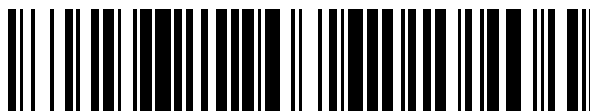


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 689**

51 Int. Cl.:

**A61F 2/28**

(2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2004** **E 11154748 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2012** **EP 2335650**

54 Título: **Sistema de cartílago particulado**

30 Prioridad:

**11.12.2003 US 528865 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.02.2013**

73 Titular/es:

**ISTO TECHNOLOGIES INC. (50.0%)**  
**1155 Olivette Executive Parkway, Suite 200**  
**St. Louis, MO 63132, US y**  
**ZIMMER INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KIZER, NEIL;**  
**SPIRO, ROBERT;**  
**YAO, JIAN y**  
**BLANCHARD, CHERYL**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 396 689 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

Sistema de cartílago particulado

## 5 Antecedentes de la invención

Las lesiones y el daño al cartílago articular dan como resultado lesiones en el cartílago que a menudo conducen a incapacidad, dolor y funcionalidad reducida o alterada. Históricamente, ha habido un éxito limitado en la reparación de estas heridas y lesiones, (es decir, caracterizado por una reparación que reestablece un tejido de cartílago articular estructural y funcionalmente competente de naturaleza duradera). Muchas lesiones y defectos del cartílago articular penetran en el hueso y en los espacios hueso-médula también (es decir, un defecto osteocondral).

El tejido de cartílago articular tiene un carácter resistente y elástico; cubre los extremos de huesos en articulaciones y permite que los huesos se muevan de manera suave uno sobre otro. Numerosas enfermedades incluyendo artrosis y lesiones traumáticas de actividades y accidentes provocan daño al cartílago articular.

El cartílago articular carece de un suministro de sangre directo, es aneural, alinfático y contiene un único tipo celular, el condrocito. Su falta de vascularización, alta proporción de matriz con respecto a células y falta de una fuente local de reservas de células no diferenciadas da como resultado una capacidad limitada para regenerarse tras la lesión o pérdida degenerativa. Históricamente, la reparación del cartílago articular maduro dañado o enfermo ha sido difícil debido a su muy limitada capacidad de autorreparación. Habitualmente, el cartílago articular humano adulto no se autorrepara o sólo se cura parcialmente en condiciones biológicas normales.

En el pasado, las intervenciones de reparación basadas en el uso de aloinjertos o autoinjertos de condrocitos aislados o tejido humano adulto no han proporcionado resultados completamente satisfactorios, desde el punto de vista de una restauración de la arquitectura de la superficie de articulación.

El injerto de cartílago articular puro en solitario ha tenido poco o ningún éxito, tampoco la implantación de escamas de cartílago aisladas tras la ablación o disociación traumática sin un soporte óseo, ya que el cartílago no se adhiere a superficies óseas ni el hueso puede facilitar la fijación de cartílago.

El cultivo *in vitro* de condrocitos en condiciones controladas puede dar lugar a crecimiento de tejido de cartílago articular normal. Adkisson, patentes de EE.UU. nº 6.235.316 y nº 6.645.764. Sin embargo, los condrocitos adultos normales generalmente han perdido su potencial para reproducirse y generar nuevo cartílago *in vivo*, aunque son responsables del mantenimiento de la homeostasis tisular. Por consiguiente, existe una necesidad de composiciones y métodos mejorados para reparar el cartílago articular.

El documento US 5964805 describe un método y material para reparar defectos artríticos focales en una articulación de mamífero, especialmente en una rodilla humana. Se usa una pasta de hueso esponjoso de cartílago articular para potenciar la formación de cartílago. La pasta puede incluir un factor de estimulación de cartílago.

El documento US 2001/0014473 describe implantes y tejido de cartílago que comprenden tejido que se produce *in vitro* partiendo de células que tienen la capacidad de formar una matriz de cartílago extracelular. Las células se llevan a un espacio celular y se dejan en el espacio para producir una matriz de cartílago extracelular. El espacio celular está al menos parcialmente separado de un espacio de medio de cultivo que rodea al espacio celular por medio de una pared semipermeable o mediante una pared de poro abierto que actúa como barrera de convección. La pared de poro abierto puede diseñarse como una placa hecha de un material sustituto del hueso y que constituye la parte inferior del espacio celular. Se afirma que las células se asientan en la placa y el tejido de cartílago que crece en el espacio celular crece al interior de los poros o la rugosidad de superficie de la placa para formar un implante que consiste en una placa de sustituto óseo y una capa de cartílago que cubre la placa. Las partes del implante están conectadas de ese modo entre sí de manera enganchada puesto que se han hecho crecer juntas.

### Breve resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende partículas de cartílago derivadas de un donante humano de menos de quince años de edad en el momento de la donación, en la que se alteran las partículas de cartílago, a partir de un tejido cartilaginoso continuo de condrocitos de donante cultivados.

La composición puede incluir otros tejidos de cartílago, tales como cartílago costal, cartílago nasal, cartílago de tráquea, cartílago de esternón y cualquier otro tejido de cartílago que contenga colágeno II y no colágeno I y III.

Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor con respecto a la siguiente descripción, las reivindicaciones adjuntas y las figuras que se acompañan, en las que:

**Breve descripción de las diversas vistas de los dibujos y figuras**

La figura 1 muestra una realización de la invención en la que se distribuyen partículas de cartílago por sustancialmente toda la matriz condroconductora/inductora biocompatible.

La figura 2 muestra una realización de la invención en la que se distribuyen partículas de cartílago por aproximadamente todo el 75% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible.

La figura 3 muestra una realización de la invención en la que se distribuyen partículas de cartílago por sustancialmente toda la matriz condroconductora/inductora biocompatible y comprende además una matriz osteoconductora particulada.

La figura 4 muestra partículas de cartílago juvenil encapsuladas dentro de un hidrogel de hialuronato.

La figura 5 muestra el aspecto morfológico de partículas de cartílago juvenil humano, premoldeadas en una matriz de fibrina, tras 60 días de cultivo en laboratorio.

La figura 6 muestra un cóndilo medio femoral reparado (lado derecho de la fotografía) de una cabra española, 6 semanas tras el implante de partículas de cartílago juvenil humano con una matriz de fibrina y un colgajo perióstico vivo.

La figura 7 muestra una sección de 1 mm de grosor a través del sitio del defecto representado en la figura 6.

La figura 8 muestra cartílago juvenil humano viable implantado en un cóndilo femoral de cabra 6 semanas tras la cirugía.

La figura 9 muestra el aspecto morfológico de partículas de cartílago juvenil humano implantadas en un cóndilo femoral de cabra 6 semanas tras la cirugía.

