(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 664 229**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/18 (2006.01)
A61L 27/42 (2006.01)
A61L 27/48 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 24/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.07.2007** **PCT/US2007/015345**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.01.2008** **WO08005427**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2007** **E 07796636 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018** **EP 2049145**

(54) Título: **Composiciones y métodos de biomatriz-PDGF para el tratamiento de lesiones del manguito rotador**

(30) Prioridad:

30.06.2006 US 817874 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.04.2018

(73) Titular/es:

BIOMIMETIC THERAPEUTICS, LLC (100.0%)
389 NICHOL MILL LANE
FRANKLIN, TN 37067, US

(72) Inventor/es:

HART, CHARLES, E.;
LYNCH, SAMUEL;
YOUNG, CONAN y
NICKOLS, JOSHUA

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 664 229 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

Composiciones y métodos de biomatriz-PDGF para el tratamiento de lesiones del manguito rotador

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones y métodos útiles para unir tendón a hueso, particularmente para reparar lesiones del manguito rotador, como se ha definido en las reivindicaciones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Cientos de miles de personas experimentan rupturas de tendones y desprendimientos de tendones de huesos anualmente. Los desgarros del manguito rotador se encuentran entre las lesiones más comunes observadas por los profesionales de la medicina deportiva. Aproximadamente 400,000 cirugías de reparación del manguito de los rotadores se realizan anualmente en los Estados Unidos.

El manguito de los rotadores es un grupo de cuatro tendones que convergen y rodean la parte frontal, posterior y superior de la cabeza de la articulación del hombro del húmero. Estos tendones están conectados individualmente a los músculos cortos que se originan en la escápula. Los músculos se denominan músculos "SITS": supraespinosos, infraespinosos, redondos menores y subescapulares. Los músculos funcionan para proporcionar rotación y elevar el brazo y dar estabilidad a la articulación del hombro. Cuando los músculos se contraen, tiran de los tendones del manguito rotador, haciendo que el hombro gire hacia arriba, hacia adentro o hacia afuera. Hay un saco bursal entre el manguito de los rotadores y el acromion que permite que los músculos se deslicen libremente al moverse.

Los tendones del manguito rotador son susceptibles a los desgarros, que son una fuente común de dolor en el hombro. Los tendones generalmente se desprenden en su inserción (fijación) en la cabeza del húmero. Las lesiones del manguito de los rotadores pueden estar presentes como evulsiones completas o desgarros parciales de tipo L o U.

El dolor, la pérdida de movimiento y la debilidad pueden ocurrir cuando uno de los tendones del manguito rotador se rompe. Cuando los tendones del manguito rotador están lesionados o dañados, la bursa a menudo se inflama y puede ser una fuente adicional de dolor.

A pesar de la instrumentación quirúrgica y las técnicas avanzadas, la incidencia de nuevas lesiones después de la reparación del manguito de los rotadores es alta, con algunas estimaciones cercanas al 70%. El fracaso de las reparaciones del manguito rotador se ha atribuido a la mala curación y la reabsorción de los músculos que se insertan en la cabeza del húmero. La respuesta fibrótica y proliferativa normal entre los fibroblastos tendinosos y las células madre mesenquimales se ve disminuida dentro del hombro. Por lo tanto, esta respuesta de cicatrización inadecuada transfiere la carga de la reenganche e integridad del tendón a la resistencia mecánica de las suturas. Con el tiempo, las suturas se rompen y se desprenden del hueso y/o del tendón, causando una nueva lesión del hombro. El problema ha sido documentado en numerosos estudios que emplean el uso de modelos animales. Coleman y colegas informan en The Journal of Bone and Joint Surgery 85: 2391-2402 (2003) que el músculo infraespinoso reparado del hombro es capaz de producir solo el 63% de la fuerza normal de contracción normal a las 12 semanas después de la reparación usando un modelo de oveja de una lesión crónica.

En vista de los problemas asociados con las reparaciones del manguito rotador, sería deseable proporcionar composiciones y métodos operables para mejorar la respuesta de curación asociada con las reparaciones del manguito rotador. En particular, sería deseable proporcionar composiciones y métodos que mejoren las respuestas fibróticas y proliferativas entre fibroblastos de tendón y células de tallo mesenquimatosas, promoviendo así la cicatrización de un manguito de rotador desgarrado y el reacoplamiento de tendón a la cabeza humeral.

Rohrich *et al.* (Plast Recontr Surg. 1999 Nov; 104(6):1713-7.) relata el uso de una sutura de Mersilene para la administración de factores de crecimiento. WO2006/044334 divulga un método para promocionar el crecimiento de hueso, periodonto, ligamento, o cartílago en un mamífero mediante la aplicación al hueso, periodonto, ligamento, o cartílago de una composición que comprende un factor de crecimiento derivado de plaquetas en una concentración en el rango de aproximadamente 0,1 mg/mL a aproximadamente 1,0 mg/mL. WO2005/042048 describe métodos y composiciones para regenerar tejido conectivo que generalmente comprenden un matriz de hidrogel bioactivo que comprende un polipéptido, tal como gelatina, y un carbohidrato de cadena larga, tal como dextrán, que son útiles para la regeneración de tejido conectivo, y pueden administrarse a un área con lesión a, o pérdida de tejido conectivo, tal como hueso, cartílago, tendón, y ligamento.

RESUMEN

La presente invención proporciona composiciones y métodos para el tratamiento y/o reparación de tendones dañados. En algunas realizaciones, las composiciones y métodos de la presente invención son útiles en la unión o readaptación de tendones al hueso, y se pueden aplicar a cualquier reacoplamiento del tendón. En algunas realizaciones, las composiciones y métodos de la presente invención mejoran la unión del tendón al hueso mediante el fortalecimiento del tendón y/o el hueso en el sitio de unión del tendón al hueso. Además, el tratamiento de

tendones abarca la aplicación de composiciones de la presente invención a tendones, que incluyen tendones dañados o dañados, tales como tendones que muestran desgarro, delaminación y/o cualquier otra deformación o deformación. Los tendones que pueden volverse a unir al hueso y/o tratar mediante composiciones y métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, tendones del subescapular, supraespinoso, infraespinoso, redondo menor, recto femoral, tibial posterior y cuadraceps femoral, así como el tendón de Aquiles, el tendón rotuliano, los tendones abductores y aductores u otros tendones de la cadera.

La presente invención proporciona el uso de composiciones de la presente invención para la fijación de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso, así como el tratamiento de los tendones, incluidos los tendones dañados o lesionados. La presente invención proporciona adicionalmente el uso de composiciones de la presente invención en la preparación de un medicamento útil para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso así como el tratamiento de los tendones, incluyendo los tendones dañados o lesionados.

De acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento de desgarros del manguito rotador. Las presentes composiciones y métodos facilitan la respuesta de curación a las reparaciones del manguito de los rotadores y la reinserción del tendón a la cabeza del húmero.

Una composición proporcionada por la presente invención para promover la unión de los tendones a la cabeza humeral comprende una solución que comprende un factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y una matriz biocompatible, como se ha definido en las reivindicaciones, en donde la solución se dispone en la matriz biocompatible. El PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de 0,1 mg/ml a aproximadamente 1,0 mg/ml. La concentración de PDGF dentro de la solución puede estar dentro de cualquiera de los intervalos de concentración indicados anteriormente.

En realizaciones de la presente invención, PDGF comprende homodímeros y heterodímeros de PDGF, que incluyen PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD y mezclas y derivados de los mismos. En una realización, PDGF comprende PDGF-BB. En otra realización, el PDGF comprende un PDGF humano recombinante (rh) tal como PDGF-BB humano recombinante (rhPDGF-BB). En realizaciones de la presente invención, PDGF comprende fragmentos de PDGF. En una realización, rhPDGF-B comprende los siguientes fragmentos: secuencias de aminoácidos 1-31, 1-32, 33-108, 33-109 y/o 1-108 de la cadena B completa. La secuencia de aminoácidos completa (1-109) de la cadena B de PDGF se proporciona en la Figura 15 de la Patente de Estados Unidos Nº 5.516.896. Debe entenderse que las composiciones de rhPDGF de la presente invención pueden comprender una combinación de rhPDGF-B intacta (1-109) y fragmentos de la misma. Se pueden emplear otros fragmentos de PDGF tales como los descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 5.516.896. De acuerdo con una realización preferida, la rhPDGF-BB comprende al menos un 65% de rhPDGF-B intacta (1-109).

Una matriz biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, comprende un material de andamio óseo. En algunas realizaciones, un material de andamio óseo comprende fosfato de calcio. El fosfato de calcio, en una realización, comprende fosfato β-tricálcico (β-TCP)

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, en la que la matriz biocompatible comprende un material de andamio óseo y un aglutinante biocompatible. La solución de PDGF puede tener una concentración de PDGF como se describió anteriormente. Un material de andamio óseo, en algunas realizaciones, comprende fosfato de calcio. En una realización, un fosfato de calcio comprende un β-TCP. Las matrices biocompatibles pueden incluir partículas de fosfato cálcico con o sin aglutinantes biocompatibles o aloinjerto óseo tal como aloinjerto óseo liofilizado desmineralizado (DFDBA) o matriz ósea desmineralizada en partículas (DBM). En otro aspecto, las matrices biocompatibles pueden incluir aloinjerto óseo tal como DFDBA o DBM.

Además, un aglutinante biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, comprende proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, carbohidratos, polímeros sintéticos o mezclas de los mismos. En una realización, un aglutinante biocompatible comprende colágeno. En otra realización, un aglutinante biocompatible comprende colágeno, tal como colágeno bovino o humano.

La presente invención proporciona adicionalmente métodos para producir composiciones para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso, y/o el tratamiento de los tendones que incluyen, pero no se limitan a, los asociados con las roturas del manguito de los rotadores.

En una realización, un método para producir una composición comprende proporcionar una solución que comprende PDGF, proporcionando una matriz biocompatible y disponiendo la solución en la matriz biocompatible.

La presente invención también proporciona métodos para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso, así como métodos para el tratamiento de los tendones, incluidos los tendones dañados o lesionados, como los que presentan desgarro, delaminación o cualquier otra deformación o deformación. En una realización, un método para unir un tendón al hueso y/o reforzar la unión del tendón al hueso comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, como

se ha definido en las reivindicaciones y aplicar la composición a al menos un sitio de reinserción del tendón en el hueso. En otra realización, un método para tratar desgarros del manguito de los rotadores comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a al menos un sitio de reinserción del tendón en la cabeza humeral. En algunas realizaciones, un método para tratar un desgarro del manguito rotador comprende además disponer al menos un anclaje óseo en la cabeza humeral, el al menos un anclaje óseo que comprende además una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, y acoplar al menos un tendón desprendido al ancla del hueso

En otra realización, un método para tratar un tendón comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a una superficie de al menos un tendón. En algunas realizaciones, el al menos un tendón es un tendón lesionado o dañado, tal como un tendón que presenta desgarro, delaminación o cualquier otra deformación.

En algunas realizaciones, la presente invención se puede usar para reparar una rotura de tendón que no está en un punto de unión al hueso. Dicha rotura de tendón se puede suturar junto con un material de recubrimiento que liberaría PDGF del material. En algunas realizaciones, por ejemplo, se produce una rotura en las rupturas en la mitad de la sustancia del tendón de Aquiles. Los materiales superpuestos para tratar y/o reparar una rotura de tendón no en un punto de unión ósea, en algunas realizaciones, comprenden matrices biocompatibles que incluyen, pero no se limitan a, matrices de colágeno fibroso, hialuron reticulado, tejido de aloinjerto, otras matrices sintéticas o combinaciones de las mismas.

La presente invención proporciona un kit que comprende una solución que comprende PDGF en un primer recipiente y un segundo recipiente que comprende una matriz biocompatible. En algunas realizaciones, la solución comprende una concentración predeterminada de PDGF. La concentración de PDGF, en algunas realizaciones, puede predeterminarse de acuerdo con la naturaleza del tendón que se está tratando. El kit puede comprender además un material de andamio y el material de andamio puede comprender además un aglutinante biocompatible. Además, la cantidad de matriz biocompatible proporcionada por un kit puede depender de la naturaleza del tendón que se está tratando. La matriz biocompatible que puede incluirse en el kit puede ser un material de andamiaje, un material de andamiaje y un aglutinante biocompatible, y/o aloinjerto óseo tal como DFDBA o partículas de DBM. En una realización, el material de andamio de escamas óseas comprende un fosfato de calcio, tal como β-TCP. En otra realización, un material de andamio comprende un parche de colágeno de tipo I como se describe en este documento. Una jeringa, en algunas realizaciones, puede facilitar la disposición de la solución de PDGF en la matriz biocompatible para la aplicación en un sitio quirúrgico, tal como un sitio de unión del tendón al hueso. El kit también puede contener instrucciones de uso.

Por consiguiente, un objeto de la presente invención consiste en proporcionar una composición que comprende PDGF útil en la unión del tendón al hueso.

Por consiguiente, un objeto de la presente invención consiste en proporcionar una composición que comprende PDGF útil para la reparación de tendones.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar un método para la unión de tendón a hueso usando una composición que comprende PDGF.

Otro objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una composición que comprenda PDGF y un método para usar esta composición para unir los tendones del manguito de los rotadores al húmero.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar una composición que comprende PDGF dispuesto en una matriz y un método para usar esta composición para unir los tendones de los manguitos rotadores al húmero.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar una composición que comprende PDGF dispuesta en una matriz y que comprende además un aglutinante, y un método para usar esta composición para unir los tendones del manguito de los rotadores al húmero. Otro objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una composición para uso en la unión de los tendones al hueso y/o al tratamiento de los tendones.

Un objetivo adicional de la presente invención consiste en proporcionar una composición para uso en la preparación de un medicamento para la unión de tendones a hueso y/o el tratamiento de tendones.

Estas y otras realizaciones de la presente invención se describen con mayor detalle en la descripción detallada que sigue. Estos y otros objetos, características y ventajas de la presente invención serán evidentes después de una revisión de la siguiente descripción detallada de las realizaciones y reivindicaciones divulgadas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 ilustra un anclaje óseo de acuerdo con una realización de la presente invención.
La Figura 2 ilustra dos realizaciones, 30 y 36, de una composición de PDGF encapsulada, que también muestra una

bolsa de PDGF 32 y un borde de sutura 34.
La Figura 3 ilustra una técnica de la técnica anterior (3A), una almohadilla que contiene PDGF incorporada en suturas (3B). y una bolsa de PDGF suturada sobre un desgarro reparado (3C).
La Figura 4 ilustra un procedimiento quirúrgico de acuerdo con una realización de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención proporciona composiciones y métodos para el tratamiento y/o reparación de tendones dañados. En algunas realizaciones, las composiciones y métodos de la presente invención son útiles en la unión o readaptación de tendones al hueso, y se pueden aplicar a cualquier reacoplamiento del tendón. En algunas realizaciones, las composiciones y métodos de la presente invención mejoran la unión del tendón al hueso mediante el fortalecimiento del tendón y/o el hueso en el sitio de unión del tendón al hueso. Además, el tratamiento de tendones abarca la aplicación de composiciones de la presente invención a tendones, que incluyen tendones dañados o dañados, tales como tendones que muestran desgarro, delaminación y/o cualquier otra deformación o deformación. Los tendones que pueden volverse a unir al hueso y/o tratar mediante composiciones y métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, tendones del subescapular, supraespinoso, infraespinoso, redondo menor, recto femoral, tibial posterior y cuadraceps femoral, como así como el tendón de Aquiles, el tendón rotuliano, los tendones abductores y aductores u otros tendones de la cadera.

