



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 738**

51 Int. Cl.:
A61F 2/30 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01)
A61L 27/58 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04790889 .2**
96 Fecha de presentación : **27.10.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1824420**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.08.2007**

54 Título: **Implante para reparar un defecto de cartilago.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.04.2011

73 Titular/es: **TETEC-Tissue Engineering
Technologies Aktiengesellschaft
Aspenhastrasse 25
72772 Reutlingen, DE**

72 Inventor/es: **Gaissmaier, Christoph;
Fritz, Jürgen y
Aicher, Wilhelm**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 357 738 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

Implante para reparar un defecto de cartílago.

5 Campo de la invención

La invención se refiere a un implante para reparar un defecto de cartílago, y más particularmente, para reparar el cartílago de carga de peso, como el cartílago articular, que comprende una primera capa y una segunda capa, la primera está frente al espacio sinovial y la segunda frente al hueso. La invención además se refiere a un método para tratar un defecto de cartílago.

Antecedentes de la invención

El cartílago posee una capacidad muy limitada para reparar los daños de la superficie de unión. Normalmente el cartílago no es capaz de repararse por sí solo y sus defectos pueden causar dolor, pérdida de función e incapacidad.

El cartílago articular tiene una capa en la superficie articular. Cuando el cartílago articular resulta dañado por un traumatismo o por osteocondrosis, normalmente hallamos defectos definidos en la superficie mientras que el borde del cartílago resulta intacto.

Las opciones de tratamiento convencionales incluyen, por ejemplo, desbridamiento, que implica la eliminación de la membrana sinovial, osteofitos, pérdida de detrito articular y cartílago enfermos. Usando esta técnica sólo se puede conseguir un alivio sintomático. Otros tratamientos incluyen perforación subcondrial, microfractura y artroplastia de abrasión; usando estas técnicas, el hueso subcondrial es perforado y penetrado para inducir sangrado y la creación de coágulos. Así, se intenta recuperar la superficie articular tratando de forzar el crecimiento del fibrocartílago en el área de cartílago dañada.

Sin embargo, la capacidad del fibrocartílago de resistir impactos o fuerzas de corte es baja en comparación con el cartílago hialino. Además, el fibrocartílago se va deteriorando con el paso del tiempo, dando como resultado el padecimiento de nuevo de los síntomas clínicos.

La efectividad de otras técnicas, tales como el trasplante del periostio o del pericondrio no ha sido probada, y el uso de trasplantes alógenos de cartílago debería evitarse debido al alto riesgo de infección o rechazo.

Otro enfoque es el método del trasplante osteocondrial autólogo (mosaicoplastia), mediante el cual los cilindros del cartílago normal y los huesos de áreas libres de carga de, por ejemplo, una rodilla afectada, se eliminan y se colocan en el cartílago defectuoso en un único procedimiento quirúrgico. Estos "autoinjertos" suponen la formación de un mosaico.

No obstante, este método está más bien limitado debido a que el tejido saludable no está disponible indefinidamente y que muy a menudo la congruencia de las superficies del cartílago no es la adecuada.

Otro tratamiento es el trasplante autólogo de condrocitos (TAC). Usando este método se intenta regenerar el cartílago hialino y así devolver la función a éste. Cuando se realiza este método, una región de cartílago articular saludable se identifica y se le realiza una biopsia por artroscopia. En el cartílago al que se le ha realizado la biopsia, los condrocitos son separados y posteriormente son cultivados en un medio de cultivo. Después de dos o tres semanas se realiza una artrotomía y la lesión condrial se corta hasta el cartílago saludable que lo rodea. Una lengüeta perióstica es quitada, por ejemplo, de la tibia medial proximal, y se sutura sobre el defecto al borde circundante de cartílago normal para formar una tapa. Los condrocitos cultivados son posteriormente inyectados bajo la lengüeta perióstica. Como resultado, pasado un tiempo, el cartílago evoluciona, de manera que resulta - en cuanto a características biomecánicas e histológicas se refiere - similar al cartílago articular. La ventaja de este procedimiento es que incluso las áreas con grandes defectos pueden ser restauradas eficazmente.

A pesar de los resultados prometedores conseguidos, el método convencional de TAC tiene desventajas y obstáculos. La artrotomía está acompañada por dolencias postoperatorias -que a veces resultan imperecederas-. Además, frecuentemente la lengüeta perióstica no se puede suturar sobre el lugar del defecto, especialmente cuando falta la contención.

Además, hay un riesgo de que el defecto no haya sido sustituido adecuadamente o de que el trasplante incluso esté colapsándose, debido a que, por ejemplo, los condrocitos cultivados sean de menor calidad o a que la lengüeta perióstica haya sido cortada prematuramente.