**Descripción detallada de la invención**

El término “cartílago juvenil” se refiere a una célula de condrocito, células, tejido de cartílago o progenie o derivados de los mismos, que están destinados a convertirse en cartílago, o células progenitoras que pueden experimentar proliferación, crecimiento, diferenciación y maduración para dar condrocitos y formación de tejido cartilaginoso. En general, tales condrocitos se encuentran lo más fácilmente en tejido de individuos que abarcan fuentes de xenoinjerto, autoinjerto y aloinjerto. En seres humanos, preferiblemente los condrocitos son de aquellos de menos de quince años de edad, y más preferiblemente, menos de dos años de edad. Normalmente, los condrocitos inmaduros o juveniles expresan una capacidad potenciada para sintetizar y organizar una matriz extracelular de cartílago hialino. Esta actividad es habitualmente la más alta en células recién aisladas de tejido de donante y disminuye durante la manipulación posterior tal como pase y expansión.

El término “neocartílago” se refiere a cartílago caracterizado por uno o más de los siguientes atributos: que contiene fosfolípidos de membrana enriquecidos en ácido Mead, que contiene fosfolípidos de membrana mermados en ácido linoleico o araquidónico, que está sustancialmente libre de células endoteliales, óseas y/o sinoviales, que tiene un contenido en glicosaminoglicano S-GAG sulfatado de al menos 400 mg/mg, positivo para la expresión de colágeno tipo II, que está sustancialmente libre de colágeno tipo I, III y X, que contiene una matriz sustancialmente libre de biglicano, que tiene múltiples capas de células dispuestas aleatoriamente, en vez de separadas en zonas distintas de maduración de condrocitos, que está enriquecida en agregano de alto peso molecular, que se produce *in vitro* y está esencialmente libre de material que no es cartílago, o que se caracteriza por tener múltiples capas de células rodeadas por una matriz extracelular hialina enriquecida en colágeno y glicosaminoglicano insoluble sustancialmente continua.

El término “biocompatible” se refiere a materiales que, cuando se incorporan en la invención, tienen toxicidad aceptable, reacciones de cuerpo extraño aceptable en el organismo vivo y afinidad aceptable con los tejidos vivos.

El término “condroinductor” se refiere a la capacidad del material para inducir la proliferación, el crecimiento, la diferenciación y/u otra maduración de condrocitos o células condroprogenitoras y/o la proliferación, el crecimiento, la diferenciación y/o la maduración de condrocitos o células condroprogenitoras o la producción de cartílago articular a partir de células progenitoras de neocartílago, condrocitos o cartílago. Un material condroinductor puede actuar directamente como factor de crecimiento que interacciona con células precursoras para inducir la proliferación, el crecimiento, la diferenciación y/o la maduración de condrocitos, o el material puede actuar indirectamente induciendo la producción de otros factores condroinductores, tales como factores de crecimiento. Esta inducción puede incluir opcionalmente, sin limitación, moléculas de señalización, modulación y transformación.

El término “condroconductor” se refiere a materiales que proporcionan un entorno para la proliferación, la diferenciación, el crecimiento, el crecimiento interno y/o la orientación de tejido de cartílago, células de condrocitos o

células condroprogenitoras a partir de los tejidos circundantes.

El término "condroinductor/conductor" se refiere a la característica de ser tanto condroinductor como condroconductor.

5 El término "matriz" se refiere a una(s) sustancia(s) que se adhiere(n) a o se incrusta(n) parcialmente dentro de la cual se contiene algo.

10 El término "osteoconductor" se refiere a materiales que proporcionan un entorno para la proliferación, la diferenciación, el crecimiento, el crecimiento interno y/o la orientación de células osteogénicas.

15 El término "colgajo" se refiere a una membrana autóloga o alogénica de células vivas, material natural o sintético que puede ser vital o estar desvitalizado. El colgajo contiene la matriz con partículas de cartílago que pueden estar unidas al cartílago natural o hueso subyacente *in vivo* mediante unión con suturas o sin suturas tal como pegado o soldadura química de tejido, o mediante dispositivos de unión física tales como chinchetas o grapas.

20 Las composiciones y los métodos descritos en el presente documento comprenden la reparación útil de cartílago articular dañado o enfermo. Las composiciones y los métodos incluyen una matriz de cartílago o partículas y una matriz condroconductora/inductora biocompatible.

En otro aspecto de la invención, puede disponerse un dispositivo tal como se describe en el presente documento en un sitio de reparación, regeneración o aumento de cartílago.

25 En otro aspecto de la invención, las composiciones comprenden además una matriz osteoconductora particulada.

En otras realizaciones, la matriz de cartílago comprende un material que potencia el crecimiento del cartílago seleccionado del grupo que consiste en al menos una partícula de cartílago juvenil, al menos una partícula de neocartílago, una combinación de las mismas y cualquiera de las anteriores junto con una matriz asociada.

30 Las composiciones pueden usarse según los métodos de la invención, para implantar o trasplantar o disponer de otra forma un constructo de reparación en un sitio que necesita reparación, regeneración o crecimiento del cartílago articular.

35 En otro aspecto de la invención, puede formarse un dispositivo a partir de las composiciones de la invención y el dispositivo puede disponerse en un sitio que necesita una reparación de cartílago articular.

En algunas realizaciones, las composiciones comprenden además una matriz osteoconductora particulada.

40 La matriz condroconductora/inductora biocompatible de la invención comprende cualquier compuesto apropiado o combinación de compuestos que sea inductora o conductora para la formación o reparación de cartílago articular en las composiciones y los métodos de la invención.

45 La matriz condroconductora/inductora puede comprender fibrinógeno. El fibrinógeno puede ser de cualquier fuente adecuada. Por ejemplo, un experto en la técnica reconocerá que el fibrinógeno puede derivarse de productos de bancos de sangre (o bien crioprecipitado heterólogo (agrupado o de un único donante) o autólogo o bien plasma congelado reciente). El fibrinógeno también puede derivarse de plasma rico en plaquetas o reciente autólogo, obtenido usando un recuperador celular u otras técnicas. La patente de EE.UU. n° 5.834.420 también da a conocer un método para obtener fibrinógeno.

50 En otras realizaciones, la matriz condroconductora/inductora biocompatible comprende trombina. La trombina puede ser de cualquier fuente adecuada. Un experto en la técnica reconocerá que puede aislarse trombina mediante medios bien conocidos o adquirirse comercialmente. Véase la patente de EE.UU. n° 4.965.203, y Berliner, JL, Thrombin: Structure and Function (Ed) Plenum Pub Corp; (1992) para métodos a modo de ejemplo de aislamiento y/o purificación.

55 En cualquier realización, la matriz condroconductora/inductora biocompatible puede comprender una combinación de fibrinógeno y trombina. La matriz condroconductora/inductora puede contener proporciones iguales de fibrinógeno y trombina o más de o bien fibrinógeno que trombina o bien más trombina que fibrinógeno. Cuando se usan en combinación, los dos pueden estar en cualquier proporción, que oscilan entre una parte de cualquiera en comparación con la cantidad del otro hasta proporciones iguales de cada uno de los dos.