La presente invención proporciona el uso de composiciones de la presente invención para la fijación de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso, así como el tratamiento de los tendones, incluidos los tendones dañados o lesionados. La presente invención proporciona adicionalmente el uso de composiciones de la presente invención en la preparación de un medicamento útil para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso así como el tratamiento de los tendones, incluyendo los tendones dañados o lesionados. La presente invención, en una realización, por ejemplo, proporciona composiciones y métodos para el tratamiento de desgarros del manguito rotador. Como se usa en este documento, los desgarros del manguito de los rotadores incluyen un desprendimiento completo del tendón así como un desprendimiento incompleto o parcial del tendón. Las presentes composiciones y métodos facilitan la respuesta de curación a las reparaciones del manguito de los rotadores y la reinserción del tendón a la cabeza del húmero. En una realización, una composición para promover la unión del tendón al hueso, tal como la cabeza humeral, comprende una solución que comprende PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución se dispone en la matriz biocompatible. En otra realización, una composición comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, en la que la matriz biocompatible comprende un material de andamio óseo y un aglutinante biocompatible. En un aspecto, las matrices biocompatibles pueden incluir partículas de fosfato de calcio con o sin aglutinantes biocompatibles o aloinjerto óseo tal como DFDBA o partículas de DBM. En otro aspecto, las matrices biocompatibles pueden incluir DFDBA o DBM.

Pasando ahora a los componentes que se pueden incluir en diversas realizaciones de la presente invención, las composiciones de la presente invención comprenden una solución que comprende PDGF, tal como se ha definido en las reivindicaciones.

Soluciones de PDGF

En un aspecto, una composición proporcionada por la presente invención comprende una solución que comprende un factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y una matriz biocompatible, como se ha definido en las reivindicaciones, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible. En algunas realizaciones, el PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 1,0 mg/ml, PDGF puede estar presente en la solución a cualquier concentración dentro de estos rangos establecidos. El PDGF está presente en la solución a cualquiera de las siguientes concentraciones: 0,1 mg/ml; aproximadamente 0,15 mg/ml; aproximadamente 0,2 mg/ml; aproximadamente 0,25 mg/ml; aproximadamente 0,3 mg/ml; aproximadamente 0,35 mg/ml; aproximadamente 0,4 mg/ml; aproximadamente 0,45 mg/ml; aproximadamente 0,5 mg/ml, aproximadamente 0,55 mg/ml, aproximadamente 0,6 mg/ml, aproximadamente 0,65 mg/ml, aproximadamente 0,7 mg/ml; aproximadamente 0,75 mg/ml; aproximadamente 0,8 mg/ml; aproximadamente 0,85 mg/ml; aproximadamente 0,9 mg/ml; aproximadamente 0,95 mg/ml; o aproximadamente 1,0 mg/ml. Debe entenderse que estas concentraciones son simplemente ejemplos de realizaciones particulares, y que la concentración de PDGF puede estar dentro de cualquiera de los intervalos de concentración indicados anteriormente.

Se pueden usar diversas cantidades de PDGF en las composiciones de la presente invención, como se ha definido en las reivindicaciones.

La concentración de PDGF u otros factores de crecimiento en realizaciones de la presente invención se puede determinar usando un inmunoensayo ligado a enzimas como se describe en las patentes de Estados Unidos números 6.221.625, 5.747.273 y 5.290.708, o cualquier otro ensayo conocido en la técnica para determinar la concentración de PDGF. Cuando se proporciona aquí, la concentración molar de PDGF se determina en base al peso molecular del dímero de PDGF (por ejemplo, PDGF-BB, PM de aproximadamente 25 kDa).

En realizaciones de la presente invención, PDGF comprende homodímeros y heterodímeros de PDGF, que incluyen PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD y mezclas y derivados de los mismos. En una realización, PDGF comprende PDGF-BB. En otra realización, PDGF comprende un PDGF humano recombinante, tal como rhPDGF-BB.

PDGF, en algunas realizaciones, se puede obtener a partir de fuentes naturales. En otras realizaciones, el PDGF puede producirse mediante técnicas de ADN recombinante. En otras realizaciones, el PDGF o fragmentos del mismo pueden producirse usando técnicas de síntesis de péptidos conocidas por los expertos en la técnica, tales como la síntesis de péptidos en fase sólida. Cuando se obtiene de fuentes naturales, el PDGF puede derivarse de fluidos biológicos. Los fluidos biológicos, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender cualquier fluido tratado o sin tratar asociado con organismos vivos incluyendo sangre.

Los fluidos biológicos, en otra realización, también pueden comprender componentes sanguíneos que incluyen concentrado de plaquetas (PC), plaquetas de aféresis, plasma rico en plaquetas (PRP), plasma, suero, plasma fresco congelado (FFP) y recubrimiento leucocítico (BC). Los fluidos biológicos, en una realización adicional, pueden comprender plaquetas separadas de plasma y resuspendidas en un fluido fisiológico.

Cuando se producen mediante técnicas de ADN recombinante, una secuencia de ADN que codifica un único monómero (por ejemplo, cadena B o cadena A de PDGF) puede insertarse en células eucariotas o procariotas cultivadas para la expresión para producir posteriormente el homodímero (por ejemplo, PDGF-BB o PDGF-AA). En otras realizaciones, un heterodímero de PDGF puede generarse insertando secuencias de ADN que codifican para ambas unidades monoméricas del heterodímero en células procariotas o eucariotas cultivadas y permitiendo que las unidades monoméricas traducidas sean procesadas por las células para producir el heterodímero (por ejemplo, PDGF-AB). El PDGF-BB recombinante de cGMP disponible comercialmente puede obtenerse comercialmente de Chiron Corporation (Emeryville, CA). El grado de investigación rhPDGF-BB puede obtenerse de múltiples fuentes, incluyendo R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN), BD Biosciences (San José, CA), y Chemicon, International (Temecula, CA).

En realizaciones de la presente invención, PDGF comprende fragmentos de PDGF. En una realización, rhPDGF-B comprende los siguientes fragmentos: secuencias de aminoácidos 1-31, 1-32, 33-108, 33-109, y/o 1-108 de toda la cadena B. La secuencia de aminoácidos completa (1-109) de la cadena B de PDGF se proporciona en la Figura 15 de la Patente de Estados Unidos Nº 5.516.896. Debe entenderse que las composiciones de rhPDGF de la presente invención pueden comprender una combinación de rhPDGF-B intacta (1-109) y fragmentos de la misma. Se pueden emplear otros fragmentos de PDGF tales como los descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 5.516.896. De acuerdo con una realización, la rhPDGF-BB comprende al menos un 65% de rhPDGF-B intacta (1-109). De acuerdo con otras realizaciones, la rhPDGF-BB comprende al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de rhPDGF-B intacta (1-109).

En algunas realizaciones de la presente invención, el PDGF puede purificarse. El PDGF purificado, como se usa en este documento, comprende composiciones que tienen más de aproximadamente 95% por peso en PDGF antes de la incorporación en soluciones de la presente invención. La solución puede ser cualquier solución farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, el PDGF puede ser sustancialmente purificado. El PDGF sustancialmente purificado, como se usa en el presente documento, comprende composiciones que tienen aproximadamente del 5% al aproximadamente 95% por peso de PDGF antes de la incorporación en soluciones de la presente invención. En una realización, PDGF sustancialmente purificado comprende composiciones que tienen aproximadamente 65% a aproximadamente 95% por peso de PDGF antes de la incorporación en soluciones de la presente invención. En otras realizaciones, PDGF sustancialmente purificado comprende composiciones que tienen aproximadamente 70% a aproximadamente 95%, aproximadamente 75% a aproximadamente 95%, aproximadamente 80% a aproximadamente 95%, aproximadamente 85% a aproximadamente 95%, o aproximadamente 90% a aproximadamente 95%, por peso de PDGF, antes de la incorporación en las soluciones de la presente invención. El PDGF purificado y el PDGF sustancialmente purificado se pueden incorporar a los andamiajes y aglutinantes.

En una realización adicional, el PDGF puede purificarse parcialmente. El PDGF parcialmente purificado, como se usa en el presente documento, comprende composiciones que tienen PDGF en el contexto de PRP, FFP o cualquier otro producto sanguíneo que requiere recolección y separación para producir PDGF. Las realizaciones de la presente invención contemplan que cualquiera de las isoformas de PDGF proporcionadas aquí, que incluyen homodímeros y heterodímeros, puede purificarse o purificarse parcialmente. Las composiciones de la presente invención que contienen mezclas de PDGF pueden contener isoformas de PDGF o fragmentos de PDGF en proporciones parcialmente purificadas. El PDGF parcialmente purificado y purificado, en algunas realizaciones, puede prepararse como se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº de Serie 11/159.533 (Publicación Nº: 20060084602).

En algunas realizaciones, las soluciones que comprenden PDGF se forman solubilizando PDGF en uno o más tampones. Los tampones adecuados para uso en soluciones de PDGF de la presente invención pueden comprender, pero no se limitan a, carbonatos, fosfatos (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato),

histidina, acetatos (por ejemplo, acetato de sodio), tampones ácidos tales como ácido acético y HCl, y orgánicos tampones tales como lisina, tampones Tris (por ejemplo, tris(hidroximetilo)aminoetano), ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES) y ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS). Los tampones se pueden seleccionar en función de la biocompatibilidad con PDGF y la capacidad del tampón para impedir la modificación indeseable de proteínas. Los tampones también se pueden seleccionar en función de la compatibilidad con los tejidos del huésped. En una realización, se usa tampón de acetato de sodio. Los tampones pueden emplearse a diferentes molaridades, por ejemplo aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 100 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 5 mM a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, o aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM, o cualquier molaridad dentro de estos rangos. En algunas realizaciones, se emplea un tampón de acetato a una molaridad de aproximadamente 20 mM.

En otra realización, las soluciones que comprenden PDGF se forman solubilizando PDGF liofilizado en agua, en donde, antes de la solubilización, el PDGF se liofiliza a partir de un tampón apropiado.

Las soluciones que comprenden PDGF, de acuerdo con realizaciones de la presente invención, pueden tener un pH que varía de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 8,0. En una realización, una solución que comprende el PDGF tiene un pH que varía de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8,0, más preferiblemente de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,0, lo más preferiblemente de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5, o cualquier valor dentro de estos intervalos. El pH de las soluciones que comprenden PDGF, en algunas realizaciones, puede ser compatible con la estabilidad y eficacia prolongada de PDGF o cualquier otro agente biológicamente activo deseado. PDGF es generalmente más estable en un entorno ácido. Por lo tanto, de acuerdo con una realización, la presente invención comprende una formulación de almacenamiento ácido de una solución de PDGF. De acuerdo con esta realización, la solución de PDGF tiene preferiblemente un pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0, y más preferiblemente de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 6,5. La actividad biológica de PDGF, sin embargo, puede optimizarse en una solución que tenga un rango de pH neutro. Por lo tanto, en una realización adicional, la presente invención comprende una formulación de pH neutro de una solución de PDGF. De acuerdo con esta realización, la solución de PDGF tiene preferiblemente un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8,0, más preferiblemente aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,0, lo más preferiblemente aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5. De acuerdo con un método de la presente invención, una solución ácida de PDGF se reformula a una composición de pH neutro, en donde dicha composición se usa luego para tratar hueso, ligamentos, tendones o cartílago con el fin de promover su crecimiento y/o curación. De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el PDGF utilizado en las soluciones es rhPDGF-BB.

En algunas realizaciones, el pH de la solución que contiene PDGF puede alterarse para optimizar la cinética de unión de PDGF a un sustrato de matriz o ligador. Si se desea, a medida que el pH del material se equilibra con el material adyacente, el PDGF unido puede volverse lábil.

El pH de las soluciones que comprenden PDGF, en algunas realizaciones, se puede controlar mediante los tampones enumerados aquí. Diversas proteínas muestran diferentes rangos de pH en los que son estables. Las estabilidades proteicas se reflejan principalmente por puntos isoeléctricos y cargas en las proteínas. El rango de pH puede afectar la estructura conformacional de una proteína y la susceptibilidad de una proteína a la degradación proteolítica, hidrólisis, oxidación y otros procesos que pueden dar como resultado la modificación de la estructura y/o actividad biológica de la proteína.

En algunas realizaciones, las soluciones que comprenden PDGF pueden comprender adicionalmente componentes adicionales, tales como otros agentes biológicamente activos. En otras realizaciones, las soluciones que comprenden PDGF pueden comprender además medios de cultivo celular, otras proteínas estabilizantes tales como albúmina, agentes antibacterianos, inhibidores de proteasa [por ejemplo, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido etilenglicol-bis(beta-aminoetílico)-N,N,N',N'-tetraacético (EGTA), aprotinina, ácido ε-aminocaproico (EACA), etc.] y/u otros factores de crecimiento tales como factores de crecimiento fibroblástico (FGF), factores de crecimiento epidérmico (EGF), factores de crecimiento transformantes (TGF), factores de crecimiento de queratinocitos (KGF), factores de crecimiento similares a insulina (IGF), proteínas morfogenéticas óseas (BMP) u otros PDGF que incluyen composiciones de PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC y/o PDGF-DD.

Además de las soluciones que comprenden PDGF, las composiciones de la presente invención también comprenden una matriz biocompatible en la que se disponen las soluciones de PDGF y también pueden comprender un aglutinante biocompatible con o sin una matriz biocompatible.

Matriz biocompatible

Material de andamiaje

Una matriz biocompatible, de acuerdo con realizaciones de la presente invención, comprende un material de andamio. El material de andamio, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, proporciona un marco o armazón para que se produzca un nuevo crecimiento de tejido, que incluye tejido de tendón y/o hueso. Un material

de andamio, en algunas realizaciones, comprende al menos un fosfato de calcio. En otras realizaciones, un material de andamio puede comprender una pluralidad de fosfatos de calcio. Los fosfatos de calcio adecuados para usar como material de andamio, en realizaciones de la presente invención, tienen una relación atómica de calcio a fósforo que varía de 0,5 a 2,0. En algunas realizaciones, la matriz biocompatible comprende un aloinjerto tal como DFDBA o partículas DBM.

Ejemplos no limitativos de fosfatos cálcicos adecuados para su uso como materiales de andamio óseo comprenden fosfato cálcico amorfo, monohidrato de fosfato monocálcico (MCPM), fosfato monocálcico anhidro (MCPA), dihidrato de fosfato dicálcico (DCPD), fosfato dicálcico anhidro (DCPA), fosfato octacálcico (OCP), fosfato α-tricálcico, β-TCP, hidroxiapatita (OHAp), hidroxiapatita poco cristalina, fosfato tetracálcico (TTCP), decafosfato de heptacalcio, metafosfato cálcico, dihidrato de pirofosfato cálcico, fosfato cálcico carbonatado y pirofosfato de calcio.

