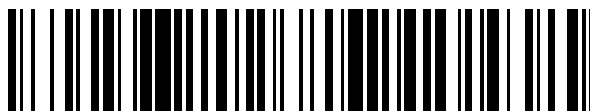


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 043**

51 Int. Cl.:

**A61L 31/04** (2006.01)

**A61M 27/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2013 PCT/US2013/048918**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.01.2014 WO14008184**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2013 E 13737939 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2869861**

54 Título: **Colectores de drenaje tisulares**

30 Prioridad:  
**05.07.2012 US 201261668189 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**16.07.2018**

73 Titular/es:  
**LIFECELL CORPORATION (100.0%)  
One Millennium Way  
Branchburg, NJ 08876-3876, US**

72 Inventor/es:  
**SUN, WENQUAN;  
BACHRACH, NATHANIEL y  
HAYZLETT, MARK, R.**

74 Agente/Representante:  
**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 676 043 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**

## Colectores de drenaje tisulares

5 La presente descripción se refiere, generalmente, a métodos para fabricar y usar composiciones tisulares como colectores de drenaje implantables.

10 El control de fluidos corporales durante el tratamiento de heridas o después de una intervención quirúrgica es un problema comúnmente abordado por profesionales médicos. El fallo en el drenaje adecuado de los fluidos puede llevar a la formación de seromas y/o hematomas. Un seroma es una cavidad de fluido seroso transparente o amarillo producido por las glándulas serosas. Un hematoma, por el contrario, es una acumulación localizada de sangre fuera de un vaso sanguíneo. Ambos pueden ser el resultado de un trauma, tal como un golpe o una caída, así como de una enfermedad o intervenciones quirúrgicas. Los seromas y hematomas son habituales después de la cirugía plástica, particularmente en la cirugía de la zona de cabeza/cuello, así como después de la cirugía abdominal.

15 La formación de seromas y/o hematomas tras la cirugía puede dificultar la recuperación. Si bien los seromas y hematomas se resuelven con frecuencia sin intervención, algunos pacientes necesitan varias visitas de seguimiento para drenarlos o tratarlos de otro modo. Además, la inflamación provocada por los seromas y hematomas no siempre desaparece en su totalidad, lo que conduce a la formación de un nudo antiestético de tejido calcificado que puede requerir intervención quirúrgica adicional. Además, el riesgo de infección puede aumentar si los fluidos corporales no se drenan adecuadamente del lecho de una herida o quirúrgico.

20 Los drenajes quirúrgicos se usan en la actualidad para ayudar en el tratamiento de seromas y hematomas y para drenar fluidos en un lecho quirúrgico. Estos drenajes se fabrican, normalmente, de materiales poliméricos sintéticos que deben eliminarse cuando ya no se necesita el drenaje. La retirada de drenajes puede causar una irritación y/o incomodidad importantes a un paciente y también podría provocar nuevas heridas o aumentar la deformidad cicatricial, sobre todo cuando los drenajes se implantan profundamente en el tejido blando de un paciente.

25 WO2012/166784 se refiere a productos tisulares producidos a partir de tejido adiposo. EP-1415671 A1 describe drenajes hechos de un material biodegradable, preferiblemente un polímero biodegradable. El drenaje tiene la forma de un tubo, opcionalmente con perforaciones, que se coloca en un orificio en la pared de un antro, órgano o tejido para transportar fluidos. El material biodegradable puede ser, aunque no de forma preferida, de una fuente natural, tal como colágeno.

30 La invención se define en las reivindicaciones.

35 Por consiguiente, en la presente invención se describen colectores de drenaje tisulares descelularizados que comprenden, al menos, una parte de una matriz tisular extracelular. Los colectores se pueden preparar usando técnicas de micromecanizado que permitan el drenaje del fluido. Los colectores proporcionan rigidez inicial suficiente para resistir el hundimiento tras la implantación y posteriormente reblandecerse con el tiempo a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de la matriz tisular extracelular del colector.

40 En varias realizaciones, se proporciona un colector de drenaje tisular, que comprende tejido parcial o completamente descelularizado que se ha micronizado, vuelto a formar en tiras finas, enrollado para formar tubos y reticulado, comprendiendo además un componente sintético biocompatible o biorreabsorbible en forma de tubo hueco.

45 En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se reticulan utilizando radiación de haz de electrones. En ciertas realizaciones, el colector comprende tejido parcial o completamente descelularizado que tiene una textura superficial con un diseño reticular. En algunas realizaciones, un colector comprende múltiples tubos enrollados unidos entre sí con tiras adicionales de tejido descelularizado.

50 En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular comprende, además, un componente sintético biocompatible o biorreabsorbible en forma de tubo hueco. El componente sintético puede comprender un conducto externo que rodea al menos una parte del tejido parcial o completamente descelularizado en el colector, o puede comprender un conducto interno rodeado por el tejido parcial o completamente descelularizado en el colector. En algunas realizaciones, el colector de drenaje tisular comprende, además, al menos un filamento flexible (p. ej., un material sintético biorreabsorbible) unido al colector.

55 En varias realizaciones, el colector de drenaje tisular se selecciona de modo que tenga una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a un drenaje de polímero sintético que se ablanda a lo largo del tiempo después del implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de una matriz extracelular en el tejido descelularizado. En algunas realizaciones, la resistencia estructural inicial se controla alterando la dosis de radiación de haz de electrones o alterando el contenido de humedad del colector antes de la irradiación.

60 En algunas realizaciones, se proporciona un kit que comprende un colector como se ha descrito anteriormente e instrucciones para utilizar el kit.

En varias realizaciones, se proporciona un método para fabricar un colector de drenaje tisular que comprende: seleccionar un tejido que contenga una matriz extracelular; descelularizar parcial o completamente el tejido; y micronizar el tejido, volver a formar el tejido en tiras finas, enrollar las tiras de tejido para formar tubos y reticular el tejido, en donde el colector comprende además un componente sintético biocompatible o biorreabsorbible en forma de un tubo hueco.

En algunas realizaciones, se preparan ranuras, canales u orificios utilizando micromecanizado láser. En algunas realizaciones, el colector se reticula usando radiación de haz de electrones. En algunas realizaciones, el tejido descelularizado se envuelve alrededor de un tubo hueco que comprende un material sintético biocompatible o biorreabsorbible para formar un conducto sintético interno rodeado por el tejido parcial o completamente descelularizado en el colector. En algunas realizaciones, se envuelve un material sintético biocompatible o biorreabsorbible alrededor de, al menos, una parte del tejido descelularizado para formar un recubrimiento sintético exterior que rodea, al menos, una parte del tejido parcial o completamente descelularizado en el colector.

En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular, como se describe en la presente memoria, puede implantarse tras una cirugía estética, tras una cirugía para extirpar un tumor, tras una cirugía de separación de tejidos naturales, para tratar una herida u otro espacio hueco que se produzca a través de una lesión o enfermedad, o para cualquier otro uso médico.

### Descripción de los dibujos

Las **Figs. 1A-C** muestran tres ejemplos de colectores de drenaje tisulares. Los colectores ilustrativos tienen, al menos, una dimensión de sección transversal que varía de 2-4 mm y también contiene ranuras (**Fig. 1A**), canales (**Fig. 1B**) u orificios (**Fig. 1C**). La Fig. 1A también ilustra la aplicación de un conducto 101 externo sintético alrededor de un colector 100 de drenaje tisular que comprende ranuras 102, como se describe más adelante en ciertas realizaciones de la presente descripción.

La **Fig. 2** muestra ejemplos de colectores de drenaje tisulares que comprenden tiras enrolladas de dermis porcina descelularizada.

La **Fig. 3** muestra el reblandecimiento de los colectores tisulares ilustrativos que comprenden tiras enrolladas de dermis porcina descelularizada (3 cm de largo con un diámetro en sección transversal de 2,5-4,0 mm) a lo largo del tiempo cuando se incubaba en 50 ml de tampón HEPES a 37 °C con o sin colagenasa. El tiempo de incubación se muestra en horas, y el reblandecimiento se midió usando un durómetro de tipo OO, en donde las lecturas pueden variar de 0 (más blando) a 100 (menos blando). Los puntos en forma de rombo reflejan mediciones tomadas cuando los colectores se incubaron sin colagenasa, mientras que los puntos cuadrados reflejan mediciones tomadas cuando los colectores se incubaron con colagenasa. Los puntos reflejan el promedio de 7 colectores probados, donde las barras de error indican la desviación estándar.

La **Fig. 4A** muestra un ejemplo de una lámina con la superficie texturizada (izquierda) y de control sin texturizar (derecha) de tejido descelularizado. La **Fig. 4B** muestra la configuración para una prueba de flujo de fluido para evaluar la eficacia de eliminación de fluido utilizando láminas de tejido con la superficie texturizada y de control. Las láminas de tejido en una solución salina se colocan entre capas de silicona que se unen a una bomba y se mide el tiempo que tarda en drenar la solución salina del complejo experimental.

La **Fig. 5** es un ejemplo de un sistema de tratamiento de heridas con presión negativa, que incluye un colector de drenaje tisular ilustrativo, según se describe más adelante en algunas realizaciones de la presente descripción.

### Descripción de algunas realizaciones ilustrativas

A continuación se hará referencia con detalle a ciertas realizaciones ilustrativas según la presente descripción, algunos ejemplos de las cuales se ilustran en los dibujos que se acompañan.

En la presente memoria se describen colectores de drenaje de matriz tisular. En varias realizaciones, los colectores se preparan usando técnicas de micromecanizado que producen colectores capaces de proporcionar drenaje de fluidos al mismo tiempo que proporcionan rigidez inicial para resistir el hundimiento tras el implante, así como un reblandecimiento con el tiempo a medida que los colectores se repueblan con tejido natural. En algunas realizaciones, se usa tejido más espeso obtenido de un animal donante. En estas realizaciones, el tejido es descelularizado y se practican ranuras, canales y/u orificios, p. ej., utilizando vaporización láser u otros métodos de micromecanizado por láser, y/o cortando mediante hojas físicas que proporcionen una alta precisión de conformación de los orificios, las ranuras y/o los canales (p. ej., con reducida variabilidad entre los orificios, las ranuras y/o los canales, o baja rugosidad superficial, producidas al cortar o procesar de otro modo el tejido). En otras realizaciones se usan tiras finas de tejido descelularizado en forma de partículas (p. ej., micronizadas) o en forma distinta a partículas. En estas realizaciones, el tejido se descelulariza y enrolla para formar tubos u otras formas deseadas. En algunas realizaciones, también se pueden añadir orificios, ranuras y/o canales a las tiras de tejido enrolladas, p. ej., usando vaporización láser y/o corte utilizando hojas físicas. En ciertas realizaciones, los colectores tisulares se reticulan (p. ej., usando reticulación química, deshidrotérmica o irradiación). En algunas

realizaciones, la reticulación aumenta la rigidez inicial del colector. En ciertas realizaciones, los colectores tienen una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a un drenaje de polímero sintético que se ablanda a lo largo del tiempo después del implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de la matriz extracelular en el tejido descelularizado.

