gal de alta afinidad. En consecuencia, en algunas realizaciones, cuando se usan animales que producen epítopos α-gal como fuente de tejido, la eliminación sustancial de los epítopos de α-gal de las células y de los componentes extracelulares del material que contiene colágeno, y la prevención de la reexpresión de epítopos de α-gal celulares pueden reducir la respuesta inmune contra el material que contiene colágeno asociada a la unión de anticuerpo anti-gal a los epítopos de α-gal.

Para eliminar los epítopos de α-gal, después de lavar el tejido concienzudamente con solución salina para eliminar la solución de ADNasa, la muestra de tejido puede someterse a uno o más tratamientos enzimáticos para eliminar ciertos antígenos inmunogénicos, si están presentes en la muestra. En una realización, la muestra de tejido puede tratarse con la enzima α-galactosidasa para eliminar los epítopos de α-gal, si están presentes en el tejido. En algunas realizaciones, la muestra de tejido se trata con α-galactosidasa en una concentración de 300 U/l preparada en tampón fosfato 100 mM a pH 6,0. En otras realizaciones, la concentración de α-galactosidasa se aumenta a 400 U/L para la retirada efectiva de los epítopos de α-gal del tejido recogido. Se puede usar cualquier concentración de enzima adecuada y cualquier tampón adecuados, siempre que se consiga una retirada de los antígenos suficiente.

De forma alternativa, en lugar de tratar el tejido con enzimas, se pueden seleccionar como fuente de tejido animales que hayan sido modificados genéticamente para que carezcan de uno o más epítopos antigénicos. Por ejemplo, se pueden seleccionar como fuente de tejido animales (p. ej., cerdos) que hayan sido modificados genéticamente para que carezcan del resto α-galactosa terminal. Para consultar las descripciones de los animales adecuados, véase la solicitud codependiente de EE. UU. con n.° de serie 10/896.594 y la patente US-6.166.288. Además, ciertos métodos ilustrativos de procesamiento de tejidos para producir matrices acelulares con o sin cantidades reducidas de o sin restos alfa-1,3-galactosa, se describen en Xu, Hui. y col., "A Porcine-Derived Acellular Dermal Scaffold that Supports Soft Tissue Regeneration: Removal of Terminal Galactose-α-(1,3)-Galactose and Retention of Matrix Structure," Tissue Engineering, Vol. 15, 1-13 (2009).

Después de formarse la ATM, se pueden sembrar, opcionalmente, células viables con histocompatibilidad en la ATM para producir un injerto que puede ser remodelado, además, por el huésped. En algunas realizaciones, las células viables histocompatibles pueden añadirse a las matrices mediante técnicas estándar de cultivo celular in vitro antes del trasplante, o mediante una repoblación in vivo después del trasplante. La repoblación in vivo se puede realizar mediante las propias células del receptor, que migran al interior de la ATM, o mediante infusión o inyección de células obtenidas del receptor o bien células histocompatibles obtenidas de otro donante en la ATM in situ. Se pueden usar varios tipos de células, incluidas células madre embrionarias, células madre adultas (p. ej., células madre mesenquimatosas) y/o células neuronales. En varias realizaciones, las células pueden aplicarse directamente a la parte interior de la ATM justo antes o después de la implantación. En ciertas realizaciones, las células pueden colocarse dentro de la ATM para implantarse, y cultivarse antes de la implantación. En una realización, las células viables se agregan al supercóntigo de tejido antes de la implantación. En una realización, las células viables se agregan al supercóntigo de tejido después de implantar el supercóntigo en un sitio anatómico deseado.

Matriz de tejido acelular en forma de partículas

Se puede usar el siguiente procedimiento para producir matrices de tejido acelular en forma de partículas utilizando ALLODERM®, STRATTICE™ LifeCell Corporation, Branchburg, NJ, u otras matrices de tejido acelular adecuadas. Tras la retirada del envase, la ATM se corta en tiras utilizando un reticulador Zimmer con rueda de

corte "continua" sin interrupción. Las tiras largas resultantes de la ATM se cortan en longitudes de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 cm de longitud.

Se ensambla un homogeneizador y una sonda homogeneizadora esterilizada, tal como un homogeneizador LabTeck Macro comercializado por OMNI International, Warrenton Va, y se enfría a temperaturas criogénicas mediante el uso de nitrógeno líquido estéril que se vierte en la torre de homogeneizador. Una vez que el homogeneizador ha alcanzado temperaturas criogénicas, las ATM previamente preparadas en tiras, como se mencionó anteriormente, se agregan a la torre de homogeneización que contiene nitrógeno líquido estéril. Después se activa el homogeneizador para fracturar criogénicamente las tiras de ATM. El tiempo y la duración de la etapa de fraccionamiento criogénica dependerán del homogeneizador utilizado, el tamaño de la cámara de homogeneización, la velocidad y el tiempo en los que el homogeneizador funciona y un experto en la técnica debe ser capaz determinarlo mediante una variación simple de los parámetros para conseguir los resultados deseados.

El material de ATM en forma de partículas criofracturado se clasifica según el tamaño de partículas lavando el producto del homogeneizador con nitrógeno líquido a través de una serie de tamices metálicos que también se han enfriado a temperaturas de nitrógeno líquido. Los investigadores han descubierto que es especialmente útil utilizar una combinación de tamices dentro de la torre de homogeneización del tipo descrito anteriormente en el que las partículas se lavan y se clasifican primero para excluir partículas de tamaño excesivo y a continuación excluir partículas de tamaño insuficiente.