Además, en algunas realizaciones, un material de andamio comprende un parche o almohadilla de colágeno. Un parche o almohadilla de colágeno, en una realización de la presente invención, comprende un colágeno fibroso tal como colágeno bovino de tipo I soluble. El colágeno fibroso adecuado para su uso en parches o almohadillas de colágeno demuestra suficientes propiedades mecánicas, incluida la resistencia a la tracción en húmedo, para resistir la sutura y mantener una sutura sin desgarro. En una realización, un parche de colágeno o almohadilla tiene una densidad que varía de aproximadamente 0,75 g/cm^3 a aproximadamente 1,5 g/cm^3. Adicionalmente, un parche o almohadilla de colágeno para uso en algunas realizaciones de la presente invención es poroso y puede funcionar para absorber agua en una cantidad que varía de aproximadamente 1x a aproximadamente 15 veces la masa del parche de colágeno.

En algunas realizaciones, un material de andamio comprende una estructura porosa. Los materiales de andamios óseos porosos, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender poros que tienen diámetros que varían de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 1 mm. En una realización, un material de andamio comprende macroporos que tienen diámetros que varían de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 1 mm. En otra realización, un material de andamio comprende mesoporos que tienen diámetros que varían de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 100 µm. En una realización adicional, un material de andamio comprende microporos que tienen diámetros inferiores a aproximadamente 10 µm. Las realizaciones de la presente invención contemplan materiales de andamio que comprenden macroporos, mesoporos y microporos o cualquier combinación de los mismos.

Un material de andamiaje poroso, en una realización, tiene una porosidad mayor que aproximadamente el 25%. En otra realización, un material de andamio poroso tiene una porosidad mayor que aproximadamente 50%. En una realización adicional, un material de andamio poroso tiene una porosidad mayor que aproximadamente 90%. En algunas realizaciones, un material de andamio comprende una pluralidad de partículas. Un material de andamio, por ejemplo, puede comprender una pluralidad de partículas de fosfato de calcio. Las partículas de andamio, en una realización, tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 mm. En otras realizaciones, las partículas tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 250 µm a aproximadamente 750 µm. Las partículas de andamio, en otra realización, pueden tener un diámetro promedio que varía de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 400 µm. En una realización adicional, las partículas tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 300 µm. En realizaciones adicionales, las partículas de andamio tienen un diámetro promedio inferior a aproximadamente 1 µm y, en algunos casos, inferior a aproximadamente 1 mm.

Los materiales de andamio, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden proporcionarse en una forma adecuada para la implantación (por ejemplo, una esfera, un cilindro o un bloque). En otras realizaciones, los materiales de andamios óseos son moldeables, extruibles y/o inyectables. Los materiales de andamios moldeables pueden facilitar la colocación eficaz de las composiciones de la presente invención en y alrededor de tendones y/o huesos, que incluyen sitios de unión de tendones al hueso. En algunas realizaciones, los materiales de andamios moldeables se aplican al hueso y/o tendones con una espátula o dispositivo equivalente. En algunas realizaciones, los materiales de los andamios son fluidos. Los materiales de andamios fluibles, en algunas realizaciones, se pueden aplicar a sitios de reagrupamiento de tendones a través de una jeringa y una aguja o cánula. En algunas realizaciones, los materiales de andamios fluibles pueden aplicarse a sitios de reinserción de tendón percutáneamente. En otras realizaciones, los materiales de andamios fluibles se pueden aplicar a un sitio quirúrgicamente expuesto de reinserción de tendón. En una realización adicional, se pueden aplicar materiales de andamios moldeables y/o fluibles a los anclajes óseos utilizados en la fijación de un tendón a un hueso.

En algunas realizaciones, los materiales de andamiaje son bioreabsorbibles. Un material de andamio, en una realización, puede reabsorberse dentro de un año de la implantación *in vivo*. En otra realización, un material de andamio se puede reabsorber dentro de 1, 3, 6 o 9 meses de implantación *in vivo*. La biorreabsorbilidad depende de: (1) la naturaleza del material de la matriz (es decir, su composición química, estructura física y tamaño); (2) la ubicación dentro del cuerpo en el que se coloca la matriz; (3) la cantidad de material de matriz que se utiliza; (4) el estado metabólico del paciente (diabético/no diabético, osteoporótico, fumador, anciano, uso de esteroides, etc.); (5) la extensión y/o tipo de lesión tratada; y (6) el uso de otros materiales además de la matriz, como otros factores óseos anabólicos, catabólicos y anticatabólicos.

Andamios que comprenden fosfato β-tricálcico (B-TCP)

Un material de andamio para uso como una matriz biocompatible, en algunas realizaciones, comprende β-TCP. El β-TCP, de acuerdo con algunas realizaciones, puede comprender una estructura porosa que tiene poros multidireccionales e interconectados de diferentes diámetros. En algunas realizaciones, β-TCP comprende una pluralidad de bolsillos y poros no interconectados de diversos diámetros además de los poros interconectados. La estructura porosa de β-TCP, en una realización, comprende macroporos que tienen diámetros que oscilan de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 1 mm, mesoporos que tienen diámetros que varían de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 100 µm, y microporos que tienen diámetros inferiores a aproximadamente 10 µm. Los macroporos y microporos del β-TCP pueden facilitar el crecimiento tisular incluyendo la osteoinducción y la osteoconducción, mientras que los macroporos, mesoporos y microporos pueden permitir la comunicación de fluidos y el transporte de nutrientes para apoyar el rebrote de tejidos y huesos en toda la matriz biocompatible de β-TCP.

Al comprender una estructura porosa, el β-TCP, en algunas formas de realización, puede tener una porosidad superior al 25%. En otras realizaciones, el β-TCP puede tener una porosidad mayor que 50%. En una realización adicional, el β-TCP puede tener una porosidad mayor que 90%.

En algunas realizaciones, un material de andamio óseo comprende partículas de β-TCP. Las partículas β-TCP, en una realización, tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 mm. En otras realizaciones, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 250 µm a aproximadamente 750 µm. En otra realización, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 400 µm. En una realización adicional, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 300 µm. En realizaciones adicionales, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio inferior a 25 µm y, en algunos casos, tamaños inferiores a 1 mm.

Una matriz biocompatible que comprende un material de andamio de β-TCP, en algunas realizaciones, se proporciona en una forma adecuada para la implantación (por ejemplo, una esfera, un cilindro o un bloque). En otras realizaciones, un material de andamio de β-TCP es moldeable, extruible y/o fluido, facilitando así la aplicación de la matriz en áreas de reinserción de tendón, tales como canales en la cabeza humeral. Las matrices fluidas se pueden aplicar a través de jeringas, tubos o espátulas. En algunas realizaciones, se aplican materiales de andamiaje de β-TCP moldeables, extruibles y/o fluibles a los anclajes óseos usados en la fijación de los tendones al hueso.

Un material de andamio de β-TCP, de acuerdo con algunas realizaciones, es biorreabsorbible. En una realización, un material de andamio de β-TCP puede ser al menos un 75% reabsorbido un año después de la implantación *in vivo*. En otra realización, un material de andamio óseo de β-TCP puede ser resorbido en más del 90% un año después de la implantación *in vivo*.

Material de andamios que comprende un parche de colágeno

En algunas realizaciones, un material de andamio de escamas comprende un parche o almohadilla de colágeno. Un parche o almohadilla de colágeno, en una realización de la presente invención, comprende un colágeno fibroso tal como colágeno bovino de tipo I soluble. En otra realización, un colágeno fibroso comprende colágeno de tipo II o tipo III. El colágeno fibroso adecuado para su uso en parches o almohadillas de colágeno demuestra suficientes propiedades mecánicas, incluida la resistencia a la tracción en húmedo, para resistir la sutura y mantener una sutura sin desgarro. Un parche de colágeno fibroso, por ejemplo, puede tener una resistencia al desgarro en húmedo que varía de aproximadamente 0,75 libras a aproximadamente 5 libras. En una realización, un parche de colágeno o almohadilla tiene una densidad que varía de aproximadamente 0,75 g/cm^3 a aproximadamente 1.5 g/cm^3. Adicionalmente, un parche o almohadilla de colágeno para uso en algunas realizaciones de la presente invención es poroso y puede funcionar para absorber agua en una cantidad que varía de aproximadamente 1x a aproximadamente 15 veces la masa del parche de colágeno.

Material de andamiaje y aglutinante biocompatible

En otra realización, una matriz biocompatible comprende un material de andamiaje y un aglutinante biocompatible. Las matrices biocompatibles que comprenden un material de andamio y un aglutinante biocompatible, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, son útiles para reparar, fortalecer y/o volver a unir los tendones al hueso proporcionando una estructura para el crecimiento de tendones y/o tejidos óseos nuevos.

Los aglutinantes biocompatibles, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender materiales operables para promover la cohesión entre sustancias combinadas. Un aglutinante biocompatible, por ejemplo, puede promover la adhesión entre partículas de un material de andamio óseo en la formación de una matriz biocompatible. En ciertas realizaciones, el mismo material puede servir como material de andamiaje y como aglutinante si dicho material actúa para promover la cohesión entre las sustancias combinadas y proporciona un marco para que se

produzca un nuevo crecimiento de tejido, que incluye el crecimiento de tendones y huesos.

Los aglutinantes biocompatibles, en algunas realizaciones, pueden comprender colágeno, elastina, polisacáridos, ácidos nucleicos, carbohidratos, proteínas, polipéptidos, poli(α-hidroxiácidos), poli(lactonas), poli(aminoácidos), poli(anhídridos), poliuretanos, poli(ortoésteres), poli(anhídrido-co-imidas), poli(ortocarbonatos), poli(α-hidroxi alcanoatos), poli(dioxanonas), poli(fosfoésteres), poli(ácido láctico), poli(L-láctido) (PLLA), poli(D,L-lactida) (PDLLA), poliglicolida (PGA), poli(lactida-co-glicolida (PLGA), poli(L-lactida-co-D, L-lactida), poli(D,L-láctida)-co-trimetileno carbonato), ácido poliglicólico, polihidroxibutirato (PHB), poli(ε-caprolactona), poli(δ-valerolactona), poli(γ-butirolactona), poli(caprolactona), ácido poliacrílico, ácido policarboxílico, poli(hidrocloruro de alilamina), poli(cloruro de dialildimetilamonio), poli(etilenimina), fumarato de polipropileno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polietileno, poli(metacrilato de metilo), fibras de carbono, poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), poli(alcohol vinílico), poli(vinilpirrolidona), poli(etiloxazolina), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno) copolímeros de bloque, poli(tereftalato de etileno) poliamida, y copolímeros y mezclas de los mismos.

Los aglutinantes biocompatibles, en otras realizaciones, pueden comprender ácido algínico, goma arábiga, goma guar, goma xantana, gelatina, quitina, quitosano, acetato de quitosano, lactato de quitosano, sulfato de condroitina, N,O-carboximetilquitosano, un dextrano (por ejemplo, α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, γ-ciclodextrina o sulfato de dextrano sódico), cola de fibrina, lecitina, derivados de fosfatidilcolina, glicerol, ácido hialurónico, hialuronato de sodio, una celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulos e, hidroxipropilmetilcelulosa o hidroxietilcelulosa), una glucosamina, un proteoglicano, un almidón (por ejemplo, almidón de hidroxietilo o almidón soluble), ácido láctico, un ácido plurónico, glicerofosfato de sodio, glucógeno, una queratina, seda y derivados y mezclas de los mismos.

En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible es soluble en agua. Un aglutinante soluble en agua puede disolverse a partir de la matriz biocompatible poco después de su implantación, introduciendo de este modo la macroporosidad en la matriz biocompatible. La macroporosidad, como se analiza en el presente documento, puede aumentar la osteoconductividad del material de implante potenciando el acceso y, por consiguiente, la actividad de remodelación de los osteoclastos y osteoblastos en el sitio del implante. En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una matriz biocompatible en una cantidad que varía de aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 50 por ciento en peso de la matriz. En otras realizaciones, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad que varía de aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 40 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad que varía de aproximadamente 15 por ciento en peso a aproximadamente 35 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En una realización adicional, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible.

Una matriz biocompatible que comprende un material de andamio y un aglutinante biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones, puede ser fluida, moldeable y/o extruible. En tales realizaciones, una matriz biocompatible puede estar en forma de una pasta o masilla. Una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla, en una realización, puede comprender partículas de un material de andamio adheridas entre sí por un aglutinante biocompatible.

Una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla se puede moldear en la forma de implante deseada o se puede moldear a los contornos del sitio de implantación. En una realización, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla puede inyectarse en un sitio de implantación con una jeringa o cánula. En una realización adicional, se pueden aplicar materiales de andamios moldeables y/o fluibles a los anclajes óseos usados en la fijación de un tendón a un hueso.

En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla no se endurece y retiene una forma capaz de fluir y posterior a la implantación. En otras realizaciones, una pasta o masilla puede endurecerse después de la implantación, reduciendo de este modo la fluidez y moldeabilidad de la matriz.

Una matriz biocompatible que comprende un material de andamiaje y un aglutinante biocompatible, en algunas realizaciones, también puede proporcionarse en una forma predeterminada que incluye un bloque, esfera o cilindro o cualquier forma deseada, por ejemplo una forma definida por un molde o un sitio de aplicación.

Una matriz biocompatible que comprende un material de andamio y un aglutinante biocompatible, en algunas realizaciones, es bioreabsorbible. Una matriz biocompatible, en dichas realizaciones, puede reabsorberse dentro de un año de la implantación *in vivo*. En otra realización, una matriz biocompatible que comprende un material de andamio óseo y un aglutinante biocompatible se puede reabsorber dentro de 1, 3, 6 o 9 meses de implantación *in vivo*. La biorreabsorbilidad, en algunas realizaciones, depende de: (1) la naturaleza del material de la matriz (es decir, su composición química, estructura física y tamaño); (2) la ubicación dentro del cuerpo en el que se coloca la matriz; (3) la cantidad de material de matriz que se utiliza; (4) el estado metabólico del paciente (diabético/no diabético, osteoporótico, fumador, anciano, uso de esteroides, etc.); (5) la extensión y/o tipo de lesión tratada; y (6) el uso de otros materiales además de la matriz, como otros factores óseos anabólicos, catabólicos y anticatabólicos.

Matriz biocompatible que comprende β-TCP y colágeno

En algunas realizaciones, una matriz biocompatible puede comprender un material de andamio β-TCP y un aglutinante de colágeno biocompatible. Los materiales de andamiaje de β-TCP adecuados para la combinación con un aglutinante de colágeno son consistentes con los proporcionados anteriormente en esta memoria.