En la EP 0 934 750 A2, un dispositivo biohíbrido de sustitución de la superficie articular está descrito y comprende un portador poroso tridimensional adecuado para cultivar células del cartílago y medios de integración ósea proporcionados en el lado del portador poroso destinado para el acoplamiento con el hueso. Además, el dispositivo descrito en la EP 0 934 750 A2 puede comprender una película de cobertura destinada a cubrir el lado superior del portador remoto de los medios de integración del hueso. La película de cobertura descrita sirve como barrera para prevenir que los líquidos sinoviales impregnen el dispositivo de sustitución.

ES 2 357 738 T3

El dispositivo de sustitución de la EP 0 934 750 A2 tiene la desventaja que al proporcionar un dispositivo con una película de cobertura como hemos descrito, el dispositivo corre el riesgo de no recibir los nutrientes y/o fluidos esenciales para poder mantener las características funcionales del dispositivo de sustitución.

5 Actualmente, no hay tratamientos satisfactorios para las lesiones de espesor completo del cartílago articular, ya que los métodos disponibles son generalmente considerados ineficaces, excesivamente costosos o están ligados a otros problemas de la índole.

10 En la US 6,530,956 B1, se describe un andamio reabsorbible que promueve la regeneración del cartílago. El andamio utiliza dos materiales matrices diferentes, el primero es relativamente rígido y está diseñado para proporcionar un borde externo y una o más guías internas, el borde y las guías crean un clúster de compartimentos de rangos celulares interiores que están rellenos del segundo material, una matriz porosa y más abierta. El andamio puede opcionalmente también comprender una membrana externa de articulación que descansa sobre los bordes superiores de los canales y sobre los rebordes. El andamio apoya la membrana que imita una superficie de cartílago saludable.

En la US 6,319,712 B1, se describe un dispositivo de implante que comprende un portador poroso y una ayuda de integración del hueso situada en un lado del portador poroso destinada al acoplamiento con el hueso.

20 En la EP 1 273 312 A2, se describe un implante para la regeneración del tejido del cartílago que comprende una malla o esponja porosa de un polímero sintético y una esponja porosa formada en o dentro de la malla o esponja porosa.

Resumen de la invención

25 En vista de lo anterior el objetivo de la presente invención es superar las desventajas mencionadas y proveer un tratamiento eficaz y fiable para reparar defectos del cartílago.

30 Este objetivo, según la invención se consigue proporcionando un implante para reparar un defecto de cartílago que consiste en una primera capa y una segunda capa, donde la primera capa es una estructura de barrera tipo membrana de protección y dicha segunda capa tiene una estructura tipo esponja que comprende poros interconectados y/o direccionales y donde dicha primera capa se adapta para ser colocada en el espacio sinovial y dicha segunda capa está adaptada para ser colocada en el hueso.

35 El objetivo subyacente a la invención se logra por completo con esta técnica.

40 Específicamente, con un implante de este tipo, se puede lograr una distribución homogénea tridimensional del crecimiento de células en los poros de la estructura de tipo esponja. En cambio, la estructura de tipo membrana proporciona una barrera para células tisulares conectoras no específicas, que de lo contrario infiltrarían el implante, por ejemplo del espacio sinovial.

45 Los inventores de la presente invención han demostrado que el implante según esta invención, es superior a los implantes comercialmente disponibles de diferentes fabricantes. La mayoría de los implantes convencionales no lograron conseguir una distribución tridimensional y homogénea de las células previamente cultivadas en monocapas y luego aplicadas a los implantes. Más bien, en los implantes convencionales, las células se estaban concentrando en el área de la superficie de la capa que debe llevar las células debido al efecto de filtro provocado por la estructura convencional de la capa. Con la estructura porosa de la capa "portadora" de tipo esponja del implante de la presente invención esta desventaja puede ser evitada.

50 Además, la estructura de tipo esponja hace que el implante sea flexible o comprimible en ese sentido, es decir, que si el implante se encontrara bajo tensión, se proporcionarían fluidos de la estructura tipo esponja y serían de nuevo absorbidos tras la descompresión. Como resultado, después del trasplante se pueden suministrar células con nutrientes *in vivo* de manera natural.

55 Con un implante como el de la invención, las desventajas del TAC convencional pueden ser superadas: el implante puede ser trasplantado con unas condiciones invasivas mínimas y sin someter a demasiada tensión al tejido blando, a las cápsulas articulares y a los ligamentos. Además, el tiempo necesario de cirugía para el tratamiento se reduce significativamente. Además, cuando se usa un implante como el de la invención, las lengüetas periósticas ya no deberán ser suturadas sobre el defecto para la fijación de la célula, y como resultado se podrán evitar las hipertrofias secundarias.

Además, debido al acceso quirúrgico mínimo y al acertado proceso de curación, los pacientes pueden retomar su vida normal antes de lo previsto en los casos de pacientes tratados con el TAC convencional.