60 Independientemente de si el fibrinógeno o la trombina se mezclan con el neocartílago, cartílago juvenil o son componentes separados de la matriz condroconductora/inductora biocompatible, cuando se ponen en práctica ciertas realizaciones de la invención, los componentes de fibrinógeno y trombina se mantienen preferiblemente separados uno de otro antes del momento de uso. El fibrinógeno y la trombina se ponen entonces en contacto entre sí en el momento de uso. Un tipo común de aplicador que puede usarse para este fin consiste en una jeringuilla

doble, unida mediante un conector en forma de Y, en la que los componentes se mezclan a medida que salen. Este tipo de aplicador, usado con una cánula roma, es útil para combinar la trombina y el fibrinógeno y también es útil en los métodos de la invención para disponer o trasplantar las composiciones de la invención a un sitio en el que se desea la reparación del cartílago articular. En casos en los que el sitio de reparación del cartílago articular está

abierto para su reparación, pueden usarse también el fibrinógeno y/o la trombina con una unión por pulverización para cubrir las superficies; o el fibrinógeno y/o la trombina pueden aplicarse a un apósito o portador absorbible, tal como una esponja de celulosa, vellón de colágeno, periostio vital o desvitalizado o cualquier otro medio adecuado.

En diversas realizaciones, la matriz condroconductora/inductora puede comprender uno o más de fibrinógeno, trombina, fibrinógeno/trombina (Tisseel o Crosseal), albúmina, hidrogel de poli(etilenglicol) (PEG) que se forma *in situ*, fibrina, hialuronato, fibrina/hialuronato, colágeno/hialuronato, fibrina/colágeno/hialuronato, PEG/hialuronato, PEG/colágeno, sellantes a base de PEG (CoSeal) u otros sellantes y/o adhesivos a base de proteínas y plasma, otros sellantes y/o adhesivos naturales y combinaciones de los mismos, que son biocompatibles con respecto a la sustitución o reparación del cartílago articular y son inductores o conductores para la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago en la reparación o sustitución de cartílago articular.

En algunas realizaciones, la matriz condroconductora/inductora biocompatible puede funcionar opcionalmente facilitando el anclaje y/o fijación de la composición en los métodos de la invención para reparar el cartílago articular deseado.

Las composiciones inventadas también pueden incluir materiales que no se conocen aún, pero que proporcionan características referentes a estos componentes que son similares a los materiales descritos en el presente documento.

El tejido de cartílago en cierta realización de la composición de la invención también puede comprender cartílago juvenil o neocartílago o una combinación de cartílago juvenil o neocartílago. El cartílago juvenil y neocartílago pueden estar en cualquier proporción entre sí, oscilando entre una célula o parte de cualquiera en comparación con el otro hasta proporciones iguales de cada uno de los dos. Por ejemplo, la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede contener proporciones iguales de neocartílago y cartílago juvenil o más de o bien neocartílago que cartílago juvenil o bien más de cartílago juvenil que neocartílago. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención comprenden además una matriz osteoconductora particulada. El cartílago juvenil o neocartílago está en forma de partículas en la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago. Las partículas aumentan la razón de superficie con respecto a volumen en la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago, lo que permite una integración y un intercambio de factores de crecimiento y metabolitos mejorados, lo que da como resultado ventajosamente una viabilidad y vida útil de almacenamiento potenciadas para las composiciones. Las partículas de cartílago juvenil y neocartílago pueden variar en intervalos de tamaño desde 1 hasta 27 mm<sup>3</sup>. Por tanto, las partículas de cartílago juvenil y neocartílago colocadas en la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago también pueden variar en tamaño desde células individuales con matriz asociada hasta 100 mm<sup>3</sup> de tamaño dependiendo de la aplicación o el tipo de defecto. Para un defecto un tanto típico de 2 cm, podrían disponerse al menos de 1 x 10<sup>6</sup> a 2 x 10<sup>6</sup> células, preferiblemente de 2 x 10<sup>6</sup> a 4 x 10<sup>6</sup>, y lo más preferiblemente de 10 x 10<sup>6</sup> a 20 x 10<sup>6</sup>. La cantidad de células usada puede variar dependiendo de las circunstancias específicas de un defecto que necesita repararse y los objetivos del paciente. Por ejemplo, un experto en la técnica reconocería que, en promedio, el tejido adulto tiene aproximadamente de un 5 a un 10% de masa celular por gramo de tejido. Esto equivale a aproximadamente un relleno del 7%. Sin embargo, probablemente se producirá algo de muerte celular durante la maduración de modo que normalmente es preferible un recuento inicial de células superior.

En cuanto a la proporción de razones económicas de tejido con respecto al porcentaje de relleno de defectos, para maximizar el uso de tejido, aproximadamente 300 mg de tejido proporcionarían aproximadamente un 50% de relleno de defectos, aunque se utilizaría menos, aproximadamente 200 mg, para un 30% de relleno de defectos, y lo más preferiblemente, para un 10% de relleno de defectos, 60 mg.

La parte de matriz de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender trombina, fibrinógeno, medios o fibrinógeno en combinación con medios o trombina en combinación con medios. Puede usarse cualquier medio adecuado para el componente de medio. Los ejemplos de medios adecuados incluyen, pero no se limita a, un medio de crecimiento condicionado adaptado para su uso en el crecimiento de cultivos de células de cartílago que contiene factores de crecimiento de unión a heparina, al menos uno de los cuales es una proteína morfogenética derivada de cartílago (Chang *et al.*, J. Biol Chem 269: 28227-28234), otros medios precondicionados, medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), medio esencial mínimo y medio RPMI (Roswell Park Memorial Institute). El medio de cultivo puede comprender también ascorbato y/o factores de crecimiento autocrinos exógenos.

El cartílago juvenil en la invención puede ser de cualquier fuente adecuada. El cartílago juvenil o los condrocitos usados en la composición pueden recogerse de tejido de donantes y prepararse dividiendo o triturando el cartílago del donante para dar pequeños trozos o partículas. Las partículas de cartílago juvenil pueden comprender tejido o células juveniles, que pueden estar intactas, trituradas o alteradas, tal como mediante homogeneización del tejido.

Los ejemplos de fuentes de cartílago de donante incluyen fuentes autólogas, alogénicas o xenogénicas. En el caso de injertos autólogos, se recoge cartílago del tejido cartilaginoso del propio cuerpo del paciente. Las fuentes típicas para el cartílago de donante autólogo incluyen las superficies articulares, cartílago intercostal y cartílago de la oreja o el tabique nasal. En el caso de aloinjertos, el cartílago puede tomarse de cualquier donante apropiado no idéntico, por ejemplo a partir de una fuente de cadáver, otros individuos o una fuente transgénica o fuente apropiada similar.

En cualquier realización de la invención, la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender cartílago juvenil (sin neocartílago) en cualquier medio de cultivo de tejidos adecuado. El cartílago juvenil también puede comprender tejido de cartílago juvenil en una matriz de trombina o cartílago juvenil en una matriz de fibrinógeno.

