

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 272**

51 Int. Cl.:

A61K 35/14 (2015.01)

A61K 31/765 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2006 E 06839104 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.01.2015 EP 1973554**

54 Título: **Métodos de reparación de cartílago**

30 Prioridad:

07.12.2005 US 748027 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.02.2015

73 Titular/es:

**ISTO TECHNOLOGIES INC. (100.0%)
1155 OLIVETTE EXECUTIVE PARKWAY, SUITE
200
ST. LOUIS, MO 63132, US**

72 Inventor/es:

**SEYEDIN, MITCHELL, S. y
MATAVA, MATTHEW**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 528 272 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

Métodos de reparación de cartílago.

Introducción

- 5 Los defectos de las uniones articulares son unas fuentes significativos de dolor, molestia e incapacidad. Estos defectos, tales como los defectos condrales de grosor total, pueden asociarse con enfermedades tales como la osteoartritis, las lesiones y/o la degeneración de cartílago articular. La morbosidad asociada con los defectos de cartílago hialino que comprende las uniones articulares es responsable de significativos costes económicos, sanitarios y sociales.
- 10 Los tratamientos actuales para la reparación o la mejora de los problemas de articulaciones incluyen microfractura, abrasión y taladrado. Estas intervenciones implican exponer una articulación, que contiene un defecto, a células madre mesenquimales. Como resultado de tales intervenciones, las células madre mesenquimales pueden infiltrarse en el defecto, y diferenciarse en el fibrocartílago con el tiempo. Sin embargo, el fibrocartílago tiene una estructura y una composición molecular distinta al cartílago hialino (Benjamin, M., et al., International Review of Cytology 233: 1-45, 2004). El fibrocartílago proporciona generalmente una mejora sólo a corto plazo, que dura típicamente menos de dos años. (Véase, p. ej. Osteoarthritis and Cartilage 10: 432-463, 2001 de Hunziker, E.B.; Clinical Orthopaedics and Related Research 391 S: S362-S369, 2001 de Steadman, J.R., et al.; Amer. J. Sports Medicine 33: 1658-1666, 2005 de Diduch, D.R., et al.; Stone, K.R., et al.; Orthopedics 20: 525-538, 1997 de Fu, F.H., et al; Minas, T., et al.; Amer. J. Knee Surgery 11: 42-46, 1998 de Gilbert, J.E.; J. Arthroplasty 18: 14-17, 2003 de Gross, A.E.). Por lo tanto, se necesitan tratamientos alternativos.
- 20 El documento W096/28539 describe que las células madre mesenquimales en un portador polimérico implantado en un defecto de cartílago y/o de hueso se diferenciarán para formar cartílago y/o hueso, según corresponda. Los portadores poliméricos incluyen mallas o esponjas porosas formadas de polímeros sintéticos o naturales, así como soluciones de polímero. Un material preferido es una malla de poli(ácido glicólico).
- 25 Uematsu K et Al. (Biomaterials, vol. 26, nº 20, 1 de julio de 2005, págs. 4273-4279) describe un andamio o estructura tridimensionales poli-láctico-poli-glicólico que se dice que proporciona soporte estructural y estimula la reparación, cuando se siembra con células madre mesenquimales cultivadas y trasplantadas en rodillas de conejo. Se sugiere que los defectos se llenen de tejido macroscópicamente blanco, brillante y liso y de cartílago semejante a hialino histológicamente después de 12 semanas desde el trasplante.
- 30 El documento WO01/35968 describe unos métodos para producir cartílago in vitro, unos métodos para promover la diferenciación condrocítica, unos métodos para aumentar la condrogénesis y unos métodos para producir cultivos cartilaginosos implantables. Los métodos presentan, en particular, el cultivo de células madre mesenquimales pluripotentes. Los métodos son útiles en la reparación de cartílago así como para el aumento de cartílago in vivo. También describe unos cultivos cartilaginosos implantables.
- 35 El documento US6689747 describe unos métodos para el tratamiento y la reparación de cartílago, incluso cartílago dañado por lesiones o trastornos cartilaginosos, que comprenden la administración de insulina y/o variantes de insulina. Opcionalmente, la administración puede ser en combinación con un agente de cartílago (p. ej. un factor peptídico de crecimiento, un antagonista de catabolismo, un factor antiinflamatorio), en una forma de liberación prolongada o sostenida. Los métodos pueden utilizarse en combinación con técnicas quirúrgicas estándar. Como alternativa, los métodos proporcionan el tratamiento y la reparación de cartílago dañado por lesiones o trastornos cartilaginosos, que comprenden la administración de condrocitos tratados previamente con una cantidad efectiva de insulina y/o variante de insulina.
- 40 El documento US2004/033212 describe un medicamento y un método para tratar un defecto de cartílago, así como un implante para tratar un defecto de cartílago, que comprende una concentración de células condroprogenéticas inmaduras más alta que en la interfaz de hueso-cartílago. El implante puede incluir ácido hialurónico.
- 45 El documento US6454811 describe unos dispositivos compuestos para ingeniería de tejido que tienen un gradiente de uno o más de lo siguiente: materiales, macroarquitectura, microarquitectura o propiedades mecánicas, que pueden utilizarse para seleccionar o promover la conexión de tipos específicos de células sobre y en los dispositivos antes y/o después de la implantación. El gradiente puede formar una zona de transición en el dispositivo desde una región compuesta de materiales o que tiene unas propiedades que son las más adecuadas a un tipo de tejido hasta una región compuesta de materiales o que tiene unas propiedades adecuadas a un tipo diferente de tejido. El gradiente puede estar relacionado con los materiales, la macroarquitectura, la microarquitectura, las propiedades mecánicas del dispositivo, o varios de éstos juntos.
- 50 El documento US6626950 describe un implante protésico que tiene un andamio de tejido y un dispositivo de fijación con un soporte de andamio y un poste que anclaje. El poste de anclaje se extiende desde una superficie del andamio de soporte con un ángulo seleccionado respecto al andamio de soporte empotrado dentro del andamio. El andamio tiene una fase porosa de cerámica y una fase porosa de polímero. El polímero se espuma mientras está en la disolución, creando de ese modo una articulación interfase de los materiales porosos trabados mutuamente y
- 55

empotrando la parte de soporte de andamio del dispositivo de fijación. El andamio puede infundirse o puede revestirse con una variedad de materiales bioactivos para que incluya crecimiento entrante o para liberar un medicamento.