65 Cuando aquí se refiere a los "poros direccionales y/o interconectados" de la estructura tipo esponja se está hablando de los poros que están orientados, por ejemplo, a modo de estructura de fibra hueca, y/o que están mutuamente conectados. De esta manera los poros - como las fibras - corren casi paralelamente entre sí mientras tienen un tamaño de poro normal o consistente; al mismo tiempo los poros pueden estar mutuamente conectados. Debido a la interconexión

ES 2 357 738 T3

entre los poros, las células que migran al implante no solo están distribuidas en los poros direccionales sino que también pueden estar bastante unidas a las zonas de interconexión entre los poros proporcionando así una distribución homogénea tridimensional de las células en el implante.

5 Es preferido usar el implante de la invención para la regeneración de defectos de cartílago en la rodilla, para los discos intervertebrales o en otras articulaciones del cuerpo humano.

De forma adecuada, tanto la primera como la segunda capa del implante de la presente invención, contienen materiales biocompatibles.

10 Es preferido además, cuando dicha primera capa comprende un material con un tiempo de resorción superior al tiempo de resorción de la segunda capa.

15 Cuando aquí nos referimos al “tiempo de resorción”, nos referimos al tiempo que necesita el material para colapsarse por reacciones bioquímicas/biológicas *in vivo*. Como resultado los implantes no se deben eliminar mediante una cirugía adicional.

20 La ventaja aquí es que, la segunda capa, que porta células, es protegida durante su resorción por la primera capa a modo de estructura de tipo membrana, de modo que los fluidos no deseados o células, por ejemplo del espacio sinovial, no pueden infiltrar el implante, que podría causar que el implante se debilitara. La segunda capa permanece protegida hasta que se restablece con la matriz del cartílago producida por las células de cartílago transplantadas.

25 Adicionalmente, la primera capa representa una barrera de difusión para sustancias de alto peso molecular, reteniendo así los componentes de la matriz del cartílago producidas por las células transplantadas y promoviendo la regeneración eficiente de los defectos. A lo largo del proceso de curación el implante se reabsorbe completamente sin ningún metabolito tóxico.

30 Es recomendable, que la primera capa contenga un material seleccionado del grupo que consiste en colágeno, polímeros bioreabsorbibles, pericardio, compuestos, glicosaminoglicanos, fuentes de tejido naturales como la elastina, y mezclas de dos o más de estos materiales.

Además, componentes nacidos en la sangre tales como la fibrina pueden estar incluidos en la primera capa.

35 Ventajosamente, en la primera capa - que tiene un tiempo de resorción superior al tiempo de resorción de la segunda capa - hay un andamio estable, que es una ayuda a la hora de fijar el implante al sitio del defecto mediante clavos o suturas. Como resultado, el lugar donde el implante ha sido introducido puede verse forzado a estar recto tras el procedimiento quirúrgico.

40 En una forma preferida del implante según la invención, la segunda capa contiene un material hidrofílico, en particular un material seleccionado del grupo que consiste en colágeno, ácido hialurónico, alginato, quitosano, gelatina, materiales procesados, compuestos, componentes nacidos en la sangre tales como la fibrina, y mezclas de dos o más de estos materiales.

45 Se ha probado que los materiales mencionados son biocompatibles, bioreabsorbibles en un tiempo definido y adecuados para su uso en implantes, y además, son conocidos en la técnica. El colágeno es una proteína importante constituyente en el tejido conjuntivo en animales vertebrados al igual que en animales invertebrados. Según la presente invención, el colágeno de cualquier fuente es adecuado, incluido el colágeno disponible comercialmente.

50 Con la segunda capa de tipo esponja que contiene un material hidrofílico, la comprensión de sustancias y/o fluidos es más fácil, dado que después de comprimir la estructura - por ejemplo someténdola a tensión - y posteriormente liberándola, se genera un flujo de sustancias y/o células en la estructura de tipo esponja.

55 Además, es preferido que la segunda capa contenga también sustancias que son seleccionadas del grupo que consiste en agentes antiangiogénicos, agentes morfogénicos, agentes mitogénicos y antiinflamatorios, o mezclas de dos o más de estas sustancias.

Con las sustancias mencionadas, puede resultar más fácil la integración del implante en el cartílago circundante.

60 Además, los componentes fisiológicos del hueso pueden estar también incluidos en el implante, particularmente en la segunda capa del implante. Estos componentes incluyen, pero no están limitados a, fosfatos de calcio, sulfatos de calcio, fluoruros de calcio, óxidos de calcio, apatitas de hidróxido, o mezclas de dos o más de estos componentes. Los compuestos de fosfato cálcico que pueden ser usados incluyen, por ejemplo, fosfato de tricalcio y trifosfato de tetracalcio, combinado con hidróxido cálcico. El propósito de la adición de estos compuestos es de estabilizar el fenotipo de las células una vez introducidas en el implante.

65 Además es preferible que, la estructura porosa de tipo esponja de la segunda capa contenga poros de tamaño aproximado entre 50 μm y 250 μm , e incluso preferiblemente entre 130 μm y 200 μm .