En varias realizaciones, los colectores tisulares se pueden implantar de manera similar a los drenajes quirúrgicos convencionales y/o usarse como extensiones de drenajes convencionales. En ciertas realizaciones, los colectores se pueden implantar más profundamente que los drenajes convencionales dentro de un tejido blando de un paciente y/o proporcionar una extensión de un drenaje convencional para alcanzar mayor profundidad en un tejido blando de un paciente porque los colectores de drenaje tisulares no necesitan ser retirados al finalizar un procedimiento de drenaje. En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se pueden conectar a una bomba u otro dispositivo de presión negativa. Además, en varias realizaciones, los drenajes implantados no requieren su retirada, sino que se reabsorben gradualmente, proporcionando una estructura base tisular para la migración y proliferación de células del tejido natural que lo rodea.

Los materiales y métodos proporcionados en la presente memoria pueden usarse para fabricar un colector biocompatible u otra composición implantable. Como se utiliza en la presente memoria, una “composición biocompatible” es aquella que tiene la capacidad de soportar la migración y proliferación de células naturales del tejido circundante a la composición después del implante y no provoca una respuesta inmunitaria sustancial que evite esta actividad celular. Como se utiliza en la presente memoria, una “respuesta inmunitaria sustancial” es aquella que evita la reabsorción parcial o completa del material implantado y/o la repoblación parcial o completa del implante con células naturales.

Como se utiliza en la presente memoria, los términos “células naturales” y “tejido natural” significan las células y el tejido presentes en el tejido/órgano receptor antes de la implantación de un colector tisular, o las células o el tejido producidos por el animal huésped después del implante. Como se utiliza en la presente memoria, un colector tisular es cualquier pieza de tejido destinada a usarse como un colector en un sistema de drenaje quirúrgico, p. ej., una pieza de tejido parcial o completamente descelularizado previsto para usarla para recoger, canalizar, separar, combinar o dirigir de otro modo el flujo de un fluido biológico en un paciente.

La finalidad de los encabezados de sección usados en la presente memoria es solamente organizativa y no deben considerarse limitadores del objeto descrito.

En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural, salvo que se indique lo contrario de forma específica. Además, en esta solicitud, el uso de “o” significa “y/o” salvo que se indique lo contrario. Además, el uso del término “que incluye”, así como otras formas, tales como “incluye” e “incluido” no es limitador. Se entenderá que cualquier intervalo descrito aquí incluye los valores extremos y todos los valores entre los valores extremos.

#### Colectores de drenaje tisulares

En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular comprende tejido humano o animal que ha sido al menos parcialmente descelularizado. El tejido puede ser tejido acelular, parcialmente descelularizado y/o descelularizado que ha sido repoblado con células exógenas, siempre que el colector conserve al menos algunos de los componentes de la matriz extracelular encontrados en el tejido antes de la descelularización.

En ciertas realizaciones, un colector de drenaje tisular puede obtenerse de cualquier tejido humano o animal que sea adecuado para la descelularización parcial o total y el implante posterior. Los tejidos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, hueso, piel, dermis, tejido adiposo, intestino, vejiga urinaria, tendón, ligamento, músculo, fascia, tejido neurológico, tejido vascular, tejido adiposo, vaso, hígado, corazón, pulmón, riñón, cartílago y/o cualquier otro tejido adecuado. En ciertas realizaciones, un colector de drenaje tisular puede incluir un tejido blando de mamífero. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un colector de drenaje tisular puede incluir dermis de mamífero parcial o completamente descelularizada. Como otro ejemplo, un colector de drenaje tisular puede comprender submucosa de intestino delgado de mamífero parcial o completamente descelularizada, tejido adiposo parcial o completamente descelularizado y/o tejido pulmonar o hepático de mamífero parcial o completamente descelularizado. Un colector de drenaje tisular puede comprender tejido de una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o más) fuentes de tejido diferentes. En ciertas realizaciones, el tejido descelularizado puede provenir de fuentes humanas o no humanas. Las fuentes de tejido no humanas ilustrativas incluyen, aunque no de forma limitativa, cerdos, ovejas, cabras, vacas, conejos, monos y/u otros mamíferos no humanos. Un colector de drenaje tisular puede comprender tejido de una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o más) fuentes de animales diferentes.

En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular se puede formar de ALLODERM® o STRATTICE™ (LIFECCELL Corporation, Branchburg, NJ), que son matrices dérmicas acelulares humanas y porcinas, respectivamente. De forma alternativa se puede utilizar cualquier otra matriz de tejido acelular. Por ejemplo, Badylak y col. describen un número de materiales para estructuras base biológicas y los métodos de la presente descripción pueden usarse para producir una matriz de tejido acelular tridimensional estable usando cualquiera de estos materiales o cualquier otro material similar. Badylak y col., “Extracellular Matrix as a Biological Scaffold Material: Structure and Function,” *Acta Biomaterialia* (2008), doi:10.1016/j.actbio.2008.09.013.

En varias realizaciones, la estructura base extracelular dentro de un tejido parcial o completamente descelularizado puede consistir en colágeno, elastina y/u otras fibras, así como proteoglicanos, polisacáridos y/o factores de crecimiento. La matriz de tejido puede conservar alguno o todos los componentes de la matriz extracelular que se encuentran de forma natural en un tejido antes de la descelularización, o varios componentes no deseables pueden eliminarse por medios químicos, enzimáticos y/o genéticos. En general, la matriz acelular proporciona una red estructural de fibras, proteoglicanos, polisacáridos y factores de crecimiento en la que el tejido y la vasculatura natural pueden migrar, crecer y proliferar. Los componentes estructurales exactos de la matriz extracelular dependerán del tejido seleccionado y de los procesos utilizados para preparar el tejido parcial o completamente descelularizado.

En ciertas realizaciones, un colector de drenaje tisular carece de ciertos antígenos no deseados. Por ejemplo, ciertos tejidos animales contienen epítomos de alfa-galactosa ( $\alpha$ -gal) que son conocidos por provocar reacciones en los seres humanos. Por lo tanto, los colectores de drenaje tisulares derivados de tejidos de varios animales se pueden producir o procesar para que carezcan de ciertos antígenos, tales como la  $\alpha$ -gal. En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares carecen prácticamente de cualquier resto de  $\alpha$ -gal. La eliminación de los epítomos de  $\alpha$ -gal puede disminuir la respuesta inmunitaria contra el colector. U. Galili y col., *J. Biol. Chem.* 263: 17755 (1988). Puesto que los mamíferos no primates (p. ej., los cerdos) producen epítomos de  $\alpha$ -gal, el xenotrasplante de material de matriz de tejido acelular de estos mamíferos en primates puede producir, en algunos casos, rechazo debido a la unión del anti-gal del primate a los epítomos de  $\alpha$ -gal en el colector de drenaje tisular. U. Galili y col., *Immunology Today* 14: 480 (1993); M. Sandrin y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 11391 (1993); H. Good y col., *Transplant. Proc.* 24: 559 (1992); B. H. Collins y col., *J. Immunol.* 154: 5500 (1995).

Como se describe con detalle más adelante, en varias realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se pueden procesar para eliminar antígenos, tales como  $\alpha$ -gal, p. ej., por tratamiento químico o enzimático. De forma alternativa, en algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se pueden producir a partir de animales que han sido modificados genéticamente para que carezcan de estos epítomos.

En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares que comprenden tejido humano o animal están completa o prácticamente exentos de todas las células normalmente presentes en el tejido del que se obtiene el colector. Como se utiliza en la presente memoria, "prácticamente exento de todas las células" significa que un colector de drenaje tisular contiene menos de 20 %, 10 %, 5 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 % o 0,0001 % (o cualquier porcentaje intermedio) de las células que normalmente crecen dentro de la matriz acelular del tejido antes de la descelularización.

En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares pueden incluir estructuras base extracelulares que se han repoblado con células viables. Se pueden usar varios tipos de células para la repoblación, incluidas células madre, tales como células madre embrionarias, células madre adultas (p. ej., células madre mesenquimatosas) y/o células neuronales. También se puede utilizar cualquier otra célula viable. En algunas realizaciones, las células son células de mamíferos. Tales células pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural. En varias realizaciones, las células viables se aplican a la matriz de tejido acelular antes o después del implante de un colector de drenaje tisular.

En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares comprenden uno o más agentes adicionales. En algunas realizaciones, el o los agentes adicionales pueden comprender un agente antiinflamatorio, un analgésico o cualquier otro agente terapéutico ventajoso deseado. En ciertas realizaciones, el o los agentes adicionales pueden comprender, p. ej., al menos un factor de crecimiento o señalización añadido (p. ej., un factor de crecimiento celular, un factor angiogénico, un factor de diferenciación, una citocina, una hormona y/o una quimiocina). Estos agentes adicionales pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural. En algunas realizaciones, el factor de crecimiento o señalización está codificado por una secuencia de ácido nucleico contenida dentro de un vector de expresión. Preferiblemente, el vector de expresión está en una o más de las células viables que se pueden añadir, opcionalmente, a un colector de drenaje tisular. Como se utiliza en la presente memoria, el término "vector de expresión" se refiere a cualquier estructura de ácido nucleico que es capaz de ser adoptada por una célula, que contiene una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína deseada y que contiene las otras secuencias de ácido nucleico necesarias (p. ej., promotores, potenciadores, codones de iniciación y terminación, etc.) para asegurar al menos una expresión mínima de la proteína deseada por la célula.

En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular comprende tejido descelularizado que se ha cortado o se le ha dado cualquier otra forma para formar un tubo, una columna, una lámina o cualquier otra forma deseada. En algunas realizaciones, el colector de drenaje tisular tiene al menos una dimensión en sección transversal de hasta aproximadamente 5 mm (p. ej., una dimensión de aproximadamente 5, 4, 3, 2 o 1 mm, o cualquier valor intermedio). En ciertas realizaciones, el colector de drenaje tisular tiene una longitud de hasta aproximadamente 20 cm (p. ej., aproximadamente 1, 5, 10, 15 o 20 cm, o cualquier longitud intermedia). En algunas realizaciones, el colector de drenaje tisular tiene ranuras, canales y/u orificios practicados en el mismo. En algunas realizaciones, las ranuras, los canales y/o los orificios constituyen hasta aproximadamente 70 % (p. ej., aproximadamente 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 %, o cualquier porcentaje intermedio) de la superficie específica del colector y permiten el paso de fluidos o presión a través del colector. Los ejemplos de este tipo de colector de drenaje tisular se muestran en la **Fig. 1A-C**. En algunas realizaciones, las ranuras o los canales se practican

hasta un espesor de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm en los colectores de drenaje. En algunas realizaciones, los orificios tienen un diámetro de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm.