Un aglutinante de colágeno, en algunas realizaciones, comprende cualquier tipo de colágeno, que incluye colágenos de Tipo I, Tipo II y Tipo III. En una realización, un aglutinante de colágeno comprende una mezcla de colágenos, tal como una mezcla de colágeno de Tipo I y Tipo II. En otras realizaciones, un aglutinante de colágeno es soluble en condiciones fisiológicas. Se pueden emplear otros tipos de colágeno presentes en los tejidos óseos o musculoesqueléticos. Se pueden usar en la presente invención formas de colágeno recombinantes, sintéticas y naturales.

Una matriz biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones, comprende una pluralidad de partículas de β-TCP adheridas entre sí con un aglutinante de colágeno. En una realización, las partículas de β-TCP adecuadas para la combinación con un aglutinante de colágeno tienen un diámetro promedio que varía desde aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 mm. En otra realización, las partículas de β-TCP adecuadas para la combinación con un aglutinante de colágeno tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 1 mm. En otras realizaciones, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía desde aproximadamente 200 μm a aproximadamente 3 mm o aproximadamente 200 μm a aproximadamente 1 mm, o aproximadamente 1 mm hasta aproximadamente 2 mm. En algunas realizaciones, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 250 μm a aproximadamente 750 μm. Las partículas de β-TCP, en otras realizaciones, tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 400 μm. En una realización adicional, las partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 75 μm a aproximadamente 300 μm. En realizaciones adicionales, partículas de β-TCP tienen un diámetro promedio inferior a aproximadamente 25 μm y, en algunos casos, inferior a aproximadamente 1 mm. Las partículas de β-TCP, en algunas formas de realización, se pueden adherir entre sí mediante el aglutinante de colágeno para producir una matriz biocompatible que tiene una estructura porosa. En algunas realizaciones, una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede comprender poros que tienen diámetros que oscilan desde aproximadamente 1 μm a aproximadamente 1 mm. Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede comprender macroporos que tienen diámetros que varían de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 1 mm, mesoporos que tienen diámetros que varían de aproximadamente 10 μm a 100 μm, y microporos que tienen diámetros inferiores a aproximadamente 10 μm.

Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede tener una porosidad mayor de aproximadamente 25%. En otra realización, la matriz biocompatible puede tener una porosidad mayor que aproximadamente 50%. En una realización adicional, la matriz biocompatible puede tener una porosidad mayor que aproximadamente 90%.

Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP, en algunas realizaciones, puede comprender un aglutinante de colágeno en una cantidad que varía de aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 50 por ciento en peso de la matriz. En otras realizaciones, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad que varía de aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 40 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad que varía de aproximadamente 15 por ciento en peso a aproximadamente 35 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En una realización adicional, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible.

Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno, de acuerdo con algunas realizaciones, puede ser fluida, moldeable y/o extruible. En tales realizaciones, la matriz biocompatible puede estar en forma de una pasta o masilla. Una pasta o masilla se puede moldear en la forma del implante deseado o se puede moldear a los contornos del sitio de implantación. En una realización, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno se puede inyectar en un sitio de implantación con una jeringa o cánula. En una realización adicional, la matriz moldeable, extruible y/o fluida que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno se puede aplicar a anclajes óseos y/o suturas usadas en la fijación de un tendón a un hueso.

En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede retener una forma fluida y moldeable cuando se implanta. En otras realizaciones, la pasta o masilla puede endurecerse después de la implantación, reduciendo de ese modo la fluidez y capacidad de transferencia de la matriz.

Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno, en algunas realizaciones, puede proporcionarse en una forma predeterminada tal como un bloque, esfera o cilindro. Una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede ser reabsorbible. En una realización, una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede ser al

menos un 75% reabsorbido un año después de la implantación *in vivo*. En otra realización, una matriz biocompatible que comprende partículas de β-TCP y un aglutinante de colágeno puede ser reabsorbido en más del 90% un año después de la implantación *in vivo*.

En algunas realizaciones, una solución que comprende PDGF puede disponerse en una matriz biocompatible para producir una composición para el tratamiento de desgarros del manguito rotador.

Disposición de la solución de PDGF en una matriz biocompatible

En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para producir composiciones para uso en el tratamiento de tendones dañados o lesionados, que incluyen los asociados con los manguitos rotadores desgarrados. En una realización, un método para producir tales composiciones para el tratamiento de tendones y/o huesos comprende proporcionar una solución que comprende PDGF, proporcionar una matriz biocompatible y disponer la solución en la matriz biocompatible. Las soluciones de PDGF y las matrices biocompatibles adecuadas para la combinación son consistentes con las descritas anteriormente.

Una solución de PDGF puede disponerse en una matriz biocompatible empapando la matriz biocompatible en la solución de PDGF. Una solución de PDGF, en otra realización, puede disponerse en una matriz biocompatible inyectando la matriz biocompatible con la solución de PDGF. Inyectar una solución de PDGF puede comprender disponer la solución de PDGF en una jeringa y expulsar la solución de PDGF en la matriz biocompatible para saturar la matriz biocompatible.

La matriz biocompatible puede tener una forma predeterminada, tal como un ladrillo o cilindro, antes de recibir una solución de PDGF. Después de recibir una solución de PDGF, la matriz biocompatible puede tener una forma de pasta o masilla que sea fluida, extruible e/o inyectable. En otras realizaciones, la matriz biocompatible ya puede demostrar una forma fluida de pasta o masilla antes de recibir una solución que comprende PDGF.

Composiciones que comprenden adicionalmente agentes biológicamente activos

Las composiciones de la presente invención, de acuerdo con algunas realizaciones, comprenden además uno o más agentes biológicamente activos además de PDGF. Los agentes biológicamente activos que pueden incorporarse en las composiciones de la presente invención, además de PDGF, pueden comprender moléculas orgánicas, materiales inorgánicos, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos (p. ej., genes, fragmentos de genes, ácidos ribonucleicos de inserción pequeña [si-ARNs], secuencias reguladoras de genes, factores transcripcionales nucleares y moléculas antisentido), nucleoproteínas, polisacáridos (p. ej., heparina), glicoproteínas y lipoproteínas. Ejemplos no limitantes de compuestos biológicamente activos que pueden incorporarse en composiciones de la presente invención, que incluyen, por ejemplo, agentes anticancerígenos, antibióticos, analgésicos, agentes antiinflamatorios, inmunosupresores, inhibidores de enzimas, antihistamínicos, hormonas, relajantes musculares, prostaglandinas, factores tróficos, proteínas osteoinductivas, factores de crecimiento y vacunas, se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos con Nº de Serie 11/159.533 (Publicación Nº: 20060084602). Los compuestos biológicamente activos que se pueden incorporar en las composiciones de la presente invención, en algunas realizaciones, incluyen factores osteoinductivos tales como factores de crecimiento similares a la insulina, factores de crecimiento de fibroblastos u otros PDGF. De acuerdo con otras realizaciones, los compuestos biológicamente activos que pueden incorporarse en las composiciones de la presente invención incluyen preferiblemente factores osteoinductores y osteostimuladores tales como proteínas morfogenéticas óseas (BMP), miméticos de BMP, calcitonina, miméticos de calcitonina, estatinas, derivados de estatinas, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento similares a la insulina, factores de diferenciación del crecimiento y/o hormona paratiroidea. Factores adicionales para la incorporación en las composiciones de la presente invención, en algunas realizaciones, incluyen inhibidores de proteasa, así como tratamientos osteoporóticos que disminuyen la resorción ósea incluyendo bisfosfonatos, y anticuerpos contra el ligando NF-kB (RANK).

Los protocolos y regímenes estándar para el suministro de agentes biológicamente activos adicionales son conocidos en la técnica. Se pueden introducir agentes biológicamente activos adicionales en las composiciones de la presente invención en cantidades que permiten el suministro de una dosificación apropiada del agente al tendón dañado y/o al sitio de la unión del tendón. En la mayoría de los casos, las dosis se determinan usando guías conocidas por los profesionales y aplicables al agente particular en cuestión. La cantidad de un agente biológicamente activo adicional que se incluirá en una composición de la presente invención puede depender de variables tales como el tipo y la extensión de la afección, el estado general de salud del paciente particular, la formulación del agente biológicamente activo, la liberación cinética, y la biorresorbilidad de la matriz biocompatible. Se pueden usar ensayos clínicos estándar para optimizar la dosis y la frecuencia de dosificación para cualquier agente biológicamente activo adicional en particular. Una composición para el tratamiento de tendones y/o huesos, según algunas realizaciones, comprende además otros materiales de injerto óseo con PDGF que incluyen médula ósea autóloga, extractos de plaquetas autólogos, aloinjertos, materiales de matriz ósea sintéticos, xenoinjertos y derivados de los mismos.

Métodos para tratar y volver a unir tendones

La presente invención también proporciona composiciones para uso en métodos para la unión o reconexión de tendones al hueso, el fortalecimiento de la unión del tendón al hueso así como el tratamiento de tendones, tales como tendones que muestran desgarro, delaminación o cualquier otra tensión o deformación. En una realización, un método para volver a unir un tendón al hueso comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a al menos un sitio de reinserción del tendón en el hueso. En otra realización, un método para fortalecer la unión de un tendón a un hueso comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a al menos un sitio de unión del tendón al hueso. Los métodos para fortalecer la unión del tendón al hueso, en algunas realizaciones, ayudan a prevenir o inhibir la separación del tendón del hueso, tal como en lesiones del manguito de los rotadores.

La presente invención también proporciona métodos para tratar desgarros del manguito rotador. En una realización, un método para tratar desgarros del manguito de los rotadores comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a al menos un sitio de reinserción del tendón en la cabeza humeral. En algunas realizaciones, la aplicación de la composición a al menos un sitio de reinserción del tendón puede comprender moldear la composición a los contornos del sitio de reagrupamiento en la cabeza humeral. Una composición, por ejemplo, puede moldearse en un canal formado en una superficie de la cabeza humeral para recibir el tendón desprendido. La composición se puede aplicar a la proximidad del sitio de inserción del tendón en el hueso para fortalecer aún más la unión.

En algunas realizaciones, un método para tratar desgarros del manguito rotador comprende además disponer al menos un medio de anclaje, tal como un anclaje óseo en la cabeza humeral, en donde el anclaje óseo comprende además una composición PDGF y acoplar al menos un tendón desprendido al anclaje óseo. En realizaciones de la presente invención, los tendones se pueden fijar a anclajes óseos a través de suturas. Las suturas también pueden empaparse en soluciones de PDGF o recubrirse en composiciones de PDGF antes del uso. Los ejemplos 2-4 describen tres métodos diferentes para tratar desgarros del manguito de los rotadores.

En otra realización, un método para tratar un tendón comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a una superficie de al menos un tendón. En algunas realizaciones, el al menos un tendón es un tendón lesionado o dañado, tal como un tendón que presenta desgarro, delaminación o cualquier otra deformación.

Las soluciones de PDGF y las matrices biocompatibles adecuadas para uso en composiciones, de acuerdo con las realizaciones de los métodos de la presente invención, son consistentes con las proporcionadas anteriormente.

Uso de composiciones que comprenden PDGF

La presente invención proporciona el uso de composiciones de la presente invención para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso, así como el tratamiento de los tendones, incluidos los tendones dañados o lesionados. La presente invención proporciona adicionalmente el uso de composiciones de la presente invención en la preparación de un medicamento útil para la unión de los tendones al hueso, el refuerzo de la unión del tendón al hueso así como el tratamiento de los tendones, incluyendo los tendones dañados o lesionados.

Kits

La presente invención proporciona un kit que comprende una solución que comprende PDGF en un primer recipiente y un segundo recipiente que comprende una matriz biocompatible. En algunas realizaciones, la solución comprende una concentración predeterminada de PDGF. La concentración de PDGF, en algunas realizaciones, puede predeterminarse de acuerdo con la naturaleza del tendón que se está tratando. El kit puede comprender además un material de andamio y el material de andamio puede comprender además un aglutinante biocompatible. Además, la cantidad de matriz biocompatible proporcionada por un kit puede depender de la naturaleza del tendón que se está tratando. La matriz biocompatible que puede incluirse en el kit puede ser un material de andamiaje, un material de andamiaje y un aglutinante biocompatible, y/o aloinjerto óseo tal como DFDBA o partículas de DBM. En una realización, el material de andamio óseo comprende un fosfato de calcio, tal como β-TCP. En otra realización, un material de andamio comprende un parche de colágeno de tipo I como se describe en este documento. Una jeringa, en algunas realizaciones, puede facilitar la disposición de la solución de PDGF en la matriz biocompatible para la aplicación en un sitio quirúrgico, tal como un sitio de unión del tendón al hueso. El kit también puede contener instrucciones de uso.

Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar adicionalmente la presente invención sin, al mismo tiempo, sin embargo, constituir cualquier limitación de la misma. Por el contrario, debe entenderse claramente que puede recurrirse a diversas realizaciones, modificaciones y equivalentes de las mismas que, después de leer la descripción en este documento, pueden sugerirse a los expertos en la técnica sin apartarse del espíritu de la invención.

EJEMPLO 1

Preparación de una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible

Se preparó una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Se obtuvo un bloque previamente pesado de matriz biocompatible que comprende β-TCP y colágeno. El β-TCP comprendía partículas de β-TCP puro que tenían tamaños que varían de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 300 µm. Las partículas de β-TCP se formularon con aproximadamente un 20% en peso de aglutinante de colágeno bovino soluble. Una matriz biocompatible de β-TCP/colágeno se puede obtener comercialmente de Kensey Nash (Exton, Pennsylvania).

Se obtuvo una solución que comprende rhPDGF-BB. rhPDGF-BB está disponible comercialmente en Chiron Corporation a una concentración madre de 10 mg/ml (es decir, lote nº QA2217) en un tampón de acetato de sodio. El rhPDGF-BB es producido en un sistema de expresión de levadura por Chiron Corporation y se deriva de la misma instalación de producción que rhPDGF-BB que se utiliza en los productos REGRANEX, (Johnson & Johnson) y GEM 21S (BioMimetic Therapeutics) que ha sido aprobado para uso humano por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos. Esta rhPDGF-BB también está aprobada para uso humano en la Unión Europea y Canadá. La solución de rhPDGF-BB se diluyó a 0,3 mg/ml en el tampón de acetato. La solución de rhPDGF-BB se puede diluir a cualquier concentración deseada de acuerdo con realizaciones de la presente invención.

Una relación de aproximadamente 91 µl de solución de rhPDGF-BB a aproximadamente 100 mg de peso seco de la matriz biocompatible de β-TCP/colágeno se usó para producir la composición. La solución de rhPDGF-BB se expulsó en la matriz biocompatible con una jeringa, y la composición resultante se mezcló y se moldeó en una hebra delgada para su inserción en una jeringa de tuberculina de 1 cc para su colocación en un sitio de reinserción del tendón.

EJEMPLO 2

Tratamiento de las roturas del manguito rotador con un método de reparación abierta

La reparación abierta se realiza sin artroscopia, y se usa generalmente para lesiones mayores del manguito de los rotadores. De acuerdo con este método de la presente invención, un cirujano realiza una incisión de dos a tres pulgadas sobre el hombro y separa el músculo deltoides del acromion anterior para acceder y mejorar la visualización del manguito rotador desgarrado. El músculo deltoides solo debe separarse en la medida necesaria para obtener suficiente acceso a la lesión del manguito rotador. Después del procedimiento de reparación del manguito rotador, el deltoides se repara con suturas para cerrar la división longitudinal del músculo.