Una vez aisladas, la ATM en forma de partículas se retira y se coloca en un vial para liofilización una vez que el nitrógeno líquido estéril se haya evaporado. Esta última etapa es para asegurar que cualquier humedad residual que pueda haber sido absorbida durante el procedimiento anterior se elimine.

El producto final puede ser un polvo que tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 900 micrómetros o un tamaño de partícula de aproximadamente 30 micrómetros a aproximadamente 750 micrómetros. Las partículas se distribuyen en una media de aproximadamente 150-300 micrómetros. El material se rehidrata fácilmente por suspensión en solución salina normal u otro agente de rehidratación adecuado similar. La ATM rehidratada puede resuspenderse en solución salina normal o cualquier otro portador farmacéuticamente compatible adecuado.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para explicar más claramente las diversas realizaciones y no deben interpretarse de ninguna manera para limitar el alcance de la presente descripción.

Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación de supercóntigo de tejido regenerativo

La figura 2 ilustra un proceso de preparación de un supercóntigo de tejido regenerativo con ATM sintética. Se crearon supercóntigos de tejido regenerativo tridimensional a partir de una ATM en forma de partículas utilizando materiales de supercóntigos poliméricos. La ATM se preparó a partir de tejido dérmico porcino y se liofilizó. Se cortó la ATM en seco en piezas de ~1 cm^2 y se colocó en un vial de molienda criogénica de tamaño adecuado. El vial se colocó a continuación en un molino de congelador SPEX 6800 que se había enfriado previamente con nitrógeno líquido y se sometió a un protocolo de criofractura. La ATM en forma de partículas se retiró a continuación del vial y se mantuvo bajo condiciones de almacenamiento en seco.

Se solubilizó un derivado de éster bencílico de ácido hialurónico al 100 % en sulfóxido de dimetilo (DMSO) con una concentración del 40 % (p/v). A continuación, se mezcló un ml de esta solución con 300 mg de matriz dérmica acelular en forma de partículas, como se preparó anteriormente, y la mezcla se transfirió a un tubo eppendorf pequeño de 2 ml. A continuación se retiró el DMSO mediante un proceso de liofilización dejando un supercóntigo de tejido (40 % éster bencílico de ácido hialurónico, 60 % matriz dérmica acelular en peso) que mantuvo la forma del tubo eppendorf (cilíndrico) en que se secó (etapa 150).

Ejemplo 2. Estudio funcional del supercóntigo de tejido

Análisis calorimétrico del efecto de los disolventes orgánicos sobre la integridad de la matriz del tejido

Los resultados in vivo sugerían que la presencia de la matriz de tejido regenerativo atenúa la respuesta inmunológica o inflamatoria al material de supercóntigo, como se demuestra por la reducción de la cantidad de células inflamatorias.

Se trataron pADMs, preparadas como se describe en el ejemplo 1, con un exceso de disolventes diferentes que incluyen dioxano, NMP, y DMSO, durante 2 horas. Los materiales tratados se evaluaron con calorimetría diferencial de barrido (DSC) para evaluar la integridad de la matriz del tejido. La figura 3 es un gráfico de datos DSC de la matriz dérmica acelular porcina (pADM) tratada con disolventes orgánicos.

De manera similar, las pADM se trataron con diferentes polímeros, por ejemplo, poli-4-hidroxibutirato en dioxano o NMP y policaprolactona en dioxano o NMP, y se evaluó la integridad de la matriz del tejido por DSC. La figura 4

es un gráfico de datos de DSC de pADM en presencia de polímeros, según el ejemplo 2. El análisis de DSC (figura 4) mostró que los termogramas de polímero y pADM eran aditivos.

La evaluación histológica

El efecto de la implantación de pADM se probó en presencia de poli-4-hidroxibutirato (P4HB) en un modelo de rata subdérmico inmuno-competente. Las ratas inmuno-competentes se implantaron con supercóntigo de tejido pADM/P4HB o supercóntigo de polímero P4HB. Este modelo permitió la determinación de respuestas celulares e inmunológicas en los materiales de prueba implantados. Los materiales de prueba se implantaron en una posición subdérmica a través de una pequeña incisión en la superficie dorsal de las ratas inmuno-competentes (*Rattus norvegicus*; rata Lewis). Cuatro semanas (figuras 5A-D) y 12 semanas (figuras 6A-D) después de la implantación, se recolectaron los explantes y se lavaron con PBS y se fijaron en formalina al 10 %. El tejido fijo se embebió en parafina y las secciones de muestras de matriz de tejido se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) con el uso de procedimientos estándar. D.C. Sheehan y B.B. Hrapchak, Theory and Practice of Histotechnology, 2nd edn., Columbus, OH, Battelle Press (1987). A continuación se observaron muestras en un microscopio con una magnificación 100x (figuras 5A-B y 6A-B) y magnificación 400x (figuras 5C-D y 6C-D). El análisis histológico de los explantes (figuras 5A-D y 6A-D) mostró que P4HB en presencia de pADM tenía una respuesta inflamatoria atenuada en comparación con los explantes de P4HB solo.

Las figuras 7A-D y 8A-D muestran la evaluación histológica de explantes de policaprolactona de 4 y 12 semanas. El efecto de la implantación de pADM se probó en presencia de policaprolactona (PCL) en un modelo de rata subdérmico inmuno-competente. Las ratas inmuno-competentes se implantaron con supercóntigo de pADM/PLC o supercóntigo de polímero PLC. Cuatro (figuras 7A-D) y 12 semanas (figuras 8A-D) después de la implantación, se recolectaron los explantes y se procesaron para la evaluación histológica, como se ha descrito anteriormente. A continuación se observaron muestras en un microscopio con una magnificación 100x (figuras 7A-B y 8A-B) y magnificación 400x (figuras 7C-D y 8C-D). El análisis histológico de los explantes (figuras 7A-D y 8A-D) mostró que PLC en presencia de pADM tenía una respuesta inflamatoria atenuada en comparación con los explantes de PLC solo.

