

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 823**

51 Int. Cl.:

A61L 27/36 (2006.01)

A61L 27/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.01.2013 PCT/US2013/021909**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.08.2013 WO13112350**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2013 E 13702683 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.11.2018 EP 2806907**

54 Título: **Matrices de tejidos alargadas**

30 Prioridad:

24.01.2012 US 201261590035 P

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

26.03.2019

73 Titular/es:

**LIFECCELL CORPORATION (100.0%)
5 Giralda Farms
Madison, New Jersey 07940, US**

72 Inventor/es:

**ROOCK, TIMOTHY;
BACHRACH, NATHANIEL y
KIBALO, BENJAMIN, T.**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 705 823 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

Matrices de tejidos alargadas

- 5 La presente descripción se refiere, de modo general, a métodos de elaboración y uso de matrices de tejido alargadas, y más especialmente, a métodos de elaboración y uso de matrices de tejido que tienen una alta relación dimensional.

10 Se utilizan diversos productos derivados de tejidos para reparar, regenerar, curar, o tratar de otro modo tejidos y órganos enfermos o dañados. Dichos productos pueden incluir injertos de tejido intactos y/o tejidos parcial o completamente descelularizados. Estos productos tratantes de tejidos generalmente tienen una forma definida por su tejido de origen. Por ejemplo, los productos dérmicos o intestinales generalmente comprenderán láminas de materiales relativamente flexible. Sin embargo, no todas las heridas, espacios vacíos y/u otros sitios de tratamiento de tejidos pueden tratarse con matrices de tejido en forma de lámina. Por ejemplo, un posible inconveniente del uso de material en forma de lámina es la incapacidad de adaptación completa de la lámina a la forma del hueco, herida, o tejido tratado. De modo similar, el tratamiento con materiales inyectables (p. ej., material no laminar en forma de partículas suministrado por medio de una jeringa) también puede constituir un desafío en los casos en los cuales la matriz inyectable tiene tendencia a migrar desde el hueco, herida o tejido tratado. Esta migración podría resultar problemática desde el punto de vista cosmético y/o fisiológico.

- 20 <En Hiromichi, J. Orthopaedic Research, 2009, p937-941 se describe una composición para la ingeniería de tendones que comprende cortes de tendón en loncha acelular agrupado. En Gong y col., Biomaterials, V32 6, 2001, p 2265-2273 se describen láminas de cartilago descelularizado de oído de cerdo adulto. >

25 Para tratar, reparar, curar o regenerar determinados defectos de tejidos o de órganos, puede ser deseable utilizar materiales capaces de mantener formas o configuraciones que se adaptan mejor a las estructuras anatómicas a tratar y que reducen el grado de migración fuera del sitio de implantación. Por tanto, en la presente memoria se describen métodos de producción de matrices de tejidos acelulares alargadas que se pueden utilizar para llenar un hueco, herida, u otros espacios de tejidos que necesitan tratamiento, reparación, curación, o regeneración. Las matrices de tejido alargadas pueden moldearse para rellenar una forma deseada, reduciendo también al mismo tiempo el riesgo de que el implante migre fuera del sitio de implantación. La invención se define en las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

35 La Fig. 1 es una fotografía de un producto tratante de tejido acelular según determinadas realizaciones de la presente descripción.

40 La Fig. 2 muestra volúmenes de ultrasonido calculados (medidos en centímetros cúbicos) para determinados productos tratantes de tejidos cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

La Fig. 3 es una representación de volúmenes de ultrasonido (medidos en centímetros cúbicos) frente a masa de tejido seco para determinados productos tratantes de tejidos, medidos cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

45 La Fig. 4 es un análisis de calibración de ultrasonidos que se realizó comparando el volumen de ultrasonido calculado inmediatamente después de la implantación con los volúmenes reales de material implantado, como se describe en el Ejemplo 2.

50 La Fig. 5 es una gráfica que muestra los resultados de análisis de tonometría de indentación realizados para determinados productos tratantes de tejidos cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2. Un valor mayor indica un sitio de implantación más blando (más amoldable), mientras que un valor más bajo indica un sitio de implantación más duro (menos amoldable).

55 La Fig. 6 compara resultados de tonometría de indentación para determinados productos tratantes de tejidos que se implantaron en una glándula mamaria de cerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2. Los resultados de tonometría se representan en el momento T=0 y T=0nas.

60 La Fig. 7 es una representación de valores de rigidez para determinados productos tratantes de tejidos que se implantaron en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, medidos mediante un BTC 2000™ (SRLI Technologies, Nashville, TN), como se describe en el Ejemplo 2.

La Fig. 8 es una fotografía de una glándula mamaria realizada cuatro semanas después de la implantación de un producto tratante de tejido representativo en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

La Fig. 9 es una representación de profundidad de hoyuelo, medida mediante tonometría de no contacto para determinados productos tratantes de tejidos cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

5 La Fig. 10 muestra una imagen obtenida por rayos x de una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán antes de la cirugía (Fig. 10A) y cuatro semanas después de la implantación de los productos tratantes de tejidos (Fig. 10B), como se describe en el Ejemplo 2.

10 La Fig. 11 es una fotografía que muestra la estructura anatómica general de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en PBS) cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

15 La Fig. 12 es una fotografía que muestra la estructura anatómica general de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en una solución de conservante) cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

20 La Fig. 13 muestra una tinción de hematoxilina-eosina de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en PBS) cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

La Fig. 14 muestra una tinción de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en una solución de conservante) cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

25 La Fig. 15 muestra la evaluación histológica de productos tratantes de tejidos teñidos con hematoxilina-eosina cuatro semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2. Los productos tratantes de tejidos se evaluaron en parámetros de fibroblastos (Fig. 15A), revascularización (Fig. 15B) e inflamación (Fig. 15C).

30 La Fig. 16 compara volúmenes de ultrasonido (medidos en centímetros cúbicos) para determinados productos tratantes de tejidos cuatro semanas y doce meses después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

35 La Fig. 17 es una comparación de implantes realizados o hundidos que contienen determinados productos tratantes de tejidos cuatro semanas (Fig. 17A) y doce semanas (Fig. 17B) después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

40 La Fig. 18 muestra una tinción de hematoxilina-eosina de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en PBS) doce semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

45 La Fig. 19 muestra una tinción de un producto tratante de tejidos de alta relación dimensional (en una solución de conservante) doce semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2.