ES 2 357 738 T3

El tamaño del poro y su estructura depende de las células preferibles para ser absorbidas o sembradas en el implante. Con la estructura del poro interconectada y/o direccional el implante se puede modular en consideración del entorno respectivo en el que se haya transplantado el implante, es decir, el tamaño de poro se puede adaptar al tamaño de las células con el cual el implante ha de ser sembrado o con el que es preferible que migre al implante.

Un implante adecuado de la presente invención comprende una estructura tipo esponja con una estructura porosa que es conveniente para ser sembrada con células, preferiblemente con condrocitos, células condroprogenitoras, células madre, células del tejido periostio, y células del tejido pericondrial o mezclas de dos o más de estos tipos de célula.

Con un implante como el de la presente invención, es posible por un lado sembrar el implante con las células mencionadas (o una mezcla de dos o más tipos de células) antes de la implantación en el defecto del cartílago.

Por otro lado, el implante puede ser colocado directamente en el defecto sin que se le siembren células. Después de transplantar la última realización del implante de la presente invención y tras someterlo a una presión normal, el implante - debido a su estructura tipo esponja - se comprime y se relaja reiteradamente por lo que sustancias tales como células, fluidos, nutrientes, etc., que están presentes en el sitio del defecto, son absorbidas. La estructura porosa de la segunda capa del implante abastece una absorción eficaz de las células, para que las células puedan crecer y/o migrar en los poros debido a la estructura de fibra hueca de dichos poros. Esto se debe al hecho de que - como se ha mencionado anteriormente - el implante - siendo comprimible - se comprime y relaja *in vivo* de la misma manera que cuando escurrimos una esponja.

El implante según la invención se puede fijar al sitio del defecto, por ejemplo, suturando, usando clavos, o de manera similar. En cambio, es posible insertar el implante sin ningún tipo de fijación al sitio de defecto. Puede ser suficiente simplemente colocar el implante en el lugar del defecto para proporcionar la fijación mediante la absorción.

Otro aspecto que la presente invención proporciona para un implante en el que las células son tomadas del paciente al que introducen el implante, es que las células sean autólogas.

Otro objeto de la presente invención es el de proveer al implante para ser sembrado con células que se toman de una fuente que es heteróloga o del paciente al que se le introduce el implante.

Otro objeto de la invención logra que un implante pueda ser sembrado con células que se toman de una fuente que es xenogénica para el paciente al que se le va a introducir el implante.

Estas formas de realización tienen la ventaja que - en caso de que el paciente al que se le va a introducir el implante no pueda proveer células donantes por sí mismo/a - se pueden utilizar células de otras fuentes.

Se entiende que con respecto a esta forma de realización de la presente invención, las células seleccionadas deben ser compatibles con el tejido y estructura de las células del paciente, al que se le va a introducir el implante.

El implante de la presente invención puede tener además una primera capa con una profundidad de entre 0.01 mm y 0.5 mm.

Además, el implante de la presente invención puede comprender una segunda capa con una profundidad de entre 0.3 mm y 3.5 mm.

También es preferible cuando la primera y la segunda capa del implante están fijadas entre sí. Preferiblemente, se puede lograr una fijación, por ejemplo, mediante el uso de adhesivos, suturando o por cualquier otro mecanismo de fijación conocidos en la técnica. La fijación puede además ser realizada mediante la aplicación de la segunda capa en la primera capa seguido de una liofilización o paso de precipitación.

La estructura porosa interconectada y/o direccional de la segunda capa es deseable, como se ha mencionado anteriormente, dado que así puede ser óptimamente unida al tejido donado. Ajustar la estructura y el tamaño de los poros mejora el comportamiento migratorio del tejido circundante.

Otro objeto de la invención se refiere al método de producción de un implante de cartílago según la invención.

Como se ha mencionado anteriormente, el implante, según la invención, se puede sembrar con células antes del proceso de implantación. Para este propósito, los condrocitos se pueden tomar de un paciente, por ejemplo del paciente en quien el implante será introducido después, seguido del sembrado de aquellos condrocitos en un ensayo de cultivo celular, cultivándolos y proliferándolos.

En paralelo, se proporciona un implante de acuerdo con la invención en el que las células pueden ser suministradas. Esto se realiza de tal manera que las células se siembran en la estructura de tipo esponja del implante con la primera capa enfrente de la base de soporte. Dado que la segunda estructura se rodea por una primera estructura a modo membrana, las células aplicadas a la estructura de tipo esponja no pueden pasar por los poros hacia la base de apoyo. Además, el tamaño del poro de la estructura de tipo esponja es preferiblemente adaptado al tamaño de las células, de

ES 2 357 738 T3

modo que las células se pueden adherir a los poros y crecer en los poros a lo largo de la estructura de fibra hueca de los poros. Debido a que los poros están adaptados y orientados, las células podrán ser igualmente distribuidas sobre la segunda capa de tipo esponja.