Las figuras 9A-D y 10A-D muestran la evaluación histológica de explantes de éster bencílico de ácido hialurónico de 4 y 12 semanas. El efecto de la implantación de pADM se probó en presencia de BHA en un modelo de rata subdérmico inmuno-competente. Las ratas inmuno-competentes se implantaron con supercóntigo de pADM/BHA o supercóntigo de polímero BHA. Cuatro (figuras 9A-D) y 12 semanas (figuras 10A-D) después de la implantación, se recolectaron los explantes y se procesaron para la evaluación histológica, como se ha descrito anteriormente. A continuación se observaron muestras en un microscopio con una magnificación 100x (figuras 9A-B y 10A-B) y magnificación 400x (figuras 9C-D y 10C-D). El análisis histológico de los explantes (figuras 9A-D y 10A-D) mostró que BHA en presencia de pADM tenía una respuesta inflamatoria atenuada en comparación con los explantes de BHA solo.

Las figuras 11A-D muestran la evaluación histológica de explantes de quitosana/pADM de 4 y 8 semanas. El efecto de la implantación de pADM se probó en presencia de quitosana en un modelo de rata subdérmico inmuno-competente. Las ratas inmuno-competentes se implantaron con supercóntigo de pADM/quitosana. Cuatro (figuras 11A, C) y 8 semanas (figuras 11B, D) después de la implantación, se recolectaron los explantes y se procesaron para la evaluación histológica, como se ha descrito anteriormente. A continuación se observaron muestras en un microscopio con una magnificación 100x (figuras 11A-B) y magnificación 400x (figuras 11C-D). Los resultados mostraron que hubo una respuesta de tejido regenerativo, como se demuestra por la presencia de células tipo fibroblastos y vasos sanguíneos.

La capacidad para moldear y formar matrices de tejido regenerativo en estructuras tridimensionales estables, como se ha descrito anteriormente, permitirá el desarrollo de nuevos productos que se pueden usar en una amplia variedad de aplicaciones médicas regenerativas. Cada uno de estos materiales de supercóntigo puede impartir propiedades diferentes al producto final, que permiten las manipulaciones de remodelado/persistencia in vivo, propiedades biomecánicas, y respuesta biológica global. Además, como se mostró anteriormente, el componente de la matriz de tejido regenerativo reduce/atenúa la respuesta inflamatoria general a los materiales de supercóntigo.

REIVINDICACIONES

1. Un supercóntigo de tejido seco, que comprende:

una “acellular tissue matrix” (matriz de tejido acelular - ATM) en forma de partículas; y
un polímero;
en donde la ATM está envainada en el polímero, de manera que el supercóntigo de polímero rodea completamente las partículas de ATM, para formar un supercóntigo de tejido tridimensional estable para la regeneración tisular, y en donde el supercóntigo de tejido tiene una respuesta inmunológica o inflamatoria reducida cuando se implanta en un humano que el polímero solo.

2. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 1, en donde el polímero comprende un polímero sintético.

3. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el polímero comprende una policaprolactona.

4. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el polímero es un poli-4-hidroxibutirato.

5. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el polímero comprende un derivado de éster bencílico de ácido hialurónico.

6. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el polímero comprende quitosana.

7. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6. En donde la ATM en forma de partículas comprende una ATM dérmica.

8. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 7, en donde la ATM dérmica es una matriz de tejido humano.

9. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 7, en donde la ATM dérmica es una matriz de tejido porcino.

10. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la ATM es una matriz de tejido de cartílago.

11. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 10, en donde la matriz de tejido de cartílago comprende un cartílago humano.

12. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 10, en donde la matriz de tejido de cartílago comprende un cartílago porcino.

13. El supercóntigo de tejido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la ATM es una matriz de tejido óseo.

14. El supercóntigo de tejido de la reivindicación 13, en donde la matriz de tejido óseo comprende un hueso porcino o humano.