A continuación, el cirujano identifica el extremo desprendido del tendón afectado (infraespinoso, supraespinoso, redondo menor y/o subescapular) y el muñón del tendón restante se corta o extrae de la cabeza del húmero preferiblemente con una escofina, pinza, bisturí o fresa de alta velocidad y/o afeitadora. El cirujano puede realizar una acromioplastia (eliminación de espolones óseos de la superficie inferior del acromion) y eliminar cualquier tejido cicatricial acumulado en el tendón. Después del desbridamiento, se erosiona el hueso cortical de la cabeza del húmero para producir hueso sangrante y proporcionar acceso a las células madre mesenquimatosas de la médula ósea que migran. De acuerdo con una realización del método de la presente invención, el hueso cortical se elimina para formar un pequeño canal en la cabeza humeral que corresponde en forma y tamaño a la huella de fijación del tendón original. Preferiblemente, el canal se forma adyacente al cartílago articular de la articulación del hombro.

Antes de volver a colocar el tendón, el cirujano puede perforar pequeños agujeros dentro del canal a través del hueso. Estos orificios se pueden usar para fijar anclajes óseos (preferiblemente tornillos de anclaje óseo). Los anclajes óseos se pueden formar a partir de cualquier material biocompatible, y están hechos preferiblemente de un metal biocompatible o una composición reabsorbible. De acuerdo con una realización de la invención, los tornillos de anclaje óseo están fijados en una disposición de doble hilera. Los anclajes se convierten en un punto de unión utilizado para fijar suturas a la cabeza del húmero.

Primero se taladra un orificio piloto antes de la inserción de los anclajes. A continuación, se coloca una composición de PDGF de acuerdo con la presente invención en el orificio piloto antes de la inserción del anclaje. En una realización, las formas inyectables de la composición de PDGF de la presente invención se inyectan en los orificios piloto.

Como se muestra en la figura 1, en una realización alternativa, se utiliza un anclaje 10 canulada autoperforante autorroscante sin el uso de un orificio piloto inicial. El anclaje 10 incluye un puerto de acceso a aguja 12 o cerca de su extremo proximal 14, un canal central 16 que se extiende a lo largo del eje de anclaje 10 y uno o más puertos de salida, incluyendo puertos de salida radiales 18 a lo largo del eje de anclaje 10, y/o un orificio de salida distal 20 situado cerca del extremo distal 22 del anclaje 10. En una realización, el anclaje 10 se taladra en el canal. Preferiblemente, se usa una pluralidad de anclajes 10. Una vez insertada en la cabeza humeral, se inserta una aguja

en el puerto 12 de acceso de la aguja del anclaje 10, y se inyecta una composición de PDGF de la presente invención en el canal central 16. Se inyecta una cantidad suficiente de composición de PDGF en el anclaje de modo que la composición de PDGF llena el canal central 16 y fluye desde los orificios de salida radiales 18 y/o el orificio de salida distal 20 y hacia el hueso circundante. Se puede usar cualquier cantidad o concentración efectiva de composición de PDGF. En una realización, se inyecta aproximadamente 0,1 a 1,0 cc de una composición que tiene aproximadamente 0,3 a 1 mg/ml de PDGF en cada anclaje o agujero piloto.

De acuerdo con una realización de la presente invención, los puertos de salida incluidos en el anclaje 10 pueden ser de diámetro variable con el fin de regular la velocidad a la que el PDGF migra al hueso circundante. Además, la velocidad de liberación de PDGF dentro del hueso circundante se regula utilizando diferentes formulaciones de PDGF en los diversos anclajes insertados en el canal. Por ejemplo, la velocidad de liberación de PDGF se prolonga usando composiciones más viscosas en ciertos anclajes, o usando composiciones de PDGF que comprenden una matriz con características de liberación de PDGF extendidas.

Alternativamente, los orificios perforados se usan para fijar suturas directamente a la cabeza del húmero sin el uso de anclajes óseos.

De acuerdo con la siguiente etapa del método de la presente invención, se aplica una composición de PDGF para cubrir sustancialmente el canal. La composición de PDGF utilizada para cubrir el canal está en forma de solución, masilla o gel, como se describe anteriormente en la presente memoria. Alternativamente, la composición de PDGF está en forma de almohadilla. La almohadilla puede estar compuesta de un sustrato que está hidratado con una solución de PDGF. El sustrato está hecho de colágeno fibroso tipo I, hidrogel de colágeno, ácido hialurónico reticulado, submucosa del intestino delgado porcino (SIS), ácido poliláctico/ácido poliglicólico o celulosa.

Después de cubrir el canal con la composición de PDGF, el extremo proximal del tendón se coloca entonces sobre la composición de PDGF y dentro del canal. El tendón se asegura en su lugar mediante el uso de suturas que pasan a través del tendón, la composición del PDGF y hacia el hueso o a través de los ojales de los anclajes óseos. Puede usarse cualquiera de las diversas técnicas estándar de sutura conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, Mason Allen, colchón, sutura simple).

De acuerdo con una realización, las suturas también se impregnan con una solución de PDGF antes del uso. Las suturas pueden empaparse o saturarse con una composición de PDGF. Se puede usar cualquier cantidad o concentración efectiva de composición de PDGF. En una realización, se puede usar PDGF a concentraciones de 0,1, 0,3 o 1,0 mg/ml para humedecer la sutura antes del uso. Además, la sutura se puede tratar con glicerol, gelatina o cera de parafina para ralentizar la liberación de PDGF de una manera consistente con el proceso de curación de la herida.

La composición de PDGF puede aplicarse adyacente y/o sobre el tendón para aumentar la cicatrización de los márgenes del tendón/hueso. Esta composición de PDGF puede estar en forma de una solución, masilla, gel o almohadilla, y puede asegurarse en su posición con las mismas suturas utilizadas para asegurar el tendón.

Después de la implantación de la composición de PDGF y la sutura del manguito de los rotadores, todos los músculos disecados se suturan, se repara la fascia suprayacente y, finalmente, se cierra la piel del paciente con suturas o grapas.

EJEMPLO 3

Tratamiento de las roturas del manguito de los rotadores con un método de reparación mini abierto

Un procedimiento de reparación del manguito rotador mini-abierto implica el uso de una técnica artroscópica para una parte del proceso, junto con una técnica abierta limitada que normalmente se realiza a través de una incisión de 3 cm a 5 cm. Esta técnica también incorpora una artroscopia para visualizar el desgarro, evaluar y tratar el daño a otras estructuras dentro de la articulación (es decir, labral y eliminar las espuelas debajo del acromion). La eliminación artroscópica de espuelas (acromioplastia) evita la necesidad de separar el músculo deltoides. A partir de entonces, se puede realizar una descompresión artroscópica. La descompresión puede ser seguida por una liberación y movilización de los tendones y la colocación de suturas de marcado. Estos pasos pueden realizarse de forma artroscópica o abierta. Los pasos finales se realizan en un procedimiento abierto, pero a través de la apertura más pequeña. En particular, se realiza una pequeña división deltoidea lateral para colocar suturas que sujetan los tendones en el manguito previamente movilizado y para fijar el manguito al hueso usando anclajes de sutura o suturas transóseas.

Un método de reparación mini abierto de la presente descripción comprende los siguientes pasos.

El paciente está preparado de acuerdo con técnicas estándar para el posicionamiento y marcado del paciente. El artroscopio se coloca en la articulación glenohumeral a través del portal posterior y se realiza una evaluación minuciosa de la articulación. La rotura del manguito rotador se identifica y se crea un portal lateral.

La movilización del manguito rotador comienza con una liberación intraarticular. Se utiliza un dispositivo de electrocauterio en gancho para liberar el manguito del rodete glenoideo. Esto permite la movilización de todo el manguito si es necesario (anterior a posterior). Una vez que se ha realizado la liberación intraarticular, el artroscopio se dirige al espacio subacromial.

Se realiza una bursectomía subacromial artroscópica. La tuberosidad (área de inserción del manguito de los rotadores) se decortica. En algunas aplicaciones, la tuberosidad puede decorticarse ligeramente sin que se cree un canal formal. Se usa una máquina de afeitar para desbridar cualquiera de los bordes rasgados del puño que parece no ser viable o atenuado. Las suturas de suspensión se colocan en el borde de la rotura del manguito aproximadamente a 1 cm de distancia. Las suturas de suspensión pueden pretratarse con una composición de PDGF de la manera descrita anteriormente en el Ejemplo 2. Se realizan liberaciones adicionales del manguito de la cavidad glenoide según sea necesario.

El enfoque mini abierto se inicia luego con una incisión lateral horizontal (3-4 cm de largo) que se realiza sobre el borde lateral del acromion. Las fibras musculares deltoides se dividen para exponer la rotura del manguito rotador.

Si la rasgadura es pequeña y se moviliza fácilmente, se colocan suturas a través del borde de la rotura del manguito que luego se repara utilizando anclajes de sutura colocados en la cara superolateral de la tuberosidad mayor. Para desgarros grandes bajo cierta tensión, se colocan suturas intratendinosas especiales a través del manguito y éstas se reparan utilizando los anclajes de sutura colocados en la tuberosidad superior superolateral. Antes de asegurar el manguito, se coloca una composición de PDGF entre el tendón y la cabeza humeral de la misma manera que la descrita anteriormente con respecto a los procedimientos abiertos. Además, las suturas utilizadas para asegurar el tendón pueden pretratarse con PDGF de una manera similar a la descrita anteriormente. Los anclajes de sutura pueden ser del tipo descrito anteriormente e ilustrados en la Figura 1. Se puede inyectar una composición de PDGF en los anclajes de sutura o en los orificios de anclaje de sutura como se describió anteriormente. La cirugía se completa de acuerdo con técnicas de cierre conocidas. Esta reparación abierta asistida artroscópicamente tiene limitaciones cuando se trata de reparaciones grandes o masivas del manguito de los rotadores. Las liberaciones quirúrgicas necesarias pueden ser difíciles, si no imposibles, de realizarse a través de una pequeña división trans-deltoidea. Cuando se compara con la reparación artroscópica completa, la reparación mínima abierta proporciona una fijación hueso a tendón más segura ya que se pueden usar suturas de sujeción de tendón.

EJEMPLO 4

Tratamiento de las roturas del manguito rotador con un método de reparación totalmente artroscópico

Esta técnica utiliza múltiples incisiones pequeñas (portales) y tecnología artroscópica para visualizar y reparar el manguito rotador. Además, de acuerdo con la presente invención, esta técnica utiliza composiciones de PDGF encapsuladas pequeñas o inyectables que son capaces de insertarse a través de una incisión en forma de ojo de cerradura o una cánula, de modo que son susceptibles de uso con técnicas artroscópicas.

Un método de reparación artroscópica de la presente invención comprende los siguientes pasos. El paciente está preparado de acuerdo con las técnicas estándar para el posicionamiento, la evaluación y el marcado del paciente. Se hacen una o dos incisiones muy pequeñas (1 cm) o "portales", preferiblemente una en la parte delantera y otra detrás de la articulación del hombro.

A través de estos pequeños portales, se colocan instrumentos huecos llamados cánulas que irrigan el interior de la articulación del hombro con solución salina estéril e inflan la articulación con líquido transparente. Las cánulas permiten la colocación de una cámara artroscópica e instrumentos especialmente diseñados dentro de la articulación del hombro. El cirujano inserta una cámara en la articulación y maniobra la cámara alrededor de la articulación para realizar una artroscopia de diagnóstico.

En los casos más comunes, la artroscopia diagnóstica revela que el tendón del supraespinoso es desgarrado o ligeramente retirado de su inserción normal en la tuberosidad mayor del húmero. Estos desgarros más pequeños, que no se retraen o se retraen mínimamente, solo se deben arreciar o desbridar de nuevo a tejido del tendón sano y estable, luego se movilizan de vuelta a la tuberosidad y se fijan en su lugar. El cirujano utiliza anclajes de sutura para mantener la rasgadura en posición mientras cicatriza. Al igual que con los anclajes utilizados en los procedimientos descritos en el Ejemplo 2, estos anclajes pueden estar hechos de metal o compuestos absorbibles. Además, los anclajes se atornillan o presionan en el hueso del sitio de fijación y las suturas adjuntas se utilizan para unir el borde del manguito de los rotadores en su lugar. Antes de asegurar el tendón, se coloca una composición de PDGF protegida entre el tendón y la cabeza humeral. El material se puede colocar en los orificios de anclaje del hueso, así como a través de la superficie decorticada de la cabeza del húmero. En el caso de que la cabeza humeral no se prepare por decorticación, la composición de PDGF se coloca contra el hueso cortical de la cabeza humeral, y el tendón se sutura en su lugar de manera estándar. Las suturas utilizadas para asegurar el tendón se pueden impregnar con PDGF de una manera similar a la descrita anteriormente. Los anclajes de sutura pueden ser del tipo descrito anteriormente y se ilustran en la Figura 1. Se puede inyectar una composición de PDGF inyectable en los anclajes de sutura insertando una aguja a través de una de las cánulas.

A medida que los desgarros se vuelven más grandes, se deforman y el tejido del tendón se contrae. Por lo tanto, los desgarros más grandes deben remodelarse, repararse de lado a lado o cerrarse utilizando una técnica llamada convergencia de márgenes. Esta técnica es análoga a cerrar con cremallera una solapa de tienda abierta. El tejido del manguito de los rotadores se libera de una posición cicatrizada y retraída. A continuación, se inserta una composición de PDGF protegida a través de una de las cánulas o directamente a través de una incisión. La composición de PDGF protegida comprende una composición de PDGF como se describió anteriormente en la presente encapsulada o asociada de otro modo con una membrana diseñada para proteger la composición de PDGF del entorno de fluido artroscópico del sitio quirúrgico (Figura 3). El PDGF se puede liberar en el sitio de tratamiento usando una variedad de técnicas para proteger la proteína durante la colocación inicial para evitar la pérdida rápida del sitio debido al uso de grandes volúmenes de fluidos asociados con el procedimiento quirúrgico. En una realización, una membrana muestra una carga intrínseca que promueve interacciones iónicas operables para liberar el PDGF en respuesta a las condiciones iónicas cambiantes en el sitio de tratamiento o reinserción. En otra realización, una membrana forma una interacción covalente con el PDGF que es reversible mediante hidrólisis o digestión enzimática para liberar el PDGF en el sitio de reatatamiento o tratamiento. Las membranas para proteger PDGF, en algunas realizaciones, comprenden colágeno, polisacáridos, ácidos nucleicos, carbohidratos, proteínas, polipéptidos, poli(α-hidroxiácidos), poli(lactonas), poli(aminoácidos), poli(anhídridos), poli(ortoésteres), poli(anhídrido-co-imidas), poli(ortocarbonatos), poli(α-hidroxi alcanoatos), poli(dioxanonas), poli(fosfoésteres), poli(ácido láctico), poli(L-láctido) (PLLA), poli(D), L-lactida) (PDLLA), poliglicolida (PGA), poli(lactida-co-glicolida (PLGA), poli(L-lactida-co-D, L-láctida), poli(D,L-lactida-co-carbonato de trimetileno), ácido poliglicólico, polihidroxibutirato (PHB), poli(ε-caprolactona), poli(δ-valerolactona), poli(γ-butirolactona), poli(caprolactona), ácido poliacrílico, ácido policarboxílico, poli(hidrocloruro de alilamina), poli(cloruro de dialildimetilamonio), poli(etilenimina), fumarato de polipropileno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, polietileno, polimetilmetacrilato, fibras de carbono, poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), poli(vi) alcohol de níquel), poli(vinilpirrolidona), poli(etiloxazolina), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno) copolímeros de bloque, poli(tereftalato de etileno) poliamida, y copolímeros y mezclas de los mismos. Adicionalmente, el PDGF puede incluirse en materiales cerámicos tales como fosfato tricálcico, hidroxiapatita, sulfatos de calcio o variaciones de los mismos. Además, las bombas osmóticas pueden usarse para proporcionar una liberación protegida de la proteína.

