



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 420**

51 Int. Cl.:

A61L 27/38 (2006.01)

A61L 27/50 (2006.01)

A61K 38/36 (2006.01)

A61K 38/39 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05809011 .9**

96 Fecha de presentación : **23.09.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1912661**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.04.2008**

54

Título: **Procedimiento sencillo para trasplantar condrocitos inyectables para trasplante de condrocitos autólogos.**

30

Prioridad: **20.07.2005 KR 20050066026**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2011

73

Titular/es: **SEWON CELLONTECH Co., Ltd.**
10, 11th., Goodmorning-Shinhan Tower
23-2, Yoido-dong
Youngdeungpo-gu, Seoul 150-712, KR

72

Inventor/es: **Ko, Chang-Kwon;**
Lee, Eun-Young;
Choi, Jeong-Yong;
Jang, Jae-Deog;
Chang, Cheong-Ho y
Kim, Pyoung-Min

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 361 420 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

Procedimiento sencillo para trasplantar condrocitos inyectables para trasplante de condrocitos autólogos

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento para trasplantar un agente terapéutico de cartílago (Chondron: condrocitos cultivados *in vitro* para trasplante de condrocitos autólogos) mediante inyección. Más específicamente, la presente invención se refiere a una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento para trasplantar un agente terapéutico de cartílago que implica mezclar y trasplantar matrices, que incluyen fibrina, ácido hialurónico y colágeno, que constituyen los ingredientes principales del cartílago, por el que se resuelven los inconvenientes del injerto osteoperióstico convencional, es posible el tratamiento de una amplia serie de defectos y osteoartritis agravada y se alivia la carga de los pacientes a tratar mediante un procedimiento de operación quirúrgica simplificado, promoviendo de este modo de forma más rápida y eficaz la generación de cartílago y mejorando la satisfacción del cliente.

Antecedentes de la técnica

15 Recientemente, la biología molecular, biología celular, biología del desarrollo e ingeniería de tejidos, como se conoce bien, han contribuido a mejoras en la salud y calidad de vida mediante el desarrollo de procedimientos para mejorar, mantener y restaurar la función de tejidos y órganos dañados.

La ingeniería de tejidos produce sustitutos tisulares por control de la adhesión, crecimiento y diferenciación celulares y la actividad de citocinas y factores de crecimiento mediante la interacción con una matriz de base celular como un reemplazo de tejido para secretar de este modo sustancias señalizadoras intracelulares. El trabajo temprano en ingeniería de tejidos se ha centrado principalmente en la utilización de células solas o terapia celular utilizando un complejo de matriz producido por células, limitando de este modo en gran medida las aplicaciones del mismo lo que conduce a una necesidad urgente para el desarrollo de sustitutos de tejido más avanzados y por lo tanto ha conducido al desarrollo de agentes terapéuticos de cartílago utilizando condrocitos y mezclas de matriz.

25 Se ha demostrado que la inestabilidad de las articulaciones y deficiencia parcial de los meniscos aceleran la abrasión y el daño de las superficies articulares. Además, el cartílago articular, una vez que se ha dañado, no puede regenerarse completamente *in vivo*. La estimulación crónica aplicada al cartílago articular dañado provoca dolor articular y limitación progresiva del movimiento articular, dando como resultado artritis degenerativa letal. Los condrocitos que no pueden proliferar *in vivo* pueden usarse eficazmente en la regeneración de las articulaciones por inducción de la diferenciación y proliferación de condrocitos mediante el ajuste de las condiciones de cultivo *in vitro*. Como resultado, los condrocitos trasplantados adquieren propiedades histológicas y mecánicas similares a las del cartílago de las articulaciones normales y por lo tanto no se observa rechazo de trasplantes o destrucción de tejido con buenos resultados en más del 90 % de los pacientes.

35 Al mismo tiempo, el trasplante de condrocitos autólogos (ACT) es una terapia eficaz para el tratamiento de cartílago articular dañado. Otras terapias tales como artroplastia de abrasión, perforación de microfractura, auto injerto del periostio y pericondrio implican el reemplazo de cartílago articular dañado con fibrocartílago o tejidos fibrocartilaginosos sin producción sustancial de cartílago hialino. Sin embargo, en comparación con cualquier otra técnica convencional, la ventaja más importante de ACT consiste en la producción de cartílago hialino.

40 A pesar de tan excelente ventaja, el trasplante de condrocitos autólogos (ACT) padece algunas dificultades técnicas y teóricas como se muestra en la figura 1.

Es decir, en primero lugar, esta técnica de trasplante de condrocitos autólogos requiere una gran incisión en el sitio quirúrgico para la recogida del periostio. Dicha gran incisión da como resultado dolor grave después de la cirugía y motilidad de la rodilla reducida.