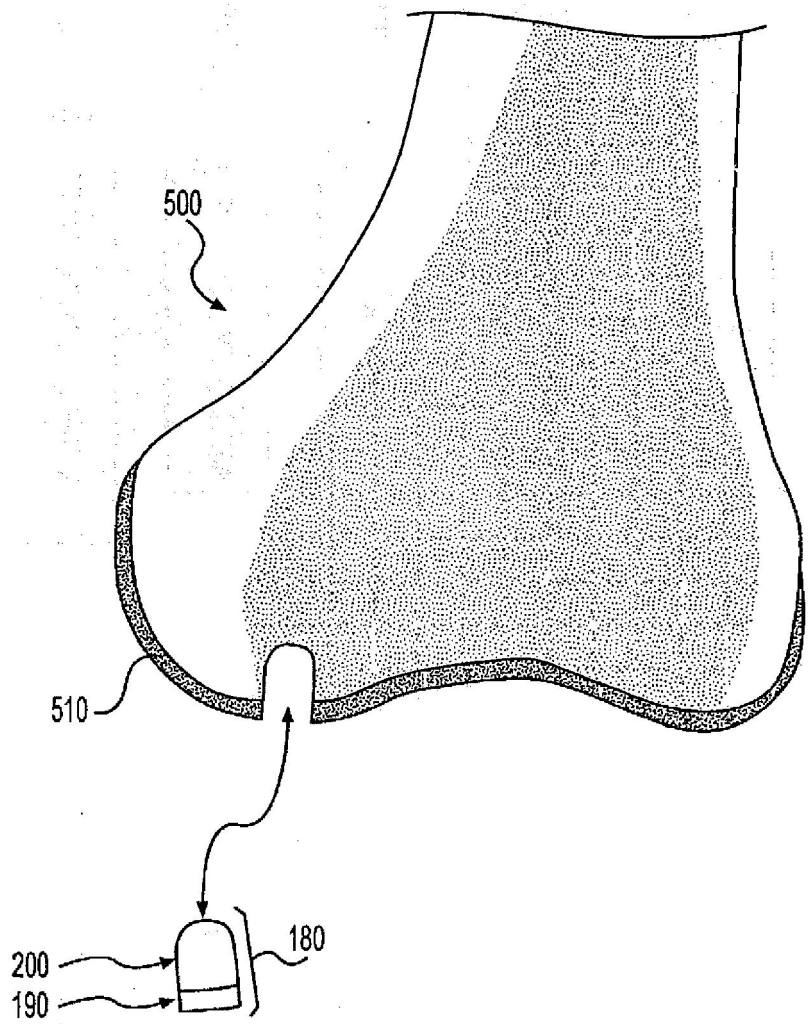

FIG. 1

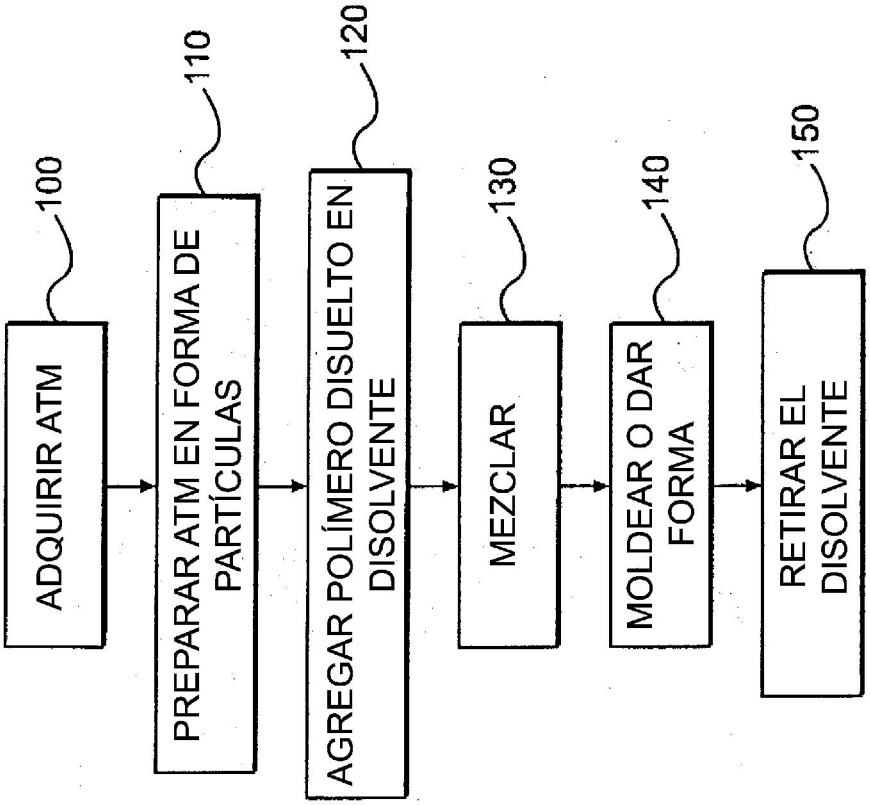
ADQUIRIR ATM
100
PREPARAR ATM EN FORMA DE PARTÍCULAS
110
AGREGAR POLÍMERO DISUELTO EN DISOLVENTE
120
MEZCLAR
130
MOLDEAR O DAR FORMA
140
RETIRAR EL DISOLVENTE
150