5 En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular puede comprender tejido descelularizado que se ha cortado en tiras finas y enrollado para formar un tubo u otra forma deseada. En algunas realizaciones, las tiras finas de tejido descelularizado comprenden tejido descelularizado que se ha troceado, micronizado y/u homogeneizado de otro modo antes de reconstituirlo para formar láminas de tejido en forma de partículas que se cortan para formar tiras finas. En algunas realizaciones, las tiras finas tienen un espesor de hasta aproximadamente 2 mm (p. ej., aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5 o 2,0 mm, o cualquier valor intermedio), una anchura de hasta aproximadamente 20 mm (p. ej., aproximadamente 1, 5, 10, 15 o 20 mm, o cualquier valor intermedio) y una longitud de aproximadamente 20 cm (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20 cm, o cualquier valor intermedio). En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular comprende tiras de tejido parcial o completamente descelularizado que se han enrollado en un tubo u otra forma deseada. Un ejemplo de dicho colector de drenaje tisular se muestra en la **Fig. 2**. En algunas realizaciones, se puede unir un colector de drenaje tisular que comprenda múltiples subunidades utilizando tiras finas adicionales de tejido descelularizado para sujetar las subunidades entre sí (p. ej., en donde las subunidades se ponen en contacto y las tiras finas adicionales se envuelven alrededor de las juntas entre las subunidades para sujetar las subunidades entre sí). En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular enrollado tiene ranuras, canales u orificios practicados en el mismo. En algunas realizaciones, las ranuras, canales y/u orificios constituyen hasta aproximadamente 70 % (p. ej., aproximadamente 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 %, o cualquier porcentaje intermedio) de la superficie específica del colector de drenaje tisular y permiten el paso de fluidos o presión a través del colector. En algunas realizaciones, las ranuras o los canales se practican hasta un espesor de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm en los colectores de drenaje. En algunas realizaciones, los orificios tienen un diámetro de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm.

25 En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se reticulan (p. ej., usando reticulación química, deshidrotérmica o irradiación) para mantener una forma deseada (p. ej., una forma de columna, lámina o tubo enrollado) después del implante y/o para aumentar la rigidez inicial. En algunas realizaciones, los colectores se reticulan utilizando radiación (p. ej., radiación de haz de electrones). Por ejemplo, se puede exponer un colector a entre 5 y 50 KGy de radiación de haz de electrones (p. ej., aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 KGy, o cualquier valor intermedio).

Los colectores que carecen de reticulación pueden carecer de la resistencia estructural necesaria para funcionar como drenaje y/o colector de drenaje y para proporcionar un conducto para canalizar el fluido y la presión a un lugar de implante. En consecuencia, en varias realizaciones, la reticulación del colector puede aumentar la resistencia estructural. Por ejemplo, se puede seleccionar una dosis de radiación de haz de electrones (p. ej., 5-50 KGy) para transmitir suficiente reticulación en el colector para evitar que el colector se hunda después del implante y/o para proporcionar un colector que tenga una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a la de un drenaje sintético. En algunas realizaciones, el colector se ablanda a continuación a lo largo del tiempo después del implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de la matriz extracelular en el tejido descelularizado. En algunas realizaciones, el colector se repuebla finalmente con células naturales (p. ej., después de 2, 3, 4, 5 o más días, o cualquier período de tiempo intermedio), evitando así la necesidad de retirar el colector del paciente al finalizar una intervención de drenaje.

45 En ciertas realizaciones, el tejido descelularizado en un colector de drenaje tisular tiene una textura superficial, tal como un diseño reticular, con el fin de mejorar el flujo de fluido a través del colector. En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares son estériles. En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se esterilizan usando radiación, tal como se describe *más adelante*.

50 En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se pueden usar como piezas de inserción dentro o alrededor de materiales de drenaje sintéticos circundantes (p. ej., tubos poliméricos). En ciertas realizaciones, el componente sintético es un tubo hueco que puede proporcionar una mayor resistencia estructural inicial después del implante y/o puede usarse como un recubrimiento exterior para evitar que se difunda fluido fuera del colector tisular por el entorno que rodea al implante en lugar de drenarlo del paciente. En la **Fig. 1A** se muestra un ejemplo de un recubrimiento sintético 101 que rodea un colector 100 de drenaje tisular que comprende ranuras 102. En algunas realizaciones, el material sintético puede ser un material biocompatible elegido por su capacidad de ser reabsorbido por el cuerpo después de un período de tiempo (p. ej., después de 1, 2, 3, 4, 5 o más días, o cualquier período de tiempo intermedio). Los ejemplos de estos materiales incluyen, aunque no de forma limitativa, policaprolactona, ácido poliláctico, poliuretano, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, polidioxanona u otros polímeros o materiales biológicos similares conocidos por degradarse in vivo.

60 En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular tiene una mayor rigidez inicialmente pero se ablanda a lo largo del tiempo después del implante. En algunas realizaciones, el colector tisular puede tener una rigidez inicial aproximadamente equivalente a la rigidez de un drenaje polimérico estándar, tal como un drenaje polimérico de Jackson-Pratt o Brake. Por ejemplo, un colector de drenaje tisular puede tener una rigidez inicial, medida por compresión usando un durómetro con una sonda OO (donde las lecturas puede variar de 0 (más blando) a 100 (menos blando)), de al menos aproximadamente 24 (p. ej., al menos aproximadamente 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 o 40, o cualquier valor intermedio), pero una

disminución de la rigidez de hasta aproximadamente 22 (p. ej., hasta aproximadamente 22, 20, 18, 16, 14, 12 o 10, o cualquier valor intermedio) al menos aproximadamente dos días después del implante (p. ej., después de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, o cualquier período de tiempo intermedio).

5 En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular puede comprender uno o más filamentos flexibles unidos al colector y extendiéndose hacia fuera en cualquier dirección desde este. En algunas realizaciones, estos filamentos pueden comprender tejido parcial o completamente descelularizado que se ha homogeneizado, colocado en un molde que tenga la o las formas de filamento deseadas, secado en el molde y, opcionalmente, reticulado para conservar la forma de filamentos finos. En ciertas realizaciones, los filamentos comprenden materiales sintéticos biocompatibles y/o reabsorbibles (p. ej., policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, o polidioxanona) además o en lugar del tejido descelularizado, y se moldean a las formas deseadas como se explicó anteriormente para los filamentos de tejido descelularizado. En algunas realizaciones, los filamentos tienen una longitud de al menos aproximadamente 1,0 mm, y pueden ser de hasta aproximadamente 10 cm de longitud (p. ej., de aproximadamente 1,0 mm, 5,0 mm, 1 cm, 2 cm, 5 cm o 10 cm o cualquier longitud intermedia). En ciertas realizaciones, el cirujano puede determinar la longitud final del filamento que usar, quien puede cortar el filamento a una longitud deseada. En varias realizaciones, los filamentos tienen al menos una dimensión en sección transversal de hasta aproximadamente 2,0 mm (p. ej., un diámetro de aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5 o 2,0 mm o cualquier valor intermedio). En algunas realizaciones, los filamentos proporcionan una vía bajo la cual la sangre y/u otros fluidos corporales pueden fluir para alcanzar el colector de drenaje tisular después del implante en un paciente.

20 Los colectores de drenaje tisulares, como se ha descrito anteriormente, pueden ser envasados como productos congelados, liofilizados, hidratados y/o deshidratados. En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares envasados son estériles. En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se proporcionan en un kit que comprende un colector de drenaje tisular envasado e instrucciones para preparar y/o usar el colector.

25 **Métodos para fabricar colectores de drenaje tisulares**

30 En la presente memoria se describen métodos para fabricar colectores de drenaje tisulares. En algunas realizaciones, el método comprende seleccionar un tejido que contenga una matriz extracelular; descelularizar parcial o completamente el tejido; opcionalmente, micronizar el tejido; cortar y, opcionalmente, enrollar el tejido para darle una forma deseada; procesar el tejido para añadir ranuras, orificios y/u otros canales; y reticular el tejido parcial o completamente descelularizado.

35 En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular puede prepararse de cualquier tejido que sea adecuado para la descelularización y el implante posterior. Los tejidos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, hueso, piel, dermis, tejido adiposo, intestino, vejiga urinaria, tendón, ligamento, músculo, fascia, tejido neurológico, tejido vascular, vaso, hígado, corazón, pulmón, riñón, cartílago y/o cualquier otro tejido adecuado. En ciertas realizaciones, los tejidos pueden incluir un tejido blando de mamífero. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el tejido puede comprender dermis de mamífero. En ciertas realizaciones, la dermis puede separarse de la epidermis y/u otros tejidos circundantes, tal como grasa subcutánea. En ciertas realizaciones, el tejido puede comprender submucosa de intestino delgado o tejido adiposo de mamífero. En ciertas realizaciones, el tejido puede incluir fuentes humanas y/o no humanas. Las fuentes de tejido no humanas ilustrativas incluyen, aunque no de forma limitativa, cerdos, ovejas, cabras, vacas, conejos, monos y/u otros mamíferos no humanos.

45 En algunas realizaciones, se prepara un colector de drenaje tisular descelularizando parcial o completamente un tejido donante. En la patente US-6.933.326 y la solicitud de patente US-2010/0272782 se describen métodos ilustrativos para descelularizar tejido. En algunas realizaciones, el tejido descelularizado proporciona una estructura base extracelular porosa en la que las células del tejido natural circundante pueden migrar y proliferar tras el implante en un lecho receptor. En ciertas realizaciones ilustrativas, el tejido acelular comprende ALLODERM® o STRATTICE™ (LifeCell Corporation, Branchburg, NJ), que son productos dérmicos humanos y productos dérmicos porcinos acelulares, respectivamente.

50 En varias realizaciones, las etapas generales en las que consiste la producción de una matriz de tejido parcialmente descelularizado o acelular incluyen proporcionar tejido de un donante (p. ej., una fuente de cadáver humano o animal) y retirar el material celular en condiciones que conserven algunas o todas las funciones biológicas y/o estructurales de la matriz extracelular. En ciertas realizaciones, el tejido se puede lavar para eliminar cualquier crioprotector residual y/u otros contaminantes. Las soluciones usadas para el lavado pueden ser cualquier solución fisiológicamente compatible. Los ejemplos de soluciones de lavado adecuadas incluyen agua destilada, solución salina tamponada con fosfato (PBS) o cualquier otra solución salina biocompatible.

60 En ciertas realizaciones, el tejido lavado puede tratarse químicamente para estabilizar el tejido para evitar la degradación bioquímica y/o estructural antes, durante o después de la eliminación de células. En varias realizaciones, la solución estabilizadora detiene e impide la degradación osmótica, hipóxica, autolítica y/o proteolítica; protege frente a la contaminación microbiana; y/o reduce el daño mecánico que puede producirse durante la descelularización de los tejidos que contienen, por ejemplo, componentes de músculo liso (p. ej., vasos sanguíneos). La solución estabilizadora puede contener un tampón apropiado, uno o más antioxidantes, uno o más agentes oncóticos, uno o más antibióticos, uno o más inhibidores de proteasa y/o uno o más relajantes de músculos lisos.