En cualquier realización que incluya neocartílago, la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender células de neocartílago en cualquier medio de cultivo de tejidos adecuado. La matriz de neocartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender también neocartílago en una matriz de trombina o neocartílago en una matriz de fibrinógeno.

En realizaciones que tienen neocartílago, el neocartílago puede ser de cualquier fuente adecuada. Las partículas de neocartílago pueden comprender tejido o células de neocartílago, que pueden estar intactas, trituradas o alteradas, tal como mediante homogeneización del tejido. El neocartílago puede ser o bien autólogo o bien alogénico. Los ejemplos de fuentes adecuadas incluyen fuentes comercialmente disponibles, tales como Carticel® (Genzyme Biosurgery, Cambridge, MA), fuentes embrionarias, fuentes de cultivo de tejidos o cualquier otra fuente adecuada. Por ejemplo, puede producirse un cultivo celular para hacer crecer neocartílago aislando condrocitos inmaduros, por ejemplo, condrocitos fetales, neonatales y preadolescentes de cartílago articular de donantes. El neocartílago de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago de la invención puede obtenerse cultivando condrocitos en condiciones de cultivo adecuadas conocidas en la técnica, tales como hacer crecer el cultivo celular a 37 grados C en una atmósfera humidificada con la adición de dióxido de carbono al 2-10%, preferiblemente al 5%. Pueden aislarse condrocitos mediante métodos conocidos en la técnica tales como mediante técnicas de digestión secuencial con enzimas. Los condrocitos aislados pueden sembrarse entonces directamente en un recipiente de cultivo tisular en cualquier medio adecuado. Véase también, para ejemplos de otras fuentes, la patente de EE.UU. n° 5.326.357 que describe métodos para producir un tejido cartilaginoso continuo y la patente de EE.UU. n° 6.235.316 que da a conocer usos y composiciones de neocartílago.

El tejido de neocartílago o cartílago juvenil para la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede ser tejido de sustitución de aves o mamíferos, lo más preferiblemente de la misma especie que el receptor, por ejemplo tejido de donante humano para la sustitución en seres humanos y tejido equino para su uso en equinos. Además, puede producirse tejido de sustitución de mamíferos usando condrocitos de animales transgénicos que pueden haberse diseñado por ingeniería genética para prevenir el rechazo del xenoinjerto mediado por el sistema inmunitario.

En realizaciones en las que la parte de matriz de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago comprende medios de cultivo de tejidos, sin fibrinógeno o trombina, entonces la matriz condroconductora/inductora biocompatible comprende preferiblemente fibrinógeno y trombina.

En realizaciones en las que la parte de matriz de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago comprende medios y fibrinógeno, entonces la matriz condroconductora/inductora biocompatible comprende preferiblemente trombina.

En realizaciones en las que la parte de matriz de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago comprende medios y trombina, entonces la matriz condroconductora/inductora biocompatible comprende preferiblemente fibrinógeno.

En diferentes realizaciones, son posibles diversas combinaciones de la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago y la matriz condroconductora/inductora biocompatible. A modo de ejemplo no limitativo, una composición realizada puede comprender cartílago juvenil y trombina en la matriz de cartílago comprendiendo la matriz condroconductora/inductora biocompatible medios y fibrinógeno.

En otra realización, la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender neocartílago y trombina comprendiendo la matriz condroconductora/inductora biocompatible medios y fibrinógeno.

En otra realización, la matriz de cartílago o el material que potencia el crecimiento del cartílago puede comprender una combinación de neocartílago y cartílago juvenil en trombina comprendiendo la matriz condroconductora/inductora biocompatible medios y fibrinógeno.

En cualquier realización, las composiciones pueden comprender además una matriz osteoconductora. La matriz osteoconductora comprende partículas de hueso. Las partículas de hueso pueden ser de cualquier fuente adecuada. La matriz osteoconductora puede incluir pero sin limitarse a fibrinógeno/trombina (Tisseel, Crosseal), fibrina/fosfato

- de tricalcio, fibrina/colágeno/fosfato de tricalcio, fibrina/hialuronato/fosfato de tricalcio, sellantes a base de PEG (CoSeal), PEG/fosfato de tricalcio, PEG/colágeno (FibroGen) y cualquiera de los componentes anteriores mezclado con matriz ósea desmineralizada. La matriz osteoconductora puede adquirirse de fuentes comerciales, tales como las composiciones de matriz ósea desmineralizada Grafton® (Osteotech, Eatontown, N.J.). Los ejemplos de otras
- 5 fuentes adecuadas para la matriz osteoconductora incluyen las dadas a conocer en la patente de EE.UU. n° 5.356.629, la patente de EE.UU. n° 6.437.018 y la patente de EE.UU. n° 6.327.257. Composiciones adecuadas pueden comprender hueso desmineralizado, matriz ósea desmineralizada, hueso no descalcificado, hueso esponjoso o combinaciones de los mismos y un material de gel. La matriz osteoconductora puede comprender
- 10 también un material de gel, de pasta, semisólido o sólido poroso incluyendo materiales tales como gelatina, ácido hialurónico, colágeno, amilopectina, matriz ósea desmineralizada y/o carbonato de calcio, fibrinógeno/trombina, fibrina/fosfato de tricalcio, fibrina/colágeno/fosfato de tricalcio, fibrina/hialuronato/fosfato de tricalcio, sellantes de hidrogel de PEG que se forman *in situ* sellantes de hidrogel de PEG que se forman *in situ*, PEG/fosfato de tricalcio, PEG/colágeno, matriz ósea desmineralizada y cualquier combinación de los mismos.
- 15 Los materiales osteoconductores son generalmente materiales porosos y pueden proporcionar estructuras de entramado tales como la estructura de hueso esponjoso o similar a hueso esponjoso. Tales materiales pueden facilitar generalmente la incursión de vasos sanguíneos y la formación de hueso nuevo en una estructura de soporte similar a un enrejado pasivo definido, así como soportar posiblemente la unión de nuevos osteoblastos y células osteoprogenitoras. Los materiales osteoconductores pueden proporcionar una estructura interconectada a través de
- 20 la cual pueden migrar nuevas células y pueden formarse nuevos vasos.

- Los ejemplos de materiales adecuados para la matriz osteoconductora incluyen los dados a conocer en la patente de EE.UU. n° 5.356.629 que da a conocer una composición de partículas biocompatibles de polimetacrilato dispersadas en una matriz de éter de celulosa, colágeno o ácido hialurónico, y la patente de EE.UU. n° 6.437.018
- 25 que incluye una composición de matriz ósea desmineralizada (DBM) en un portador acuoso que es hialuronato de sodio en una disolución acuosa tamponada con fosfato. La patente de EE.UU. n° 6.327.257 da a conocer composiciones con hueso desmineralizado, hueso no descalcificado, hueso esponjoso y un material de gel. Existen también composiciones que están comercialmente disponibles, que incluyen composiciones de matriz ósea desmineralizada tales como Grafton® (Osteotech, Eatontown, N.J.). Estas composiciones comprenden normalmente
- 30 un material de gel, o pasta, semisólido o sólido poroso incluyendo materiales tales como gelatina, ácido hialurónico, colágeno, amilopectina, matriz ósea desmineralizada y/o carbonato de calcio, para crear un entorno osteoconductor.