45 En segundo lugar, la sutura del parche de periostio en el límite de un área defectuosa de cartílago requiere una técnica quirúrgica muy complicada que se ha indicado que en ocasiones está acompañada de hipertrofia del periostio y adhesión intra-articular. La sutura del periostio es el procedimiento que consume más tiempo entre los procedimientos quirúrgicos para realizar trasplante de condrocitos autólogos.

Además, el trasplante de condrocitos autólogos tiene la desventaja de que en ocasiones se produce filtración de condrocitos desde los sitios transplantados durante el procedimiento de rehabilitación tal como ejercicio terapéutico de las rodillas después de la operación quirúrgica y los condrocitos transplantados, que están presentes en una fase líquida en los sitios transplantados, se localizan hacia un lado por acción de la gravedad, dando como resultado de este modo una distribución desigual y crecimiento heterogéneo del cartílago.

55 Para resolver los problemas anteriormente mencionados, una gran parte de la investigación se ha centrado en la utilización de polímeros biodegradables y biocompatibles como un vehículo o armazón. Por ejemplo, se ha emprendido una gran cantidad de investigación sobre la ingeniería de tejidos para cartílago *in vivo* e *in vitro*,

utilizando polímeros de origen natural tales como colágeno, ácido hialurónico y fibrina como biomateriales o utilizando polímeros sintéticos tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico.

El almacén desempeña un papel importante en el mantenimiento de una estructura porosa necesaria para el crecimiento y proliferación de células y fenotipos de condrocitos. La fibrina y el ácido hialurónico son polímeros adecuados que satisfacen las necesidades para su uso como almacén, como se ha mencionado anteriormente. La fibrina es una sustancia de origen natural y es un vehículo biológico muy adecuado para el trasplante de condrocitos. Además, ya se ha indicado que la fibrina tiene ventajas tales como biocompatibilidad, biodegradabilidad y capacidad de unión a huesos subcondrales (huesos que están estructuralmente adyacentes a, es decir debajo o inferiores al cartílago). Además, las estructuras de fibrina pueden modificarse fácilmente en forma deseadas y se usan fácilmente para inyección. Al mismo tiempo el ácido hialurónico es un agente lubricante, hallado en el fluido sinovial de articulaciones y sirve para controlar el contenido de humedad en las articulaciones.

El documento US 2001/0014475 A1 desvela un procedimiento para cultivar células en partículas de micro vehículo biodegradables y más específicamente cultivar condrocitos durante un periodo prologando de tiempo hasta que se agregan. Estas células agregadas pueden inyectarse directamente o modelarse para implantación en el cuerpo.

El documento US 2002/008220 A1 se refiere a un procedimiento y composición de polímero para reparar un tejido de un paciente en el que a la composición de polímero preferentemente comprende al menos un componente sanguíneo. El componente sanguíneo también puede comprender fibrinógeno y trombina.

El documento WO 2005/060987 A1 se refiere a una composición terapéutica de cartílago para reparar tejido de cartílago dañado. Comprende una mezcla de componentes de condrocitos y trombina y una matriz de fibrinógeno que contiene fibrinógeno.

Sin embargo, persiste un problema. Puesto que la mayoría de los almacenes para ingeniería de tejidos son de tipo sólido tales como parches, esponjas y láminas, los agentes terapéuticos de cartílago para ingeniería de tejido son difíciles de unir a cartílago nativo adyacente. Este hecho es importante en tanto que los agentes terapéuticos de cartílago trasplantados en regiones defectuosas de cartílago ejercen una cura incompleta de la región límite entre ellos.

Divulgación de la invención

Problema técnico

La presente invención se ha realizado a la vista de los anteriores problemas y proporciona una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento para el trasplante de un agente terapéutico de cartílago mediante inyección.

Por lo tanto, es un primer objeto de la presente invención resolver la inconveniencia del injerto osteoperióstico convencional por mezcla y trasplante de matrices que incluyen colágeno, ácido hialurónico y fibrina que son los principales ingredientes del cartílago.

Un segundo objeto de la presente invención es proporcionar trasplante *in situ* conveniente mediante utilización de características de gelificación rápida en las que un agente terapéutico de cartílago inyectable se gelifica en un periodo de tiempo corto, es decir, de aproximadamente 1 a 5 minutos, tras el trasplante.

Un tercer objeto de la presente invención es permitir que los sitios trasplantados se unan completamente a los cartílagos nativos adyacentes, así como permitir el tratamiento de una amplia diversidad de defectos de cartílagos y osteoartritis grave.

Un cuarto objeto de la presente invención es aliviar la carga de los pacientes a tratar mediante un procedimiento de operación quirúrgico simplificado.

Un quinto objeto de la presente invención es promover de forma más rápida y eficaz la generación de cartílago, potenciando de este modo la satisfacción del cliente mediante un procedimiento tal de operación quirúrgica simplificado.