En varias realizaciones, el tejido se puede colocar en una solución de descelularización para eliminar células viables y no viables (p. ej., células epiteliales, células endoteliales, células de músculo liso, fibroblastos, etc.) de la matriz extracelular sin dañar la integridad biológica y/o estructural de la matriz extracelular. La solución de descelularización puede contener un tampón, una sal, un antibiótico, uno o más detergentes (p. ej., TRITON X-100™, dodecil-sulfato de sodio, deoxicolato de sodio, polioxietileno (20) monooleato de sorbitán, etc.), uno o más agentes para evitar la reticulación, uno o más inhibidores de proteasa, y/o una o más enzimas apropiados. En algunas realizaciones, la solución de descelularización comprende 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 %, 3,0 %, 3,5 %, 4,0 %, 4,5 % o 5,0 % (o cualquier porcentaje intermedio) de TRITON X-100™ y, opcionalmente, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM o 50 mM de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (o cualquier concentración intermedia). En ciertas realizaciones, la solución de descelularización comprende 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 %, 3,0 %, 3,5 %, 4,0 %, 4,5 % o 5,0 % (o cualquier porcentaje intermedio) de deoxicolato de sodio y, opcionalmente, 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM o 20 mM de tampón HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetasulfónico) conteniendo 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM, o 50 mM de EDTA (o cualquier concentración intermedia). En algunas realizaciones, el tejido se incuba en la solución de descelularización a 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 o 42 grados centígrados (o cualquier temperatura intermedia) y, opcionalmente, se aplica una agitación suave a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 o 150 rpm (o cualquier rpm intermedio). La incubación puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 24, 36, 48 o 96 horas (o cualquier tiempo intermedio). La duración del tiempo de exposición a la solución de descelularización o la concentración de detergente y/u otros agentes de descelularización puede ajustarse para descelularizar parcial o más completamente el tejido. En ciertas realizaciones, pueden usarse detergentes adicionales para eliminar las células de la muestra de tejido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se utilizan deoxicolato de sodio y TRITON X-100™ para descelularizar y separar otros componentes de tejido no deseados de la matriz de tejido extracelular.

En ciertas realizaciones, el tejido descelularizado puede colocarse en una solución que contenga hidróxido de calcio. En algunas realizaciones, el hidróxido de calcio está en una concentración de aproximadamente 0,05 %-1,0 % (p/v) de hidróxido de calcio (p. ej., aproximadamente 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, 0,4, 0,45, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0 % p/v) (o cualquier porcentaje intermedio). En algunas realizaciones, el tejido se coloca en la solución de hidróxido de calcio a aproximadamente 20-40 °C (p. ej., aproximadamente 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 °C) (o cualquier temperatura intermedia). En algunas realizaciones, el tejido se coloca en la solución de hidróxido de calcio durante aproximadamente 1-5 días (p. ej., aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 días, o cualquier período de tiempo intermedio). En algunas realizaciones, la solución de hidróxido de calcio sirve para disolver los componentes de tejido no deseados. Por ejemplo, si el tejido es tejido dérmico, la solución de hidróxido de calcio puede disolver la epidermis y permitir la eliminación manual de los folículos pilosos. En ciertas realizaciones, después del tratamiento con hidróxido de calcio, el hidróxido de calcio puede neutralizarse, por ejemplo, usando ácido acético.

En algunas realizaciones, después de la descelularización, la muestra de tejido se lava a fondo. Para el lavado puede usarse cualquier solución fisiológicamente compatible. Los ejemplos de soluciones de lavado adecuadas incluyen agua destilada, solución salina tamponada con fosfato (PBS) o cualquier otra solución salina biocompatible. En algunas realizaciones, la solución de lavado puede contener un desinfectante. En ciertas realizaciones, el desinfectante es ácido peracético (PAA), por ejemplo, en una concentración de 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4 o 0,5 % (o cualquier porcentaje intermedio). En ciertas realizaciones, p. ej., cuando se usa material xenogénico o alogénico, el tejido descelularizado se trata luego durante la noche a temperatura ambiente con una solución de desoxirribonucleasa (DNasa). En algunas realizaciones la muestra de tejido se trata con una solución de DNasa preparada en un tampón DNasa (p. ej., 20 mM de tampón HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetasulfónico), 20 mM de CaCl<sub>2</sub> y 20 mM de MgCl<sub>2</sub>). Opcionalmente puede añadirse una solución de antibiótico (p. ej., gentamicina) a la solución de DNasa. Puede usarse cualquier solución de DNasa preparada en un tampón, siempre que el tampón proporcione actividad de DNasa adecuada.

Aunque el tejido acelular o parcialmente descelularizado en un colector de drenaje tisular pueda derivarse de uno o más animales donantes de la misma especie que el animal receptor previsto, este no es necesariamente el caso. Así, por ejemplo, el tejido acelular en un colector de drenaje tisular puede prepararse a partir de tejido porcino e implantarse en un paciente humano. Las especies que pueden servir como donantes y/o receptores de tejido acelular incluyen, sin limitación, mamíferos, tales como humanos, primates no humanos (p. ej., monos, babuinos o chimpancés), cerdos, vacas, caballos, cabras, ovejas, perros, gatos, conejos, cobayas, jerbos, hámsters, ratas, o ratones. En algunas realizaciones, puede usarse tejido de más de un animal donante.

En ciertas realizaciones, el tejido descelularizado puede tratarse con una o más enzimas para eliminar antígenos no deseados, p. ej., un antígeno que no se exprese normalmente por el animal receptor y, por lo tanto, es probable que conduzca a una respuesta inmunitaria y/o rechazo de un colector de drenaje tisular implantado. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el tejido descelularizado puede tratarse con alfa-galactosidasa para eliminar restos de alfa-galactosa (α-gal). En algunas realizaciones, para eliminar enzimáticamente los epítomos de α-gal, después de lavar el tejido a fondo con solución salina, el tejido puede someterse a uno o más tratamientos enzimáticos para eliminar los antígenos de α-gal, si están presentes en la muestra. En ciertas realizaciones, el tejido puede tratarse con una enzima α-galactosidasa para eliminar los epítomos de α-gal. En una realización, el tejido se trata con α-galactosidasa



en una concentración de aproximadamente 0,2 U/ml preparada en 100 mM de una solución salina tamponada con fosfato con un pH 6,0. En otras realizaciones, la concentración de  $\alpha$ -galactosidasa se reduce a aproximadamente 0,1 U/ml o se aumenta a aproximadamente 0,3, 0,4 o 0,5 U/ml (o cualquier valor intermedio). En otras realizaciones, puede usarse cualquier concentración de enzima y tampón adecuados, siempre que se consiga una eliminación suficiente de antígeno. Además, en Xu y col., *Tissue Engineering*, Vol. 15, 1-13 (2009) se describen algunos métodos ilustrativos de procesamiento de tejidos para reducir o eliminar restos de alfa-1,3-galactosa.

En ciertas realizaciones, pueden seleccionarse animales que se hayan modificado genéticamente para que carezcan de uno o más epítomos antigénicos como la fuente de tejido para el colector de drenaje tisular. Por ejemplo, pueden seleccionarse animales (p. ej., cerdos) que se hayan modificado genéticamente para que carezcan de la expresión del resto terminal  $\alpha$ -galactosa como fuente de tejido. Véanse las descripciones de animales y métodos apropiados para producir animales transgénicos para xenotrasplante en la solicitud de patente US-10/896.594 y la patente US-6.166.288.

En algunas realizaciones, el tejido descelularizado puede tratarse para reducir la carga microbiana (es decir, para reducir el número de microorganismos que crecen en el tejido). En algunas realizaciones, el tejido tratado carece prácticamente de carga microbiana (es decir, el tejido es aséptico o estéril). El experto en la técnica conoce métodos adecuados para la reducción de la carga microbiana, que pueden incluir exponer el tejido a radiación.

La irradiación puede reducir o eliminar sustancialmente la carga microbiana. En algunas realizaciones, se libera una dosis absorbida de aproximadamente 14-18 KGy de radiación de haz de electrones para reducir o eliminar sustancialmente la carga microbiana. En varias realizaciones, se expone un colector de drenaje tisular a aproximadamente 5 Gy y 50 KGy de radiación (p. ej., aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 KGy, o cualquier valor intermedio). Las formas adecuadas de radiación pueden incluir radiación gamma, radiación de haz de electrones y radiación de rayos X. Otros métodos de irradiación se describen en la solicitud de patente US-2010/0272782.

En ciertas realizaciones, después de la descelularización, las células viables pueden cultivarse, opcionalmente, en la matriz extracelular del tejido descelularizado. En algunas realizaciones, las células viables pueden añadirse a la matriz mediante técnicas estándares de cultivo celular in vitro antes del trasplante, o mediante una repoblación in vivo después del trasplante. La repoblación in vivo puede ser mediante la migración de células naturales del tejido circundante a la matriz tras el implante de un colector de drenaje tisular, o infundiendo o inyectando células viables obtenidas del receptor o de otro donante en el colector de drenaje tisular en el sitio. Pueden usarse varios tipos de células, incluidas las células madre, tales como células madre embrionarias y/o células madre adultas (p. ej., células madre mesenquimatosas). También se puede utilizar cualquier otra célula viable. En algunas realizaciones, las células son células de mamíferos. En ciertas realizaciones, las células son histocompatibles con el sujeto en el que se implantan. Tales células pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural. En varias realizaciones, las células pueden aplicarse directamente a la matriz de un tejido descelularizado justo antes o después del implante.

En ciertas realizaciones, pueden añadirse uno o más agentes adicionales a la matriz extracelular de un tejido descelularizado. En algunas realizaciones, el agente adicional puede comprender un agente antiinflamatorio, un analgésico, o cualquier otro agente terapéutico o ventajoso deseado. En ciertas realizaciones, el agente adicional puede comprender, al menos, un factor de crecimiento o señalización añadido (p. ej., un factor de crecimiento celular, un factor angiogénico, un factor de diferenciación, una citoquina, una hormona y/o una quimiocina). En algunas realizaciones, estos agentes adicionales pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural dentro de la matriz extracelular. En algunas realizaciones, el factor de crecimiento o señalización está codificado por una secuencia de ácido nucleico contenida dentro de un vector de expresión. Preferiblemente, el vector de expresión está en una o más de las células viables que pueden incluirse, opcionalmente, en la matriz extracelular del tejido descelularizado. Como se utiliza en la presente memoria, el término "vector de expresión" se refiere a cualquier estructura de ácido nucleico que es capaz de ser adoptada por una célula, que contiene una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína deseada y que contiene las otras secuencias de ácido nucleico necesarias (p. ej., promotores, potenciadores, codón de terminación, etc.) para asegurar al menos una expresión mínima de la proteína deseada por la célula.