50 La Fig. 20 muestra la evaluación histológica de productos tratantes de tejidos teñidos con hematoxilina-eosina cuatro semanas y doce semanas después de la implantación en una glándula mamaria de minicerdo de Yucatán, como se describe en el Ejemplo 2. Los productos tratantes de tejidos se evaluaron en parámetros de fibroblastos (Fig. 20A), revascularización (Fig. 20B) e inflamación (Fig. 20C).

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.

55 En la presente descripción se describen productos tratantes de tejidos. En diversas realizaciones, un producto tratante de tejidos comprende una colección de elementos alargados, comprendiendo cada elemento alargado una matriz de tejidos que ha sido al menos parcialmente descelularizada, y en donde cada elemento alargado tiene una estructura tridimensional flexible que comprende una dimensión de longitud, una dimensión de anchura, y una
60 dimensión de altura, y en donde una dimensión es sustancialmente más grande que las otras dos dimensiones (p. ej., al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, o 100 veces más grande, o cualquier valor intermedio). Los productos tratantes de tejidos pueden usarse como implantes que se adaptarán a la forma anatómica de un sitio de implantación resistiendo al mismo tiempo la migración fuera del sitio de implantación y/o evitando un endurecimiento o realizado/hinchado significativo del implante (p. ej., debido a inflamación y/o a la formación de tejido granular o
65 cicatricial alrededor del implante), en comparación con un producto tratante de tejidos implantado que no comprende

elementos alargados o con una alta relación dimensional. Por ejemplo, un implante subcutáneo endurecido y/o realzado puede ser cosméticamente indeseable o dar lugar a complicaciones que requieren la retirada del implante.

5 Se pueden utilizar diversos tejidos humanos o animales y diversos métodos para preparar productos tratantes de tejidos. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar seleccionando un tejido humano o porcino; descelularizando el tejido para producir una matriz de tejido que contiene colágeno; y aplicando fuerzas mecánicas (p. ej., estiramiento, congelación y/o corte del tejido acelular) para producir una matriz de tejido alargada. Por ejemplo, se pueden enrollar una o más láminas de matriz de tejido acelular en una estructura cilíndrica de longitud y diámetro deseados, congelar y, de forma
10 opcional, a continuación, rebanar (p. ej., en un rebanador de charcutería) para producir productos tratantes de tejidos cuyos elementos tienen una estructura de alta relación dimensional. Los elementos alargados o los elementos de alta relación dimensional pueden comprender una estructura que tiene una dimensión de longitud, una dimensión de anchura y una dimensión de altura, y en donde una dimensión es sustancialmente mayor que las otras dos dimensiones (p. ej., al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50 o 100 veces mayor, o cualquier valor intermedio).

15 Las composiciones producidas de este modo pueden usarse para regenerar, reparar, curar, aumentar, reforzar y/o tratar tejidos que se han dañado o perdido debido a diversas enfermedades y/o daño estructural (p. ej., debido a trauma, cirugía, atrofia y/o uso prolongado y degeneración). Las matrices de tejido alargadas pueden ser plegadas, comprimidas o moldeadas de otro modo para llenar una forma anatómica deseada en un sitio de implantación. En algunas realizaciones, los elementos alargados pueden estar incluidos dentro de una jeringa o dispositivo similar para la inyección en un
20 implante. La capacidad de las matrices de tejido alargadas para rellenar un espacio anatómico permite la mejor conservación de un aspecto más natural o tacto después de la implantación (es decir, un aspecto más natural o tacto tras finalizar la cirugía de implantación y/o después de la curación natural posterior a la implantación). Además, los elementos alargados de estos productos tratantes de tejidos pueden resistir la migración fuera del sitio de implantación, permitiendo al mismo tiempo el paso continuo de fluidos y evitando la acumulación de fluidos en el sitio de implantación. Además, los
25 elementos alargados pueden evitar el endurecimiento o realzado/hinchado significativos del implante (p. ej., debido a inflamación y/o a la formación de tejido granular o cicatricial alrededor del implante), en comparación con un producto tratante de tejidos implantado que no comprende elementos alargados o de alta relación dimensional.

30 Las composiciones de la presente descripción también se pueden utilizar con fines cosméticos para reparar o alterar el aspecto o tacto de un tejido natural. Los productos tratantes de tejidos alargados se pueden plegar, comprimir o moldear de cualquier otra forma para rellenar un espacio situado entre tejidos separados, independientemente de la forma del espacio. Las composiciones pueden no migrar desde el sitio de implantación, evitando al mismo tiempo el paso continuo de fluidos y evitando la acumulación de fluidos en el sitio de implantación.

35 Los materiales y métodos proporcionados en la presente memoria pueden usarse para fabricar un implante biocompatible. Como se utiliza en la presente memoria, una composición “biocompatible” es aquella que tiene la capacidad de sustentar la migración y proliferación de células naturales desde el tejido circundante a un producto tratante de tejido implantado. Las composiciones biocompatibles sustentan la actividad celular natural necesaria para la regeneración de los tejidos, la reparación, la curación, o el tratamiento y no provocan una respuesta inmunitaria
40 sustancial que evita la actividad celular. Como se utiliza en la presente memoria, una “respuesta inmunitaria sustancial” es una que evita la regeneración del tejido parcial o total, la reparación, la curación, o el tratamiento.

45 Como se utiliza en la presente memoria, los términos “células naturales” y “tejido natural” significan las células o el tejido presentes en el tejido u órgano receptor antes de la implantación de un producto tratante de tejidos, o las células o el tejido producidos por el animal hospedador después del implante.

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

50 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.

55 Composiciones tratantes de tejidos

En determinadas realizaciones, se proporciona un producto tratante de tejidos. Como se utiliza en la presente memoria, un “producto tratante de tejidos” comprende tejido humano o animal que ha sido al menos parcialmente descelularizado. Los productos tratantes de tejidos pueden contener tejido acelular, parcialmente descelularizado
60 y/o descelularizado que ha sido repoblado con células exógenas, siempre que el tejido conserve al menos parte de la estructura base de la matriz extracelular que se halla en el tejido natural antes de la descelularización.