5 El documento US6949252 describe unas composiciones y unos métodos para preparar tejidos o construcciones de tejido. Se describe la construcción de una estructura multicapa biológica (es decir sistema) que incluye una matriz de soporte celular sembrada con células vivas derivadas de un tejido nativo. También se describen unos protocolos de cultivo de tejido para promover el crecimiento in vitro de tejidos y de construcciones de tejidos.

10 En vista de la necesidad de intervenciones terapéuticas para tratar defectos condrales, los presentes inventores describen en esta memoria una membrana para uso en la reparación de un defecto de cartílago hialino en una articulación de un mamífero, tal como un paciente humano necesitado de tratamiento. De este modo, según la presente invención se proporciona una membrana en combinación con células madre mesenquimales autólogas, dicha membrana comprende un poliéster seleccionado del grupo que consiste en poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) y un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) (PLGA), el poliéster se enreda con ácido hialurónico, para el uso en un método para reparar un defecto de cartílago hialino en una articulación de mamífero. Esto puede tener como resultado el depósito de cartílago hialino en lugar de fibrocartílago en un sitio de defecto, y de ese modo proporciona una mejora a largo plazo, que incluye la completa reparación, de un defecto de articulación.

20 En diversas configuraciones de las presentes enseñanzas, las células madre mesenquimales pueden ser células madre mesenquimales de hueso autólogas al mamífero, y pueden originarse en una cavidad de médula ósea subyacente a la articulación necesitada de reparación. La articulación necesitada de reparación puede comprender un defecto condral de grosor completo. La articulación puede ser cualquier unión articular que comprenda cartílago hialino, tal como, sin limitación, una articulación de rodilla.

25 Puede introducirse por lo menos una abertura en el hueso subyacente a la articulación. La por lo menos una abertura puede ser lo suficientemente grande como para hacer posible la migración de células madre mesenquimales desde una cavidad de médula ósea a la articulación, y de ese modo puede hacer posible el establecimiento de contacto entre las células madre mesenquimales y la articulación. La introducción de una abertura en una articulación puede lograrse mediante cualquier método conocido por los expertos, tal como, por ejemplo, abrasión, microfractura o taladrando el hueso. Cuando se utiliza abrasión, la abrasión puede comprender realizar artroplastia por abrasión.

30 En diversos aspectos de las presentes enseñanzas, una membrana que comprende un poliéster enredado con un polisacárido puede tener un grosor de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. Una membrana puede aplicarse a una articulación antes de la introducción de abertura, o la introducción de abertura puede preceder a la aplicación de membrana.

35 Las membranas de las presentes enseñanzas incluyen un poliéster enredado con un polisacárido. El poliéster que comprende una membrana se compone de poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico). En diversos aspectos, el poli(ácido láctico) y el poli(ácido glicólico) pueden estar en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, tal como una proporción de pesos de aproximadamente 3:1.

40 Las membranas de las presentes enseñanzas incluyen además un polisacárido. El polisacárido es ácido hialurónico. En diversos aspectos, el poliéster y el polisacárido pueden estar en una proporción de pesos de 99:1 a 1:99, y en ciertas configuraciones, la proporción de pesos de poliéster al polisacárido puede ser de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 1:9. En diversas configuraciones, un poliéster puede enredarse con un polisacárido utilizando los métodos presentados en el documento US 2006/008530.

45 La membrana como se describe en esta memoria puede afianzarse en una articulación necesitada de reparación. La membrana puede afianzarse en una articulación utilizando por lo menos un sujetador. Un sujetador de estas configuraciones puede ser cualquier sujetador conocido por los expertos, tal como, sin limitación, un pegamento biocompatible, una sutura, una soldadura de tejido, un dardo, una grapa, un tornillo y una chincheta. En ciertos aspectos, un pegamento biocompatible puede ser un pegamento de fibrina.

50 En ciertas realizaciones de las presentes enseñanzas, una membrana descrita en esta memoria puede comprender además por lo menos un factor de crecimiento. Unos ejemplos de un factor de crecimiento que pueden estar comprendidos por una membrana incluyen, sin limitación, TGF- β , una proteína morfogénica de hueso, un factor de diferenciación del crecimiento, ADMP-1, un factor de crecimiento de fibroblastos, una proteína de erizo, un factor de crecimiento semejante a insulina, un factor de crecimiento derivado de plaquetas, una interleucina, un factor estimulador de colonias y una activina. Además, en algunas realizaciones, una membrana puede comprender además por lo menos un colágeno.

55 La membrana de la presente invención puede utilizarse para reparar un defecto condral de grosor completo en una articulación de un paciente necesitado de tratamiento. Estos métodos comprenden microfracturar el hueso subyacente a la articulación y aplicar a la articulación una membrana que comprende un copolímero de poliéster que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, en donde el poliéster se enreda con ácido hialurónico. Una membrana de estas configuraciones puede tener un grosor

de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. Estos métodos pueden comprender además anclar la membrana a la articulación.