La composición de PDGF protegida se coloca luego sobre el desgarro y se sutura en su sitio usando las mismas suturas para realizar la reparación de lado a lado del desgarro, y restaurar así el tejido sobre la parte superior de la cabeza humeral. A continuación se inserta una segunda composición protegida de PDGF de la misma manera que la primera composición de PDGF. La segunda composición protegida de PDGF se coloca entre la cabeza humeral y el tejido del manguito reparado. A continuación, el tejido del manguito reparado se fija al sitio donde originalmente se separó, preferiblemente con anclajes de sutura. Las suturas se cosen luego a través de la segunda composición de PDGF protegida y el borde desgarrado del manguito para completar la reparación.

Al finalizar el procedimiento, cualquier incisión se cierra usando suturas absorbibles o removibles. El hombro del paciente se coloca en un cabestrillo postoperatorio para proteger el hombro durante el período postoperatorio temprano.

Los anclajes de sutura absorbibles o los implantes se absorben gradualmente y las suturas adheridas se incorporan a los tejidos de cicatrización. Cuando se utilizan anclajes metálicos (una cuestión de preferencia del cirujano), estos se entierran en el hueso y no afectan la integridad del hueso o la articulación del hombro.

EJEMPLO 5

Tratamiento de las lesiones del manguito rotador con composiciones de β-TCP/PDGF

Este estudio evaluó la eficacia de las composiciones que comprenden una solución de rhPDGF-BB combinada con una matriz biocompatible que comprende β-fosfato tricálcico y colágeno tipo I para el tratamiento y/o reparación de lesiones del manguito rotador.

Diseño de estudio

Se usaron nueve (9) ovejas hembra adultas en el presente estudio. A seis de los animales se les administró una composición de prueba que comprende una solución de rhPDGF-BB de 0,3 mg/ml combinada con una matriz biocompatible que comprende fosfato de β-tricalcio y colágeno de tipo I. Como se proporciona en este documento, se prepararon soluciones de rhPDGF-BB de 0,3 mg/ml diluyendo soluciones de rhPDGF-BB de reserva con 20 mM de tampón de acetato de sodio. El β-TCP estaba en forma de partículas, teniendo las partículas un diámetro promedio que variaba desde aproximadamente 75 µm a aproximadamente 300 µm. Además, el colágeno de tipo I estaba presente en una cantidad de aproximadamente 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible. A los tres animales restantes se les administró una composición de control que comprendía 20 mM de solución de tampón de acetato de sodio combinado con una matriz biocompatible que comprendía β-fosfato tricálcico y colágeno de tipo I.
Como parte del estudio, los animales pasaron por un período (dos semanas) de desprendimiento de tendón del húmero, lo que permitió que se iniciaran cambios degenerativos en el tendón del infraespinoso. Los cambios degenerativos fueron similares a los observados clínicamente en las lesiones del manguito de los rotadores.

Después de dos semanas, los animales se sometieron a un procedimiento de reinserción del tendón en el que el tendón del infraespinoso se volvió a unir al húmero. Como se proporciona aquí, seis de los animales recibieron la composición de prueba en el sitio de la unión del tendón y los tres animales restantes recibieron la composición de control en el sitio de la unión del tendón. A todos los animales se les permitió sanar durante seis semanas. En el punto de seis semanas, todos los animales fueron fotografiados con MRI. Después de la formación de imágenes, todos los animales se sacrificaron humanamente y se realizó un análisis biomecánico en tres de los animales que recibieron la composición de prueba y tres de los animales que recibieron la composición de control.

Protocolo quirúrgico

Se determinó que todos los animales eran negativos a la fiebre Q antes de ser incluidos en este estudio. Se retuvo la comida de cada animal 24 a 48 horas antes de los procedimientos y se retiró el agua la mañana de la cirugía. A cada animal se le realizó una evaluación general de la salud (sujeta a la observación visual de la actitud, actividad y facilidad de respiración, libertad para la diarrea y secreción nasal) antes de colocarse en el estudio. La infección respiratoria, las elevaciones de temperatura, la depresión observada, la cojera o la anormalidad anatómica provocaron el rechazo de un animal individual del procedimiento quirúrgico. Cada animal fue pesado dentro de los 7 días previos al procedimiento. Se recolectó sangre para un CBC y perfil de química dentro de los 7 días de la cirugía. Doce animales fueron examinados y todos fueron candidatos aceptables para cirugía.

Maleato de acepromazina 0,075 mg/kg y Buprenorfina 0,005-0.01 mg/kg se administraron im antes de la inducción anestésica. Se administró una inyección intravenosa que consiste en diazepam 0,22 mg/kg y ketamina 10 mg/kg para la inducción de anestesia general. Se colocó un tubo endotraqueal con manguito y se mantuvo la anestesia general con isoflurano 0,5-5% administrado en oxígeno a través de un sistema de reinhalación. Cada animal fue colocado en un ventilador para ayudar a la respiración. Se colocó un catéter en una vena periférica de la oreja de cada animal. Se colocó un tubo estomacal si ocurría regurgitación.

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron utilizando técnicas asépticas de rutina. La preparación preoperatoria se realizó en la sala de preparación de animales adyacente a la sala de operaciones. El hombro apropiado y las áreas circundantes de cada animal se prepararon cortando el área. Cada animal fue trasladado a la sala de operaciones y el área se limpió con exfoliante de clorhexidina alternando con alcohol isopropílico al 70% tres veces y se pintó con solución de yodo. Cada animal fue cubierto para una cirugía estéril. La solución de lactato de Ringer (LRS) se infundió por vía intravenosa a una velocidad de aproximadamente 10-20 ml/kg/hora durante la cirugía. Se administraron 1-2 gramos de cefazolina por vía intravenosa antes de la incisión inicial, y se colocaron 0,5 g de cefazolina en la solución de lavado para cada cirugía.

A. Procedimiento quirúrgico del desprendimiento de tendón

Se realizó una incisión curva de 15 cm sobre la cara posterolateral de la articulación del hombro. La incisión se profundizó y se identificó la porción acromial del músculo deltoides. El músculo se elevó en su borde craneal para exponer la inserción tendinosa del músculo infraespinoso y su inserción en la parte proximal del hueso del húmero. El tendón del infraespinoso se desprendió bruscamente de su inserción en el húmero proximal. El tendón se envolvió luego en una lámina de 5 cm x 3 cm de PRECLUDE® (W.L. Gore & Associates, Newark, DE). Esto permitió la difusión de nutrientes al tendón, pero inhibe la cicatrización del tendón a los tejidos circundantes. La incisión se cerró de manera estándar. Se fijó una pelota blanda de 10 cm de diámetro en el casco de la extremidad asociada con la operación para inhibir la carga de peso durante 7 semanas después de la operación. Cefazolina 1g se administró por vía intravenosa. Se colocó 100 µg de parche fenanílico en cada animal.

B. Procedimiento quirúrgico de reanudación del tendón

Dos semanas después de la cirugía inicial, cada animal recibió un segundo procedimiento para reparar el hombro que se sometió a desprendimiento de tendón. Se utilizó el mismo abordaje quirúrgico que en la primera cirugía.

En todos los animales, se observó un grado moderado de retracción del tendón, así como adherencias al tendón y al vientre muscular, excepto en la región protegida por PRECLUDE. Estas adherencias se disecaron, liberando el músculo antes de volverlo a unir en cada animal. En preparación para la inserción de anclajes óseos, la superficie de la tuberosidad mayor fue decorticada con una gubia ósea para crear una superficie ósea sangrante y proporcionar acceso a la migración de células madre mesenquimales. Al mismo tiempo, se creó un taladro de 4 mm, de aproximadamente 10 mm de profundidad, dentro del área decorticada para proporcionar un depósito para el material de prueba o control. Dos anclajes de sutura autorroscantes (15 mm de longitud por 5 mm de ancho) se atornillaron luego en el hueso y en cada lado del orificio de perforación, y se colocaron aproximadamente a 12 mm de separación. Después de la inserción de los anclajes, el tendón se desenvolvió y movilizó mediante disección roma. El tendón fue agarrado con nº 2 ETHIBOND® (Johnson and Johnson) sutura trenzada de poliéster en una técnica modificada de Mason-Allen.

Antes de la cirugía de reagrupamiento, las soluciones madre de PDGF-BB (1,0 mg/mL, 5 mL en total) (lote nº AAI-0022006-5A) se diluyeron 1:3 en 20 mM de tampón de acetato (pH 6,0) hasta una concentración final de

aproximadamente 0,3 mg/mL. Las cantidades residuales de las soluciones diluidas de PDGF-BB se analizaron por espectrofotometría UV para confirmar la concentración de la solución final como se proporciona en la Tabla 1.

Tabla 1 - Soluciones madre y diluidas de PDGF

	Tubo PDGF	**OD**	**Tubo madre**	**Concentración final (no diluida) (0,53 coeficiente de extinción)**
Diluciones de muestra PDGF-BB final	A	0,125	BMIG9	0.235849057
	B	0,188	BMIG10	0.354716981
	C	0,207	BMIG11	0.390566038
	D	0,187	BMIG12	0.352830189
	E	0,173	BMIG13	0.326415094
	F	0,181	BMIG15	0.341509434
	G	0	Tampón de acetato	0
	H	0	Tampón de acetato	0
	I	0	Salina**	0
Soluciones madre PDGF-BB	BMIG9	0,57	N/A	1.075471698
	BMIG10	0,515	N/A	0.971698113
	BMIG11	0,478	N/A	0.901886792
	BMIG12	0,5	N/A	0.943396226
	BMIG13	0,523	N/A	0.986792453
	BMIG15	0,508	N/A	0.958490566

* Ecuación para determinar la concentración de proteína (factor de dilución OD*)/0,53 = Concentración final (mg/mL)
** Se usó solución salina para hidratar la matriz de colágeno β-TCP/tipo I debido a la escasez de tampón de acetato

Cada animal recibió aproximadamente 1 cc de una matriz de colágeno de β-TCP/tipo I hidratada con 20 mM de solución de tampón de acetato de sodio (pH 6,0) o 0,3 mg/ml de solución de rhPDGF-BB. Para cada animal, se abrió un stock nuevo de tampón de acetato o solución madre de rhPDGF-BB y se diluyó para producir la solución hidratante. Las soluciones de hidratación AI utilizadas en la preparación de composiciones para el tratamiento de los nueve animales en el estudio se proporcionan en la Tabla 1. Además, la Tabla 2 proporciona la asignación de cada una de las soluciones hidratantes (AI) a los animales en el estudio.

Tabla 2 - Programa de asignación de control y composiciones de prueba

Animal	Solución hidratante	Dosis aplicada de composición de prueba o control
G2437	G	1 cc
G1636	A	1 cc
G1637	E	1 cc
G1627	F	1 cc
G2923	H	1,5 cc
G2054	I	1 cc
G2051	D	1 cc
G1647	C	1 cc
G2922	B	1 cc

Usando una técnica aséptica, un ladrillo de colágeno de 1 cc β-TCP/tipo I se hidrató (proporción 1:3, β-TCP/colágeno tipo I: solución de PDGF) en una solución estéril con 3 cc de solución de rhPDGF-BB o tampón de acetato. En el caso de la solución hidratante "I", estaba disponible un volumen insuficiente de tampón de acetato, y el tampón de acetato se sustituyó por solución salina estéril. El material se mezcló con una espátula de acero inoxidable estéril durante aproximadamente 1 minuto hasta que se logró una consistencia homogénea. Luego se usó la espátula para cargar un cilindro de jeringa de 3 cc con la mayor cantidad posible de material de prueba o control, insertar el émbolo y anotar el volumen graduado.

Aproximadamente 1 cc de la composición de prueba o control se aplicó a través de la huella del tendón óseo y dentro del orificio de perforación creado entre los anclajes con una jeringa de 3 cc. Debido al desgaste muscular y de los tendones, y la retracción, se requirió una cantidad moderada de fuerza para reaproximar el tendón anteriormente con su huella. El tendón se ató entonces permanentemente al ancla que descansaba en el lecho del hueso sangrante y la composición de prueba. Para todos los animales, el proceso de sutura del tendón en su lugar causó el desplazamiento de aproximadamente 300 uL de la composición de prueba o control en el espacio adyacente al tendón. La herida se cerró entonces de forma estándar, y se administró Cefazolina Ig iv junto con un parche dérmico de 100 g de fentanilo colocado en cada animal.

C. Cuidado postoperatorio

Los animales fueron devueltos a la sala pre/postoperatoria donde se continuó con la monitorización postoperatoria. En este entorno, los animales fueron monitorizados durante la recuperación anestésica por alteraciones fisiológicas que incluyen depresión cardiovascular/respiratoria, hipotermia y hemorragia excesiva del sitio quirúrgico. Se proporcionó calor suplementario según sea necesario. Los tubos endotraqueal y estomacal se retiraron después de que los animales recuperaron el reflejo de deglución y respiraban solos. Se administraron im 1 gramo de cefazolina y 0,005-0,01 mg/kg de buprenorfina una vez de modo postoperatorio como el último tratamiento del día. Se administró analgésico adicional cuando un veterinario del personal lo consideró necesario. El control postoperatorio a largo plazo incluyó la inspección de los sitios quirúrgicos y el retorno a la función y actitud fisiológica normal. Cada animal recibió inyecciones im de antibióticos una vez al día durante 3 días (Naxcel). Cada animal fue monitoreado y puntuado para el dolor diariamente durante al menos 5 días. La evaluación del dolor fue según la evaluación del dolor en ovejas y cabras después de la cirugía ortopédica. La temperatura corporal, el pulso y la respiración se registraron para cada animal los días 1-3. Las evaluaciones generales de salud se realizaron diariamente durante al menos 14 días. Después de ese tiempo, se controló la salud animal y se notaron cambios en el estado de salud. Se siguieron los mismos procedimientos previos y posteriores a la operación para ambas cirugías. El softbol/yesos se cambiaron una vez durante la duración del estudio a las cuatro semanas después de la primera cirugía. Siete semanas después de la cirugía inicial (cinco semanas después de la segunda), se retiró el sóftbol del miembro operatorio y se permitió que los animales se movieran completamente de la pierna.