En algunas realizaciones, los productos tratantes de tejidos son procesados de modo que se pueden adaptar a la forma de un sitio de implantación anatómico. Puede ser beneficioso adaptar la forma de las matrices de tejido a la forma deseada del sitio anatómico de un modo que no es fácilmente realizable con una lámina de tejido acelular.
65

Se conocen diversos procesos para modificar la forma tridimensional de una lámina de tejido acelular, pero algunos de estos también pueden alterar la matriz de tejido de modo indeseable. Por ejemplo, puede utilizarse reticulación química para alterar la estructura tridimensional de una matriz de tejido acelular, pero una excesiva reticulación puede también alterar las propiedades biológicas del tejido, y los agentes químicos de reticulación pueden ser dañinos para los pacientes cuando se implantan en un paciente. Por consiguiente, serían ventajosos y se describen en la presente memoria métodos alternativos para controlar la forma de los productos tratantes de tejidos, evitando al mismo tiempo la migración de los productos fuera de un sitio de implantación.

En determinadas realizaciones, un producto tratante de tejidos comprende una colección de elementos alargados o subunidades (denominadas a continuación en la memoria “producto tratante de tejidos alargado”). En algunas realizaciones, cada elemento alargado comprende una matriz de tejido que ha sido al menos parcialmente descelularizada y cada elemento alargado tiene una estructura tridimensional flexible que comprende una dimensión de longitud, una dimensión de anchura y una dimensión de altura, y en donde una dimensión (es decir, el “eje longitudinal”) es sustancialmente mayor que las otras dos dimensiones. El término “sustancialmente” en este contexto significa que tiene una dimensión que es al menos 10 % mayor que cualquiera de las otras dos dimensiones restantes. En algunas realizaciones, el elemento alargado es al menos aproximadamente 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, 300 %, 350 %, 400 %, 450 %, 500 %, 750 %, 1000 %, 2000 % o 5000 % (o en cualquier porcentaje intermedio) mayor en una dimensión. El elemento alargado puede ser regular (p. ej., un elipsoide, cilindro, cuboidal rectangular, etc.) o irregular (es decir, sin estructura uniforme pero generalmente con un eje alargado). En determinadas realizaciones, el elemento alargado es en forma de cilindro preparado a partir de una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, o más) piezas o láminas enrolladas de tejido acelular. El cilindro de tejido acelular enrollado se puede mantener en su lugar mediante adhesión natural, o mediante congelación, liofilización, desecado o mediante cualquier otro método de fijación del tejido acelular conocido en la técnica (p. ej., mediante reticulación química de suave a moderada).

En determinadas realizaciones, los elementos alargados de un producto tratante de tejidos se procesan adicionalmente para producir elementos que tienen una alta relación dimensional. Como se utiliza en la presente memoria, un elemento de “alta relación dimensional” es un elemento que tiene una estructura tridimensional (es decir, una longitud, una anchura, y una altura), una dimensión (es decir, el “eje longitudinal”) que es sustancialmente mayor que las otras dos dimensiones, y dos dimensiones restantes que son sustancialmente más pequeñas que el eje longitudinal y se miden generalmente en el intervalo de micrométrico a milimétrico (p. ej., dos dimensiones de menos de 50 mm, 40 mm, 30 mm, 20 mm, 15 mm, 10 mm, 5 mm, 4 mm, 3 mm, 2 mm, 1,5 mm, 1 mm, 900 µm, 800 µm, 700 µm, 600 µm, 500 µm, 400 µm, 300 µm, 200 µm, o 100 µm, o cualquier valor intermedio). El término “sustancialmente” en este contexto significa que tiene un eje longitudinal que es al menos 10 % mayor que cualquiera de las otras dos dimensiones restantes. En algunas realizaciones, el producto tratante de tejidos de alta relación dimensional es al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, 300 %, 350 %, 400 %, 450 %, 500 %, 750 %, 1000 %, 2000 % o 5000 % (o cualquier porcentaje intermedio) mayor en una dimensión.

Por ejemplo, los elementos de alta relación dimensional pueden prepararse rebanando elementos alargados paralelos al eje longitudinal o a lo largo de la cara de las dos dimensiones más cortas para formar elementos delgados que tienen un eje longitudinal y una alta relación dimensional (p. ej., fibras finas, hilos, filamentos u otras hebras finas) de dimensiones deseadas. Ver la Fig. 1. Como se utiliza en la presente memoria, “delgado” significa que tiene dos dimensiones más cortas medidas en escala de micrométrica a milimétrica (p. ej., dos dimensiones de menos de 50 mm, 40 mm, 30 mm, 20 mm, 15 mm, 10 mm, 5 mm, 4 mm, 3 mm, 2 mm, 1,5 mm, 1 mm, 900 µm, 800 µm, 700 µm, 600 µm, 500 µm, 400 µm, 300 µm, 200 µm, o 100 µm o cualquier valor intermedio). Un elemento de alta relación dimensional preparado rebanando un elemento alargado puede tener un eje longitudinal equivalente en longitud al eje longitudinal o igual en longitud a la circunferencia de un elemento alargado antes del procesamiento, o el producto de elementos de alta relación dimensional se puede procesar adicionalmente (p. ej., corte manual) para obtener un eje longitudinal que tiene una longitud menor que la longitud completa del eje longitudinal o de la circunferencia del elemento alargado original.

En determinadas realizaciones, los elementos de alta relación dimensional se pueden organizar formando una malla, tejido, u otra estructura terciaria. Por ejemplo, se pueden entrelazar hebras de alta relación dimensional para formar una malla más larga de tejido acelular. Como se utiliza en la presente memoria, una “malla” es cualquier composición que comprenda hebras tejidas o interconectadas de fibras biológicas. El experto en la técnica reconocerá que la hermeticidad del tejido o malla variará en función de las propiedades físicas deseadas de la estructura terciaria (p. ej., resistencia mecánica, porosidad, flexibilidad, etc.). En otras realizaciones, las hebras de alta relación dimensional de un producto tratante de tejidos se mantienen en una concentración suelta (es decir, sin una estructura terciaria organizada) para facilitar la separación y/o suministro quirúrgico en un sitio de implantación.