Además, la membrana de la presente invención puede utilizarse en métodos para la reparación de un defecto condral de grosor completo en una articulación de un paciente necesitado de tratamiento. Estos métodos comprenden introducir por lo menos una abertura a través de hueso subyacente a la articulación, en donde la por lo menos una abertura hace posible la migración de células madre mesenquimales comprendidas por una cavidad de médula ósea del hueso a la articulación, y aplicar a la articulación una membrana que comprende ácido hialurónico enredado con un copolímero de poliéster que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, en donde la membrana tiene un grosor de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. En algunas configuraciones, los métodos incluyen además afianzar la membrana a la articulación.

Descripción detallada

Los presentes inventores han ideado una membrana para uso en la reparación de cartílago hialino comprendido por una articulación. La membrana puede utilizarse en un método que conlleva a) infiltrar una articulación necesitada de reparación con células madre mesenquimales autólogas y b) aplicar a la articulación la membrana que comprende un poliéster seleccionado del grupo que consiste en poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), y un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) enredado con ácido hialurónico. Tal como se emplea en esta memoria, el término "células madre mesenquimales" se refiere a células pluripotentes que se originan dentro tejido mesenquimal joven o adulto. Por consiguiente, por ejemplo, las células madre mesenquimales autólogas pueden ser células madre mesenquimales de hueso autólogo, es decir, células madre mesenquimales autólogas que se originan dentro de la cavidad de médula ósea de un hueso.

Las membranas de la presente invención incluyen unas matrices para soportar la reparación de un tejido. La matriz comprende un poliéster enredado con un ácido hialurónico. En algunas configuraciones, una matriz puede comprender además por lo menos un factor de crecimiento, que puede ser una TGF- β , una proteína morfogénica de hueso, un factor de diferenciación de crecimiento, ADMP-1, un factor de crecimiento de fibroblastos, una proteína de erizo, un factor de crecimiento semejante a insulina, un factor de crecimiento derivado de plaquetas, una interleucina, un factor estimulador de colonias y/o una activina. Además, la matriz de estos puede comprender un colágeno.

El ácido hialurónico puede enredarse con el poliéster, y también pueden estar reticulados. En algunas configuraciones de una matriz que comprende ácido hialurónico reticulado, el ácido hialurónico puede ser un polisacárido oxidado. En algunas configuraciones alternativas, el polisacárido puede reticularse mediante un agente de reticulación. Además, en diversas configuraciones, una matriz reticulada puede incluir, no sólo un ácido hialurónico reticulado y un poliéster, sino también un factor de crecimiento y/o un colágeno.

Los métodos para preparar una matriz de las presentes enseñanzas comprenden enredar, en una mezcla, un poliéster y un ácido hialurónico. Un método de preparar una matriz puede comprender además reticular un ácido hialurónico. La reticulación puede incluir oxidar el ácido hialurónico y/o poner en contacto el ácido hialurónico con un agente de reticulación. La oxidación y/o poner en contacto el ácido hialurónico con un agente de reticulación pueden efectuarse antes o después de enredar el ácido hialurónico con el poliéster. Además, un método para preparar una matriz puede incluir además añadir a una mezcla por lo menos un factor de crecimiento y/o un colágeno.

La matriz descrita en esta memoria puede implantarse en un mamífero, tal como un humano, en un lugar necesitado de crecimiento de tejido. Promover el crecimiento de tejido puede incluir conducir el crecimiento de tejido y/o inducir el crecimiento de tejido. El tejido puede ser hueso, cartílago, tejido blando o una combinación de los mismos.

Los presentes inventores han ideado unas matrices para soportar la reparación de un tejido. Los inventores también han ideado unos métodos para preparar las matrices, y el uso de las matrices para soportar la reparación de tejido. Una matriz de poliéster-ácido hialurónico enredados de la presente invención puede utilizarse sola para conducir el crecimiento de tejido, en combinación con por lo menos un factor de crecimiento para inducir el crecimiento de tejido, en combinación con células para inducir el crecimiento de tejidos y/o en combinación con un colágeno o una fibrina. "Enredar" y los términos relacionados, tal como se emplean en esta memoria, se refieren a un estado de polímeros en soluciones fundidas o concentradas por encima de la concentración de superposición, en la que los polímeros interpenetran entre sí y el movimiento de las moléculas está restringido al movimiento a lo largo de un 'tubo virtual' que rodea cada molécula.

Por consiguiente, una matriz de las presentes enseñanzas comprende un poliéster enredado con ácido hialurónico. Un poliéster comprendido por una matriz es poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), o un copolímero que comprende PLA y PGA (también denominado como poli(láctido-co glicólido), PLA-PGA, o PLGA). Un poliéster tal como un copolímero de PLGA puede ser un copolímero biodegradable. En algunas configuraciones, un copolímero de PLGA comprendido por una matriz puede comprender PLA y PLG en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, y, en ciertos aspectos, la relación PLA:PLG puede ser aproximadamente 3:1 en peso. Un copolímero de PLA-PLG puede ser, por ejemplo, un poliéster tal como un copolímero de PLGA descrito en J. Biomed. Mater. Res 17: 71-82, 1983, de Hollinger.