Solución técnica

Se proporciona una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento de trasplante de un condrocito inyectable para trasplante de condrocitos autólogos que comprende:

colocar 1 ml de un cultivo de condrocitos contenido en el frasco número 1 (rojo) en una jeringa estéril de 1 ml e inyectar el cultivo celular en el frasco número 2 (azul) que contiene polvo liofilizado blanco o amarillo claro (fibrinógeno) insertando la jeringa en el frasco número 2 en la dirección vertical; inyectar 1 ml del cultivo celular contenido en el frasco número 1 (rojo) en el frasco número 3 (rojo, pequeño) que contiene polvo liofilizado blanco (trombina) insertando la jeringa en el frasco número 3 en dirección vertical, inyectando gradualmente de este modo el líquido rojo; recoger 0,1 cm³ del contenido de 1 ml del frasco número

- 3 (rojo, pequeño) usando una jeringa de 1 ml, seguido de inyección en el fondo del frasco número 4 (amarillo); añadir los contenidos completos de dos frascos que contienen suspensión de condrocitos al frasco número 4 (amarillo) usando una jeringa estéril de 1 ml seguido de mezclar los contenidos dos o tres veces usando la jeringa;
- 5 confirmar la disolución completa de los contenidos del frasco número 2 (azul) e inyectar después la totalidad del material disuelto en una jeringa de 1 ml;
- inyectar el agente terapéutico celular bien mezclado del frasco número 4 (amarillo) en una jeringa de 1 ml; y montar dos jeringas de 1 ml rellenas con los contenidos del frasco número 2 (azul) y el frasco número 4 (amarillo) en un soporte de reposo seguido de montar una punta de rosca en las jeringas y mezclar los contenidos de las jeringas usando la punta de mezcla del extremo frontal de la misma mientras se inyecta la mezcla resultante a trasplantar e una región de cartílago dañada de un animal.
- 10

Breve descripción de los dibujos

Los anteriores y otros objetos, características y otras ventajas de la presente invención se entenderán más fácilmente a partir de la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos adjuntos, en los que:

- 15 La figura 1 es una fotografía que muestra un procedimiento convencional de trasplante de un agente terapéutico de cartílago;
- La figura 2 es una fotografía que muestra un procedimiento de trasplante de un agente terapéutico de cartílago inyectable, que se aplica a la presente invención;
- La figura 3 es una fotografía que muestra un procedimiento de trasplante de un agente terapéutico de cartílago que se aplica a la presente invención;
- 20 La figura 4 es una fotografía que muestra un procedimiento de trasplante de un agente terapéutico de cartílago inyectable, que se aplica a la presente invención, mediante el uso de una jeringa;
- La figura 5 es una fotografía que muestra las propiedades físicas de un agente terapéutico de cartílago inyectable de acuerdo con la presente invención;
- 25 La figura 6 es una fotografía tomada 3 meses después de la regeneración del cartílago canino de acuerdo con un ejemplo de la presente invención;
- La figura 7 es una ME tomada 8 semanas después del trasplante de un agente terapéutico de cartílago de acuerdo con la presente invención;
- La figura 8 es una ME tomada 12 semanas después del trasplante de una agente terapéutico de cartílago de acuerdo con la presente invención;
- 30 La figura 9 es una fotografía tomada 12 semanas después de la regeneración de un tejido de cartílago canino de acuerdo con un ejemplo de la presente invención;
- La figura 10 es una fotografía que muestra los resultados de la examinación histológica de una agente terapéutico de cartílago de acuerdo con la presente invención; y
- 35 La figura 11 es una fotografía que muestra los resultados de la examinación inmunohistológica de un agente terapéutico de cartílago de acuerdo con la presente invención.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

Las realizaciones preferidas de la presente invención se describirán ahora en más detalle con referencia a los dibujos adjuntos.

- 40 Un procedimiento para el trasplante de un agente terapéutico de cartílago mediante inyección, que se aplica a la presente invención, se constituye como se muestra en las figuras 2 a 12.

En relación con la descripción de la presente invención en lo sucesivo en el presente documento, si se considera que la descripción concreta de las funciones conocidas o construcciones relacionadas con la presente invención pueden hacer al sujeto de la presente invención poco claro, la descripción detallada de las mismas se omitirá.

- 45 Los términos que se describirán en lo sucesivo en el presente documento se establecen tomando en consideración las funciones en la presente invención y pueden variar de acuerdo con la costumbre o la intención del fabricante. Por lo tanto, los términos usados en el presente documento deberían definirse basándose en los contenidos a lo largo de la memoria descriptiva de la presente invención.

- 50 La presente invención se caracteriza por matrices de mezcla que incluyen fibrina, ácido hialurónico y colágeno, que constituyen los ingredientes principales del cartílago animal, mediante el uso de una punta de mezcla del extremo frontal de una jeringa, mientras se inyecta la mezcla resultante en una región dañada del cartílago.