Los productos tratantes de tejidos pueden comprender elementos que tienen una matriz de tejido acelular y/o elementos que tienen una matriz de tejido intacta o parcialmente descelularizada. En una realización, el producto tratante de tejidos comprende elementos que tienen una matriz de tejido dérmico acelular. En determinadas realizaciones, el tejido del cual se deriva la matriz de tejido acelular o parcialmente descelularizada se selecciona de uno o más de fascias, tejido pericárdico, duramadre, tejido de cordón umbilical, tejido placentario, tejido de válvula cardíaca, tejido de ligamento, tejido de tendón, tejido arterial, tejido venoso, tejido conectivo neural, tejido de vejiga urinaria, tejido de uretra, piel, tejido dérmico, subdérmico, tejido cardíaco, tejido pulmonar, tejido hepático, y tejido intestinal.

En diversas realizaciones, un producto tratante de tejidos comprende elementos alargados que tienen una forma tridimensional flexible que se puede adaptar a la estructura anatómica de un sitio de implantación. Por ejemplo, los productos tratantes de tejidos pueden ser útiles para soportar implantes mamarios, p. ej., para su uso en aumento y/o reconstrucción de pecho. Por ejemplo, un producto tratante de tejidos que tiene elementos alargados o de alta relación dimensional puede colocarse alrededor de un implante mamario y utilizar para llenar el espacio situado entre el implante y el tejido natural circundante, proporcionando de este modo al implante un contorno más liso y/o un aspecto y tacto más naturales. Los elementos alargados o de alta relación dimensional dentro de un producto tratante de tejidos pueden resistir de forma natural la migración desde su posición alrededor de un implante, o se pueden unir (p. ej., con suturas) a fascia, músculo u otro tejido natural circundante, ayudando de este modo a fijar un implante en una posición adecuada, para reducir o evitar la formación de cicatrices o para alterar de otro modo el aspecto estético de un implante.

Los productos tratantes de tejidos pueden seleccionarse de modo que proporcionen una serie de diversas propiedades biológicas y mecánicas. Por ejemplo, se puede seleccionar un producto tratante de tejidos para proporcionar una estructura base en la cual las células naturales del tejido que circunda un producto tratante de tejidos implantado pueden migrar y proliferar, aumentando de este modo la velocidad o el nivel global de reparación, regeneración, curación, o tratamiento del tejido natural. Por ejemplo, una matriz de tejido acelular, cuando se implanta sobre una fascia o dentro de ella, se puede seleccionar de modo que permita la regeneración de la fascia sin una inflamación, fibrosis o formación excesiva de tejido cicatricial (p. ej., seleccionando un producto de tejido completamente descelularizado). En algunas realizaciones, la estructura porosa, suelta, de un producto acelular para el tratamiento de tejidos alargado o de alta relación dimensional evita la obstrucción y posterior acumulación de fluido dentro del sitio de implantación, proporcionando al mismo tiempo una estructura base para la migración y proliferación de células naturales, tejido, y vasculatura. En algunas realizaciones, los productos acelulares para el tratamiento de tejidos alargados o de alta relación dimensional resisten la migración fuera del sitio de implantación.

En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos alargados o de alta relación dimensional de la presente descripción se pueden moldear para adaptarse a cualquier estructura tridimensional deseada (p. ej., para llenar la estructura anatómica de un sitio de implantación) sin necesidad de alteraciones químicas no deseables en la matriz de tejido. En diversas realizaciones, los elementos alargados o de alta relación dimensional dentro de un producto tratante de tejidos pueden experimentar un estiramiento, torsión o compresión sustancial. En algunas realizaciones, los elementos alargados o de alta relación dimensional dentro de un producto tratante de tejidos son capaces de recuperar rápidamente sus dimensiones originales tras la liberación de una fuerza de compresión, tensión, o torsión. En algunas realizaciones, los productos tratantes de tejidos alargados o de alta relación dimensional se pueden moldear de modo que adquieran y mantengan una estructura tridimensional sin excesiva reticulación. Aunque la reticulación puede ayudar a mantener una forma tridimensional deseada, una excesiva reticulación puede alterar las propiedades biológicas de los productos tratantes de tejidos. En algunas realizaciones, los elementos alargados o de alta relación dimensional se unen formando estructuras tridimensionales deseadas (p. ej., esferas, columnas, u otras formas previstas para adaptarse a sitios de implante anatómicos) utilizando adhesión natural, o por congelación, liofilización, desecado, o por cualquier otro método de fijación de la forma tridimensional de un tejido acelular que sea conocido en la técnica (p. ej., mediante una reticulación química de ligera a moderada)

La reticulación del tejido se puede medir mediante un aumento en la temperatura de desnaturalización de una matriz de tejido, medida con calorimetría de barrido diferencial. En consecuencia, en algunas realizaciones, los productos tratantes de tejidos de la presente descripción incluyen una matriz de tejido acelular o parcialmente descelularizada que tiene una temperatura de desnaturalización, medida mediante calorimetría de barrido diferencial, que no difiere en más de 5 °C (es decir, no más de 5 °C, 4 °C, 3 °C, 2 °C, o 1 °C o cualquier temperatura intermedia) de la temperatura de desnaturalización del tejido a partir del cual se produce la matriz.

La matriz extracelular dentro de los elementos de un producto tratante de tejidos puede consistir en colágeno, elastina y/u otras fibras, así como proteoglicanos, polisacáridos y/o factores de crecimiento. En algunas realizaciones, la matriz de tejido acelular puede conservar alguno o todos los componentes de matriz extracelular que se hallan de forma natural en un tejido antes de la descelularización, o pueden retirarse diversos componentes no deseables por medios químicos, enzimáticos o genéticos. En general, la matriz acelular proporciona una red estructural sobre la que puede migrar, crecer y proliferar el tejido natural y la vasculatura. Los componentes estructurales exactos de la matriz extracelular dependerán del tejido seleccionado y de los procesos utilizados para preparar el tejido acelular.

Se puede obtener un producto tratante de tejidos a partir de cualquier tejido que sea adecuado para la descelularización y el posterior implante. Los tejidos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, hueso, piel, dermis, intestino, vejiga urinaria, tendón, ligamento, músculo, fascia, tejido neurológico, vaso, hígado, corazón, pulmón, riñón, cartílago y/o cualquier otro tejido adecuado. En determinadas realizaciones, el producto tratante de tejido puede incluir un tejido blando de mamífero. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el producto tratante de tejido puede incluir dermis de mamífero parcial o completamente descelularizada. En otras realizaciones, el producto tratante de tejidos puede comprender submucosa del intestino delgado parcial o completamente descelularizada. En determinadas realizaciones, el tejido descelularizado puede proceder de fuentes humanas o no humanas. Las fuentes de tejido no humanas ilustrativas adecuadas incluyen, aunque no de forma limitativa, cerdos, ovejas, cabras, conejos, monos y/u otros mamíferos no humanos.