En algunas configuraciones de una matriz, el ácido hialurónico puede ser un ácido hialurónico reticulado. La reticulación puede incluir cualquier tipo de reticulación conocida por los expertos, por ejemplo como se describe en referencias tales como los documentos de Laurent, T. C, Acta Chem. Scand. 18: 274-275, 1964; Kuo, J-W Bioconjugate Chem. 2: 232-241, 1991; Mason, M., Biomaterials 21: 31-36, 2000; or Zhao, X.B., J. Mater. Sci. Mater. Med. 13: 11-16, 2002, y puede incluir un agente de aldehído de reticulación tal como formaldehído o giutaraldehído, un agente de reticulación homobifuncional o un agente de reticulación heterobifuncional tal como un agente de reticulación hialurónico reactivo a ácidos. En diversos aspectos, una reticulación puede comprender un ácido hialurónico oxidado, tal como un ácido hialurónico oxidado con periodato. En algunas configuraciones, una reticulación puede comprender una conexión covalente entre el ácido hialurónico y el poliéster, o entre el ácido hialurónico y cualquier otro componente de matriz descrito en esta memoria.

En una matriz de las presentes enseñanzas, la proporción de pesos entre poliéster y ácido hialurónico puede estar entre 99:1 a 1:99. En algunos aspectos, la proporción de pesos entre el poliéster y el ácido hialurónico puede ser de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 1:9.

En algunas configuraciones, una matriz de las presentes enseñanzas puede comprender, además de un poliéster y un ácido hialurónico, por lo menos un factor de crecimiento. Un factor de crecimiento que puede ser comprendido por una matriz puede ser, en un ejemplo no limitativo, un miembro de la superfamilia de TGF- β , tal como TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, o una proteína morfogenética de hueso (BMP); un factor de diferenciación de crecimiento; ADMP-1; un factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) tal como FGF ácido o FGF básico; un miembro de la familia de proteínas de erizo, tal como erizo indio, erizo sónico, o erizo de desierto; un factor de crecimiento derivado de plaquetas, una interleucina; un factor estimulador de colonias; una activina; un miembro de la familia de factor de crecimiento semejante a insulina (IGF), tal como IGF-I o IGF-II; un miembro de la familia de factor de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), tal como PDGF-AP, PDGF-BB y PDGF-AA; un miembro de la familia de la interleucina (IL), tal como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5 o IL-6; o un miembro de la familia de factor estimulador de colonias (CSF), tal como CSF-I, como G-CSF y GM-CSF. Un factor de crecimiento comprendido por una matriz puede ser un factor de crecimiento obtenido de una fuente de tejido, o puede ser un factor de crecimiento recombinante producido in vitro, en un cultivo de células o en un microorganismo utilizando técnicas estándares de biología molecular. En algunos aspectos, un factor de crecimiento puede ser una proteína morfogenética de hueso, tal como, en un ejemplo no limitativo, BMP-1, BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5 o BMP-6. Además, una matriz también puede incluir por lo menos un colágeno, tal como, en un ejemplo no limitativo, colágeno tipo I, colágeno tipo IX, colágeno tipo X o colágeno tipo XI.

Los presentes inventores también han desarrollado unos métodos para preparar las matrices descritas en esta memoria. Los métodos descritos en esta memoria utilizan técnicas de laboratorio bien conocidas por los expertos y puede encontrarse una guía en manuales de laboratorio tales como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001, de Sambrook, J., et al.; Cells: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1998 de Spector, D. L. et al.; y Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY, 1999 de Harlow, E., y libros de texto tales como Organic Chemistry 3ª edición, McGraw Hill, New York, 1970 de Hedrickson et al.

Por consiguiente, los métodos de las presentes enseñanzas comprenden formar una mezcla que comprende un poliéster y un ácido hialurónico, y enredar el poliéster y el ácido hialurónico en la mezcla. El enredo del ácido hialurónico con un poliéster puede efectuarse mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, tal como, en un ejemplo no limitativo, el método descrito en el Ejemplo 1 más adelante.

Al hacer una matriz, el ácido hialurónico se enreda con un poliéster que comprende poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico). Cuando un poliéster es un copolímero que comprende PLA y PGA5 los ácidos de polímero componente puede estar en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, tal como aproximadamente 3:1. Un copolímero puede obtenerse a partir de un proveedor comercial, o puede prepararse según técnicas bien conocidas, como las descritas en referencias tales como, en un ejemplo no limitativo, Biomateriales 11: 441-446, 1990 de Fukuzaki y Microencapsulation 7: 297-325, 1990 de Jalil, J.

En diversos aspectos, un método para formar una matriz puede comprender además oxidar el ácido hialurónico. La oxidación puede utilizar cualquier método conocido por los expertos para oxidar un ácido hialurónico, tal como, por ejemplo la oxidación con periodato. La oxidación del ácido hialurónico puede comprender oxidar unos anillos de azúcar en el ácido hialurónico, y puede efectuarse antes o después de enredar el ácido hialurónico con un poliéster.

Preparar una matriz también puede comprender, en algunas realizaciones, la reticulación covalente del componente de ácido hialurónico de una matriz. La reticulación del ácido hialurónico puede efectuarse antes o después de formar una mezcla con un poliéster o de enredar el poliéster con ácido hialurónico. En algunas configuraciones, la reticulación puede efectuarse utilizando un ácido hialurónico oxidado. Además, en algunos aspectos, la reticulación puede efectuarse poniendo en contacto ácido hialurónico con un reticulador químico, tal como, en un ejemplo no limitativo, un agente de reticulación de aldehído, tal como formaldehído o glutaraldehído, un agente de reticulación homobifuncional o un agente de reticulación heterobifuncional, tal como un agente de reticulación reactivo a

polisacáridos suministrado comercialmente por fuentes como Pierce Biotechnology Inc. (Rockford IL) o Molecular Probes/Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA.