- En algunas realizaciones, la composición comprende además opcionalmente otros componentes o compuestos para abordar las necesidades de una particular lesión o circunstancia del cartílago articular o las necesidades individuales de un paciente específico. A modo de ejemplo no limitativo, la matriz condroconductora/inductora biocompatible
- 35 puede comprender en algunas circunstancias albúmina, hidrogel de PEG que se forma *in situ*, fibrina/hialuronato, fibrina/colágeno/hialuronato, PEG/hialuronato, PEG/colágeno, otros sellantes y adhesivos a base de proteínas y plasma, otros sellantes y adhesivos naturales y cualquier combinación de éstos.

- 40 En cualquier realización, la matriz de cartílago puede distribuirse por sustancialmente toda la matriz condroconductora/inductora biocompatible, tal como se muestra en la figura 1. Alternativamente, la matriz de cartílago puede distribuirse por toda una parte de la matriz condroconductora/inductora biocompatible, tal como se muestra en la figura 2. La matriz de cartílago puede distribuirse por todo el 90% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 80% o
- 45 menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 70% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 60% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 50% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 40% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 30% o
- 50 menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 20% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible. La matriz de cartílago puede distribuirse también por todo el 10% o menos de la matriz condroconductora/inductora biocompatible.

- 55 De manera similar, en realizaciones en las que las composiciones y los métodos comprenden además una matriz osteoconductora, la matriz osteoconductora puede distribuirse por sustancialmente toda la composición. Alternativamente, la matriz osteoconductora puede distribuirse por toda una parte de la composición. En algunas realizaciones, puede ser deseable tener la matriz osteoconductora dispuesta para entrar en contacto con el hueso en un defecto que implica tanto al hueso como al cartílago articular, tal como se muestra en la figura 3. La matriz osteoconductora puede distribuirse por todo el 90% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 80% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 70% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 60% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 50% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 40% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 30% o menos de la composición. La matriz osteoconductora puede distribuirse también por todo el 20% o menos de la composición. La matriz
- 65

osteoconductora puede distribuirse también por todo el 10% o menos de la composición.

En una realización, un método de uso comprende disponer una matriz de cartílago de neocartílago o cartílago juvenil, o una combinación de los mismos y una matriz condroconductora/inductora biocompatible en cualquier ubicación en la que se desea la reparación o sustitución del cartílago articular.

En una realización, un método de uso comprende disponer una matriz de cartílago de neocartílago o cartílago juvenil, o una combinación de los mismos y una matriz condroconductora/inductora biocompatible y una matriz osteoconductora en cualquier ubicación en la que se desea la reparación o sustitución del cartílago articular. Composiciones y métodos de la invención que comprenden la matriz osteoconductora son útiles para la reparación o sustitución del cartílago articular en un sitio que también incluye un defecto óseo.

En otras realizaciones, un método de uso comprende disponer cualquier realización de las composiciones de la invención en un defecto y recubrir la composición con un retenedor. El retenedor puede ser de cualquier material y tamaño adecuados que funcione manteniendo la partícula en el sitio en el que se dispone(n) la(s) partícula(s). El retenedor puede ser por ejemplo un colgajo, un tapón, un disco, una lámina o un parche. En una realización, el retenedor comprende un colgajo. El colgajo puede estar constituido por o bien células vivas, tales como células de periostio, otra membrana de tejido natural o bien una membrana sintética. El colgajo perióstico puede ser vital o estar desvitalizado y puede ser autólogo o un aloinjerto.

Cualquiera de las realizaciones de las composiciones de la invención puede usarse en cualquiera de las realizaciones de los métodos de la invención. Las composiciones pueden extraerse o disponerse de otra forma en el sitio seleccionado como diana o configurarse en un dispositivo para su trasplante en un sitio deseado (figura 1). Normalmente, puede usarse un dispositivo de dispensación de múltiples unidades tal como una jeringuilla doble o triple, unida mediante un conector en forma de Y, o conector convergente similar desde la unidad de dispensación en el que los componentes se mezclan a medida que salen de una cánula roma o catéter u otro dispositivo similar. Cualquier realización de las composiciones puede administrarse al sitio del defecto a través de un portal artroscópico desde un mecanismo de mezclado que mide automáticamente los componentes en la razón correcta, en el sitio deseado para la sustitución o reparación del cartílago articular.

La administración de las composiciones puede ser en una variedad de formas y combinaciones; a modo de ejemplo no limitativo la matriz de cartílago puede estar en un medio y mezclarse con la matriz condroconductora/inductora biocompatible que comprende fibrinógeno y trombina justo antes de su uso como una mezcla de 3 partes. Alternativamente, la matriz de cartílago puede incluir trombina y combinarse con una matriz condroconductora/inductora biocompatible de fibrinógeno en el momento de su uso, como una mezcla de 2 partes. En otra alternativa, la matriz de cartílago puede incluir fibrinógeno y combinarse con una matriz condroconductora/inductora biocompatible que comprende trombina en el momento de su uso, como una mezcla de 2 partes). Cambiando las partículas incluidas en la matriz, por ejemplo los trozos de cartílago juvenil, el neocartílago hecho crecer *in vitro* y los componentes que comprenden la matriz condroinductora y/o la matriz osteoconductora, puede variarse la naturaleza del injerto de reparación desde espesor parcial hasta espesor completo en defectos osteocondrales, según se desee y/o en respuesta al sitio específico en el que se desea la reparación o sustitución. Otra alternativa para la administración es que puedan formarse previamente diversas combinaciones de la matriz de cartílago y la matriz condroconductora/inductora biocompatible e implantarse como un único constructo. A modo de ejemplo no limitativo, una composición realizada puede comprender cartílago juvenil premoldeado en una matriz condroconductora/inductora biocompatible que comprende fibrina.

El tejido de sustitución de neocartílago juvenil o constructo premoldeado constituido por el cartílago juvenil, una matriz condroconductora/inductora y/o una matriz osteoconductora también puede unirse al cartílago natural o hueso subyacente *in vivo* mediante unión con suturas o sin suturas tal como pegado o soldadura química de tejido, o mediante dispositivos de unión física tales como chinchetas o grapas. El neocartílago puede hacerse crecer hasta diversas especificaciones de tamaño para facilitar su implantación.