En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos se pueden formar a partir de ALLODERM® o STRATTICE™, que son matrices dérmicas acelulares humanas y porcinas respectivamente (Lifecell Corp., Branchburg, NJ). 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 determinadas realizaciones, un producto tratante de tejido carece de determinados antígenos no deseables. Por ejemplo, determinados tejidos animales contienen epítomos de alfa-galactosa (α -gal) que son causa conocida de reacciones en los seres humanos. Por lo tanto, los productos tratantes de tejidos acelulares derivados de diversos tejidos animales se pueden producir o procesar de modo que carezcan de ciertos antígenos, tales como α -gal. En algunas realizaciones, los productos tratantes de tejidos carecen sustancialmente de restos α -gal. La eliminación de los epítomos de α -gal de un producto tratante de tejidos puede hacer disminuir la respuesta inmunitaria frente a la composición. U. Galili y col., *J. Biol. Chem.* 263: 17755 (1988). Puesto que los mamíferos no primates (p. ej., los cerdos) producen epítomos de α -gal, el xenotrasplante de material de matriz de tejido acelular de estos mamíferos en primates puede producir rechazos debido a la unión de anti-gal de primate a los epítomos de α -gal en la matriz de tejido acelular. La unión da lugar a la destrucción del tejido acelular debido a la fijación del complemento y a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. 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 en detalle más adelante en la memoria, en diversas realizaciones, los productos tratantes de tejidos se pueden procesar para retirar antígenos, tales como α -gal, p. ej., mediante tratamiento químico o enzimático. De forma alternativa, los productos tratantes de tejidos se pueden producir a partir de animales que han sido modificados genéticamente de modo que carezcan de estos epítomos.

En diversas realizaciones, los productos tratantes de tejidos tienen una carga microbiana reducida (es decir, un número reducido de microorganismos en crecimiento en las composiciones). En algunas realizaciones, los productos tratantes de tejidos carecen sustancialmente de toda carga microbiana (es decir, los productos tratantes de tejidos son asépticos o estériles). Como se utiliza en la presente memoria, "que carecen sustancialmente de toda carga microbiana" significa productos tratantes de tejidos en los que la concentración de microorganismos en crecimiento es inferior a 1 %, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 %, o 0,0001 % (o cualquier porcentaje intermedio) de la que crece en productos tratantes de tejidos sin tratar.

En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos están completa o prácticamente exentos de toda célula presente normalmente en el tejido a partir del cual se deriva el producto tratante de tejidos. Como se utiliza en la presente memoria, "prácticamente exento de toda célula" significa que el producto tratante de tejidos 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 productos tratantes de tejidos pueden incluir matrices de tejido parcialmente descelularizadas y/o matrices de tejido descelularizadas 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 pueden utilizarse células viables cualesquiera que sean histocompatibles con el paciente en el que se implantan. En algunas realizaciones, las células histocompatibles son células de mamíferos. Tales células pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural. En diversas realizaciones, las células viables se aplican a la matriz de tejido acelular antes o después del implante de un producto tratante de tejidos. Las células histocompatibles no son células madre embrionarias humanas.

En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos comprenden 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. 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 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, de forma opcional, a un producto tratante de tejidos. 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.

Los productos tratantes de tejidos, como se ha descrito anteriormente en la memoria, se pueden proporcionar en algunas realizaciones en forma envasada, hidratada, congelada, liofilizada y/o deshidratada. En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos envasados son estériles.

- 5 En determinadas realizaciones, los productos tratantes de tejidos se proporcionan en un kit que comprende un producto tratante de tejidos envasado e instrucciones para preparar y/o utilizar los productos tratantes de tejidos.

Métodos de producción

- 10 En la presente memoria se describen métodos de preparación de productos tratantes de tejidos que comprenden elementos alargados y/o de alta relación dimensional. En algunas realizaciones, el método comprende seleccionar un tejido que contiene una matriz de colágeno extracelular; descelularizar parcial o completamente el tejido; y aplicar fuerzas mecánicas a la matriz de tejido para producir los elementos alargados o de alta relación dimensional del producto tratante de tejidos.

- 15 Se puede preparar un producto tratante de tejidos a partir de cualquier tejido que sea adecuado para la descelularización y el posterior implante. Los tejidos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, al menos uno de tejido de hueso, piel, tejido adiposo, dermis, tejido subdérmico, intestino, vejiga urinaria, tendón, ligamento, músculo, fascia, tejido neurológico, vaso, hígado, corazón, pulmón, riñón, cartilago 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 determinadas realizaciones, el tejido puede comprender submucosa de intestino delgado. En determinadas realizaciones, el tejido puede incluir fuentes humanas y/o no humanas. Las fuentes de tejido no humanas ilustrativas adecuadas incluyen, aunque no de forma limitativa, cerdos, ovejas, cabras, vaca, conejos, monos y/u otros mamíferos no humanos.

- 20 En algunas realizaciones, se prepara un producto tratante de tejidos cultivando y 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 de un producto tratante de tejidos en un sitio hospedador. En determinadas realizaciones ilustrativas, el tejido acelular comprende ALLODERM® o STRATTICE™, que son productos dérmicos humanos acelulares y productos dérmicos porcinos, respectivamente, y son comercializados por LifeCell Corporation de (Branchburg, NJ).

- 35 En diversas realizaciones, las etapas generales implicadas en la producción de una matriz de tejido acelular incluyen recolectar tejido de un donante (p. ej., una fuente de cadáver humano o animal) y retirar las células en condiciones que conserven la función biológica y estructural. En determinadas realizaciones, el tejido recolectado se puede lavar para retirar los crioprotectores residuales y/u otros contaminantes que pueda haber. 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.

- 40 En determinadas realizaciones, el proceso de descelularización incluye tratamiento químico para estabilizar el tejido recolectado para evitar la degradación bioquímica y estructural antes, durante o después de la retirada de las 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.