La preparación de una matriz puede comprender formar una mezcla en donde el poliéster y el ácido hialurónico se combinan en una mezcla en una proporción de pesos que va de aproximadamente 99:1 a aproximadamente 1:99; unos métodos de estas realizaciones pueden incluir añadir el poliéster y el ácido hialurónico en una proporción de pesos de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 1:9. Un experto puede, en un ejemplo no limitativo, determinar por experimentación rutinaria una proporción óptima de poliéster a ácido hialurónico con respecto a propiedades físicas, químicas o biológicas de una matriz enredada resultante, tal como, en un ejemplo no limitativo, la adherencia hacia células, características de resorción, estabilidad, flexibilidad, fuerza, biocompatibilidad y capacidad de absorción para macromoléculas tales como proteínas de suero o componentes extracelulares de matriz. Los componentes macromoleculares de una mezcla pueden enredarse mediante métodos muy conocidos por los expertos, que pueden incluir, en algunos aspectos, congelar y liofilizar una mezcla que comprende un poliéster y un ácido hialurónico, o colocar en húmedo y secar al aire la mezcla.

La formación de una matriz de las presentes enseñanzas puede comprender además añadir a una mezcla, que comprende un poliéster y un ácido hialurónico, por lo menos un factor de crecimiento, como los enumerados antes y, en particular, una proteína morfogenética de hueso (BMP). La cantidad y la especie de un factor de crecimiento a añadir a una mezcla pueden ser determinadas por un experto mediante experimentación rutinaria, y pueden variarse según el uso pretendido de una matriz. En el ejemplo no limitativo, puede añadirse una proteína morfogenética de hueso a una mezcla que comprende un poliéster y un ácido hialurónico para formar una matriz que puede utilizarse para estimular el crecimiento de hueso. La formación de una matriz también puede comprender añadir un colágeno a una mezcla. El colágeno puede ser cualquier tipo de colágeno tal como los enumerados antes.

La matriz de la presente invención puede utilizarse en métodos para promover el crecimiento de tejido en un mamífero. Los métodos comprenden implantar en el mamífero, en un lugar necesitado del crecimiento de tejido la matriz de la presente invención. La matriz puede comprender además por lo menos un factor de crecimiento y/o por lo menos un colágeno. En diversas configuraciones, un tejido puede ser tejido de hueso, tejido de cartílago, un tejido blando o una combinación de los mismos. Por consiguiente, un receptor mamífero de una matriz de las presentes enseñanzas puede ser un paciente humano necesitado de tratamiento, tal como, en un ejemplo no limitativo, un individuo que tiene una enfermedad degenerativa de hueso o de cartílago, o un individuo necesitado de reparación de articulación tras una herida traumática. Un experto, tal como un cirujano, puede implantar una matriz en un lugar dentro del cuerpo del paciente. La matriz implantada puede acelerar o puede promover la curación del tejido adyacente.

La matriz de la presente invención puede utilizarse en el fabricante de un medicamento para promover el crecimiento de tejido. El método para fabricar el medicamento puede ser el método descrito para formar la matriz.

Los métodos descritos de reparación de articulación pueden aplicarse a cualquier articulación del cuerpo que comprenda cartílago hialino, tal como, pero no limitado a, una articulación de rodilla, de codo, de tobillo, de hombro, de mandíbula o de muñeca. Por otra parte, la membrana puede utilizarse tanto con humanos como con animales que tengan defectos de articulación, incluso, sin limitación, un mamífero tal como un animal de compañía o un animal de granja (p. ej., un gato, un perro, una oveja, una vaca, una cabra, un cerdo o un caballo). Los defectos que pueden ser tratados pueden ser cualquier forma de defecto de articulación que implique pérdida o daño del cartílago hialino, tal como, pero no limitado a, un defecto de grosor completo, un defecto de grosor parcial, un defecto de enfermedad degenerativa relacionada con la edad tal como la osteoartritis, un defecto congénito o una herida resultante de un traumatismo.

El tratamiento de un defecto de articulación utilizando la membrana descrita en esta memoria puede efectuar la reparación de un defecto de cartílago en el que el cartílago nuevo que se deposita tras la intervención es cartílago hialino en lugar de fibrocartílago. Durante el uso, la articulación puede ponerse en contacto con células madre mesenquimales autólogas comprendidas por el hueso, entonces a la articulación puede aplicársele la membrana de la presente invención. Más convenientemente, tales células madre mesenquimales pueden ser células madre mesenquimales autólogas que se originan en el hueso subyacente a la articulación dañada, aunque también pueden utilizarse células madre mesenquimales de otros huesos. El contacto entre la articulación dañada y las células madre mesenquimales autólogas del hueso subyacente puede efectuarse más fácilmente introduciendo una o más aberturas en el hueso subyacente a la articulación defectuosa. Tales aberturas deben ser por lo menos suficientemente grandes como para permitir el paso de las células madre mesenquimales desde el tejido mesénquima de hueso a la articulación. Para formar tales pasos pueden utilizarse varios procedimientos bien establecidos, tales como, sin limitación, abrasión (como artroplastia por abrasión), microfractura y taladro del hueso. Los expertos conocen bien estos y otros procedimientos de tratamiento, y se describen en referencias tales como Clinical Orthopaedics and Related Research 391 S: S362-S369, 2001, de Steadman, J.R. et al., Osteoarticular injuries of the knee. pp. 2077-2082, In: Chapman, M.W. (ed): Operative Orthopaedics, Vol. 3, 2nd Ed. Lippincott, Philadelphia, PA, 1993 de Rodrigo J.J., et al.; Articular cartilage drilling and osteotomy in osteoarthritis of the knee, pp. 325-339, in: McGinty, J.B. (ed): Operative Arthroscopy. Raven Press, New York, NY, 1991, de Tippet J.W.; Amer. J. Orthop. 33 (2 Suppl): 29-34, 2004 de Vangness, C.T., et al; Textbook of Arthroscopy, Miller, M.D. et al., ed. Saunders, 2004; The Adult Knee, Callaghan, J.J. et al., ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2003; Operative Treatment of Elbow Injuries, Baker, C.L., et al., ed., Springer, 2002; Osteoarthritis: Fundamentals and Strategies for Joint-preserving Treatment, Grifka, J.J., et al., ed., Springer, 2000; Reconstructive