5 Más abajo se describe un método para tratar un defecto de cartílago que incluye las etapas de

- 10 a) proporcionar un implante en un vaso, donde el implante comprende una primera y al menos una segunda capa, donde dicha primera capa comprende una estructura a modo de membrana y dicha segunda capa comprende una estructura tipo esponja que tiene poros interconectados y/o direccionales de un tamaño de entre $50\ \mu\text{m}$ y $250\ \mu\text{m}$, la primera capa se sitúa enfrente del espacio sinovial y la segunda capa está situada hacia el hueso/cartílago. La primera capa comprende un material con un tiempo de resorción superior al tiempo de resorción de la segunda capa;
- 15 b) cortar el cartílago de defecto de un paciente, preferiblemente con un dispositivo de perforación, y raspar posteriormente para obtener una superficie de contacto de defecto;
- c) cortar el implante al tamaño de la superficie de contacto de defecto obtenida en la fase b); e
- 20 d) introducir el implante sobre la superficie de contacto del defecto.

25 Cuando se usa esta técnica es preferible ejecutar una microfractura antes del trasplante, es decir, el hueso subcondrial que está tendido bajo el cartílago, se penetra de modo que la sangre y las células exudan de la médula ósea. La sangre estimula la producción de cartílago y de células, es decir, células progenitoras, se adhieren al hueso y posteriormente al implante, hacia el que pueden migrar. Mediante la diferenciación que corresponde de estas células progenitoras, se facilita la creación del fibrocartílago.

30 Cuando se aplica la técnica mencionada, el implante es cuidadosamente colocado sobre la superficie de contacto del defecto, que fue previamente tratado con microfractura. Después de someterlo a una tensión normal en el sitio de trasplante, el implante es comprimido y liberado, por lo que se produce un efecto esponja, es decir, las células que están presentes en la superficie de contacto del defecto son absorbidas por la estructura tipo esponja de la segunda capa en los poros. No obstante, debe quedar claro que la microfractura solo puede ser realizada en indicaciones no inflamatorias y en defectos de cartílago que sean menores de $2\ \text{cm}^2$.

35 Aún así se describe un método que comprende otro paso a') que comprende el paso de sembrar y cultivar células en el implante para obtener un implante sembrado de células.

40 Usando este método, el implante se siembra con las células antes de que el implante sembrado de células sea introducido en el lugar del cartílago de defecto. Cuando este método es utilizado, la microfractura del hueso subcondrial no es necesaria, dado que el implante ya contiene células anteriores al trasplante.

45 Las células adecuadas para este método pueden ser células que son seleccionadas del grupo que consiste en condrocitos, células condroprogenitoras, células precursoras del hueso, células madre, células de tejido periosteal, células de tejido pericondrial, y células progenitoras de la sangre. Además, dos o más tipos de célula diferentes pueden ser utilizadas en el método. Las células, tal y como se ha mencionado anteriormente, pueden ser tomadas del paciente que va a ser trasplantado o de una fuente que es heteróloga al paciente en quien se ha introducido el implante.

Con el método anteriormente mencionado puede no ser necesario fijar el implante al defecto con medios de fijación debido a las características adhesivas del implante.

50 En otro ejemplo, el método mencionado arriba comprende el paso de

- e) fijar el implante al cartílago de defecto por medios de fijación que son seleccionados del grupo que consiste en puntos de sutura, clavos y adhesivos de tejido.

55 En una forma de realización preferida los medios de fijación comprenden un material biocompatible. Dependiendo de la condición y localización del defecto, dos o más tipos diferentes de medios de fijación pueden ser combinados entre sí.

60 El método mencionado se puede aplicar para la regeneración de defectos de cartílago en la rodilla, discos intervertebrales o en otras articulaciones del cuerpo humano.

Se pueden observar otras ventajas en la siguiente descripción y figuras.

65 Ni que decir tiene que las características mencionadas arriba y las que van a ser mencionadas abajo, pueden ser utilizadas no solo en las combinaciones en las que están especificadas en cada área sino que también en otras combinaciones, o solas, sin salirse del alcance de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra un implante según la invención que consiste en una primera estructura a modo de membrana (A) y una segunda estructura tipo esponja (A', A''); en (B) la distribución de las células marcadas con fluorescente en un implante de acuerdo con la invención que estamos mostrando;

La Fig. 2 muestra la expresión de IL-1 (A) y el colágeno tipo II (B) de condrocitos cultivados en un implante según la invención ("TETEC") y en implantes disponibles comercialmente, ("T1" "T2");

La Fig. 3 muestra la protección de la segunda capa durante su resorción hasta la regeneración del defecto (A) (safranina o colorante) y (B) (colorante hematossiléico); la segunda capa está marcada con flechas 2 y sembrada con células, la primera capa está marcada con flechas 1 y funciona como capa protectora para células y matriz debajo; (C) (safranina o colorante) muestra el restablecimiento del cartílago hialino usando un implante según la invención.