Cualquiera de las composiciones puede configurarse para formar un dispositivo de la presente invención y entonces el dispositivo puede implantarse, insertarse o disponerse adecuadamente de otra forma en un sitio en el que se desea la reparación o sustitución del cartílago articular. Por ejemplo, cualquier realización de las composiciones puede extraerse o administrarse en una forma o molde para producir una configuración o conformación específica de dispositivo y el dispositivo producido puede entonces implantarse o disponerse de otra forma apropiadamente en el sitio en el que se desea la sustitución o reparación del cartílago articular.

En todos los casos, las composiciones y los dispositivos de la invención tendrán un periodo de plasticidad durante el cual pueden implantarse y/o moldearse al defecto que está reparándose. Ventajosamente estos métodos de administración hacen posible la implantación del cartílago articular de reparación en un único procedimiento artroscópico, si se desea. Una vez implantados, los fragmentos de cartílago coalescen y sustituyen la matriz con tejido de cartílago hialino. Este método también puede extenderse a neocartílago hecho crecer *in vitro* con la ventaja de que puede realizarse algo de expansión de condrocitos/neocartílago, generando más tejido de reparación a partir de una única donación de cartílago juvenil. Los condrocitos juveniles y/o el cartílago juvenil/neocartílago pueden

combinarse con la matriz biocompatible usando una distribución uniforme tal como se ilustra en la figura 1 o una distribución no uniforme para aumentar la densidad de cartílago/condrocito tal como se ilustra en la figura 2 y la figura 8, en las que el cartílago está a una densidad superior cerca de la parte inferior del defecto.

- 5 De manera similar, pueden mezclarse diferentes componentes con la matriz biocompatible para rellenar defectos condrales y osteocondrales. La figura 3 ilustra un posible uso en el que el defecto óseo se rellena con una matriz osteoconductora hasta la marca de marea, por encima de la cual el defecto condral se rellena con condrocitos juveniles y/o cartílago juvenil/matriz de neocartílago combinados con la matriz biocompatible.
- 10 El cartílago puede recogerse de donantes de cartílago tales como animales juveniles. Por ejemplo, los donantes pueden ser seres humanos prepubescentes con edades de entre aproximadamente 20 semanas y aproximadamente 13 años. El cartílago puede recogerse de una variedad de sitios de cartílago, incluyendo las superficies enfrentadas de huesos situados en articulaciones.
- 15 Entre los sitios de recogida particularmente deseables están los cóndilos femorales, la meseta tibial y las superficies interiores de la rótula. Para recoger el cartílago, se exponen los sitios de recogida. La superficie de un sitio de recogida se marca con una cuchilla tal como un bisturí nº 10 que tiene un borde recubierto con cerámica (por ejemplo, una cuchilla de bisturí IonFusion disponible de IonFusion Surgical, una división de Molecular Metallurgy, Inc. de El Cajon, California). Aunque el sitio puede marcarse con otros patrones sin salir del alcance de la presente invención, en una realización el sitio se marca con un patrón de rejilla cuadrada que tiene lados que miden aproximadamente un milímetro. Además, aunque el sitio puede marcarse con otras profundidades sin apartarse del alcance de la presente invención, en una realización el sitio se marca con una profundidad de entre aproximadamente un milímetro y aproximadamente tres milímetros o más. Una vez marcado el sitio, se separa al menos una parte del cartílago marcado del hueso subyacente, tal como recortando la superficie marcada con el
- 20 bisturí mencionado anteriormente. Tal como apreciarán los expertos en la técnica, la separación del cartílago de esta forma da como resultado partículas de cartílago pequeñas generalmente en forma de cubo que tienen lados de aproximadamente un milímetro. Generalmente, debe evitarse tejido distinto del cartílago, tal como hueso vascularizado y tendones, cuando se separa el cartílago del hueso.
- 25 Las partículas separadas se recogen en un recipiente tal como un tubo cónico. Las partículas pueden almacenarse en o enjuagarse con una solución salina tal como solución salina al 0,9%. Tras el enjuagado o almacenamiento, la solución salina puede eliminarse de las partículas mediante aspiración y puede añadirse otro conservante a las partículas. Por ejemplo, puede añadirse a las partículas una disolución de almacenamiento que comprende hidroxietilalmidón (50 g/l), ácido lactobiónico (35,8 g/l), adenosina (1,34 g/l), NaOH (5 M) (5 ml/l),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3,4 g/l),
- 30  $\text{MgSO}_4$  (0,6 g/l), glutatión (0,92 g/l), rafinosa (17,8 g/l) y KOH (5 M) (pH hasta 7,4).

- Puede formarse un kit para reparar cartílago usando las partículas. Generalmente, el kit incluye un envase o bolsa externa que tiene un interior hueco, un recipiente estéril colocado en el interior hueco y partículas de cartílago colocadas en un receptáculo del recipiente. Aunque la bolsa externa puede tener otras configuraciones sin apartarse del alcance de la presente invención, en una realización la bolsa está formada por dos láminas, cada una de las
- 40 cuales tiene una parte central rodeada por un borde. Las láminas están unidas entre sí de manera separable en sus bordes. Una bolsa de este tipo está disponible de Amcor Flexibles Healthcare de Ann Arbor, Michigan, y se identifica como una bolsa RLP-041 HS hecha de una película desprendible 48ga PET/101b LDPE/2mil (LFM-101). La bolsa tiene aproximadamente 4 x 6 pulgadas y tiene una configuración en forma de cheurón de 15 grados con una muesca para el pulgar. En una realización, el recipiente incluye una bandeja que tiene un receptáculo o copa central en forma de lágrima y un reborde o pestaña que rodea el receptáculo. Un recipiente de este tipo está disponible de Prent Corporation de Janesville, Wisconsin, y está formado por un material laminado que comprende una lámina Glidex intercalada entre láminas de PETG que tienen un espesor global de aproximadamente 0,020 pulgadas (0,51 mm). Una cubierta separable está unida al reborde de la bandeja para sellar el receptáculo para retener las
  - 50 partículas en el receptáculo. Una cubierta de este tipo está disponible de Tolas Health Care Packaging de Feasterville, Pensilvania, y se conoce como laminación desprendible TPC-0777A para envasar dispositivos estériles. Aunque la cubierta puede tener otras dimensiones sin apartarse del alcance de la presente invención, en una realización la cubierta tiene un espesor de aproximadamente 3,95 milésimas de pulgada y es de aproximadamente 1,57 x 3,15 pulgadas (39,88 x 80,01 mm).

- 55 En una realización, se elimina el líquido en exceso de las partículas mediante aspiración y se usa una cuchara de 50 mg para medir una cantidad deseada de partículas en una bandeja estéril, se añade a la bandeja una medida deseada de disolución de conservante (por ejemplo, 2,5 ml) y se sella la cubierta contra el borde de la bandeja para cerrar el recipiente. Se carga el recipiente en una bolsa y se sella la bolsa para su almacenamiento y transporte. Una
- 60 vez lista para su uso, se abre la bolsa y se deposita el recipiente en un entorno estéril. Se desecha la bolsa no estéril y se abre el recipiente desprendiendo hacia atrás la cubierta para exponer las partículas de cartílago.