- 45 En varias realizaciones, el tejido se coloca a continuación en una solución de descelularización para retirar células viables (p. ej., células epiteliales, células endoteliales, células de músculo liso, y 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 algunas realizaciones, el tejido se incubaba en la solución de descelularización a 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 o 42 °C (o cualquier temperatura intermedia) y, de forma opcional, con agitación suave a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 o 150 rpm (o cualquier valor intermedio de rpm). La incubación puede ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 24, 36, o 48 horas (o cualquier tiempo intermedio). La duración del tiempo o la concentración del detergente se pueden ajustar para descelularizar el tejido de forma parcial o más completa. En determinadas realizaciones, pueden usarse detergentes adicionales para retirar grasa de la muestra de tejido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se añade 1, 2, 3, 4 o 5 % de desoxicolato sódico (o cualquier porcentaje intermedio) a la solución de descelularización para retirar grasa del tejido.

En algunas realizaciones, después de la descelerización, 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.

5 En determinadas realizaciones, p. ej., cuando se utiliza material xenogénico, el tejido descelerizado se trata a continuación 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 tampón DNasa (HEPES 20 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetasulfónico), CaCl_2 20 mM y MgCl_2 20 mM). Opcionalmente puede añadirse una solución de antibiótico (p. ej., gentamicina) a la solución de DNasa. Puede usarse cualquier
10 solución de DNasa preparada en un tampón, siempre que el tampón proporcione actividad de DNasa adecuada.

Una matriz de tejido acelular se puede derivar de tejido procedente de uno o más animales donantes de la misma especie que el animal receptor previsto, aunque no tiene por qué ser así. Por tanto, por ejemplo, una matriz de tejido acelular se puede derivar de tejido porcino e implantar en un paciente humano. Las especies que pueden servir como donantes y/o receptores de matrices de tejidos acelulares 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, gerbilinos, hámsters, ratas, o ratones.

En determinadas realizaciones, el tejido descelerizado puede tratarse con una o más enzimas para retirar antígenos no deseables, p. ej., un antígeno que no sea expresado normalmente por el animal receptor y posiblemente de lugar por tanto a una respuesta inmunitaria y/o rechazo del producto tratante de tejidos implantado. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el tejido descelerizado se puede tratar con alfa-galactosidasa para retirar restos alfa-galactosa (α -gal). En algunas realizaciones, para retirar 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 retirar los antígenos de α -gal, si están
25 presentes en la muestra. En determinadas realizaciones, el tejido puede tratarse con una enzima α -galactosidasa para retirar los epítomos de α -gal. En una realización, el tejido se trata con α -galactosidasa de una concentración de 0,2 U/ml preparada en solución salina tamponada con fosfato 100 mM con un pH 6,0. En otras realizaciones, la concentración de α -galactosidasa se reduce a 0,1 U/ml o se aumenta a 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
30 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 retirar restos alfa-1,3-galactosa.

En determinadas realizaciones, pueden seleccionarse animales que se hayan modificado genéticamente de modo que carezcan de uno o más epítomos antigénicos como fuente de tejido para un producto tratante de tejidos. Por ejemplo, pueden seleccionarse como fuente de tejido animales (p. ej., cerdos) que se hayan modificado genéticamente de modo que carezcan del resto α -galactosa terminal. Véanse las descripciones de animales y métodos apropiados para producir animales transgénicos para xenotransplante en la solicitud de patente US-10/896.594 y la patente US-6.166.288.

En algunas realizaciones, el tejido descelerizado 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 se trata de modo que carezca sustancialmente de toda carga microbiana (es decir, el tejido es aséptico o estéril). Como se utiliza en la presente memoria, "sustancialmente de toda carga microbiana" significa que la concentración de microorganismos que crecen sobre el tejido es inferior a 1 %, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 %, o 0,0001 % de la que crece sobre tejido no tratado, o cualquier porcentaje intermedio. El experto en la técnica conoce métodos adecuados para la reducción de la carga microbiana, que pueden incluir exponer el producto tratante de tejidos a radiación. La irradiación puede reducir o eliminar sustancialmente la carga microbiana. En algunas realizaciones, se libera una dosis absorbida de aproximadamente 15-17 KGy de radiación de haz de electrones para reducir o retirar sustancialmente la carga microbiana. En diversas realizaciones, la cantidad de radiación a la que se expone el producto tratante de tejidos puede ser de entre 5 kGy y 50 kGy. 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 determinadas realizaciones, después de formar la matriz de tejido acelular, se pueden sembrar, de forma opcional, células viables e histocompatibles en la matriz de tejido acelular. En algunas realizaciones, las células viables histocompatibles pueden añadirse a las matrices mediante técnicas estándar 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 de tejido circundante a la matriz de tejido acelular o infundiendo o inyectando células histocompatibles obtenidas del receptor o de otro donante en la matriz de tejido acelular in situ. 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 pueden utilizarse células viables cualesquiera que sean histocompatibles con el paciente en el que se implantan. En algunas realizaciones, las células histocompatibles son células de mamíferos. Tales células pueden promover la migración, proliferación y/o vascularización del tejido natural. En determinadas realizaciones, las células pueden aplicarse directamente a la matriz de tejido acelular justo antes o después de la implantación. Las células histocompatibles no son células madre embrionarias humanas.

65 En determinadas realizaciones, puede añadirse a la matriz de tejido acelular 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. 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). 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 incluir, de forma opcional, con la matriz de tejido acelular. 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 diversas realizaciones, antes o después de la descelularización, la matriz de tejido acelular puede formarse y/o procesarse de un modo deseado, tal como una estructura alargada. Por tanto, se proporciona un método para dar forma a una matriz de tejido acelular. En algunas realizaciones, el tejido acelular se puede enrollar, conformar a modo de paquete, plegar, comprimir o moldear para conferirle la forma deseada, tal como una bola, cubo, cilindro, elipsoide, cuboide rectangular, o cualquier otra forma regular o irregular. Se pueden incorporar en la forma deseada una o más piezas aparte de tejido acelular (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más piezas). Por ejemplo, una o más piezas de tejido acelular (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más piezas) se pueden enrollar en un cilindro o en una forma alargada similar para formar un elemento alargado de un producto tratante de tejidos. El tejido enrollado puede mantener su forma mediante adhesión natural, o mediante congelación, liofilización, desecado o mediante cualquier otro método de fijación del tejido acelular conocido en la técnica (p. ej., mediante reticulación química de suave a moderada).