FIG. 2

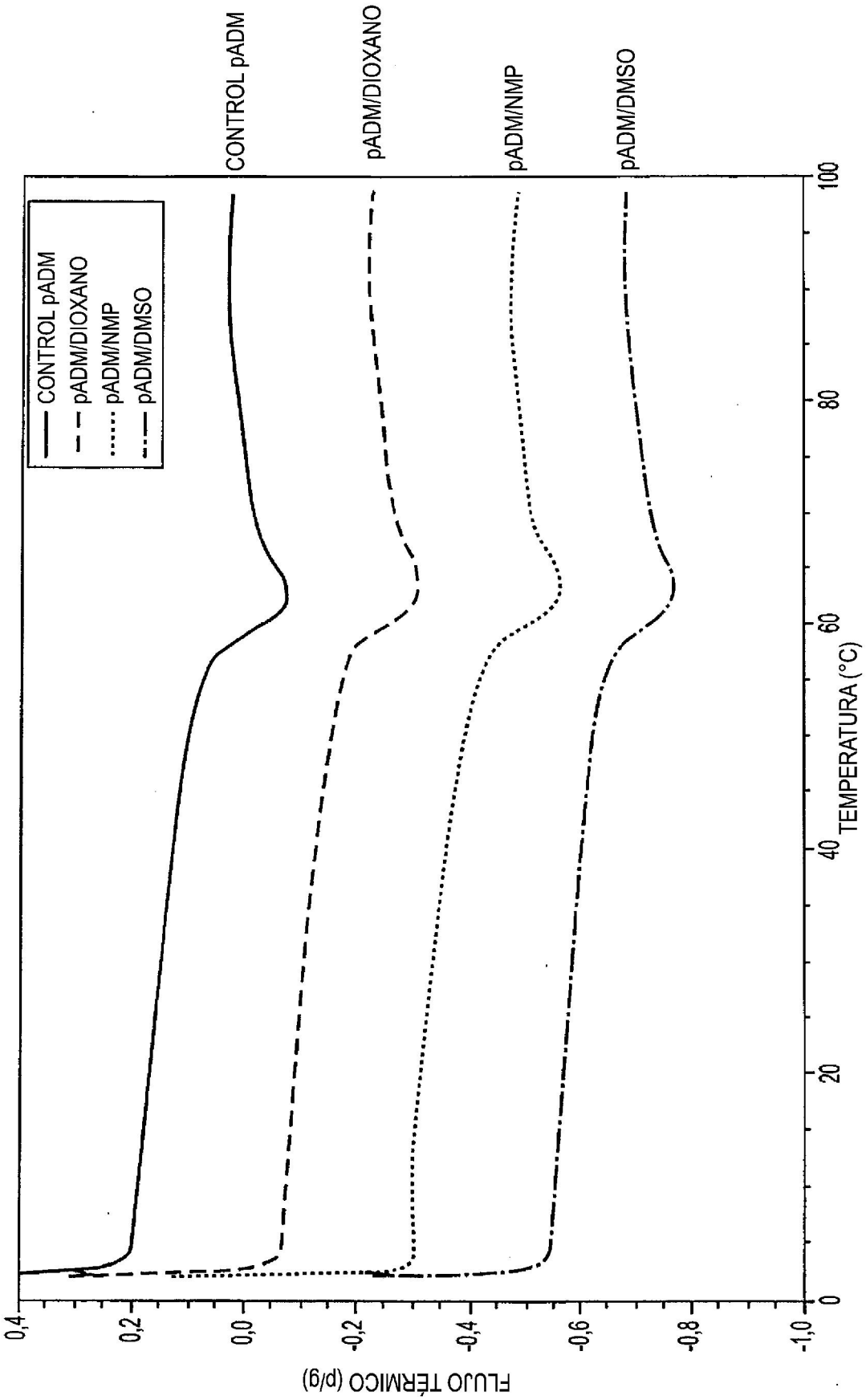
CONTROL pADM
pADM/DIOXANO
pADM/NMP
pADM/DMSO
CONTROL pADM
pADM/DIOXANO
pADM/NMP
pADM/DMSO
0,4
0,2
0,0
-0,2
-0,4
-0,6
-0,8
-1,0
FLUJO TÉRMICO (p/g)
0
20
40
60
80
100
TEMPERATURA (°C)

FIG. 3

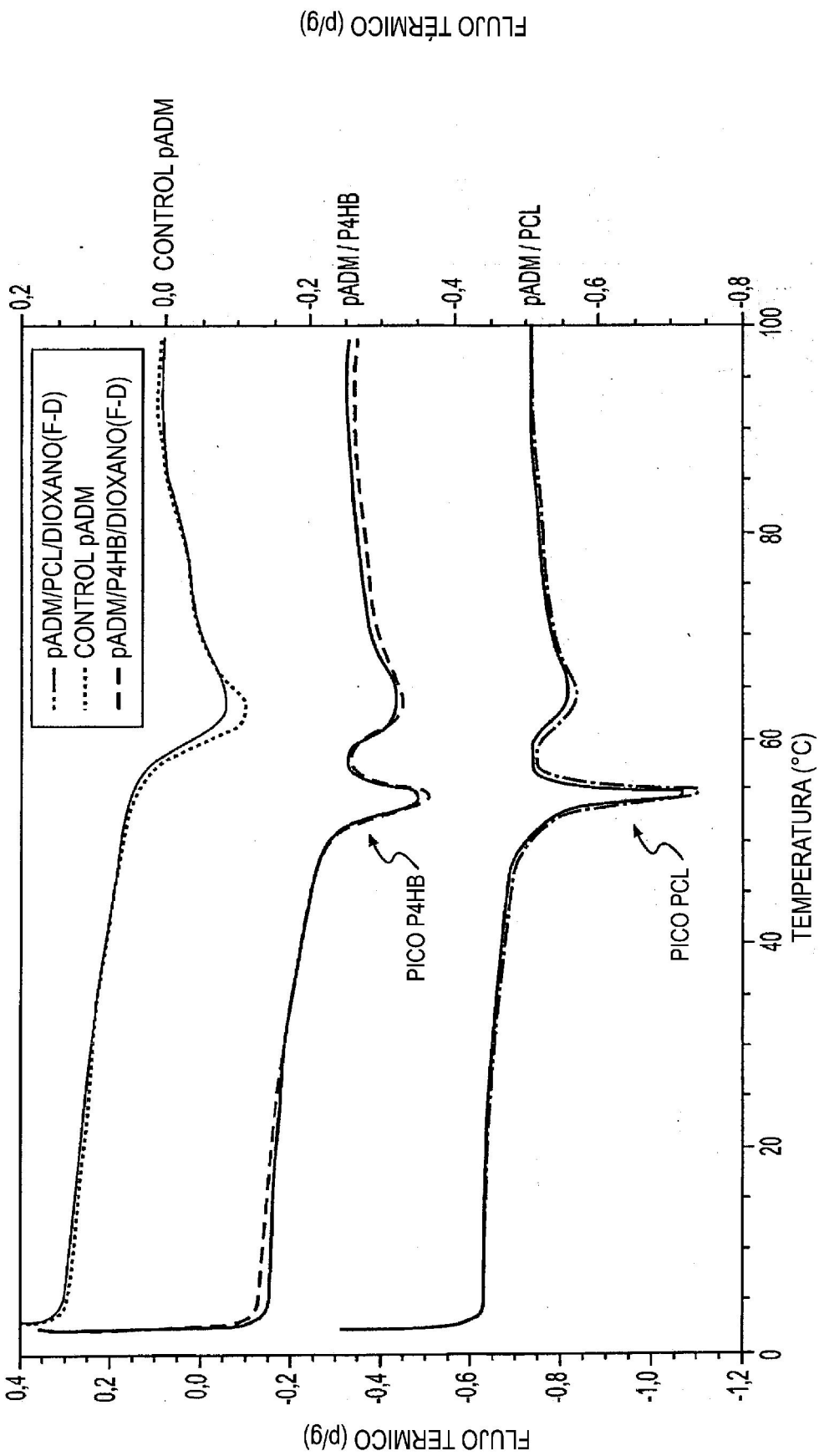
FLUJO TÉRMICO (p/g)
0,2
0,0 CONTROL pADM
-0,2
pADM / P4HB
-0,4
pADM / PCL
-0,6
-0,8
pADM/PCL/DIOXANO(F-D)
CONTROL pADM
pADM/P4HB/DIOXANO(F-D)
PICO P4HB
PICO PCL
0,4
0,2
0,0
-0,2
-0,4
-0,6
-0,8
-1,0
-1,2
0
20
40
60
80
100
TEMPERATURA (°C)
FLUJO TÉRMICO (p/g)