## Ejemplos

- 65 Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica, usando la descripción precedente, puede utilizar la presente invención en su grado más completo. Los siguientes ejemplos específicos se ofrecen sólo a modo de

ilustración y no a modo de limitación de la descripción restante.

#### Ejemplo 1 - Cartílago articular humano juvenil (JHAC) en una matriz de hialuronato

5 En ciertas realizaciones de la composición tal como se describe en el presente documento, se incrustó JHAC  
particulado dentro de un hidrogel de hialuronato y se evaluó su viscosidad y su capacidad para adherirse dentro de  
un defecto. El hialuronato forma un gel viscoso que puede mantener las partículas de cartílago dentro de un defecto  
durante su implantación. Se sometieron a prueba concentraciones de hialuronato que oscilaban entre 5 mg/ml y 100  
10 mg/ml en este ejemplo. En la mezcla ilustrada por la figura 4, se incrustó JHAC en un gel que contenía 50 mg de  
hialuronato disuelto en 1 ml de solución salina tamponada con fosfato. Aunque adecuado para una matriz, el  
hialuronato solo carecía de reticulación dentro del gel. Por tanto, en una composición preferida, se incluye un  
componente tal como fibrina para retrasar o impedir la disolución de la matriz condroconductora.

#### Ejemplo 2 - Reintegración de JHAC *in vitro*

15 Cuando se mantiene tejido juvenil en el laboratorio incrustado dentro de una matriz de fibrina, el tejido tiene la  
capacidad para reintegrarse. En este experimento, se trituró JHAC y se moldeó en fibrinógeno humano dentro de un  
molde cilíndrico y entonces se cultivó durante 60 días en un cultivo celular convencional usando un medio libre de  
suero patentado, desarrollado en Isto Technologies, Inc. Se fijó entonces el material compuesto tisular y se  
20 prepararon cortes histológicos y se tiñeron con safranina-O que tiñe de color rojo en presencia de  
glicosaminoglicano sulfatado (S-GAG). La tinción con safranina-O es única para el cartílago hialino que reviste las  
superficies articulares de las articulaciones. Tal como se muestra en la figura 5, los dos trozos de tejido han  
comenzado a integrarse entre sí en el espacio relleno de fibrina entre los trozos de tejido original. La tinción de color  
rojo oscuro (prueba original) indica que el tejido ha permanecido viable y que mantiene un fenotipo de cartílago  
25 hialino normal con respecto a la composición de S-GAG.

#### Ejemplo 3 - Implantación de JHAC triturado

30 Se implantó JHAC triturado en cabras españolas usando los métodos de la invención, demostrando adicionalmente  
la utilidad de la invención. Se creó un defecto circular de seis (6) mm en la región que soporta el peso del cóndilo  
femoral medio derecho. Se colocó cartílago articular humano juvenil triturado en el defecto, que posteriormente se  
rellenó con fibrina humana y se cubrió con un colgajo perióstico vivo suturado en el cartílago circundante. Se puso  
entonces la extremidad en una tablilla de Thomas modificada durante un periodo de seis semanas durante el cual el  
animal podía deambular sin exponer el sitio reparado a fuerzas que soportaban el peso completo.

35 La figura 6 muestra el cóndilo femoral medio reparado (lado derecho de la fotografía) seis semanas tras la  
implantación. La superficie del sitio reparado parece relativamente lisa y el tejido se ha retenido dentro del defecto  
original. Se muestra en la figura 7 una sección de 1 mm de espesor a través del sitio del defecto. La sección muestra  
que el defecto está relleno de un material translúcido, blanco que incluye los trozos de tejido original. Sondas  
40 fluorescentes tiñen de rojo el ADN nuclear e identifican células muertas mientras que sondas de color verde tiñen  
células vivas dentro de la matriz de cartílago. El cartílago juvenil está incrustado en una matriz condroconductora  
compuesta de fibrina que tiene menos células. El examen microscópico de la sección usando una tinción que indica  
la viabilidad indica que tanto el tejido original como las células que han migrado a la matriz de fibrina se tiñen de  
verde (prueba original) y por tanto son viables (figura 8).

45 Las secciones histológicas teñidas con safranina-O indican que el sitio del defecto está poblado no sólo por el tejido  
implantado original, sino también por células que han migrado al sitio del defecto tal como se ilustra mediante la  
figura 9. El tejido original conserva la tinción roja (prueba original) lo que indica que hay S-FAF en la matriz  
extracelular mientras que la matriz poblada con células que rodea al tejido trasplantado no se ha sustituido aún por  
50 una matriz extracelular de tipo hialino. El cartílago juvenil está incrustado en una matriz condroconductora  
compuesta por fibrina.

Estos datos demuestran la reparación exitosa de un defecto condral con un constructo de tejido viable que contiene  
cartílago hialino juvenil según una realización de la presente invención.

#### Otras realizaciones

60 Debe entenderse que la presente invención se ha descrito en detalle a modo de ilustración y ejemplo con el fin de  
informar a otros expertos en la técnica de la invención, sus principios y su aplicación práctica. Las formulaciones y  
los procesos particulares de la presente invención no se limitan a las descripciones de las realizaciones específicas  
presentadas, sino más bien las descripciones y los ejemplos deben considerarse en cuanto a las reivindicaciones  
que siguen y sus equivalentes. Aunque algunos de los ejemplos y las descripciones anteriores incluyen algunas  
conclusiones sobre el modo en el que la invención puede funcionar, los inventores no pretenden restringirse a esas  
65 conclusiones y funciones, sino que las exponen sólo como posibles explicaciones.

Debe entenderse además que las realizaciones específicas de la presente invención tal como se exponen no

pretenden ser exhaustivas ni limitativas de la invención, y que muchas alternativas, modificaciones y variaciones resultarán evidentes para los expertos habituales en la técnica en vista de los ejemplos y la descripción detallada anteriores. Por consiguiente, esta invención pretende abarcar todas las alternativas, modificaciones y variaciones de este tipo que se encuentren dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición que comprende partículas de cartílago derivadas de un donante humano, caracterizada porque el donante es de menos de quince años de edad en el momento de la donación, y en la que las partículas de cartílago se alteran a partir de un tejido cartilaginoso continuo de condrocitos de donante cultivados.
- 10 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que las partículas se derivan de un donante humano de desde 20 semanas hasta 13 años de edad.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el humano tiene menos de dos años de edad en el momento de la donación.
- 15 4. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que las partículas se derivan de un donante no autólogo a un receptor.
- 20 5. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que las partículas comprenden cartílago articular.
6. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que las partículas incluyen un lado de 1 mm.
- 25 7. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende además una matriz.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la matriz se selecciona del grupo que consiste en sellantes o adhesivos a base de plasma, sellantes o adhesivos a base de proteínas, polietilenglicol, hialuronato, poli(ácido láctico) y/o poli(ácido glicólico) y una combinación de los mismos.
9. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la matriz comprende un sellante o adhesivo natural.
- 30 10. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en la que la matriz comprende fibrina.
11. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que las partículas de cartílago oscilan en tamaño entre 1 y 27 mm<sup>3</sup>.
- 35 12. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que las partículas de cartílago están distribuidas por todo el 70% o menos de la composición.
13. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-12, en la que la matriz es condroconductora.
- 40 14. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende además una disolución de almacenamiento.
- 45 15. Uso de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cartílago dañado o enfermo en un mamífero.