Surgery of the Joints, Morrey, B.F., et al., ed., Churchill Livingstone, 1996; Operative Arthroscopy, McGinty, J.B., et al., ed., Lippincott-Raven, 1996; The Knee, Scott, W.N., ed., Mosby-Year Book, 1994; Surgical Repair and Reconstruction in Rheumatoid Disease, Benjamin, A., et al., Springer-Verlag, 1993; The Knee: Form, Function, Pathology, and Treatment; Larson, R.L., et al., ed., W.B. Saunders, 1993; y Textbook of Arthroscopic Surgery de O'Connor, Shahriaree, H., ed., J.B. Lippincott, 1992. Sin estar limitado por la teoría, se cree que tras la introducción de pasos en el hueso, las células madre mesenquimales pueden emigrar afuera de la cavidad de médula ósea a través de los pasos y poblar la articulación. La exposición de las células madre mesenquimales al ambiente local de la articulación lleva a la diferenciación de las células madre en los condrocitos de formación de cartílago. En presencia de una membrana que comprende un poliéster y un ácido hialurónico, los condrocitos producen cartílago hialino en lugar de fibrocartílago. La introducción de las células bajo estas condiciones puede restaurar de este modo el cartílago de una articulación defectuosa a un estado que se parece más al que había antes de la lesión de articulación.

La membrana de la presente invención puede tener un grosor de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. Estas membranas pueden prepararse mediante los métodos establecidos en adelante en esta memoria. Como se describe en los mismos, un poliéster de una membrana comprende poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o un copolímero de poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) (un "polímero PLA/PLG"). En algunos aspectos, la proporción de pesos de poli(ácido láctico) a poli(ácido glicólico) en un polímero de PLA/PLG puede ser de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2: 1, por ejemplo aproximadamente 3:1. Tal como se emplea en esta memoria, el término "ácido hialurónico" puede referirse a la forma ácida libre del ácido hialurónico, una sal de ácido hialurónico tal como hialuronato de sodio, o una combinación de los mismos. En algunas configuraciones, el ácido hialurónico puede ser un ácido hialurónico disponible comercialmente, tal como un ácido hialurónico distribuido por Lifecore Biomédico, Inc, Chaska, MN y puede tener un peso molecular medio de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 2.000.000 Dalton. En el ejemplo no limitativo, el ácido hialurónico puede ser hialuronato de sodio que tiene un peso molecular medio de aproximadamente 1.700.000. En diversos aspectos, la proporción de pesos del poliéster al polisacárido puede ser de 99:1 a 1:99. En algunas configuraciones, la proporción del poliéster al polisacárido puede ser de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 1:9.

Un experto, tal como, por ejemplo, un cirujano ortopédico, puede conformar una membrana hasta una forma apropiada para un defecto de articulación particular. La forma apropiada puede determinarse según los principios bien conocidos por los expertos, por ejemplo, siguiendo unas pautas para el tratamiento médico de defectos condrales presentados en textos estándar como los enumerados antes.

La membrana puede afianzarse a la articulación. El afianzamiento de la membrana a la articulación puede formar parte de la intervención quirúrgica en el tratamiento de un paciente. Por consiguiente, un experto tal como un cirujano ortopédico puede inmovilizar una membrana en el lugar de defecto en un paciente, utilizando por lo menos un sujetador y de ese modo retener la membrana en el lugar. Tal retención de la membrana puede promover la formación de cartílago hialino por los condrocitos diferenciados de las células madre mesenquimales. Unos ejemplos de un sujetador que puede utilizarse incluyen, sin limitación, un pegamento biocompatible, una sutura, una soldadura de tejido, un dardo, una grapa, un tornillo, una chincheta y una combinación de los mismos. Un pegamento biocompatible puede ser un pegamento de fibrina, tal como un sellador de fibrina. Un ejemplo no limitativo de un pegamento biocompatible que puede utilizarse con las presentes enseñanzas es un sellador de fibrina fabricado por Oesterreichisches Institut Fuer Haemoderivate G. M. B. H. en Viena, Austria y distribuido por Baxter Healthcare Corporation, Glendale, CA bajo el nombre comercial TISSEEL<(R)> VH. Unos ejemplos no limitativos de otros sujetadores que pueden utilizarse en lugar o además de un pegamento biocompatible son las suturas, soldaduras de tejido, tales como se describe en Laser Surgery Medicine 10: 576-583, 1990, de Helmsworth, T. F., et al., grapas, dardos, alfileres y chinchetas. En algunos aspectos, un sujetador puede comprender un material biocompatible, tal como, sin limitación, un polímero de PLA/PLG.