FIG. 4

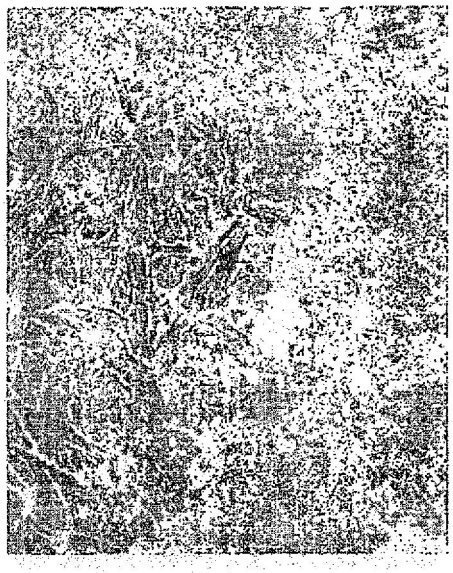

FIG. 5B

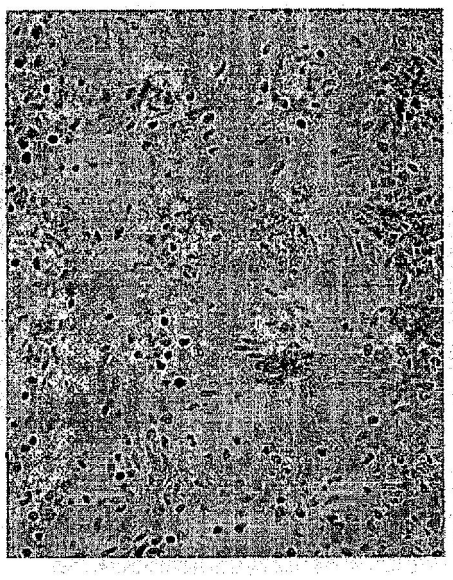

FIG. 5D

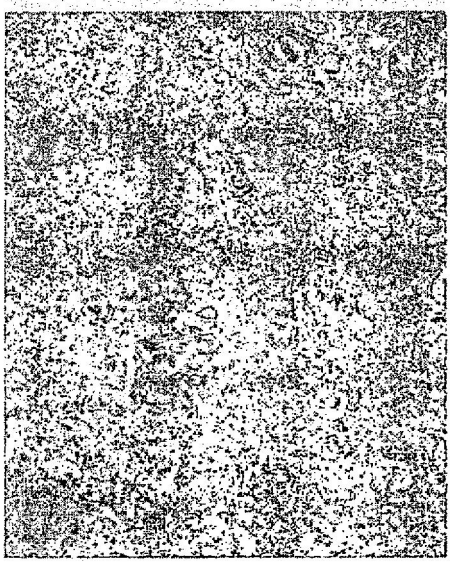

FIG. 5A

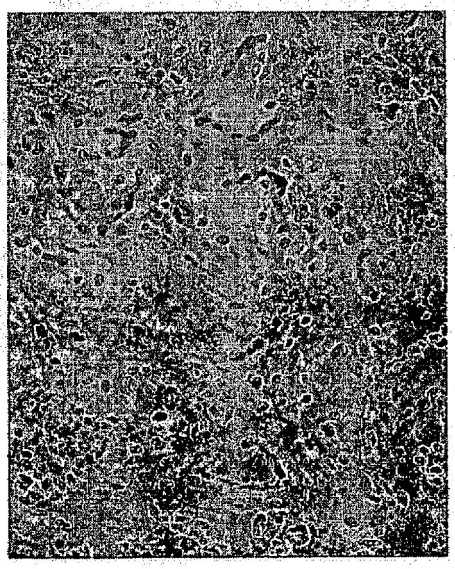

FIG. 5C

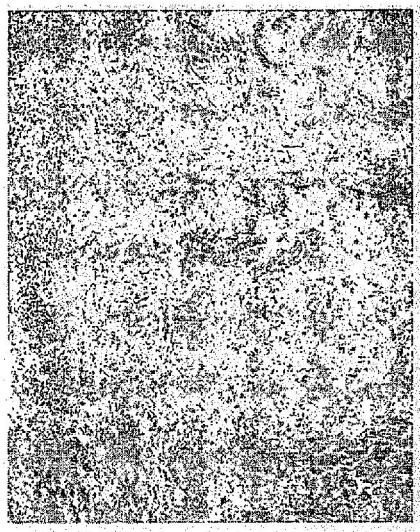

FIG. 6B

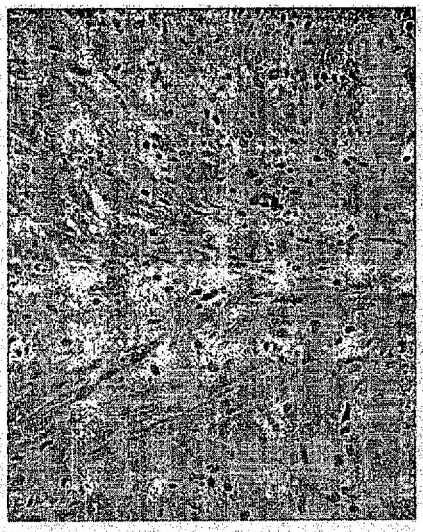

FIG. 6D