En varias realizaciones, el tejido descelularizado se corta o se procesa de cualquier otra forma para formar un tubo, una columna, una lámina u otra forma deseada. En algunas realizaciones, el tejido descelularizado se procesa para que tenga, al menos, una dimensión en sección transversal de hasta aproximadamente 20 mm (p. ej., una dimensión de aproximadamente 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 o 1 mm o cualquier valor intermedio). En ciertas realizaciones, el tejido descelularizado se procesa para tener una longitud de hasta aproximadamente 20 cm (p. ej., aproximadamente 1, 5, 10, 15 o 20 cm, o cualquier longitud intermedia). En algunas realizaciones, se añaden ranuras, canales y/u orificios al tejido descelularizado, por ejemplo, utilizando hojas, agujas, u otros dispositivos de corte, o utilizando vaporización láser (p. ej., un láser excimérico a longitudes de onda marcadas por KrF o ArF). Por ejemplo, puede usarse un sistema Mini-24™ de CO<sub>2</sub> de Epilog Laser (Epilog Laser, Golden, CO) para cortar, perforar y/o grabar el tejido descelularizado utilizando aproximadamente 65 %-100 % de potencia y aproximadamente 25 %-75 % de la configuración máxima de velocidad. En ciertas realizaciones, las ranuras, canales y/u orificios constituyen hasta aproximadamente 70 % (p. ej., hasta aproximadamente 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 %, o cualquier porcentaje intermedio) de la superficie específica del colector de drenaje tisular. En algunas realizaciones, las ranuras o los canales se practican hasta un espesor de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm en los colectores de drenaje. En ciertas realizaciones, los orificios tienen un diámetro de

aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm. En la **Fig.1A-C** se muestran colectores de drenaje tisular ilustrativos que comprenden ranuras, canales y orificios.

En algunas realizaciones, el tejido descelularizado se corta en tiras finas y se enrolla para formar un tubo u otra forma hueca. En ciertas realizaciones, las tiras finas se cortan para tener un espesor de hasta aproximadamente 2,5 mm (p. ej., hasta aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 o 2,5 mm, o cualquier valor intermedio), una anchura de hasta aproximadamente 20 mm (p.ej., de hasta aproximadamente 5, 10, 15 o 20 mm, o cualquier valor intermedio), y una longitud de hasta aproximadamente 20 cm (p.ej., de hasta aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20 cm, o cualquier valor intermedio). En algunas realizaciones, las tiras de tejido se enrollan en un tubo hueco o en otra forma hueca. Por ejemplo, las tiras de tejido pueden envolverse alrededor de un molde, tal como una barra u otra estructura alargada, que a continuación se retira para dejar un colector de drenaje tisular que comprende un tubo hueco enrollado. En ciertas realizaciones, puede formarse un colector de drenaje tisular uniendo entre sí múltiples subunidades que comprenden tiras enrolladas huecas de tejido descelularizado alineadas a lo largo de sus extremos abiertos. En algunas realizaciones, las subunidades se mantienen juntas envolviendo tiras finas adicionales de tejido descelularizado alrededor de los puntos donde las subunidades entran en contacto entre sí. En ciertas realizaciones, se añaden ranuras, canales, y/u orificios al tejido enrollado, por ejemplo, utilizando un bisturí, una aguja, u otro dispositivo de corte, o utilizando vaporización con láser (p. ej., un láser un láser excimérico a longitudes de onda marcadas por KrF o ArF). Por ejemplo, puede usarse un sistema Mini-24™ de CO<sub>2</sub> de Epilog Laser (Epilog Laser, Golden, CO) para cortar, perforar y/o grabar el tejido descelularizado utilizando aproximadamente 65 %-100 % de potencia y aproximadamente 25 %-75 % de la configuración máxima de velocidad. En ciertas realizaciones, las ranuras, canales y/u orificios constituyen hasta aproximadamente 70 % (p. ej., hasta aproximadamente 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10 %, o cualquier porcentaje intermedio) de la superficie específica del colector de drenaje tisular. En algunas realizaciones, las ranuras o los canales se practican hasta un espesor de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm en los colectores de drenaje. En algunas realizaciones, los orificios tienen un diámetro de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 3,0 mm.

En ciertas realizaciones, las tiras finas de tejido descelularizado que se enrollan para formar un colector de drenaje tisular comprenden tejido micronizado. El tejido puede micronizarse utilizando cualquier técnica adecuada, por ejemplo, mediante mezclado, troceado u homogeneización del tejido. En algunas realizaciones, el tejido micronizado se reconstituye a continuación para formar láminas finas. Por ejemplo, el tejido micronizado puede colocarse en una lámina de material de soporte (p. ej., una toallita GAMMA WIPE®, Berkshire Corp., Great Barrington, MA) y se enrolla o presiona (p. ej., utilizando un rodillo para pasta) para formar láminas finas de tejido micronizado. En algunas realizaciones, las láminas finas se reticulan para aumentar la resistencia estructural utilizando, p. ej., métodos químicos o hidrotérmicos. En algunas realizaciones, las láminas finas se cortan a continuación para formar tiras que se enrollan para hacer una forma deseada, tal como se ha descrito anteriormente.

En varias realizaciones, los colectores de drenaje tisulares pueden reticularse (p. ej., utilizando reticulación química, deshidrotérmica o irradiación) para mantener una forma deseada tras el implante. En algunas realizaciones, puede prepararse un colector de drenaje tisular reticulado poniendo en contacto el colector con un agente de reticulación químico (tal como glutaraldehído, genipin, y/o un agente de reticulación reversible, tal como 1,2,3,4,6-pentagalolil-glucoza (PGG)). En algunas realizaciones, el agente de reticulación está en una solución a una concentración de aproximadamente 0,01-2,0 % (p/v) (p. ej., aproximadamente 0,01, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,5 o 2,0 %, o cualquier porcentaje intermedio). En ciertas realizaciones, se deja que la reacción de reticulación prosiga aproximadamente a temperatura ambiente (p. ej., a aproximadamente 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 °C, o cualquier temperatura intermedia) durante 12-60 horas (p. ej., 12, 15, 20, 24, 36, 48 o 60 horas, o cualquier período de tiempo intermedio).

En algunas realizaciones se utiliza reticulación por radiación, p. ej., el colector de drenaje tisular se reticula exponiéndolo a radiación. Las formas adecuadas de radiación pueden incluir radiación gamma, radiación de haz de electrones y radiación de rayos X. Otros métodos de irradiación se describen en la solicitud de patente US-2010/0272782. En algunas realizaciones, se reticula un colector exponiéndolo a radiación de haz de electrones. Por ejemplo, se puede exponer un colector a entre 5 y 50 Kgy de radiación de haz de electrones (p. ej., aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 Kgy, o cualquier valor intermedio).

En algunas realizaciones, los colectores se exponen a radiación para aumentar su resistencia estructural. Por ejemplo, se puede seleccionar una dosis de radiación de haz de electrones (p. ej., 5-50 Kgy) para transmitir suficiente reticulación en el colector para evitar que el colector se hunda después del implante y/o para proporcionar un colector que tenga una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a la de un drenaje sintético. En algunas realizaciones, el colector se ablanda a continuación a lo largo del tiempo después del implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de la matriz extracelular en el tejido descelularizado. En algunas realizaciones, el colector se repuebla finalmente con células naturales (p. ej., después de 2, 3, 4, 5 o más días, o cualquier período de tiempo intermedio), evitando así la necesidad de retirar el colector del paciente al finalizar una intervención de drenaje.

En varias realizaciones, el tejido puede descelularizarse en un colector de drenaje tisular antes o después de darle forma al tejido, antes o después de reticular el tejido y/o antes o después de procesar el tejido para que contenga ranuras, canales y/u orificios.

En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares texturizados se preparan utilizando tejido texturizado que ha sido parcial o completamente descelularizado. En algunas realizaciones, el tejido puede texturizarse poniéndolo en contacto con una retícula con la forma deseada y aplicando presión para imprimir la forma de retícula sobre el tejido. En algunas realizaciones, la retícula comprende cuadrados que tienen dimensiones de aproximadamente 0,5-3,5 mm (p. ej., aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 o 3,5 mm, o cualquier valor intermedio).

En varias realizaciones, pueden unirse uno o más filamentos que comprendan tejido descelularizado o material sintético a un colector de drenaje tisular. Uno o más filamentos pueden unirse al colector de drenaje en cualquier posición adecuada para permitir que la sangre u otros fluidos corporales fluyan hacia abajo del filamento y entren en el colector de drenaje tisular. En algunas realizaciones, los filamentos se preparan homogeneizando un tejido parcial o completamente descelularizado, reconstituyendo el tejido homogeneizado en un molde que tiene una forma de filamento deseada, dejando que el tejido homogeneizado se seque en el molde y, opcionalmente, reticulando los filamentos para ayudar a que retengan su forma. En ciertas realizaciones, los filamentos pueden comprender materiales sintéticos biocompatibles y/o reabsorbibles (p. ej., policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, o polidioxanona) además o en lugar de tejido descelularizado.

#### Métodos de uso

En la presente memoria se describen métodos de uso de los colectores de drenaje tisulares descritos anteriormente.

En varias realizaciones, uno o más colectores de drenaje tisulares se implantan para proporcionar canal(es) para llevar la presión negativa a un lugar de implante y/o para eliminar la sangre u otros fluidos del lugar de implante. En algunas realizaciones, el colector se implanta después del cierre de heridas o incisión quirúrgica para proporcionar un drenaje adecuado, p. ej., después de una intervención quirúrgica, tal como la extirpación de un tumor, una cirugía abdominal, implante mamario u otra cirugía plástica. En ciertas realizaciones, el colector puede implantarse por sí solo y puede proporcionar un conducto para canalizar el fluido y la presión negativa. En otras realizaciones, el colector implantado puede estar rodeado por un material de drenaje sintético o colocado encima de este, p. ej., para aumentar la resistencia inicial del implante y/o para evitar que la presión negativa y/o el fluido se escapen del implante.

En algunas realizaciones, el material sintético comprende un tubo hueco o funda que rodea, al menos, una parte del colector de drenaje tisular. En otras realizaciones, el material sintético comprende un tubo hueco u otro material poroso, y el colector de drenaje tisular está recubierto o envuelto de cualquier otra forma alrededor de al menos una parte del material sintético. En ciertas realizaciones, el material sintético es un material biocompatible y/o biorreabsorbible que no necesita retirarse al finalizar un procedimiento de drenaje. Los ejemplos de estos materiales incluyen, aunque no de forma limitativa, policaprolactona, ácido poliláctico, poliuretano, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, polidioxanona u otros polímeros o materiales biológicos similares conocidos por degradarse in vivo. En la **Fig. 1A** se muestra un ejemplo de un recubrimiento sintético 101 que rodea un colector 100 de drenaje tisular que comprende ranuras 102.

En varias realizaciones, uno o más colectores de drenaje tisulares se retienen dentro del lugar de implante y se reabsorben por la migración y proliferación de células naturales del tejido que rodea el lugar de implante en la estructura base extracelular proporcionada por el tejido descelularizado en los colectores. En algunas realizaciones, la retención de uno o más colectores en el lugar de implante evita el dolor, la incomodidad, el daño adicional al tejido y/o la deformación cicatricial adicional que podrían derivarse potencialmente de la retirada del implante al finalizar un procedimiento de drenaje.

En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular se conecta a un drenaje de fluido convencional que comprende un polímero u otro material sintético, creando, de este modo, una extensión de drenaje tisular biocompatible y/o biorreabsorbible. En algunas realizaciones, la extensión de drenaje se implanta en el punto más profundo dentro de un tejido blando de un paciente con el material sintético restante extendiéndose desde la extensión de drenaje implantada profundamente hasta la superficie exterior de un paciente en el que se está implantando el drenaje.