En algunos aspectos, una membrana de las presentes enseñanzas puede comprender además uno o más factores de crecimiento. Sin estar limitado por la teoría, se cree que ciertos factores de crecimiento pueden promover la formación de cartílago hialino al promover la diferenciación de células madre mesenquimales en los condrocitos formadores de cartílago hialino, y de ese modo acelerar la curación. Unos ejemplos no limitativos de los factores de crecimiento que pueden incorporarse en una membrana de las presentes enseñanzas incluyen un factor de crecimiento de fibroblastos tal como el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), un factor de crecimiento transformador tal como el factor de crecimiento transformador factor-[beta] (TGF-[beta]), una proteína morfogenética de hueso (BMP) tal como BMP-2, ADMP-13 una proteína de erizo, un factor de crecimiento semejante a insulina, un factor de crecimiento derivado de plaquetas, una interleucina, un factor estimulador de colonias y una activina. Por otra parte, en algunas configuraciones, una membrana puede comprender, además o en lugar de un factor de crecimiento, un colágeno tal como colágeno tipo I o colágeno tipo II. Las cantidades de un factor de crecimiento o de colágeno a incorporar en una membrana pueden ser determinadas por un experto sin experimentación indebida.

La matriz de la presente invención puede utilizarse en los métodos para reparar un defecto condral de grosor completo en una articulación de un paciente necesitado de tratamiento. Estos métodos comprenden microfracturar el hueso subyacente a la articulación y aplicar a la articulación una membrana que comprende un copolímero de poliéster que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, en donde el poliéster se enreda con ácido hialurónico. Una membrana de estas configuraciones puede tener un grosor de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. Estos métodos pueden comprender además anclar la membrana a la articulación. Una articulación de estas configuraciones puede ser

cualquier articulación que comprenda cartílago articular, tal como una articulación de un hueso largo, por ejemplo una articulación de rodilla que comprende cartílago articular de un fémur. En estas configuraciones, la microfractura puede preceder a la aplicación de una membrana, o viceversa.

Además, la matriz puede utilizarse en métodos para la reparación de un defecto condral de grosor completo en una articulación de un paciente necesitado de tratamiento. Estos métodos comprenden a) introducir por lo menos una abertura a través de hueso subyacente a la articulación, en donde la por lo menos una abertura hace posible la migración de células madre mesenquimales comprendidas por una cavidad de médula ósea del hueso a la articulación, y b) aplicar a la articulación una membrana que comprende ácido hialurónico enredado con un copolímero de poliéster que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1, en donde la membrana tiene un grosor de por lo menos aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 3 mm. Los métodos pueden comprender además asegurar la membrana a la articulación, utilizando métodos de conexión y dispositivos bien conocidos por los expertos.

En estos métodos, la introducción de por lo menos una abertura puede preceder a la aplicación de una membrana a la articulación, o la aplicación de una membrana a la articulación puede preceder a la introducción de por lo menos una abertura. Por otra parte, en estos métodos, una membrana puede afianzarse a una articulación mediante la aplicación de por lo menos un sujetador a la membrana y a la articulación. Unos ejemplos no limitativos de un sujetador incluyen un pegamento biocompatible tal como un pegamento de fibrina, una sutura, una soldadura de tejido, un dardo, una grapa, un tornillo y una chincheta. Un sujetador de estos métodos puede hacerse de un material bioabsorbible tal como un poliéster, o de material no absorbible tal como un metal biocompatible. Por consiguiente, en un ejemplo no limitativo, un sujetador puede ser una sutura absorbible que pasa a través de la membrana y de una articulación, y de ese modo afianza la aposición de la membrana en la articulación. Además, en un ejemplo no limitativo, la conexión puede comprender pegar la membrana a la articulación.

En diversos aspectos, los métodos descritos en esta memoria pueden aplicarse a cualquier mamífero, incluso un paciente humano necesitado de tratamiento. Además de un humano, la membrana puede aplicarse a cualquier mamífero, tal como, en un ejemplo no limitativo, un animal de compañía tal como un gato o un perro, o un animal de granja tal como un caballo, un bovino, una cabra, un cerdo o una oveja.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos, y no están pensados para limitar el alcance de las reivindicaciones. La descripción de una composición o de un método en un ejemplo no implica que una composición descrita se haya producido o no, o que el método descrito se haya realizado, independientemente del tiempo verbal utilizado.

Los métodos descritos en esta memoria utilizan técnicas de laboratorio bien conocidas por los expertos y puede encontrarse una guía en manuales de laboratorio tales como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001, de Sambrook, J., et al.; Cells: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1998 de Spector, D. L. et al.; y Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY, 1999 de Harlow, E.

35 Ejemplos

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra un método para construir una matriz enredada que comprende un poliéster y un ácido hialurónico.

En este ejemplo, el poli(láctido-co-glicólido) que tiene un peso molecular de $1,5 \times 10^5$ se disuelve en diclorometano (125 mg/ml) y con hialuronato (AH) de peso molecular de aproximadamente $1,3 \times 10^6$ Dalton se disuelve en agua (15 mg/ml). Las dos soluciones de polímero, 2 partes de PLGA, y 1 parte de AH, se mezclan con 1 parte de agua Milli-Q por creación de remolino a alta velocidad durante aproximadamente 5 minutos. La mezcla emulsionada se vierte inmediatamente en un molde pre-enfriado a -70°C en un baño que contiene hielo seco en alcohol isopropílico. Después de la congelación, el molde y su contenido se transfieren a un segundo recipiente que se carga con hielo seco y se conecta con una línea de vacío. El disolvente orgánico se retira mediante este proceso a una temperatura entre -70°C a -40°C , dejando AH en la fase de hielo húmedo. El agua se retira luego elevando la temperatura a -10°C en vacío.

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra el tratamiento de una lesión de rodilla.