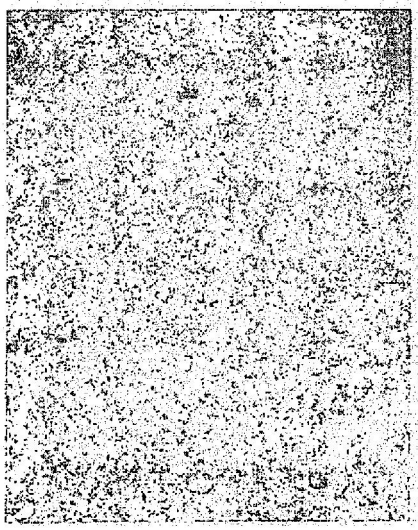

FIG. 6A

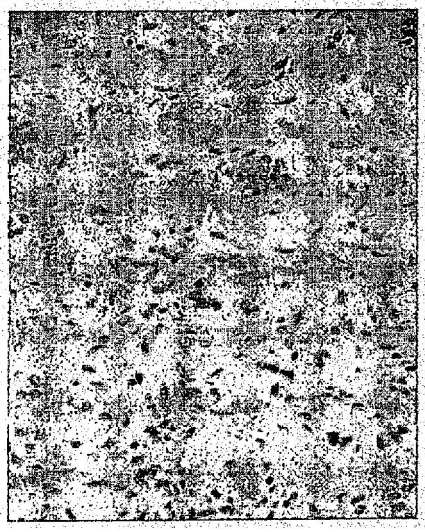

FIG. 6C

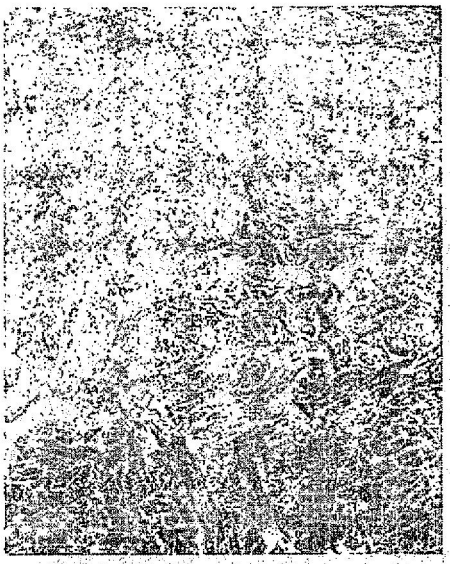

FIG. 7B

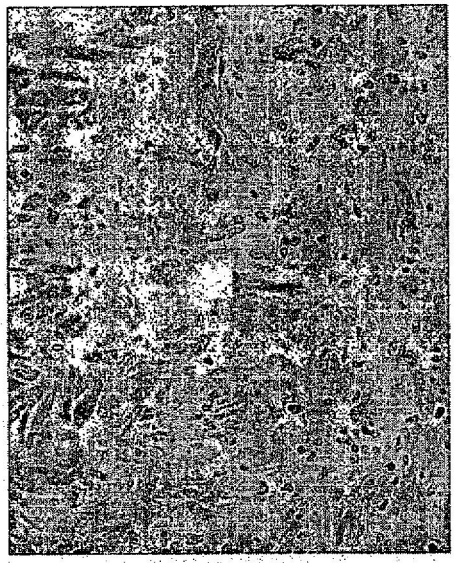

FIG. 7D

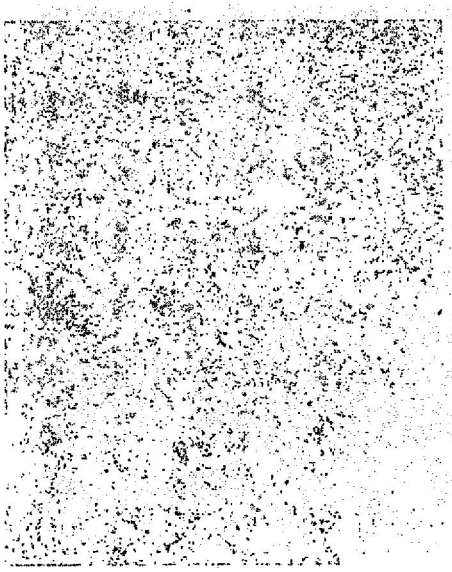

FIG. 7A

FIG. 7C

FIG. 8B

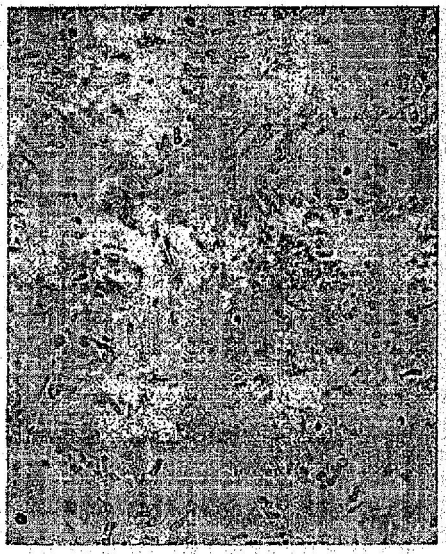

FIG. 8D

FIG. 8A