En determinadas realizaciones, los elementos alargados de un producto tratante de tejidos se pueden procesar adicionalmente para producir elementos que tienen una alta relación dimensional. Por ejemplo, los elementos alargados pueden rebanarse (p. ej., utilizando un cuchillo, un rebanador de charcutería, un rallador, etc.) en paralelo a su eje longitudinal o a través de la cara de sus dos dimensiones menores para formar elementos finos que tienen un eje longitudinal y una alta relación dimensional (p. ej., una estructura en forma de “fideos”). Como se utiliza en la presente memoria, una alta relación dimensional significa con dos dimensiones medidas en escala de micrométrica a milimétrica (p. ej., dos dimensiones de menos de 50 mm, 40 mm, 30 mm, 20 mm, 15 mm, 10 mm, 5 mm, 4 mm, 3 mm, 2 mm, 1 mm, 900 µm, 800 µm, 700 µm, 600 µm, 500 µm, 400 µm, 300 µm, 200 µm, o 100 µm o cualquier valor intermedio). Los elementos de alta relación dimensional de un producto tratante de tejidos producido de este modo pueden tener un eje longitudinal equivalente a la longitud de la circunferencia o eje longitudinal de un producto de elemento alargado antes del rebanado, o los elementos de alta relación dimensional se pueden procesar adicionalmente (p. ej., mediante corte manual) para obtener un eje longitudinal más corto que la longitud completa del eje longitudinal o de la circunferencia de los elementos alargados originales. En algunas realizaciones, el eje longitudinal de los elementos de alta relación dimensional tiene una dimensión que es al menos 50 % más larga que cualquiera de las dos dimensiones restantes. En algunas realizaciones, el elemento de alta relación dimensional es al menos aproximadamente 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, 300 %, 350 %, 400 %, 450 %, 500 %, 750 %, 1000 %, 2000 % o 5000 % (o cualquier porcentaje intermedio) mayor en una dimensión.

En algunas realizaciones, se rebanan (p. ej., utilizando un cuchillo, un rebanador de charcutería, un rallador, etc.) elementos cilíndricos alargados que contienen una o más piezas o láminas de tejido acelular enrollado y congelado para formar los elementos de alta relación dimensional de un producto tratante de tejidos. El rebanado se puede realizar con un espesor deseado para producir elementos de alta relación dimensional de dimensiones deseadas. En algunas realizaciones, los elementos de alta relación dimensional pueden tener un eje longitudinal equivalente a la longitud de la circunferencia de los elementos cilíndricos congelados. En otras realizaciones, los elementos de alta relación dimensional se pueden cortar (p. ej., utilizando un cuchillo, escalpelo, u otra hoja) para acortar la longitud de su eje longitudinal.

En determinadas realizaciones, se usa un dispositivo para rebanar, tal como un rebanador de charcutería, para rebanar a través de la cara circular de un cilindro de tejido acelular enrollado, produciendo así elementos de alta relación dimensional (p. ej., “fideos”) de un espesor predeterminado, donde el espesor depende de la configuración de espesor del dispositivo utilizado para rebanar el cilindro. En algunas realizaciones, el cilindro de tejido acelular enrollado se congela para permitir un rebanado más sencillo (p. ej., para permitir un rebanado más uniforme).

En determinadas realizaciones, los elementos de alta relación dimensional de un producto tratante de tejidos pueden ser procesados de forma adicional para formar una malla, tejido, u otra estructura terciaria. Por ejemplo, se pueden entrelazar hebras de alta relación dimensional para formar una malla más larga de tejido acelular. Como se utiliza en la presente memoria, una “malla” es cualquier composición que comprenda hebras tejidas o interconectadas de fibras biológicas. El experto en la técnica reconocerá que la hermeticidad del tejido o malla puede variar dependiendo de las propiedades físicas deseadas de la estructura terciaria (p. ej., resistencia mecánica, porosidad, flexibilidad, etc.). En algunas realizaciones, la estructura terciaria se mantiene unida mediante adhesión natural, o mediante congelación, liofilización, desecado o mediante cualquier otro método de fijación del tejido acelular conocido en la técnica (p. ej., mediante reticulación química de suave a moderada). En otras realizaciones, los elementos de alta relación dimensional de un producto tratante de tejidos se mantienen en una concentración suelta (es decir, sin una estructura terciaria organizada) para facilitar la separación y/o suministro quirúrgico en un sitio de implantación.

Métodos de uso

Un objetivo cuando se utilizan productos derivados de tejidos para regenerar, reparar, curar o tratar de otro modo tejidos y órganos enfermos o dañados es proporcionar un implante capaz de mantener formas o configuraciones que se adaptan más estrechamente a las estructuras anatómicas que se están tratando, al tiempo que también reducen o evitan la migración del implante fuera del sitio de implantación. Por tanto, en determinadas realizaciones se describen productos tratantes que comprenden colecciones de elementos alargados o de alta relación dimensional tales como cargas para llenar un hueco, herida, u otro tejido que necesita tratamiento, reparación, curación, o regeneración. Como se utiliza en la presente memoria, una “colección” significa al menos 2 piezas o elementos (p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, o 100 piezas, o cualquier número intermedio). Las piezas individuales de tejido dentro de la colección pueden tener estructuras idénticas o diferentes. El producto tratante de tejidos que comprende una colección de matrices de tejido alargado o de alta relación dimensional puede moldearse para rellenar una forma deseada, reduciendo al mismo tiempo el riesgo de que el implante migre fuera del sitio de implantación. El producto tratante de tejidos puede usarse también para fines cosméticos o de mejora (p. ej., como implante cosmético o como complemento de un implante de cosmética tradicional).

Tras la creación de un espacio entre los planos de tejido como resultado de una enfermedad, trauma o intervención quirúrgica, se coloca un producto tratante de tejidos que comprende uno o una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional entre los planos de tejidos separados. El producto tratante de tejidos implantado se puede utilizar para un rellenado completo y adaptación a la forma de un espacio en un tejido hospedador. El producto puede doblarse, comprimirse o moldearse de otro modo para rellenar el espacio anatómico de un sitio de implantación.