Imágenes por Resonancia Magnética

Antes del procedimiento terminal, todos los animales fueron fotografiados con sistema de imagen GE Healthcare Sigma Hdx 1.5T MR en el hombro operado. En ambas orientaciones axial y coronal, los animales fueron escaneados primero usando un protocolo ponderado T1, y segundo un protocolo suprimido de grasa T2. La Tabla 3 proporciona la orientación y el protocolo de imagen para cada animal.

Tabla 3 - Orientación y protocolo de imágenes

Orientación	**Protocolo**
T1 Axial	FSE-XL, 16 FoV, espesor de rebanada de 3mm, hueco de rebanada de 0,5 mm, 256 x 192 x 2512 matriz, 2 Nex, 8,8 TE, 600TR
STIR Axial	FSE-XL, 16 FoV, espesor de rebanada de 3mm, hueco de rebanada de 0,5 mm, 256 x 192 x 2512 matriz, 3 Nex, 60 TE, 4500 TR, 150 IR
T1 Coronal	FSE-XL, 16 FoV, espesor de rebanada de 3mm, 0,5 mm hueco de rebanada, 256 x 192 x 2512 matriz, 2 Nex, 8,8 TE, 600TR
STIR Coronal	FSE-XL, 16 FoV, espesor de rebanada de 3mm, hueco de rebanada de 0,5 mm, 256 x 192 x 2512 matriz, 3 Nex, 60 TE, 4500 TR, 150 IR

Según lo determinado por análisis independientes por dos radiólogos certificados cegados a los grupos de tratamiento, los animales tratados con la composición de prueba que comprende una solución de rhPDGF-BB combinada con una matriz de colágeno β-TCP/tipo I demostraron una curación superior del tendón infraespinoso en comparación con animales tratados con la composición de control.

Después de la obtención de imágenes, todos los animales se sacrificaron humanamente mediante inyección en bolo de pentobarbital (Euthansol B) 100-200 mg/kg. Se realizó necropsia y recolección de tejido en cada animal sacrificado para el análisis biomecánico e histológico. Pruebas biomecánicas

Después del sacrificio, los hombros tratados y contralaterales de todos los animales fueron disecados para realizar pruebas biomecánicas. Todos los hombros disecados fueron envueltos primero en gasa empapada con solución salina, colocada en bolsas de plástico individuales, de identificación única y congeladas a -80ºC hasta el momento para la prueba. Durante la prueba, los hombros contralaterales se usaron para normalizar la variabilidad animal a animal. La prueba se realizó usando un aparato de prueba biomecánico número de modelo 150kN de Instron de Norwood, Massachusetts, en el cual el tendón libre se fijó con una pinza criogénica. La cabeza humeral se fijó por medio de un perno intramedular que pasaba a través de la cabeza humeral en una disposición de dispositivo de horquilla. El tendón y el húmero se distrajeron a una velocidad de 4 mm/s hasta que se logró la separación completa

del tendón y el húmero. La fuerza se registró en incrementos de 0,02 segundos. El modo de falla también fue registrado. La Tabla 4 resume los resultados de las pruebas biomecánicas para cada animal en el estudio.

Tabla 4 - Resumen de resultados de pruebas biomecánicas

Muestra	**Tratamiento**	**Nombre de archivo**	**Carga máxima (N)**	**Modo de falla**	**Fuerza media a falla (N)**
Control contralateral	G2051R	Pu1101d	1313	Avulsión	1269
Control contralateral	G1627R	Pu1102	1108	Avulsión	
Control contralateral	G2054r	Pull05a	694	Desgarro de tendón	
Control contralateral	G1636L	Pull08	1503	Rotura de hueso	
Control contralateral	G2437L	Pu1109	1069	Avulsión	
Control contralateral	G2923R	Pu1112	1929	Rotura de hueso	
Matriz	G2437L	Pull04	367	Desgarro de tendón	543
Matriz	G2923L	Pull10	625	Desgarro de tendón	
Matriz	G2437R	Pull11	636	Desgarro de tendón	
PDGF	G1627L	Pu1103	1179	Avulsión	994
PDGF	G1636R	Pull06	960	Avulsión	
PDGF	G2051L	Pull07	845	Avulsión	

Al aplicar una prueba t a los datos anteriores para comparar el control de la composición frente a los hombros tratados con la composición de prueba, un aumento estadísticamente significativo (p = 0,028) en la carga hasta el fallo se observó entre los animales tratados con la composición de ensayo que comprende rhPDGF-BB. La Tabla 5 proporciona un resumen del análisis estadístico.

Tabla 5 - Resumen del análisis estadístico

Prueba de normalidad:	Aprobada (P = 0,648)				
Prueba de varianza igual:	Aprobada (P = 0,837)				
Nombre de grupo	**N**	**Falta**	**Media**	**Des. Est.**	**SEM**
Matriz	3	0	550,000	152,069	87,797
PDGF	3	0	994,000	169,237	97,709

T = -3.380 con 4 grados de libertad. (P = 0,028)

El aumento de la carga hasta el fallo en los hombros tratados con la composición de prueba indicó que la composición de prueba que comprende PDGF proporcionó un reacoplamiento del tendón más fuerte al hueso en comparación con la composición de control.
Además, todos los tendones tratados con la composición de prueba exhibieron un fallo en la inserción del tendón por avulsión en el hueso, mientras que los tendones tratados con las composiciones de control fallaron en la mitad de la sustancia del tendón a través del desgarro y la deslaminación. Esta diferencia en el modo de falla sugiere que la aplicación de rhPDGF-BB aumenta la resistencia a la tracción y la madurez del tendón, lo que no ocurre en el grupo de control, lo que provoca la avulsión del sitio de inserción.

EJEMPLO 6

Tratamiento de lesiones del manguito rotador con composiciones de fosfato β-tricálcico/PDGF

Este estudio evaluó la eficacia de una composición que comprende una solución de rhPDGF-BB combinada con una matriz de colágeno bovino de tipo I biocompatible para el tratamiento y/o la reparación de las lesiones del manguito de los rotadores.

Diseño experimental

Las ovejas se seleccionaron como un modelo animal apropiado para el presente estudio. Las fuerzas biomecánicas medidas en el manguito rotador de las ovejas se aproximan a las que ocurren en el hombro humano. Los animales y el protocolo utilizados en este estudio son el estándar de referencia actual para evaluar la reparación del manguito rotador.
Se estudiaron un total de cuarenta (40) animales. Todos los animales fueron femeninos y esqueléticamente maduros según lo determinado por radiografía de película simple para asegurar el cierre de la physis. Los 40 animales se dividieron en 5 grupos de tratamiento como se proporciona en la Tabla 6 a continuación. Todos los animales fueron asignados aleatoriamente a los grupos de tratamiento.

Tabla 6 - Resumen de grupos de tratamiento de animales

	Grupo de tratamiento	Animales (n)	rhPDGF-BB	Imágenes	Punto final
1	Sutura	8	0	IRM	Biomecánica
2	Matriz + Tampón	8	0	IRM	Biomecánica
3	Matriz + Dosis I	8	0,3 mg/mL	IRM	Biomecánica
4	Matriz + Dosis II	8	1,0 mg/mL	IRM	Biomecánica
5	Matriz + Dosis III	8	3,0 mg/mL	IRM	Biomecánica

Los animales de todos los grupos se sometieron a dos procedimientos. El primer procedimiento fue una resección del músculo infraespinoso y corte del tendón del manguito rotador. El segundo procedimiento ocurrió dos semanas después de la cirugía de desprendimiento de tendón para reparar el tendón al hueso en su inserción en el húmero. El reacoplamiento del tendón del manguito de los rotadores se administró con anclajes óseos como se proporciona aquí.

El grupo 1 recibió solo anclajes óseos y sutura para la reinserción del tendón. Además de anclajes óseos y sutura, el Grupo 2 recibió una matriz de colágeno de tipo I hidratada con tampón de acetato de sodio (20 mM de acetato de Na, pH 6,0), la matriz de colágeno hidratado se colocó en el sitio de la unión del tendón. Igualmente, además de anclajes óseos y sutura, los Grupos 3, 4 y 5 recibieron una matriz de colágeno tipo I hidratada con una solución de rhPDGF-BB (0,3 mg/ml, 1,0 mg/ml y 3,0 mg/ml, respectivamente), la matriz de colágeno hidratado posicionado en el sitio de la unión del tendón. Se obtuvieron matrices de colágeno hidratadas y aplicadas a animales en los Grupos 2-5 y están disponibles comercialmente en Kensey Nash Corporation de Exton, PA con el nombre comercial BIOBLANKET®.

Protocolo Quirúrgico

Se determinó que todos los animales eran negativos a la fiebre Q antes de ser incluidos en este estudio. Se retuvo la comida de cada animal 24 a 48 horas antes de los procedimientos y se retiró el agua la mañana de la cirugía. A cada animal se le realizó una evaluación general de la salud (sujeta a la observación visual de la actitud, actividad y facilidad de respiración, libertad para la diarrea y secreción nasal) antes de colocarse en el estudio. La infección respiratoria, las elevaciones de temperatura, la depresión observada, la cojera o la anormalidad anatómica provocaron el rechazo de un animal individual del procedimiento quirúrgico. Cada animal fue pesado dentro de los 7 días previos al procedimiento. Se recolectó sangre para un CBC y perfil de química dentro de los 7 días de la cirugía.

Maleato de acepromazina 0,05 mg/kg y Buprenorfina 0,005-0,01 mg/kg se administraron im antes de la inducción anestésica. Se administró una inyección intravenosa que consiste en diazepam 0,22 mg/kg y ketamina 10 mg/kg para la inducción de anestesia general. Se colocó un tubo endotraqueal con manguito y se mantuvo la anestesia general con Isoflurano 0,5 - 5% administrado en oxígeno a través de un sistema de reinhalación. Cada animal fue colocado en un ventilador para ayudar a la respiración. Se colocó un catéter en una vena periférica de la oreja de cada animal. Se colocó un tubo estomacal si ocurría regurgitación.

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron utilizando técnicas asépticas de rutina. La preparación preoperatoria se realizó en la sala de preparación de animales adyacente a la sala de operaciones. El hombro apropiado y las áreas circundantes de cada animal se prepararon cortando el área. Cada animal fue trasladado a la sala de operaciones y el área se limpió con exfoliante de clorhexidina alternando con alcohol isopropílico al 70% tres veces y se pintó con solución de yodo. Cada animal fue cubierto para una cirugía estéril. La solución de lactato de Ringer (LRS) se infundió por vía intravenosa a una velocidad de aproximadamente 10-20 ml/kg/hora durante la cirugía. Se administró 1-2 g de cefazolina por vía intravenosa antes de la incisión inicial y 0,5 g de Cefazolina se colocó en la solución de lavado para cada cirugía.

A. Procedimiento quirúrgico del desprendimiento de tendón

Se realizó una incisión curva de 15 cm sobre la cara posterolateral de la articulación del hombro. La incisión se profundizó y se identificó la porción acromial del músculo deltoides. El músculo se elevó en su borde craneal para exponer la inserción tendinosa del músculo infraespinoso y su inserción en la parte proximal del hueso del húmero. El tendón del infraespinoso se desprendió bruscamente de su inserción en el húmero proximal. El tendón se envolvió en una hoja de PRECLUDE®. Esto permitió la difusión de nutrientes al tendón, pero inhibió la cicatrización del tendón a los tejidos circundantes. La incisión se cerró de manera estándar. Se fijó una pelota blanda de 10 cm de diámetro en el casco de la extremidad asociada con la operación para inhibir el soporte de peso durante 7 semanas después de la operación. Cefazolin 1g se administró iv. Se colocó un parche de 100 µg de fentanilo sobre el animal.

B. Procedimiento Quirúrgico de Reanudación del Tendón

Dos semanas después de la cirugía de desprendimiento de tendón, los animales fueron rasurados y preparados para la cirugía. Se administró anestesia general a cada animal como se indica aquí. El hombro fue abordado como se describió anteriormente. La superficie de la tuberosidad se hizo rugosa con una pinza para crear una superficie ósea sangrante antes de la inserción del anclaje. Se usaron dos anclajes de sutura de metal, generalmente 6 mm de largo por 2-3 mm de ancho (disponible comercialmente de Smith and Nephew Endoscopy of Andover, Massachusetts).

Cada anclaje se atornilló dentro del límite de la huella hasta que quede al ras con la superficie humeral. El centro de ambas anclas se colocó aproximadamente a 1 cm de distancia. El tendón se desenvolvió y movilizó mediante disección roma. Para animales que recibieron un parche de colágeno de tipo I hidratado con tampón de acetato o una solución de rhPDGF-BB, una sutura de poliéster trenzada ETHIBOND® nº 2 (Johnson y Johnson) en bucle a través de los anclajes se pasó primero a través del parche de colágeno, pasado por el tendón, atado con un nudo modificado de Mason-Allen, y tirado sobre la huella del tendón. El tendón estaba permanentemente atado al ancla y la herida se cierra de forma estándar. La Figura 4 ilustra el posicionamiento del parche de colágeno en el sitio de reinserción del tendón.

Antes de la implantación y para facilitar el manejo y la colocación, cada parche de colágeno se cortó por la mitad con una regla estéril y un bisturí para crear dos (2) parches de colágeno de 1 cm^2. Después de corte y antes de la implantación, cada parche de colágeno de 1 cm^2 se hidrató mediante la aplicación de 150 µL de tampón de acetato o solución rhPDGF-BB durante 5 minutos hasta estar completamente saturado. Según se proporciona aquí, todos los animales que recibieron el parche de colágeno de tipo I tienen suturas de cada anclaje pasado a través de cada uno de parche de 1 cm^2 con un conductor de la aguja, y el parche empujado a lo largo de las suturas hasta colocarse sobre la huella descortezada.

Las capas de tejido de cada animal se cerraron posteriormente, los bordes de la incisión de la piel se reacomodaron, se suturaron y se engraparon. Cada animal recibió un analgésico postoperatorio para minimizar el dolor. La extremidad operada tenía una pelota de softbol colocada debajo del casco durante este período postoperatorio, lo que permitió un movimiento limitado durante cinco semanas. Cinco (5) semanas después del procedimiento de reinserción, todos los animales fueron fotografiados por resonancia magnética, y los escáneres son evaluados por un radiólogo. En el momento de la resonancia magnética, se retiraron las bolas de softbol y yesos. La semana siguiente, seis (6) semanas después de la reconexión, todos los animales fueron sacrificados humanamente, y el manguito rotador y el tendón infraespinoso se recogieron para realizar pruebas biomecánicas.

Observaciones *in vivo* y mediciones

Observaciones clínicas

Los animales se observaron diariamente hasta el procedimiento terminal. Durante los primeros 14 días postoperatorios, se observó a los animales con respecto a la actitud general, el apetito, la producción de orina/heces, la apariencia del sitio quirúrgico y el estrés del respirador. La temperatura, el pulso y la frecuencia cardíaca se registraron durante los primeros 3 días postoperatorios. El dolor se evaluó durante un mínimo de 7 días después de la operación de acuerdo con el Formulario de Evaluación para la Evaluación del Dolor en ovejas y cabras. Los antibióticos se administraron a un animal si la infección se desarrolló en el sitio quirúrgico y se observó en las observaciones. Los pesos corporales se registraron antes de cada procedimiento quirúrgico y antes del procedimiento terminal. El consumo de alimentos fue cualitativo. Los animales fueron monitoreados diariamente y se registró el grado de apetito.