15 Descripción detallada de formas de realización preferidas

Ejemplo 1

Preparación de un implante según la invención

Un implante según la invención puede ser preparado - por ejemplo - por el método descrito en la EP 1 275 405. Usando este método una capa de tipo esponja o una matriz de proteína se puede anclar en una capa de tipo membrana. Brevemente, se provee una capa de tipo membrana que comprende colágeno - otros materiales adecuados son, por ejemplo, polímeros bioreabsorbibles tales como ácido poliláctido o poliglicólico, colágeno, pericardio, compuestos, glicosaminoglicanos, fuentes de tejido naturales como la elastina, y mezclas de dos o más de estos materiales. La capa tipo esponja fue aplicada sobre la misma a modo de suspensión. Alternativamente, se puede suministrar como una dispersión o pasta. La suspensión que comprende colágeno - otros materiales pueden ser utilizados, por ejemplo ácido hialurónico, alginato, quitosano, gelatina, materiales procesados, compuestos, componentes nacidos en la sangre tales como fibrina, y mezclas de dos o más de estos materiales - fue introducida en la estructura de tipo membrana mediante vacío de presión. De forma alternativa, la estructura tipo esponja de la segunda capa fue formada unilateralmente enfriando la estructura de tipo membrana con la suspensión aplicada sobre la misma. El proceso de enfriamiento fue realizado reduciendo gradualmente la temperatura desde la temperatura ambiente hasta - 50°C generando así poros direccionales y/o interconectados.

El implante producido de esa manera fue sembrado con condrocitos; alternativamente puede ser sembrado con otras células, por ejemplo con células condroprogenitoras, células madre, células del tejido periostial, células del tejido pericondrial o mezclas de dos o más de estos tipos de célula, antes de introducirlo en el lugar del defecto. Por otro lado, el implante se puede colocar directamente en el defecto aunque éste no tenga células sembradas. En este caso, después de someterlo a una tensión normal el implante se comprime y se relaja reiteradamente por lo que sustancias tales como células, fluidos, nutrientes, etc., que están presentes en el lugar del defecto, son absorbidas. Debido a la estructura de fibra hueca de los poros de la estructura tipo esponja, las células pueden crecer y/o migrar en los poros dando como resultado una distribución tridimensional de las células.

En la Fig. 1 se muestran las capas del implante preparado como hemos dicho anteriormente. El implante comprende una primera capa a modo de membrana (A) que sirve como una cobertura para la segunda capa de tipo esponja subyacente (A') que comprende poros orientados direccionalmente con respecto a la superficie en un estilo de tipo columna. La primera capa y la segunda capa están estrechamente conectadas. Los poros se interconectan y están compuestas por un tamaño de poro direccional, por lo que se puede conseguir una distribución tridimensional de las células. La imagen superior de la capa porosa A' fue tomada utilizando microscopía óptica transmitida, la imagen inferior de la capa porosa (A'') fue tomada utilizando una microscopía de escaneo electrónico.

En la Fig. 1, B muestra la distribución de condrocitos marcados con fluorescencia en la segunda capa de tipo esponja del implante. Cuando se prepara el implante la base de la segunda capa (por ejemplo colágeno) puede comprender componentes adicionales fisiológicos del cartílago hialino para lograr una regeneración estable.

Como podemos observar en los dibujos A' y A'' de la figura 1, los poros de la estructura tipo esponja son direccionales y están interconectados. En cuando a esto, se puede conseguir una distribución homogénea de las células que están creciendo o migrando en el implante, como se muestra en la imagen B de la Fig. 1.

60 Ejemplo 2

Con respecto a la biocompatibilidad de los implantes, la inducción de la expresión de la interleuquina IL-1, la reducción de la expresión del colágeno de tipo II de los condrocitos que han sido sembrados en implantes diferentes se ha evaluado *in vitro*.

Los resultados de estas pruebas se muestran en la Fig. 2. En la fig. 2A ("inducción de IL-1") se muestra que la inducción de IL-1 en condrocitos sembrados en un implante según la invención ("TETEC") es inferior a la expresión de IL-1 en condrocitos sembrados en implantes disponibles comercialmente ("T1" y "T2"). En el momento de la

ES 2 357 738 T3

expresión de IL-1, la hipertrofia y la degeneración de condrocitos sembrados en los implantes se pudo observar *in vitro*. Un marcador y los controles "GAPDH" y "H₂O" se visualizan en las filas 1 a 3 respectivamente.

Además, la expresión de colágeno de tipo II, que es una proteína esencial estructural del cartílago, se redujo notablemente en condrocitos sembrados en implantes disponibles comercialmente ("T1" y "T2") en comparación con los condrocitos sembrados en implantes según la invención ("TETEC"). Estos resultados se muestran en la Fig. 2B ("Expresión de COL2A1"). En la Fig. 2B, un marcador y controles "GAPDH" y "H₂O" se pueden visualizar en las filas 1 a 3 respectivamente.