En varias realizaciones, el drenaje sintético se retira al finalizar un procedimiento de drenaje, mientras que la extensión de drenaje se retiene dentro del lugar de implante y se reabsorbe por la repoblación de células naturales del tejido que rodea el lugar de implante. En ciertas realizaciones, el drenaje sintético comprende un material sintético biocompatible y/o biorreabsorbible. En algunas realizaciones, el material sintético, así como la extensión de drenaje tisular, se retienen dentro del lugar de implante al finalizar un procedimiento de drenaje. En ciertas realizaciones, el material sintético se reabsorbe al finalizar el drenaje, mientras que la extensión de drenaje tisular se repuebla con células naturales. En algunas realizaciones, la retención del drenaje y/o la extensión del drenaje en el lugar de implante evita el dolor, la incomodidad, el daño adicional del tejido y/o la deformidad cicatricial adicional que podrían derivarse potencialmente de la retirada.

En algunas realizaciones, el colector de drenaje tisular implantado se reticula para potenciar la resistencia estructural, p. ej., mediante la reticulación por radiación de haz de electrones. Por ejemplo, se puede exponer un colector a entre 5 y 50 KGy de radiación de haz de electrones (p. ej., aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 KGy, o cualquier valor intermedio). En algunas realizaciones, puede seleccionarse una dosis de radiación de haz de electrones

(p. ej., 5-50 KGy) para transmitir suficiente reticulación en el colector para evitar que el colector se hunda después del implante y/o para proporcionar un colector que tenga una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a la de un drenaje sintético. En algunas realizaciones, el colector se ablanda a continuación a lo largo del tiempo después del implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante proliferan dentro de la matriz extracelular en el tejido descelularizado. En algunas realizaciones, el colector se repuebla finalmente con células naturales (p. ej., después de 2, 3, 4, 5 o más días, o cualquier período de tiempo intermedio), evitando así la necesidad de retirar el colector del paciente al finalizar una intervención de drenaje.

En varias realizaciones, los colectores de drenaje tisulares proporcionan una resistencia estructural inicial después del implante aproximadamente equivalente a la de los drenajes sintéticos, tal como un drenaje polimérico de Jackson-Pratt o Brake. En algunas realizaciones, la resistencia estructural inicial de un colector de drenaje tisular, medida por compresión utilizando un durómetro con una sonda tipo OO es de al menos aproximadamente 24 (p. ej., al menos aproximadamente 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 o 40, o cualquier valor intermedio). En ciertas realizaciones, el colector de drenaje tisular está recubierto sobre un material de drenaje sintético o está rodeado por este, aumentando de este modo la resistencia estructural inicial durante el implante. En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares se reticulan para aumentar su rigidez inicial y para ayudar a conservar las formas deseadas del colector después del implante.

En varias realizaciones, un colector de drenaje tisular implantado (con o sin un componente sintético) se ablanda a lo largo del tiempo a medida que el implante se reabsorbe y se repuebla con tejido natural. En ciertas realizaciones, el colector se ablanda a medida que los componentes se reabsorben y/o se repueblan con células naturales del tejido circundante. En algunas realizaciones, un colector de drenaje tisular tiene una rigidez reducida de hasta aproximadamente 22, medida por un durómetro con una sonda de tipo OO (p. ej., hasta aproximadamente 22, 20, 18, 16, 14, 12 o 10, o cualquier valor intermedio) al menos aproximadamente dos días después del implante (p. ej., después de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, o cualquier período de tiempo intermedio). En algunas realizaciones, el colector implantado no necesita ser retirado al finalizar un procedimiento de drenaje porque se reabsorbe y/o repuebla con células naturales. En ciertas realizaciones, el colector de drenaje tisular comprende células y/u otros factores que promueven o potencian la repoblación y/o curación en el lugar de implante.

En varias realizaciones, uno o más colectores de drenaje tisulares implantados mejoran la curación y/o mantenimiento del fluido en el lugar de implante. En algunas realizaciones, los colectores proporcionan canales para el suministro de presión negativa a un lugar de implante y para la eliminación del fluido del lugar. En algunas realizaciones, los colectores implantados comprenden tejido descelularizado y/o componentes sintéticos que son biocompatibles, evitando de este modo la inducción de una respuesta inmunitaria sustancial que podría interferir con la curación y/o el mantenimiento fluido en el lugar de implante. Como se utiliza en la presente memoria, una "respuesta inmunitaria sustancial" es aquella que evita la curación parcial o completa del tejido natural en el lugar de implante, la repoblación con células naturales de los colectores y/o el drenaje de fluidos por los colectores. En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares implantados pueden carecer de ciertos antígenos no deseables para evitar la inducción de una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares implantados pueden carecer de prácticamente todos los restos de  $\alpha$ -gal que se conocen que provocan una respuesta inmunitaria en humanos.

En ciertas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares que se implantan en un paciente comprenden tejido humano y/o animal que está completa o sustancialmente exento de todas las células normalmente presentes en el tejido del que se obtiene el colector. En algunas realizaciones, los colectores de drenaje tisulares implantados pueden incluir una estructura base extracelular que se ha repoblado con células viables. En varias realizaciones, las células viables pueden aplicarse a la estructura base extracelular antes o después del implante. En ciertas realizaciones, un colector de drenaje tisular implantado puede además comprender uno o más agentes adicionales. En algunas realizaciones, el agente adicional puede comprender un agente antiinflamatorio, un analgésico o cualquier otro agente terapéutico o ventajoso deseado que favorezca la curación del tejido natural, la repoblación con células naturales del colector y/o el mantenimiento de fluidos después del implante. En ciertas realizaciones, el agente adicional puede comprender, p. ej., al menos un factor de crecimiento o señalización añadido (p. ej., un factor de crecimiento celular, un factor angiogénico, un factor de diferenciación, una citoquina, una hormona y/o una quimiocina). Estos agentes adicionales pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural.

En varias realizaciones, puede usarse un colector de drenaje tisular como parte de un sistema de tratamiento con presión negativa. Por ejemplo, la **Fig. 5** ilustra un sistema de presión negativa que incluye un colector de drenaje tisular de la presente descripción. Según muestra la **Fig. 5**, un sistema de presión negativa puede incluir, en ciertas realizaciones ilustrativas, un dispositivo 120 de tratamiento con presión reducida. El dispositivo 120 de tratamiento con presión reducida puede incluir una bomba 122 conectada en comunicación de fluidos a un colector 180 de drenaje tisular, p. ej., a través de un paso o tubo 124 de fluido. El colector 180 puede colocarse en el lugar 150 de implante. En otras realizaciones, se aplica una talla quirúrgica o paños 160 de campo sobre el colector 180 para sellar la epidermis alrededor del lugar 150 de implante. Además, en otras realizaciones, el pasaje o tubo 124 de fluido pasa a través de la talla quirúrgica 160 para conectar la bomba 122 y el colector 180. Por tanto, en ciertas realizaciones, el dispositivo 120 de tratamiento con presión negativa puede proporcionar presión negativa desde una fuente 122 de presión negativa externa a un colector 180 de drenaje tisular en un lugar 150 de implante mientras se mantiene un sellado epidérmico al pasar el tubo 124 a través de la talla quirúrgica 160.

En ciertas realizaciones del sistema de tratamiento con presión negativa, puede usarse una variedad de dispositivos de tratamiento con presión reducida. Por ejemplo, los dispositivos de tratamiento con presión reducida adecuados incluyen dispositivos de tratamiento V.A.C.® (KCI, San Antonio, Texas). Estos dispositivos de tratamiento con presión reducida pueden incluir, en algunas realizaciones, una bomba de vacío similar a la bomba 122 mostrada en la **Fig. 5**. Tales dispositivos pueden incluir también, en algunas realizaciones, una lámina flexible 160 para cubrir el lugar 150 de implante y al menos sellar parcialmente el lugar de implante. Además, tales sistemas pueden incluir, en varias realizaciones, uno o más colectores de drenaje tisulares, como se describe más adelante. En algunas realizaciones, uno o más colectores 180 de drenaje tisulares se colocan en el lugar 150 de implante y sirven para canalizar la presión negativa y/o el fluido del lugar 150 de implante. En realizaciones adicionales, los colectores 180 pueden facilitar el cierre y/o la curación tisular y/o usarse para ayudar a prevenir y/o tratar la infección en el lugar de implante.

En ciertas realizaciones, se usan colectores de drenaje tisulares que comprenden uno o más filamentos como parte de un procedimiento de drenaje o un sistema de tratamiento con presión negativa. En algunos casos, el uso de solo un sistema de drenaje o presión negativa (es decir, sin un colector de drenaje que comprenda uno o más filamentos) puede causar la acumulación de sangre u otros fluidos corporales en cavidades distales que no pueden alcanzarse mediante el colector de drenaje o el sistema de presión negativa. En tales casos, existe la posibilidad de que puedan formarse seromas y/o hematomas no deseables. Así, en ciertas realizaciones, para reducir el riesgo de formación de seromas y/o hematomas y para mejorar el drenaje puede implantarse en un paciente un colector de drenaje tisular que comprenda uno o más filamentos. En algunas realizaciones, el cirujano que implanta el colector de drenaje tisular puede cortar el uno o más filamentos en longitudes deseadas y colocar los filamentos en lugares apropiados en el lugar de implante para optimizar el drenaje. En ciertas realizaciones, los filamentos proporcionan una vía para canalizar sangre o fluido al colector de drenaje tisular, evitando de este modo la acumulación no deseable de sangre u otros fluidos corporales en lugares distales no alcanzables por el colector de drenaje tisular implantado y/o por el sistema de presión negativa.

Puede implantarse un colector de drenaje tisular en un paciente como parte de cualquier intervención médica en la que se requiera un tratamiento de fluidos. Por ejemplo, los colectores de drenaje tisulares pueden implantarse como parte de un régimen de tratamiento de heridas para gestionar la acumulación de fluido en el lugar de las heridas. En otro ejemplo, los colectores de drenaje tisulares pueden usarse tras una intervención quirúrgica donde se requiere el mantenimiento de drenaje y/o de otro fluido, p. ej., para reducir el riesgo y/o para tratar la formación de seromas y/o hematomas tras la cirugía.

#### Ejemplos

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar y no para limitar en modo alguno la presente descripción.

#### Ejemplo 1: Preparación de colectores de drenaje tisulares dérmicos

Los colectores de drenaje pueden prepararse a partir de tejido dérmico obtenido de varios animales. El espesor y la densidad de la dermis varían dependiendo de las especies elegidas (porcina, bovina, etc.) y la región del animal de la cual se obtiene la dermis. La dermis que se obtiene cerca de la superficie espinal posterior es densa, más rígida y puede tener un espesor de hasta 5 mm. Pueden añadirse canales, ranuras y orificios a la dermis mediante vaporización por láser, según ilustra la **Fig. 1A-C**. Después de la descclularización y de otras etapas de procesamiento del tejido, los materiales dérmicos micromecanizados pueden usarse como colectores de drenaje implantables ya sea solos o como una pieza de inserción dentro de un conducto externo de drenaje sintético para el tratamiento del drenaje de fluidos de un paciente.