- Es decir, la presente invención permite lo siguiente: trasplante *in situ* conveniente debido a características de rápida gelificación en el que un agente terapéutico de cartílago inyectable se gelifica en un periodo corto de aproximadamente 1 a 5 minutos, tras el trasplante; unión completa de sitios trasplantados al cartílago nativo adyacente, así como tratamiento de una amplia diversidad de defectos de cartílago y osteoartritis grave; alivio de la carga aplicada a los pacientes mediante un procedimiento de operación quirúrgica simplificado; y de este modo promoción de una generación más rápida y más eficaz del cartílago.
- 55

La presente invención proporciona una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento para trasplantar un agente terapéutico de cartílago de la presente invención mediante inyección, de acuerdo con el siguiente ejemplo.

Ejemplo

5 En este ejemplo, se llevaron a cabo experimentos usando condrocitos animales (caninos) de acuerdo con la siguiente secuencia. Los resultados experimentales se valoraron 3 meses después. Es decir, como se muestra en la figura 2.

1. El limbo de la región defectuosa de cartílago se recorta y se mide el tamaño del mismo. Después, se llevan a cabo las siguientes etapas.
- 10 2. Entre los contenidos en un kit, se retira un tapón de aluminio del frasco número 1 (rojo) y se lavan el tapón y la superficie del frasco con etanol al 70 %. En el presente ejemplo, el frasco número 1 (rojo) contiene una suspensión de células en cultivo de color rojizo (cultivo de condrocitos + ácido hialurónico + aprotinina, etc.).
3. Se retira un tapón de aluminio del frasco número 2 (azul) y se lavan el tapón y la superficie del frasco con etanol al 70 %. En el presente ejemplo, el frasco número 2 (azul) es un frasco incoloro que contiene un polvo liofilizado blanco o amarillo claro (fibrinógeno).
- 15 4. 1 ml del contenido del frasco número 1 (rojo) se introduce en una jeringa estéril de 1 ml y la aguja de la jeringa se inserta en el frasco número 2 (azul) que se mantiene verticalmente. En el presente ejemplo, el contenido de la jeringa se inyecta directamente sobre el liofilizado, sin inyectar a lo largo de la pared interna del frasco, mientras se evita con cuidado que una punta de aguja entre en contacto con el liofilizado. En esta conexión, el frasco número 2 (azul) se agita suavemente con las manos hasta que se disuelve completamente el liofilizado en el frasco número 2 (Azul).
- 20 5. Se retira un tapón de aluminio del frasco número 3 (rojo, pequeño) y se lavan el tapón y la superficie del frasco con etanol al 70 %. En el presente ejemplo, el frasco número 3 (rojo, pequeño) es un frasco incoloro que contiene un polvo liofilizado blanco (trombina).
- 25 6. Se introduce 1ml de una solución contenida en el frasco número 1 (rojo) en una jeringa y la aguja de la jeringa se inserta en el frasco número 2 (rojo, pequeño) que se mantiene verticalmente, inyectando gradualmente de este modo líquido rojo.
7. Después de retirar un tapón de aluminio del frasco número 4 (amarillo) y lavar el tapón y la superficie del frasco con etanol al 70 %, se recogen 0,1 cm³ de un contenido de 1 ml en el frasco número 3 (rojo, pequeño) usando una jeringa de 1 ml y se inyectan en un fondo del frasco número 4 (amarillo).
- 30 8. Los contenidos completos de dos frascos que contienen suspensión de condrocitos se introducen en el frasco número 4 (amarillo) usando una jeringa estéril de 1 ml seguido de mezcla dos o tres veces usando la jeringa.
9. Después de confirmar la disolución completa del contenido del frasco 2 (azul), se rellena una jeringa de 1 ml con la totalidad del material disuelto.
- 35 10. El agente terapéutico de células bien mezclado del frasco 4 (amarillo) se introduce en una jeringa de 1 ml.
11. Dos jeringas de 1 ml rellenas con los contenidos del frasco número 2 (azul) y el frasco número 4 (amarillo), respectivamente, se montan en un soporte de reposo de jeringas.
12. Se monta una punta de conexión de rosca en las jeringas, seguido de montaje de una punta de rosca y un soporte de pistón.
- 40 13. Después de completar el ensamblaje, se inicia el trasplante. En el presente ejemplo, si es posible, la inyección del agente terapéutico del cartílago se lleva a cabo de una sola vez, sin detenerse.
14. Aproximadamente 5 minutos después de la compleción del trasplante, se recorta el limbo del sitio del trasplante.