10 Ejemplo 3

El implante preparado como se ha mencionado anteriormente (véase el ejemplo 1) fue testado en animales. Se llevaron a cabo experimentos en ratones con SCID ("inmunodeficiencia combinada grave"), en los que se puede transplantar células humanas sin que éstas sean rechazadas, ya que en los ratones mencionados la enzima adenosina-desaminasa es deficitaria y - como resultado - las células T o B no son desarrolladas.

Fue previamente mostrado en ratones con SCID que los condrocitos articulares humanos sólo producen cartílagos hialinos sólidos cuando las células transplantadas muestran unos determinados genes marcadores, lo que tiene que demostrarse en ensayos de calidad moleculares/biológicos. Como condrocitos no tienen colágeno de tipo II, BMP-2 (proteína morfogenética ósea 2) y RFGF-3 (receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 3) ya no son capaces de regenerar un cartílago de alta calidad.

En el grupo de prueba A, los condrocitos articulares humanos que expresan genes marcadores relevantes fueron sembrados en un implante según la invención (5×10^5 células/cm² en la capa portadora, es decir, en la segunda capa). El implante fue posteriormente transplantado en ratones con SCID. Tras la incubación en los ratones con SCID, se creó consistentemente un cartílago hialino de alta calidad, que pudo ser probado mediante el uso de coloración con hematoxilina/eosina y coloración con safranina o. Al implantar un implante sin la primera capa de tipo membrana, se observó una inmigración de células conectivas no específicas hacia la estructura de tipo esponja, conduciendo a un reblandecimiento del implante.

En el grupo de control B, el transplante de condrocitos articulares humanos que ya no mostraban genes marcadores relevantes (5×10^5 células/cm² de (capa) portadora) dio como resultado una clara regeneración inferior y no homogénea, lo que se mostró también por coloración con hematoxilina/eosina y coloración con safranina o.

35 Ejemplo 4

Después del transplante, el proceso de curación fue controlado para observar si tenía lugar la resorción del implante y la regeneración del defecto de cartílago en el animal de la prueba (ratón).

Para controlar el proceso de curación, se realizó una disección del implante después de un tiempo de retención de entre 8 y 12 semanas en el cartílago de defecto y se realizó una coloración de la sección. Podemos observar los resultados en la Fig. 3. Como podemos observar en la Fig. 3A (la coloración con safranina o) y en la Fig. 3B (coloración con hematoxilina/eosina), la primera capa de tipo membrana (indicada por flechas 1) protege la segunda capa de tipo esponja que está debajo y las funciones de barrera de las células, asegurando así que la segunda capa de tipo esponja subyacente se mantenga en una condición estable (indicada por flechas 2) requerida para la regeneración del cartílago.

Después de 8 a 12 semanas el sitio de transplante fue controlado para observar la regeneración. Se pudo observar la completa resorción de todas las porciones del implante, como se muestra en la Fig. 3C (coloración con safranina o). El sitio de defecto fue completamente recuperado y restablecido con el cartílago hialino.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Implante para reparar un defecto de cartílago que consiste en una primera capa y una segunda capa, donde la primera capa es una estructura de barrera protectora de tipo membrana, que proporciona una barrera para células tisulares conjuntivas no específicas, y la segunda capa tiene una estructura tipo esponja que comprende poros interconectados y/o direccionales y donde dicha primera capa está adaptada para ser colocada frente al espacio sinovial y dicha segunda capa está adaptada para ser colocada hacia el hueso.
- 10 2. Implante según la reivindicación 1, donde dicha primera capa y dicha segunda capa comprenden cada una materiales biocompatibles.
3. Implante según la reivindicación 1 o 2, donde dicha primera capa comprende un material que tiene un tiempo de resorción superior al tiempo de resorción de la segunda capa.
- 15 4. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicha primera capa comprende un material seleccionado del grupo que consiste en colágeno, polímeros bioreabsorbibles, pericardio, compuestos, glicosaminoglicanos, o mezclas de dos o más de estos materiales.
- 20 5. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde dicha segunda capa comprende un material hidrofílico.
6. Implante según la reivindicación 5, donde dicha segunda capa comprende un material seleccionado del grupo que consiste en colágeno, ácido hialurónico, alginato, quitosano, gelatina, componentes nacidos en la sangre, materiales procesados y compuestos, o mezclas de dos o más de estos materiales.
- 25 7. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde dicha segunda capa además comprende sustancias que han sido seleccionadas del grupo que consiste en antiangiogénesis, agentes morfogénicos, mitogénicos, antiinflamatorios, y mezclas de dos o más de estas sustancias.
- 30 8. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde dicha estructura porosa comprende poros de un tamaño de aproximadamente $50\ \mu\text{m}$ a aproximadamente $250\ \mu\text{m}$.
9. Implante según la reivindicación 8, donde dicha estructura porosa comprende poros de un tamaño de aproximadamente $130\ \mu\text{m}$ a aproximadamente $200\ \mu\text{m}$.
- 35 10. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde dicha estructura tipo esponja es adecuada para ser sembrada con células.
- 40 11. Implante según la reivindicación 10, donde dichas células son seleccionadas del grupo que consiste en condrocitos, células condroprogenitoras, células precursoras del hueso, células madre, células de tejido periosteal, y células de tejido pericondrial, o mezclas de dos o más de estos tipos de célula.
- 45 12. Implante según las reivindicaciones 10 a 11, donde dichas células son tomadas del paciente al que se le va a introducir el implante.
13. Implante según la reivindicación 10 u 11, en el que dichas células se toman de una fuente que es heteróloga al paciente al que se le va a introducir el implante.
- 50 14. Implante según la reivindicación 10 u 11, en el que dichas células se toman de una fuente que es xenogénica al paciente al que se le va a introducir el implante.
15. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que dicha primera capa tiene una profundidad de aproximadamente $0,01$ a aproximadamente $0,5\ \text{mm}$.
- 55 16. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde dicha segunda capa tiene una profundidad de aproximadamente $0,3$ a aproximadamente $3\ \text{mm}$.
- 60 17. Implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, donde dicha primera capa y dicha segunda capa están fijadas entre sí.