Imágenes IRM

Se tomaron imágenes de resonancia magnética de cada animal en la dirección del patrocinador del estudio. Cada animal fue sedado y luego colocado en una posición de decúbito lateral con el hombro operado hacia abajo. Cada animal fue restringido a la mesa, monitoreado y escaneado por aproximadamente 20 minutos. La Tabla 7 proporciona protocolos de secuencia de MRI. Después de escanear, cada animal fue revivido. Los escaneos se envían a radiólogos designados para una revisión a ciegas.

Tabla 7 - Protocolos de secuencia de MRI

	PD sagital		**TI sagital**
tr	1.000	tr	500
te	10	te	10
etl	4	etl	2
rbw	31	rbw	25
fov	14	fov	14
espesor de rebanada	4	espesor de rebanada	4
hueco de rebanada	0	hueco de rebanada	0
matriz	512x512	matriz	512x512
nex	3	nex	2
sec. pulso	fse	sec. pulso	fse
	PD coronal Fat/Sat		**PD sagital Fat/Sat**
tr	1.450	tr	1.350
te	11	te	11
etl	4	etl	4
rbw	31	rbw	31
fov	14	fov	14
espesor de rebanada	4	espesor de rebanada	4
hueco de rebanada	0	hueco de rebanada	0
matriz	512x512	matriz	512x512
nex	3	nex	3
sec. pulso	fse	sec. pulso	fse

Necropsia

Ocho (8) semanas después de la cirugía de desprendimiento del tendón todos los animales fueron sacrificados humanamente para la recolección de tejido. El húmero y aproximadamente cuatro (4) pulgadas del eje humeral se recogieron junto con el tendón infraespinoso y aproximadamente dos (2) pulgadas de músculo distal a la unión miotendinosa. Todos los tejidos se envolvieron rápidamente en gasa empapada de solución salina, doble envueltos en bolsas de plástico selladas marcadas, y se congelaron a -20ºC hasta que se descongelaron para la prueba biomecánica.

Pruebas biomecánicas

Las pruebas biomecánicas fueron realizadas por la Rhode Island Hospital Orthopaedic Foundation, Inc. Durante las pruebas biomecánicas, hombros contralaterales de los animales fueron utilizados para normalizar la variabilidad animal a animal. La prueba se realizó usando un aparato de prueba biomecánico número de modelo 150kN de Instron de Norwood, Massachusetts, en el que el tendón libre se fijó con una pinza criogénica. La cabeza humeral se fijó por medio de un perno intramedular que pasaba a través de la cabeza humeral en una disposición de dispositivo de horquilla. El tendón y el húmero se distrajeron a una velocidad de 4 mm/s hasta lograrse la separación completa del tendón y el húmero. La fuerza se registró en incrementos de 0,02 segundos. El modo de falla también fue registrado.

Los hombros tratados con un parche de colágeno de tipo I saturado con una solución de rhPDGF-BB demostraron una mejora en la fuerza máxima para la separación del tendón del hombro. La Tabla 8 resume la fuerza requerida para separar el tendón reconectado del hombro como un porcentaje de la fuerza requerida para separar el contralateral normal de su inserción en el húmero.

Tabla 8 - Resumen de pruebas biomecánicas

Grupo	**% de Normal**
1 (Sutura solamente)	59,6
3 (Matriz, 0,3 mg/ml de PDGF)	79,8
4 (Matriz, 1,0 mg/ml de PDGF)	75,3
5 (Matriz, 3,0 mg/ml PDGF)	73,5

Como se muestra en la Tabla 8, la fuerza para la separación del tendón fue mayor para los hombros tratados con un parche de colágeno de tipo I saturado con una solución de rhPDGF-BB que indica una unión más fuerte del tendón al hueso en comparación con la sutura solamente.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible, para uso en la unión de un tendón al hueso, o el tratamiento de un tendón dañado o lesionado;
en donde la matriz biocompatible comprende:

(a) un material de andamio que comprende un parche o almohadilla de colágeno; o
(b) un material de andamio y un aglutinante biocompatible que comprende colágeno;

y en donde la solución de PDGF tiene una concentración de PDGF de 0,1 mg/ml a 1,0 mg/ml.

2. Uso de una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en una matriz biocompatible, en la preparación de un medicamento para unir un tendón al hueso, o el tratamiento de un tendón dañado o lesionado,
en donde la matriz biocompatible comprende:

(a) un material de andamio que comprende un parche o almohadilla de colágeno; o
(b) un material de andamio y un aglutinante biocompatible que comprende colágeno;

y en donde la solución de PDGF tiene una concentración de PDGF de 0,1 mg/ml a 1,0 mg/ml.

3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el hueso es un húmero.

4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde;

a) el material de andamio que comprende partículas de fosfato β-tricálcico, o
b) el material de andamio que comprende un parche o almohadilla de colágeno porosa.

5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la matriz biocompatible proporciona un marco adecuado para hueso y/o crecimiento de tejido de tendón.

6. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el PDGF es PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF- AB, PDGF-CC, PDGF-DD, rhPDGF-BB o una mezcla de los mismos.

7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la composición o medicamente es para uso en la unión de un tendón a un hueso, y en donde el uso comprende la aplicación de la composición a al menos un sitio de la unión de tendón al hueso.

8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la composición o medicamento es para uso en el tratamiento de desgarros de manguitos rotadores, y en donde el uso comprende la aplicación de la composición a al menos un sitio de unión de tendón a la cabeza humeral.

9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8 o el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde al menos un sitio de unión de tendón comprende un canal en el hueso cortical de la cabeza humeral.

10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o el uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el canal comprende un tamaño y una forma que corresponde a una huella de unión de tendón.

11. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8 o el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde al menos un anclaje óseo está dispuesto en la cabeza humeral y al menos un tendón desconectado está acoplado al anclaje óseo, en donde al menos un anclaje óseo comprende opcionalmente PDGF.

12. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o el uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde al menos un tendón está acoplado a al menos un anclaje óseo a través de una sutura.

13. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8 o el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la composición está moldeada a contornos del sitio de reconexión de tendón.

14. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8 o el uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la aplicación de la composición comprende la inyección de la composición en el sitio de reconexión de tendón.

15. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el material de andamio es poroso y tiene una porosidad de más del 25%, más del 50%, o más del 90%.

16. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o 15 o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o 15 para uso en el tratamiento de un tendón que tiene un desgarro, delaminación, distensión o deformación

17. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la solución de PDGF consiste de PDGF en un tampón, y en donde el tampón es opcionalmente un tampón de acetato de sodio.

La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la matriz biocompatible se reabsorbe dentro de los 3 meses de la implantación *in vivo*, o se reabsorbe dentro de 1 mes de implantación *in vivo*.

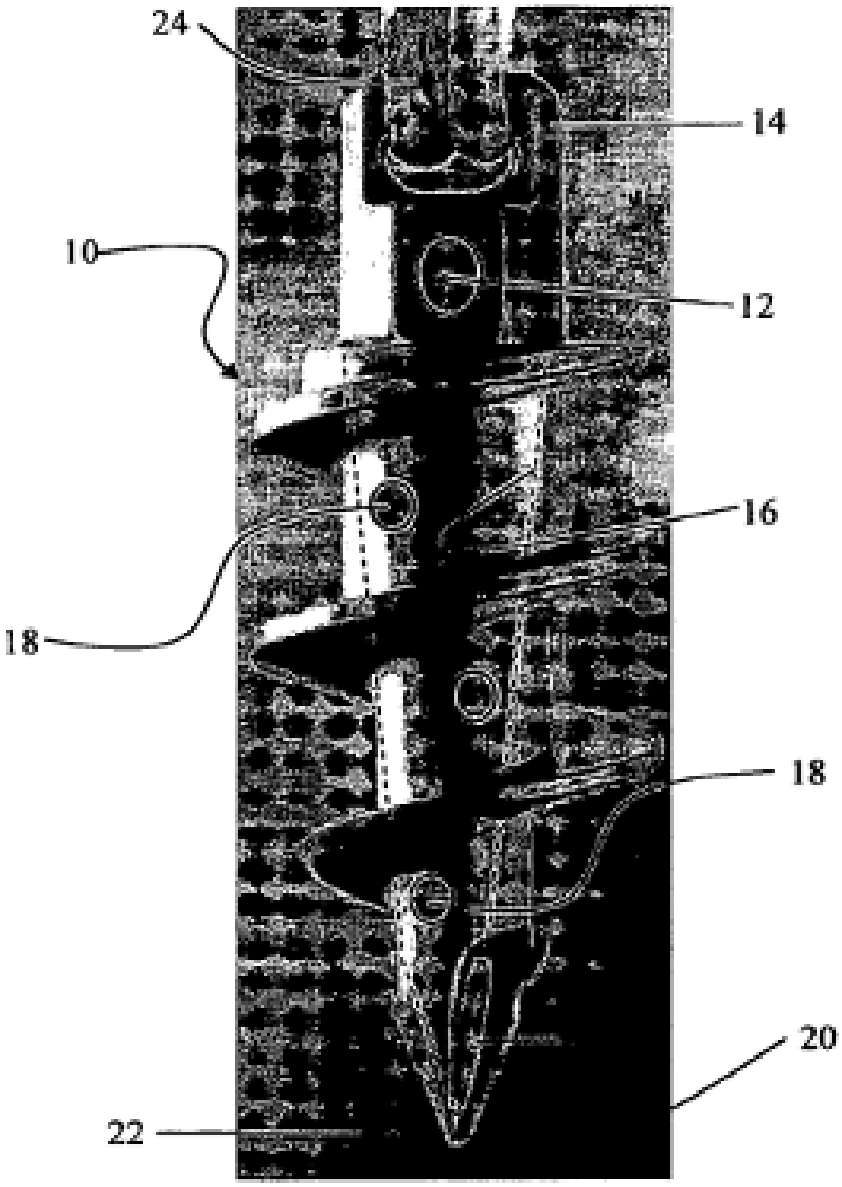
18. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la

19. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 4(a) o 5-18 o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 4(a) o 5-18, en donde la composición es fluida.

20. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la solución de PDGF tiene una concentración de PDGF de 0,5mg/ml, 0,45mg/ml, 0,4mg/ml, 0,35mg/ml, 0,3mg/ml, 0,25mg/ml, 0,2mg/ml, 0,15 mg/ml, o 0,1mg/ml.

21. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes o el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición consiste de la solución de PDGF dispuesta en la matriz biocompatible.

FIGURA 1



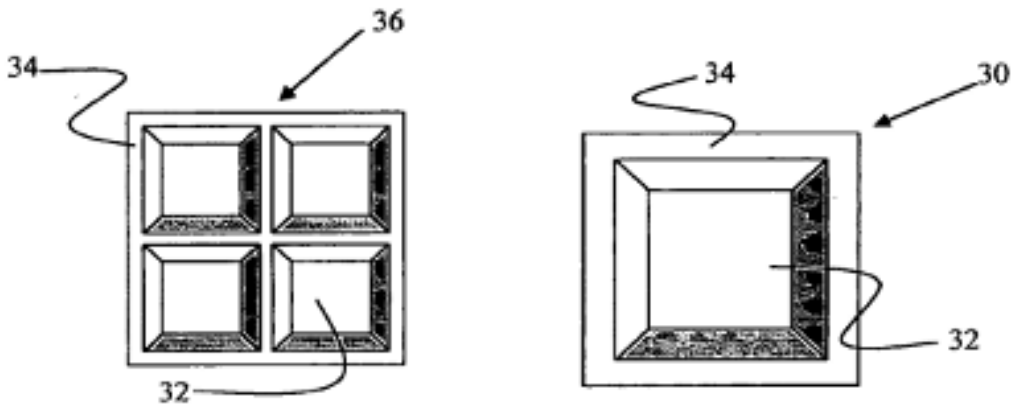


FIGURA 2

FIGURA 3A
Técnica anterior

FIGURA 3B
Almohadilla de PDGF incorporada en suturas

FIGURA 3C
Bolsa de PDGF suturada sobre desgarro reparado

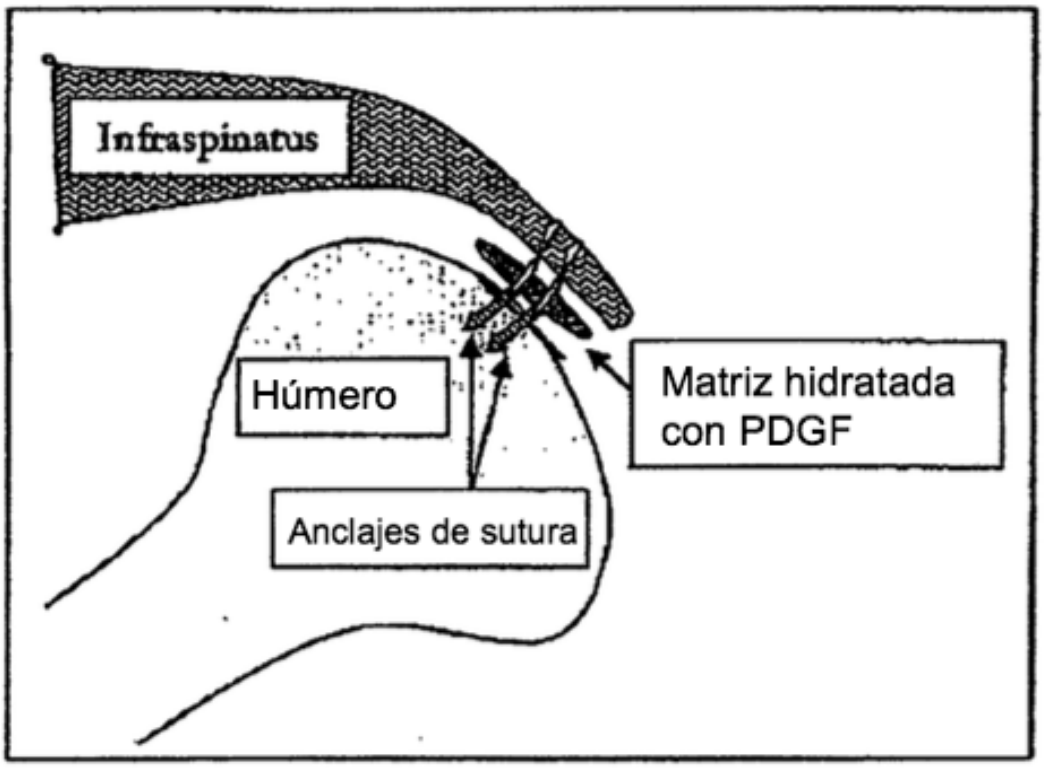

Infraspinatus
Húmero
Matriz hidratada
con PDGF
Anclajes de sutura

FIGURA 4