45 Se muestra una comparación entre la presente invención y el trasplante de condrocitos autólogos (ACT) convencional en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1

ACT convencional	ACT de la invención (Chondron inyectable)
Preparación inyectable líquida	Tipo de gel (trasplante conveniente debido a características de gelificación rápida en un periodo de 1 a 5 minutos, tras el trasplante, y facilidad para moldear las formas deseadas)
Condrocitos + medio de cultivo	Condrocitos + materiales biocompatibles
Injerto osteoperióstico necesario	Periostio innecesario (trasplantable mediante incisión mínima)
Capacidad de regeneración de cartílago excelente	Capacidad de regeneración de cartílago más avanzada

(Continuación)

ACT convencional	ACT de la invención (Chondron inyectable)
Incisión en la rodilla necesaria (incisión de más de 15 cm necesaria para sutura, tras recogida de periostio y trasplante)	Capaz de realizar cirugía mediante incisión mínima (5cm), capaz de realizar cirugía usando un artroscopio
Distribución no homogénea (posibilidad de regeneración de cartílago desigual y localizada por acción de la gravedad, debido al estado de suspensión de las células en una fase líquida)	Distribución homogénea (que muestra distribución homogénea debido a características de gelificación rápida dentro de un periodo de 1 a 5 minutos en un momento del trasplante y de este modo capacidad de generación de cartílago homogénea en ese estado)
Sutura (el procedimiento que consume más tiempo entre los procedimientos quirúrgicos y que es complicado)	Sin sutura
Tiempo de operación largo	Tiempo de operación corto
Producción de fibrocartílago por sangrado	Control del sangrado con cera ósea (produciendo principalmente cartílago hialino)
	Adición de procedimientos de generación de columna (véase composición terapéutica de cartílago y uso de la misma)
	Trasplantable independientemente de formas defectuosas
	Alivio de la filtración celular debido a sutura incompleta
	Reducción del tiempo para portar peso debido a que no hay sutura de periostio

5 Mientras tanto, como el medio para cultivo celular que puede usarse en la presente invención, puede hacerse mención de DMEM (medio de Eagle modificado por Dulbecco), F-12 de Ham, DMEM/F-12, IMDM (medio de Dulbecco modificado por Iscove), medio 5A de McCoy, MEM (medio esencial mínimo), alpha-MEM, RPM1 1640, medio L-15 de Leibovitz y medio basal de Eagle, que se usan convencionalmente en la técnica.

10 Preferentemente, la concentración del polvo liofilizado (fibrinógeno) usado en el presente documento está en el intervalo de 10 mg/ml a 200 mg/ml. Cuando la concentración de fibrinógeno es menor de 10 mg/ml, es demasiado baja para ejercer propiedades del mismo como la matriz. Por el contrario, cuando la concentración de fibrinógeno es mayor de 200 mg/ml, aparece dificultad de disolución y es difícil usarlo debido a una viscosidad muy alta. Por lo tanto, se prefiere usar el fibrinógeno dentro del intervalo de 10 mg/ml a 200 mg/ml.

15 Además, la concentración de polvo liofilizado blanco (trombina) usado en el presente documento está preferentemente en el intervalo de 1 UI/ml a 200 UI/ml. Cuando la concentración de trombina es menor de 1 UI/ml, es demasiado baja para formar fibrina, siendo incapaz por lo tanto de conseguir la gelificación en un periodo de varios minutos. Por el contrario, cuando la concentración de trombina es mayor de 200 UI/ml, la trombina se solidifica inmediatamente tras la mezcla y por lo tanto no es adecuada para su uso en el agente terapéutico inyectable. Por lo tanto, se prefiere usar trombina dentro del intervalo de 1 UI/ml a 200 UI/ml.

20 Además, la concentración de aprotinina usada en el presente documento esta preferentemente en el intervalo de 100 KUI/ml a 20.000 KUI/ml. Cuando la concentración de aprotinina es menor de 100 KUI/ml, es de poca ayuda para la inhibición de la descomposición de fibrina. Por el contrario, cuando la concentración de aprotinina es mayor de 20.000 KUI/ml, puede producirse citotoxicidad. Por lo tanto, se prefiere usar la aprotinina dentro del intervalo de 100 KUI/ml a 20.000 KUI/ml.

25 Además, la cantidad de ácido hialurónico usado en el presente documento, está preferentemente en el intervalo de 0,01 % a 2 % (p/w). Cuando la cantidad de ácido hialurónico es menor de 0,01 %, es difícil ejercer suficientemente las funciones del mismo como la matriz. Por el contrario, cuando la cantidad de ácido hialurónico es mayor de 2 %, la capacidad de unión de fibrina puede verse afectada estructuralmente, afectando de este modo a la fuerza y dureza de la matriz. Por lo tanto, se prefiere usar ácido hialurónico dentro del intervalo de 0,01 a 2 % (p/v).