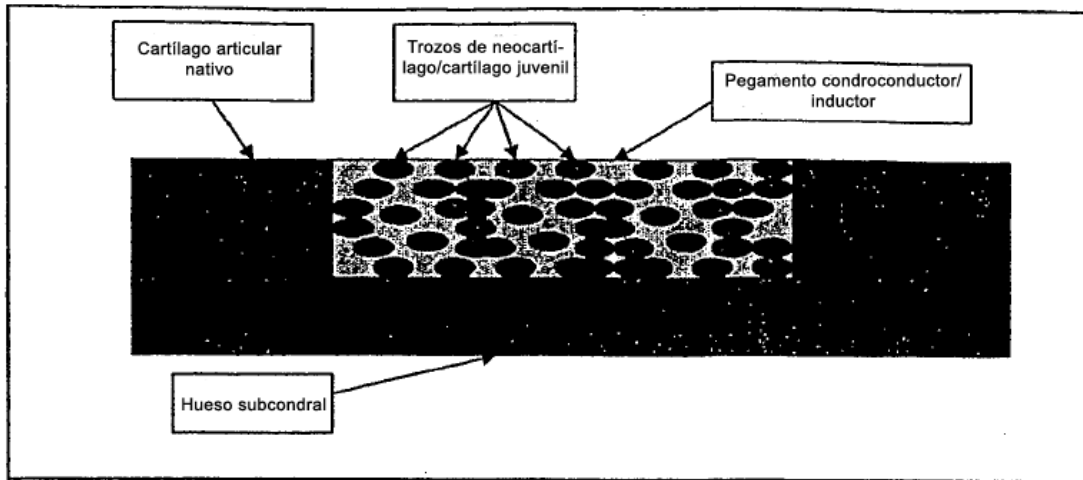


Figura 2, defecto condral - cartílago empaquetado

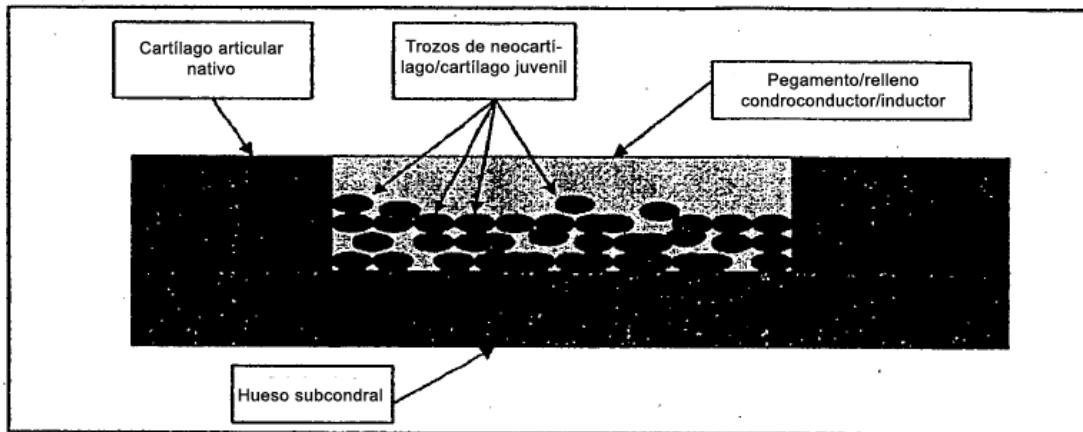
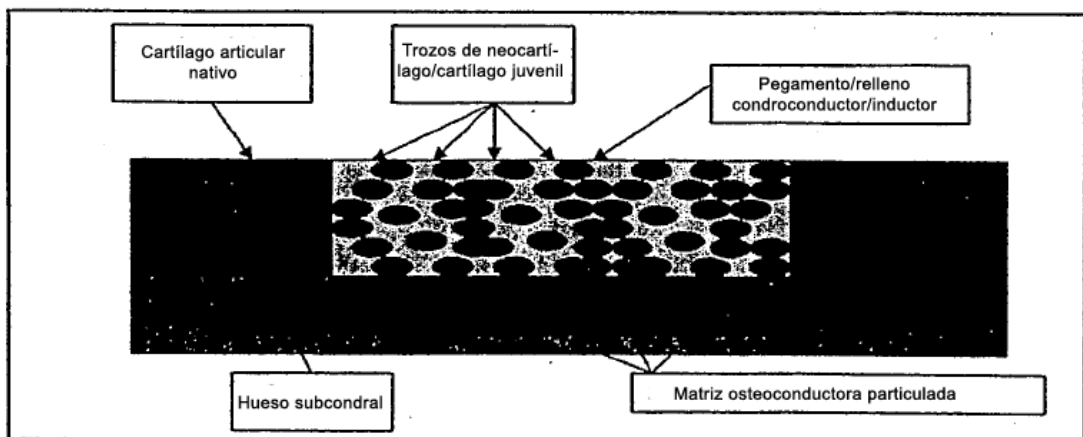
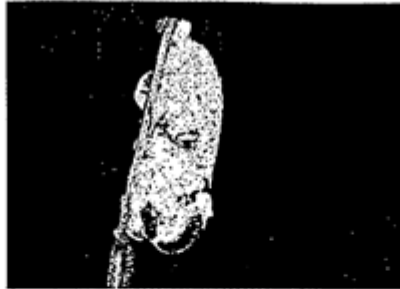


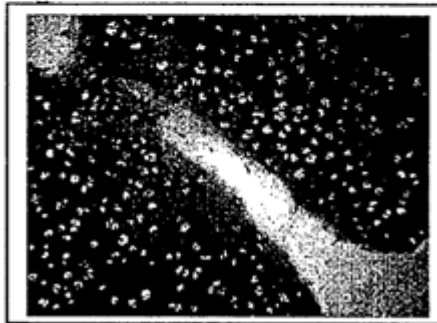
Figura 3, defecto osteocondral



**Figura 4**



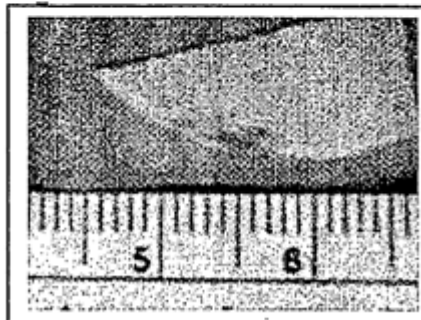
**Figura 5**



**Figura 6**



**Figura 7**



**Figura 8**



**Figura 9**