En este ejemplo, se presenta un paciente atlético con una lesión traumática de rodilla a un cirujano ortopédico. Se hace un diagnóstico de cartílago articular dañado del cóndilo femoral. El cirujano realiza un procedimiento de microfractura en el cóndilo femoral del paciente, creando unos canales a través del hueso subyacente al cartílago hialino. El cirujano selecciona una membrana que comprende poliéster enredado con ácido hialurónico, y está conformada para seguir los contornos del cóndilo. El poliéster es un copolímero de láctico ácido y poli(ácido glicólico) con una proporción de pesos de 3:1 y tiene un peso molecular medio de 100.000. El ácido hialurónico tiene un peso molecular medio de 1.700.000. La proporción de pesos de poliéster al ácido hialurónico es 9:1, y la membrana tiene un grosor de 3 mm. El cirujano reviste un lado de la membrana con sellador de fibrina de VH TISSEEL®. Entonces

aplica la membrana al cóndilo femoral dañado utilizando una leve presión. Se indica al paciente que no aplique presión a la rodilla durante un período de semanas. El cóndilo se repara con nuevo cartílago hialino a los seis meses después de la intervención quirúrgica.

Ejemplo 3

5 Este ejemplo ilustra el tratamiento de osteoartritis.

En este ejemplo, se presenta un paciente con osteoartritis con un defecto condral de grosor completo en una articulación de codo. El paciente es operado por un cirujano, que realiza un procedimiento de microfractura en el húmero subyacente a la articulación. El cirujano coloca entonces sobre el cóndilo una membrana que comprende un poliéster enredado con ácido hialurónico, y conformada para seguir los contornos del cóndilo del húmero. El poliéster es un copolímero de láctico ácido y poli(ácido glicólico) con una proporción de pesos de 4:1 y tiene un peso molecular medio de 100.000. El ácido hialurónico tiene un peso molecular medio de 1.700.000. La proporción de pesos de poliéster al ácido hialurónico es 8:1. La membrana tiene un grosor de 1 mm. El cirujano afianza la membrana en el lugar con una serie de tornillos hechos de un polímero de PLA/PLG absorbible. Tras la cirugía, el nuevo cartílago hialino se deposita a lo largo del cóndilo en un período de seis meses. El nuevo cartílago es anatómicamente indistinguible del cartílago hialino normal.

Ejemplo 4

En este ejemplo, se presenta un macho de mediana edad con una dislocación traumática del hombro. Se hace un diagnóstico de interrupción del cartílago articular que cubre la cabeza del húmero en su articulación con la cavidad glenoidea de la escápula. El paciente es operado por un cirujano, que realiza un procedimiento de microfractura en la cabeza del húmero. Entonces el cirujano coloca sobre la cabeza humeral una membrana que comprende un poliéster enredado con ácido hialurónico, y conformada para aproximarse a los contornos de la cabeza humeral. El poliéster es un copolímero de láctico ácido y poli(ácido glicólico) con una proporción de pesos de 3:1 y tiene un peso molecular medio de 200.000. El ácido hialurónico tiene un peso molecular medio de 1.700.000. La proporción de pesos de poliéster al ácido hialurónico es 9:1. La membrana tiene un grosor de 1 mm. El cirujano afianza la membrana en el lugar con una serie de espigas absorbibles. Tras la cirugía, el nuevo cartílago hialino se deposita a lo largo del cóndilo en un período de seis meses. El nuevo cartílago es anatómicamente indistinguible del cartílago hialino normal.

Cualquier discusión de referencias citadas en esta memoria solamente pretende resumir las afirmaciones hechas por sus autores y no se hace ninguna admisión de que cualquier referencia o parte de las mismas constituye la técnica anterior pertinente. Los solicitantes se reservan el derecho de desafiar la certeza y si son relevantes las referencias citadas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una membrana en combinación con células madre mesenquimales autólogas, dicha membrana comprende un poliéster seleccionado del grupo que consiste en poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA) y un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) (PLGA), el poliéster se enreda con ácido hialurónico, para el uso en un método para reparar un defecto de cartílago hialino en una articulación de mamífero.
2. La membrana para uso según la reivindicación 1 en donde la articulación mamífera es una articulación humana.
3. La membrana para uso según las reivindicaciones 1 o 2 en donde el defecto de cartílago hialino comprende un defecto condral de grosor completo.
- 10 4. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde la membrana tiene un grosor de por lo menos 0,5 mm a aproximadamente 3 mm.
5. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el poliéster es un copolímero que comprende poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) (PLGA).
6. La membrana para uso según la reivindicación 5 en donde el poli(ácido láctico) y el poli(ácido glicólico) están en una proporción de pesos de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 2:1.
- 15 7. La membrana para uso según la reivindicación 6, en donde el poli(ácido láctico) y el poli(ácido glicólico) están en una proporción de pesos de aproximadamente 3:1.
8. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en donde la articulación mamífera es una articulación que comprende cartílago articular.
- 20 9. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde el poliéster y el ácido hialurónico están en una proporción de pesos de 99:1 a 1:99.
10. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde el poliéster y el ácido hialurónico están en una proporción de pesos de aproximadamente 9:1 a 1:9.
- 25 11. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en donde la membrana comprende además por lo menos un factor de crecimiento seleccionado del grupo que consiste en un TG93, una proteína morfogénica de hueso, un factor de diferenciación de crecimiento, ADMP-1, un factor de crecimiento de fibroblastos, una proteína de erizo, un factor de crecimiento semejante a insulina, un factor de crecimiento derivado de plaquetas, una interleucina, un factor estimulador de colonias y una activina.
- 30 12. La membrana para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde la membrana comprende además por lo menos un colágeno.