30 Aun adicionalmente, la cantidad de colágeno tipo 2 usado en el presente documento está preferentemente en el intervalo de 50 µg/ml a 1 mg/ml. Cuando la cantidad de colágeno tipo 2 es menor de 50 µg/ml es difícil ejercer de forma suficiente las funciones del mismo. Por el contrario, cuando la cantidad de colágeno tipo 2 es mayor de 1 mg/ml, las características del mismo afectan a la capacidad de unión de la fibrina, afectando de este modo a la fuerza y dureza de la matriz. Por lo tanto, se prefiere usar colágeno tipo 2 dentro del intervalo de 50 µg/ml a 1 mg/ml.

Aplicabilidad industrial

35 Como resulta evidente a partir de lo anterior, la presente invención proporciona los siguientes efectos: solución de los inconvenientes mostrados por injerto osteoperióstico convencional, por mezcla y trasplante de matrices que incluyen fibrina, ácido hialurónico y colágeno que son los principales ingredientes del cartílago; en particular,

- 5 trasplante *in situ* conveniente debido a características de rápida gelificación en las que un agente terapéutico de cartílago inyectable se gelifica dentro de un periodo de tiempo corto, es decir, de aproximadamente 1 a 5 minutos, tras el trasplante; unión completa de sitios trasplantados a los cartílagos nativos adyacentes, así como tratamiento de una amplia diversidad de defectos de cartílago y osteoartritis grave; el alivio de la carga de los pacientes a tratar mediante un procedimiento de operación quirúrgica simplificado; y de este modo promoción de generación de cartílago más eficaz y más rápida, dando como resultado una satisfacción del cliente aumentada.

REIVINDICACIONES

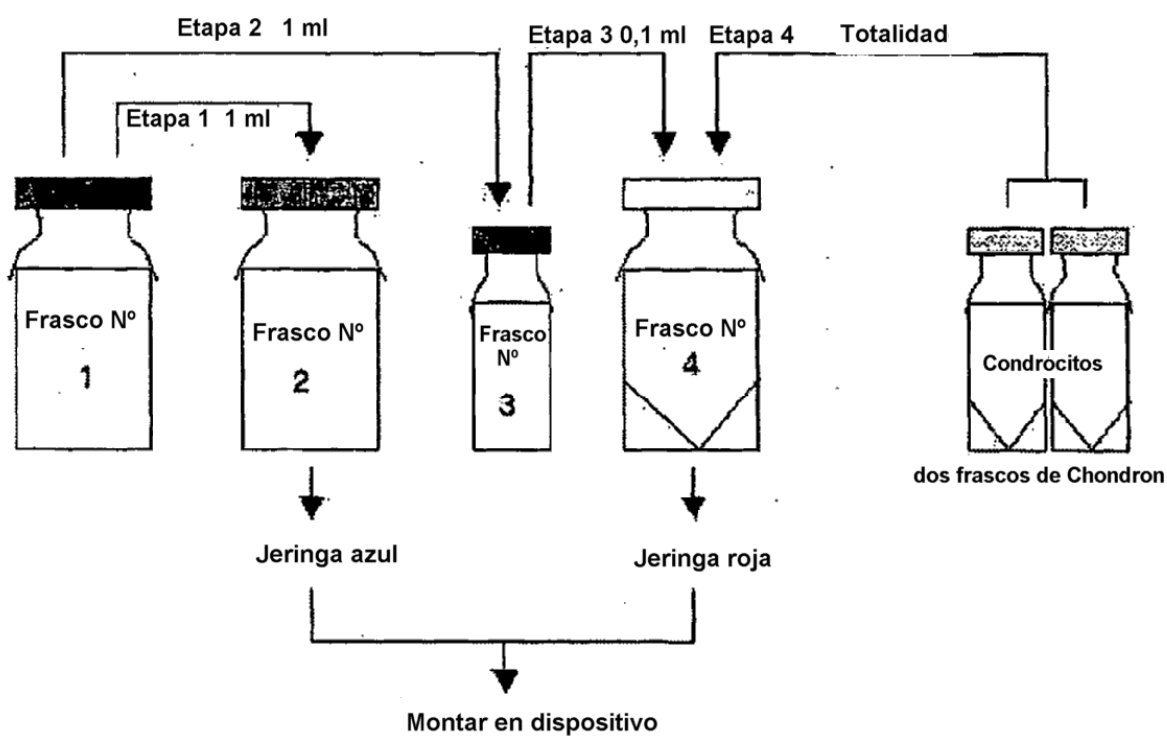
1. Una composición terapéutica de cartílago para su uso en un procedimiento para trasplantar un condrocito inyectable para trasplante de condrocitos autólogos, obtenible:

- 5 colocando 1 ml de un cultivo de condrocitos contenido en el frasco número 1 (rojo) en una jeringa estéril de 1 ml e inyectando el cultivo celular en el frasco número 2 (azul) que contiene fibrinógeno en polvo liofilizado blanco o amarillo claro insertando la jeringa en el frasco número 2 en dirección vertical, de modo que la concentración de fibrinógenos esté en el intervalo de 10 mg/ml a 200 mg/ml;
- 10 inyectando 1 ml de un cultivo celular contenido en el frasco número 1 (rojo) en el frasco número 3 (rojo, pequeño) que contiene trombina en polvo liofilizado blanco insertando la jeringa en el frasco número 3 en dirección vertical, inyectando de este modo gradualmente líquido rojo;
- 15 recogiendo 0,1 cm³ de un contenido de 1 ml del frasco número 3 (rojo, pequeño) usando una jeringa de 1 ml, seguido de inyección en un fondo del frasco número 4 (amarillo) de modo que la concentración de trombina esté en el intervalo de 1 UI/ml a 200 UI/ml;
- añadiendo los contenidos completos de dos frascos que contienen suspensión de condrocitos al frasco número 4 (amarillo) usando una jeringa estéril de 1 ml, seguido de mezclar los contenidos dos o tres veces usando la jeringa;
- 20 confirmando la disolución completa de los contenidos del frasco número 2 (azul) y después inyectando la totalidad del material disuelto en una jeringa de 1 ml;
- inyectando el agente terapéutico celular bien mezclado del frasco número 4 (amarillo) en una jeringa de 1 ml; y montando dos jeringas de 1 ml rellenas con los contenidos del frasco número 2 (azul) y el frasco número 4 (amarillo) en un soporte de reposo seguido de montaje de una punta de rosca en las jeringas y mezclando los contenidos de las jeringas usando la punta de mezcla del extremo frontal de las mismas en las que la mezcla resultante va a trasplantarse en una región de cartílago dañada de un animal.
- 25 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la etapa de inyección mediante inserción de una aguja de jeringa se lleva a cabo inyectando directamente los contenidos de la jeringa sobre el liofilizado, sin inyectar a lo largo de la pared interior del frasco, mientras se evita cuidadosamente que una punta de aguja entre en conectad con el liofilizado.

[Figura 1]



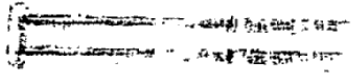
[Figura 2]



[Figura 3]



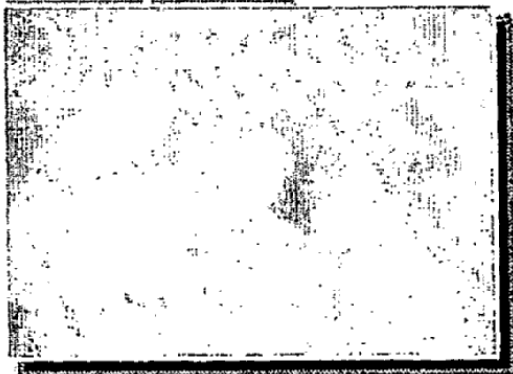
[Figura 4]



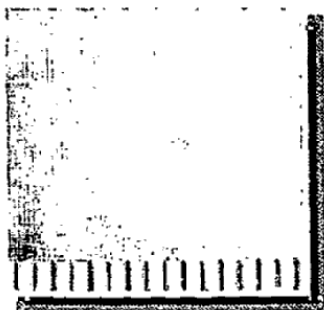
Dispositivo para transplantar Chondron inyectable

Tras transplantar Chondron inyectable

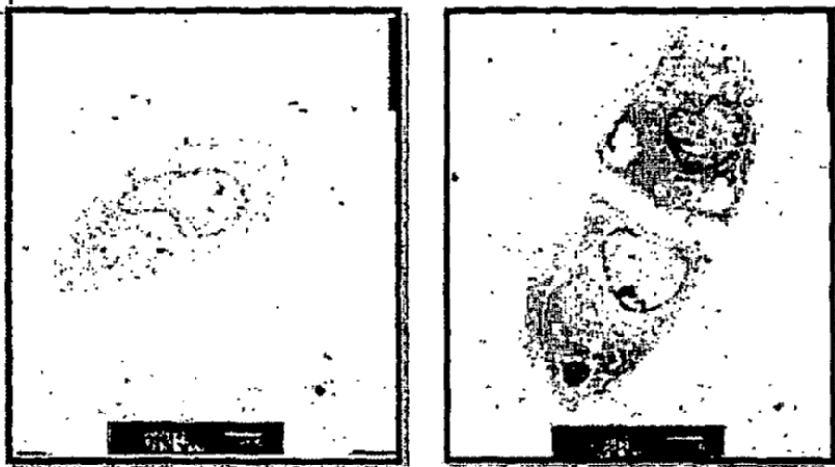
[Figura 5]