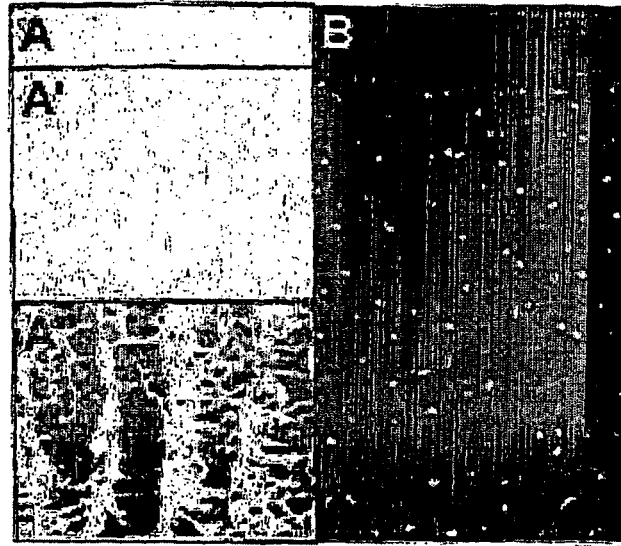


Fig. 1

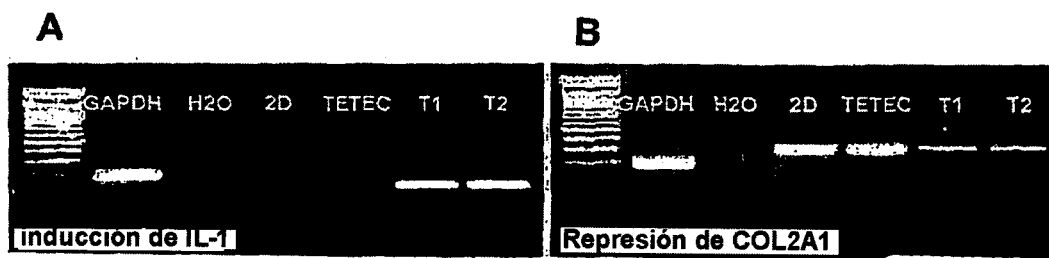


Fig. 2

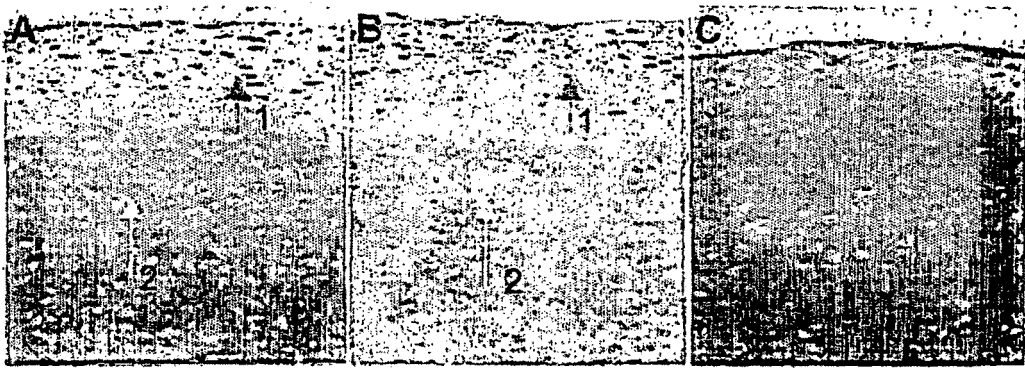


Fig. 3