De forma alternativa, las tiras dérmicas finas obtenidas de cualquier región de un animal donante pueden convertirse en colectores de drenaje implantables enrollando las tiras finas de dermis descclularizada en una forma deseada. En un ejemplo se cortó dermis porcina a un espesor de aproximadamente 0,8 mm y se descclularizó en una solución que contenía 5,85 % de cloruro sódico, 0,5 % de Triton X-100 y 0,1 mg/l de gentamicina a 37 °C durante 24 horas. Después de 4 lavados en solución salina durante un periodo de aproximadamente 18 horas para eliminar residuos de Triton X-100, las láminas dérmicas descclularizadas se cortaron en tiras de tejido de 10 mm de ancho que a continuación se desinfectaron con 0,1 % de ácido peracético (PAA) durante 1 hora. Las tiras de tejido desinfectadas se aclararon dos veces en solución salina. Las tiras de tejido se secaron retirando la humedad presionando con un material absorbente para que contuvieran aproximadamente 40-70 % de agua en masa y a continuación se enrollaron en un mandril de vidrio ( $\varnothing=1,5\sim 1,8$  mm), según ilustra la **Fig. 2**. A continuación, las tiras dérmicas enrolladas se envolvieron con una lámina Gamma Wipe® (55 % de celulosa y 45 % de poliéster), se envasaron en bolsas de papel de aluminio y se irradiaron por radiación de haz de electrones (aproximadamente 16 KGy). Después de la irradiación con haz de electrones, el tejido enrollado se endureció, la forma se estabilizó y podían prepararse colectores estables de hasta 20 cm de longitud.

Las tiras de tejido finas que se enrollan para formar colectores de drenaje tisulares pueden comprender fibras de matriz de tejido micronizado. Por ejemplo, se molió dermis porcina descclularizada con un molino Sympak a 3400 rpm usando un rotor Steg de 0,2 y un estátor de 19T (Sympak, Inc., Mundelein, IL). El material dérmico se pasó por el molino Sympak cuatro veces en una solución salina de Dulbecco tamponada con fosfato (PBS) en una relación de aproximadamente 1 l por cada 200 g de material dérmico descclularizado. La suspensión de fibras de tejido micronizado se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos para recoger las fibras de tejido. A continuación, se colocó una masa de fibras de tejido en una lámina Gamma Wipe®. La lámina se plegó alrededor de la masa de fibras de tejido y se colocó en un rodillo para

5 pasta en la configuración con el hueco más ancho. El estiramiento se repitió con distancias progresivamente más estrechas antes de retirar la toallita Gamma Wipe y replegar la mitad de la toallita sobre sí misma dos veces, manteniendo la orientación del pliegue en la misma dirección en la que se extruyó originalmente la toallita. El material plegado doble puede extruirse de nuevo de la misma manera si fuera necesario. La toallita Gamma Wipe se abrió a continuación sobre una superficie de corte adecuada. El tejido micronizado y extrudido se cortó en tiras en la misma dirección que la extrusión. Las tiras se envolvieron alrededor de un mandril de acero de manera que los lados de la tira apenas tocaran cada capa anterior de envoltura. El ángulo de los bordes en espiral debe ser de aproximadamente 45 grados con respecto al eje longitudinal. Las tiras de tejido envueltas y el mandril se colocaron en un secador de convección y se secaron a 45 °C. Las tiras de tejido y el mandril se colocaron en un congelador a -80 °C durante aproximadamente 15 minutos antes de que el mandril se retirara del colector tisular. Los colectores hechos de esta manera permanecen intactos tras la rehidratación.

Además de los tubos enrollados, es posible formar otras formas usando el mismo método. Por ejemplo, es posible fabricar múltiples subpartes, primero montándolas con tiras nuevas de tejido que se usan como cinta para sujetar las subpartes juntas antes de volver a aplicar la rutina de calor y secado descrita anteriormente.

15 Ejemplo 2: Ensayo mecánico de los colectores de drenaje tisulares dérmicos

Idealmente, los colectores de drenaje tisulares deben ser más rígidos durante los primeros días después de la cirugía para facilitar el tratamiento de los fluidos y posteriormente se ablandan para una mejor integración en el tejido del paciente. Para simular el ablandamiento después del implante quirúrgico se colocaron colectores de tejido que comprenden tiras enrolladas de dermis porcina descelularizada (3 cm de largo y 2,5-4,0 mm de diámetro) en un tubo cónico conteniendo 50 ml de solución tampón HEPES (20 mM HEPES, pH = 7,4 con 5 mM de CaCl<sub>2</sub>). Se añadió azida sódica a 0,05 % (p/v) para evitar el crecimiento bacteriano. Los colectores se incubaron a 37 °C con o sin 0,2 unidad/ml de colagenasa. Se probó el ablandamiento utilizando un durómetro con una sonda de tipo OO. Se tomaron tres lecturas por colector y se utilizó el valor promediado. Cuanto menores eran las lecturas del durómetro, más blando era el colector. Los colectores tisulares tenían una lectura de durómetro inicial de aproximadamente 31, que se redujo a aproximadamente 18 después de 5 días de incubación a 37 °C. En presencia de colagenasa el colector se ablandó con mayor rapidez (**Fig. 3**). A modo de comparación, se probó la blandura de drenajes de silicona Jackson-Pratt y drenajes de silicona Brake. La lectura media del durómetro para los drenajes de silicona blandos de Jackson-Pratt fue de 18,3±/2,4 (n=15), y la lectura media del durómetro para los drenajes de silicona Brake más rígidos fue de 52,2±/5,4 (n=15).

Ejemplo 3: Evaluación de colectores de drenaje tisulares dérmicos con superficie texturizada.

35 Se cortó dermis porcina a un espesor de 1,2 mm y se descelularizó en una solución que contenía 5,85 % de cloruro sódico, 0,5 % de Triton X-100 y 0,1 mg/l de gentamicina a 37 °C durante 24 horas. El tejido descelularizado se lavó en solución salina cuatro veces durante un período de aproximadamente 18 horas para eliminar el residuo de Triton X-100. A continuación, las láminas de tejido se trataron con 0,1 % de PAA durante aproximadamente 1 hora, después se aclararon otra vez dos veces en solución salina y finalmente se almacenaron en una solución salina que contenía 5 % de glicerol (p/v). Las láminas de tejido se secaron retirando la humedad presionando con un material absorbente para que contuvieran aproximadamente 40-70 % de agua en masa y a continuación se texturizaron sus superficies presionando una rejilla de acero inoxidable (1 mm de separación) sobre ambas caras de la lámina de tejido. A continuación, las láminas texturizadas se envasaron para someterlas a irradiación con haz de electrones (~16 KGy). Las láminas de control no se texturizaron en su superficie.

45 Las láminas de tejido de control y con superficie texturizada (**Fig. 4A**) se rehidrataron totalmente en una solución salina. Para examinar el rendimiento de las láminas de tejido texturizadas como colectores de drenaje, se realizó una prueba de retirada de fluido usando un dispositivo de succión de presión conectado a láminas de silicona blandas. Se intercaló una lámina de tejido entre dos láminas de silicona y se conectaron dos tubos de drenaje de 1,5 mm a cada extremo de la lámina de tejido para la retirada del fluido, según ilustra la **Fig. 4B**. La eficacia de la retirada de fluido se midió por el tiempo necesario para retirar 40 ml de la solución salina teñida con metileno verde. El tiempo de retirada para las láminas de control fue de 7,5 ± 3,8 min (N = 7) y de 3,5 ± 1,5 min (N = 7) para las láminas de tejido con la superficie texturizada. Así, las láminas de tejido con la superficie texturizada permitieron una retirada más rápida del fluido.

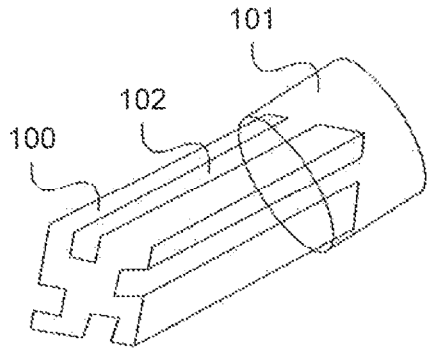
Los ejemplos anteriores pretenden ilustrar y no limitar de ninguna manera la presente descripción.

**REIVINDICACIONES**

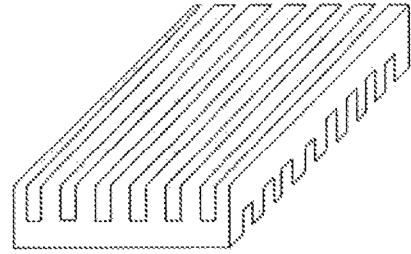
1. Un colector de drenaje tisular que comprende tejido parcial o completamente descelularizado que se ha micronizado, vuelto a formar en tiras finas, enrollado para formar tubos y reticulado, y que comprende además un componente sintético biocompatible o biorreabsorbible en forma de tubo hueco.
2. El colector de la reivindicación 1, en donde el tejido parcial o completamente descelularizado en el colector tiene una textura superficial de diseño reticular.
3. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el colector comprende múltiples tubos enrollados unidos entre sí con tiras de tejido descelularizado.
4. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el colector tiene una resistencia estructural inicial aproximadamente equivalente a la de un drenaje de polímero sintético, y en donde el colector se ablanda a lo largo del tiempo tras el implante en un paciente a medida que las células naturales del tejido que rodea el implante migran y proliferan dentro de una matriz extracelular en el tejido descelularizado.
5. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el tejido parcial o completamente descelularizado en el colector carece prácticamente de todos los restos de alfa-galactosa.
6. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que además comprende al menos un factor adicional codificado por una secuencia de ácido nucleico en un vector de expresión que está contenido dentro de una o más células viables.
7. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el componente sintético comprende un conducto externo que rodea, al menos, una parte del tejido parcial o completamente descelularizado en el colector.
8. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el componente sintético comprende un conducto interior rodeado por el tejido parcial o completamente descelularizado en el colector.
9. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el componente sintético comprende al menos uno de policaprolactona, ácido poliláctico, poliuretano, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, y polidioxanona.
10. El colector de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que además comprende al menos un filamento flexible unido al colector.
11. El colector de la reivindicación 10, en donde el filamento comprende un tejido parcial o completamente descelularizado que opcionalmente se ha reticulado.
12. El colector de la reivindicación 10, en donde el filamento comprende al menos un material sintético biorreabsorbible.
13. El colector de la reivindicación 12, en donde el filamento comprende al menos uno de policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poligalacturónico, polímero de ácido poliglicólico-láctico, polihidroxialcanoatos, o polidioxanona.
14. Un método de fabricación de un colector de drenaje tisular, que comprende:  
seleccionar un tejido que contenga una matriz extracelular;  
descelularizar parcial o completamente el tejido;  
y micronizar el tejido, volver a formar el tejido en tiras finas, enrollar las tiras de tejido para formar tubos y reticular el tejido,  
en donde el colector además comprende un componente sintético biocompatible o biorreabsorbible en forma de tubo hueco.
15. El método de la reivindicación 14, que además comprende añadir una textura superficial al tejido parcial o completamente descelularizado en el colector poniendo en contacto el tejido con una rejilla y aplicando presión para imprimir la forma de retícula sobre el tejido.
16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-15, que comprende la reticulación del tejido parcial o completamente descelularizado utilizando métodos de reticulación química, deshidrotérmica, o irradiación.
17. El método de la reivindicación 16, que comprende la reticulación del tejido parcial o completamente descelularizado utilizando radiación de haz de electrones.