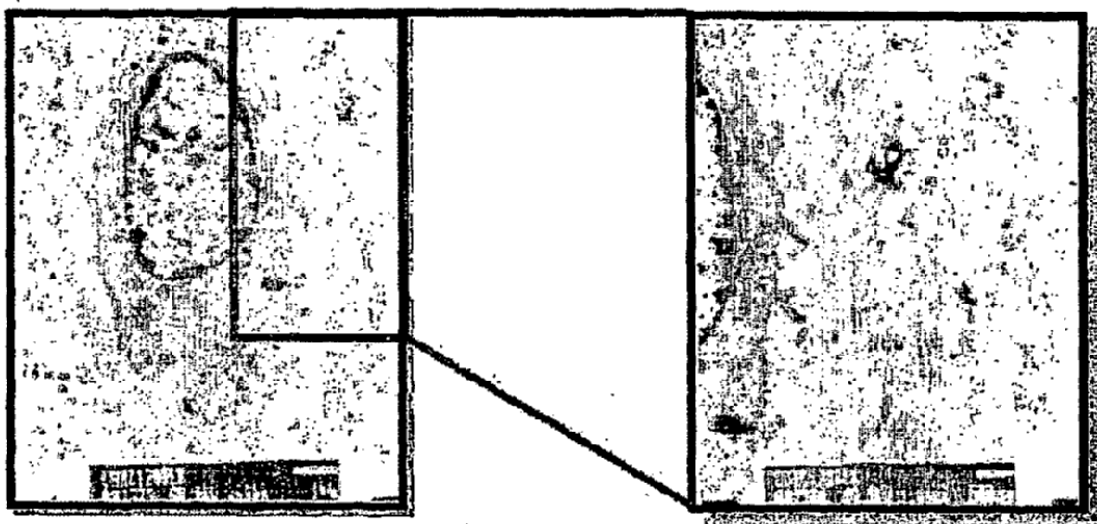
[Figura 6]



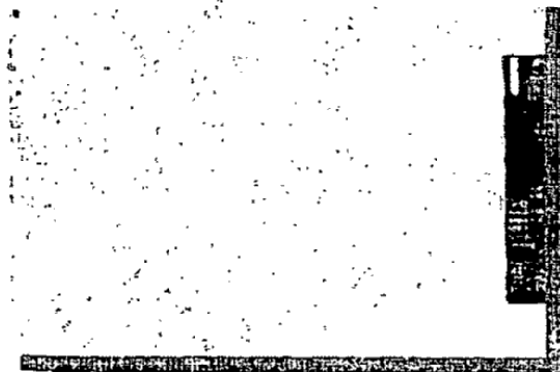
[Figura 7]



[Figura 8]

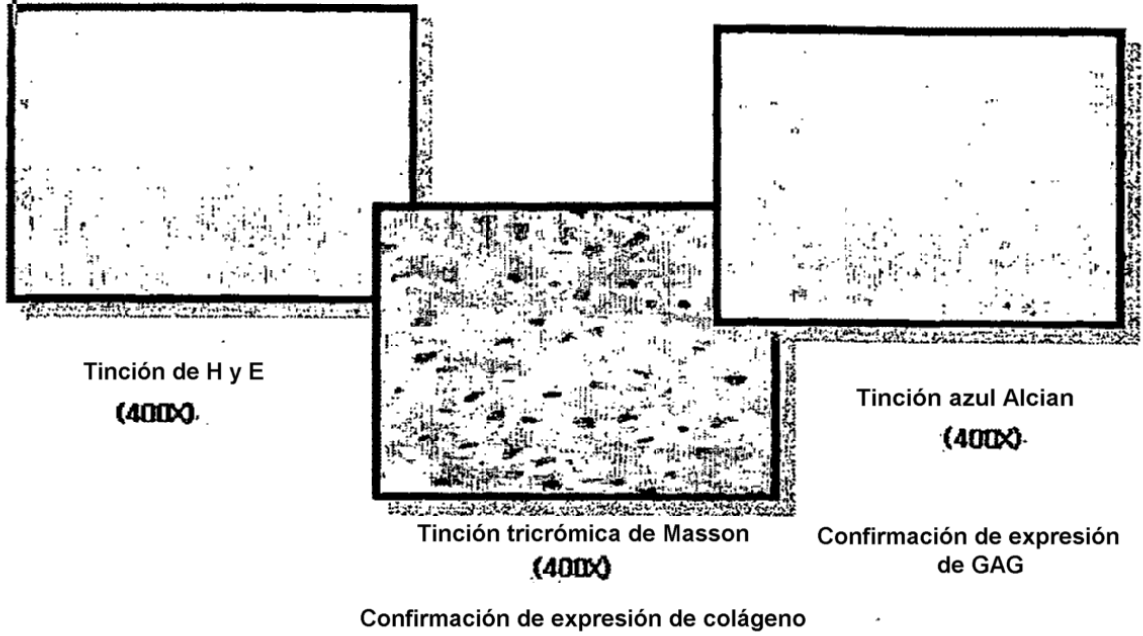


[Figura 9]



[Figura 10]

Examen histológico



[Figura 11]

Examen inmunohistológico