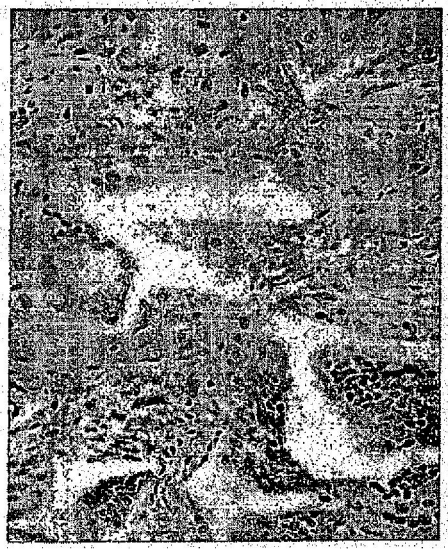

FIG. 8C

FIG. 9B

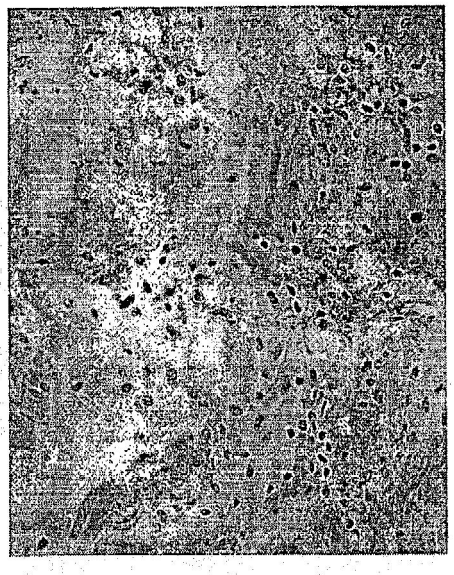

FIG. 9D

FIG. 9A

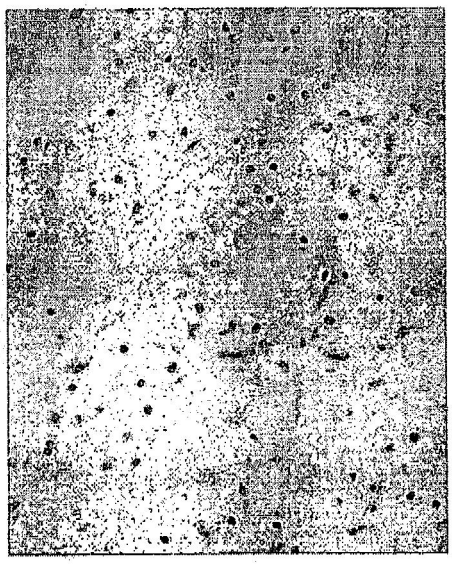

FIG. 9C

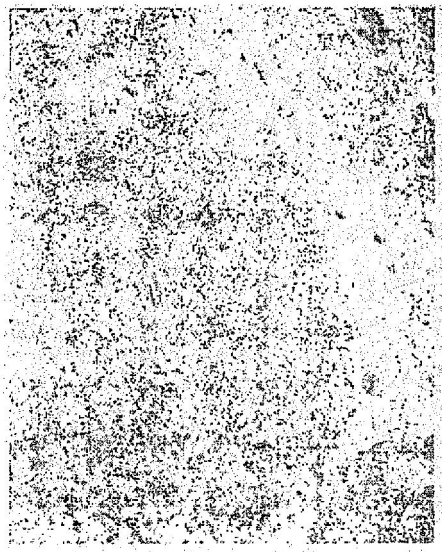

FIG. 10B

FIG. 10D

FIG. 10A

FIG. 10C

FIG. 11B

FIG. 11D

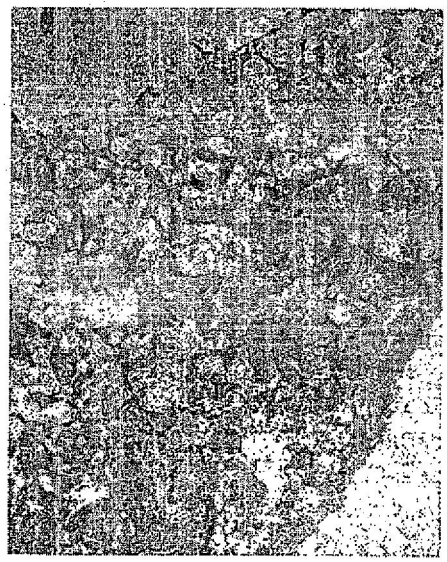

FIG. 11A

FIG. 11C