18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, que además comprende envolver el tejido descelularizado del colector alrededor de un tubo hueco que comprende un material sintético biocompatible o biorreabsorbible para formar un conducto sintético interno rodeado por el tejido parcial o completamente descelularizado.
- 5
19. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-17, que además comprende envolver un material sintético biocompatible o biorreabsorbible alrededor de al menos una parte del tejido descelularizado del colector para formar un recubrimiento sintético exterior que rodea al menos una parte del tejido parcial o completamente descelularizado.
- 10
20. Un colector de drenaje tisular preparado según el método de una cualquiera de las reivindicaciones 14-19.

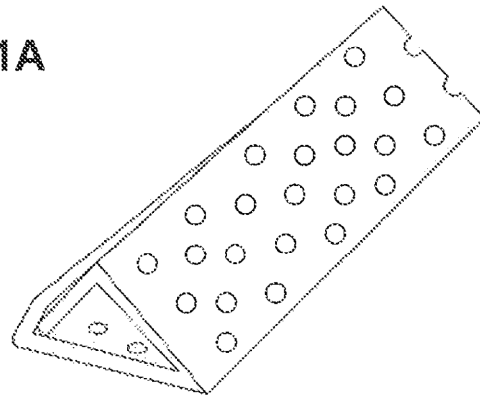




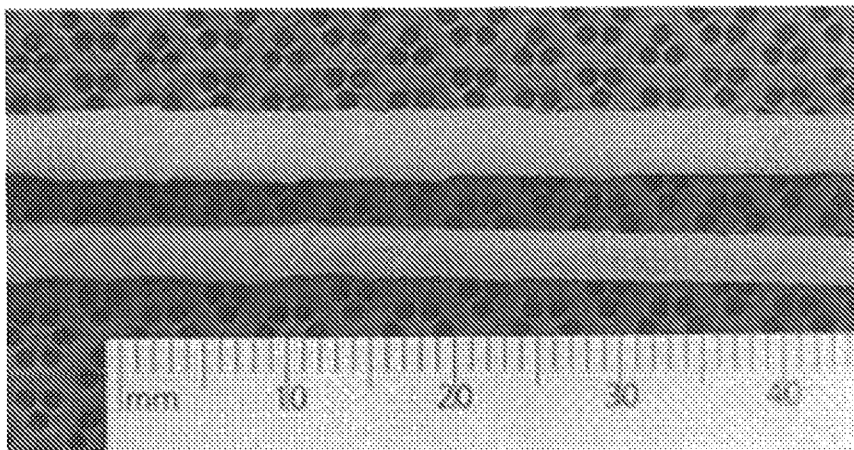
**FIG. 1A**



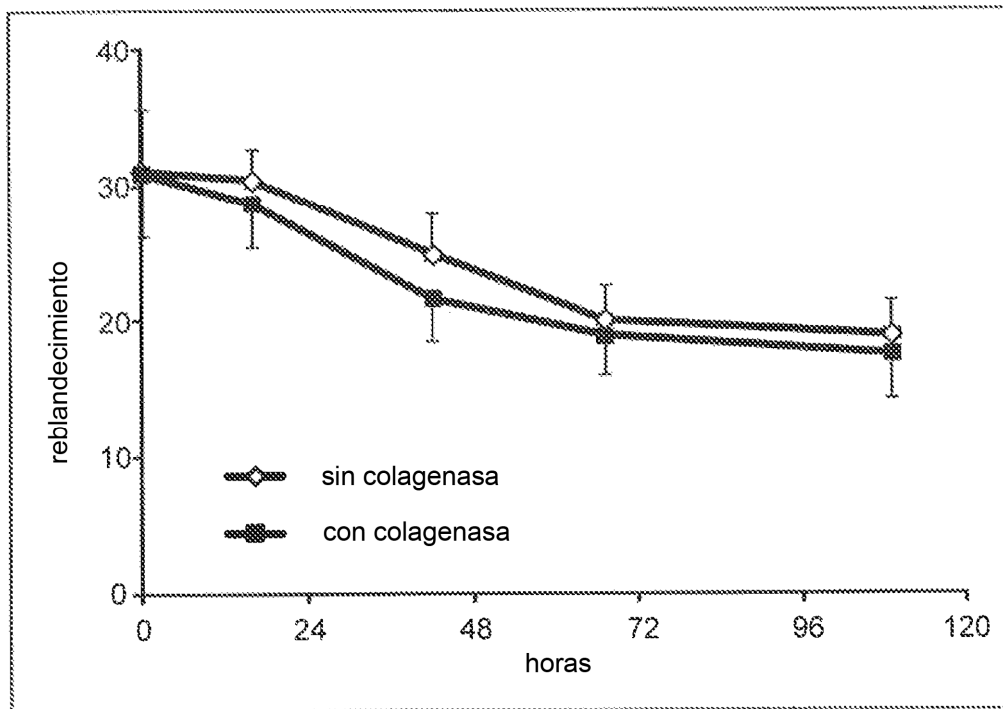
**FIG. 1B**



**FIG. 1C**



**FIG. 2**



**FIG. 3**

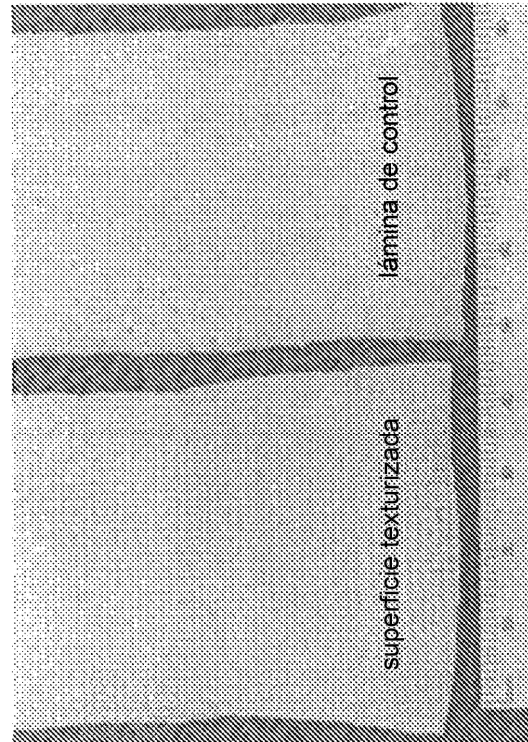


FIG. 4A

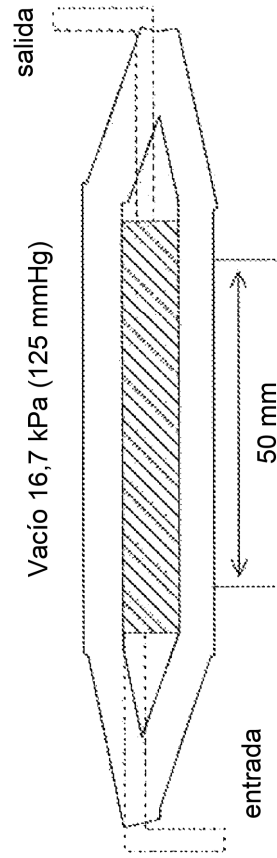
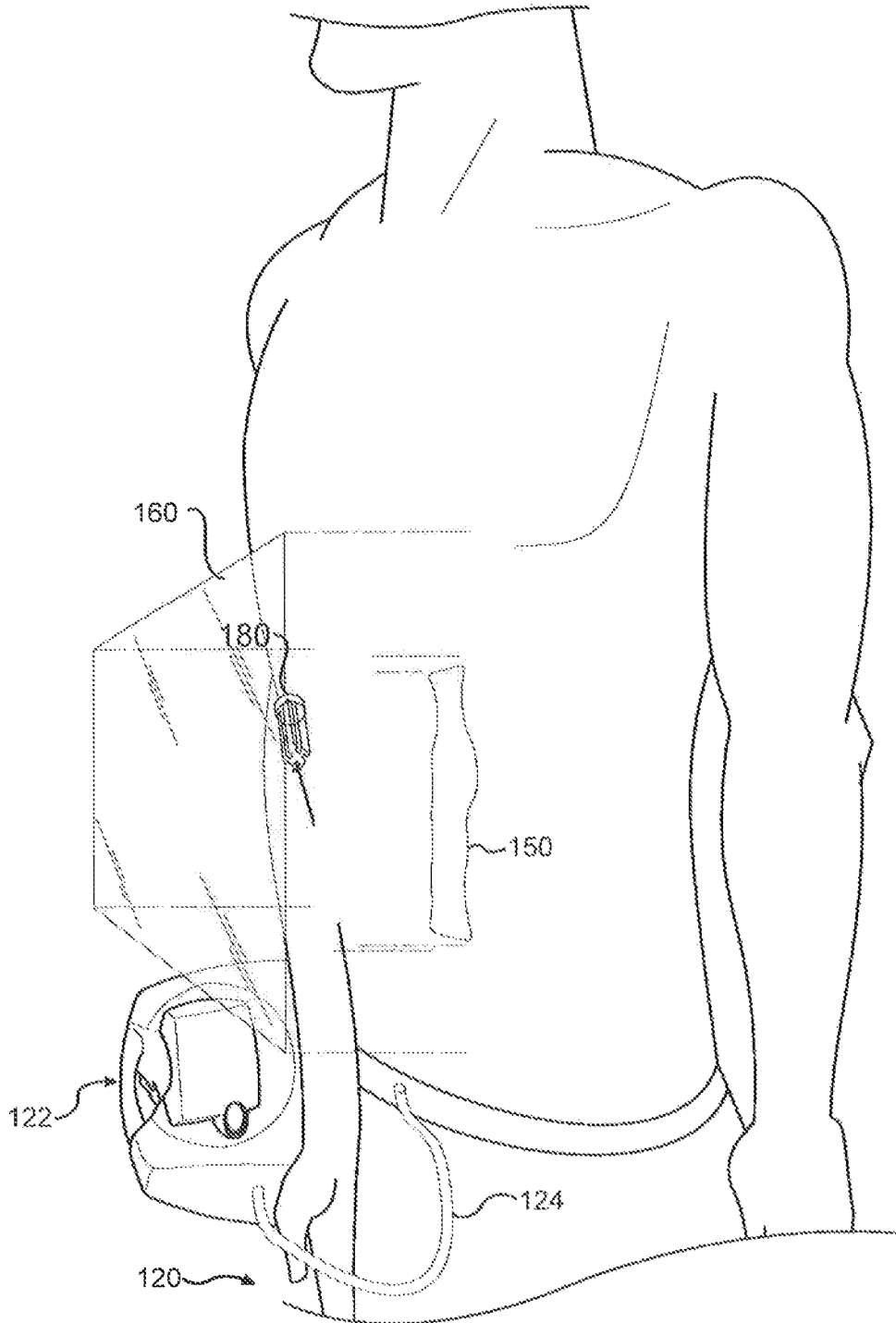


FIG. 4B



**FIG. 5**