En determinadas realizaciones, los elementos de un producto tratante de tejidos implantado pueden tener una estructura terciaria organizada, tal como una malla, tejido u otra estructura organizada, o los elementos pueden estar presentes en una forma suelta que carezca de estructura terciaria organizada. Los productos tratantes de tejidos pueden ser doblados, comprimidos, conformados a modo de paquete o moldeados de otro modo para llenar el espacio existente entre planos de tejido separados, independientemente de la forma del espacio (p. ej., se puede llenar una herida con forma irregular con un producto tratante de tejidos hasta que todo el espacio dentro de la herida se haya llenado con producto tratante de tejidos). En un ejemplo, el producto tratante de tejidos implantado comprende elementos que tienen una alta relación dimensional. Los elementos de alta relación dimensional pueden ser doblados, comprimidos o moldeados de otro modo dentro de un sitio de implantación hasta que todo el hueco en el sitio de implantación quede lleno. En algunas realizaciones, los elementos de alta relación dimensional pueden estar también organizados a modo de malla, tejido, u otra estructura terciaria organizada.

Se puede utilizar un producto tratante de tejidos para la carga de un tejido (p. ej., para llenar el espacio que circunda un implante de pecho o como material de soporte entre hueso y cartílago o en la submucosa del paso nasal después de cirugía en otorrinolaringología). Algunos productos tratantes de tejidos puedan usarse para rellenar completamente un hueco (p. ej., tras la retirada de un tumor), para aumentar el volumen de un tejido natural (p. ej., para la reconstrucción nasal), o para fines de mejora estética de tejidos (p. ej., como complemento a implantes mamarios que se utiliza para suavizar contornos y rellenar espacio que circunda el implante).

Un producto tratante de tejidos se puede implantar en un tejido hospedador y permanecer en su lugar debido a la tendencia natural de los elementos alargados o de alta relación dimensional a resistir la migración fuera del sitio de implantación. Algunos productos tratantes de tejidos se fijan a los planos de tejido nativo que circundan un sitio de implantación utilizando cualquier método conocido que dé lugar a la asociación física temporal o permanente de los productos tratantes de tejidos con el tejido próximo. Por ejemplo, se pueden utilizar suturas biodegradables para fijar físicamente el producto tratante de tejidos al tejido natural circundante. De forma alternativa, puede aplicarse presión positiva externa (p. ej., un apósito o fijación alrededor del sitio de implantación) para comprimir el tejido natural circundante y mantener el tejido natural en contacto con los productos tratantes de tejidos implantados, evitando así la migración de los productos tratantes de tejidos fuera del sitio de implantación.

Una ventaja de la implantación de un producto tratante de tejidos que comprende una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional es que la estructura alargada o de alta relación dimensional de estos elementos permite evitar o reducir la tendencia de un implante a migrar fuera del sitio de implantación. Por lo tanto, algunos productos tratantes de tejidos pueden usarse sin requerir una modificación química o unión física no deseable al tejido natural que es necesaria si no para evitar la migración fuera de un sitio de implantación. La capacidad de retención de un producto tratante de tejidos en un sitio de implantación sin necesidad de intervención química o física (p. ej., reticulación o sutura) puede ser importante cuando se utiliza un producto tratante de tejidos para rellenar un hueco (p. ej., tras la retirada de un tumor), para aumentar el volumen de un tejido natural (p. ej., para la reconstrucción nasal), o para fines de mejora estética de tejidos (p. ej., como complemento a los implantes mamarios que se utiliza para suavizar contornos y rellenar espacio que circunda el implante). En estos contextos, los productos tratantes de tejidos pueden implantarse y no migrarán fuera del sitio de implantación, evitándose al mismo tiempo la irritación o pérdida de biocompatibilidad asociada con el procesamiento químico o físico para fijar un implante al tejido circundante.

Se puede utilizar un producto tratante de tejidos que comprende una colección de elementos de alta relación dimensional (p. ej., “fideos”). Las hebras flexibles de los productos tratantes de tejidos de alta relación dimensional se pueden doblar,

compactar y/o moldear para rellenar un sitio de implantación. Los elementos de alta relación dimensional permiten una continua movilidad del fluido dentro del sitio de implantación, permitiendo de este modo una acumulación no deseable de fluidos. Al mismo tiempo, los elementos de alta relación dimensional proporcionan una estructura base acelular en la que las células naturales y la vasculatura pueden migrar y proliferar, favoreciendo o mejorando de este modo la reparación, regeneración, y/o curación de los tejidos. Además, la estructura de alta relación dimensional de los elementos permite evitar que el producto tratante de tejidos migre fuera del sitio de implantación, sin requerir el uso de agentes de reticulación química u otras intervenciones concebidas para inmovilizar el producto tratante de tejidos. Por ejemplo, los productos tratantes de tejidos que comprenden una colección de elementos de alta relación dimensional se pueden utilizar para rellenar el espacio que circunda un implante mamario. Los productos tratantes de tejidos de alta relación dimensional se pueden utilizar en este contexto para sustentar el implante mamario y para impedir que el implante se desplace desde la ubicación adecuada, proporcionando al mismo tiempo un aspecto y tacto más naturales al implante rellenando el espacio entre el implante mamario y el tejido circundante; por ejemplo, evitando y/o reduciendo la inflamación, o la formación de tejido granular o cicatricial que circunda el implante y que podría dar lugar a un implante endurecido o realzado de modo no deseable. En otro ejemplo, se puedan utilizar productos tratantes de tejidos de alta relación dimensional para llenar una herida u otro espacio existente entre tejidos separados debido a enfermedad, daño, o intervención quirúrgica.

El uso de un producto tratante de tejidos que comprende una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional puede dar lugar a un implante que tiene una persistencia mejorada en el sitio de implantación, en comparación con láminas implantadas de tejido acelular. La persistencia se refiere al volumen de material implantado que permanece en un sitio de implantación a lo largo del tiempo. La persistencia se puede medir de diversos modos que resultarán familiares al experto en la técnica. Por ejemplo, la persistencia del producto tratante de tejidos en el sitio de implantación se puede medir utilizando ultrasonidos con el fin de calcular el volumen de producto tratante de tejidos que permanece en un sitio de implantación a lo largo del tiempo.

El uso de un producto tratante de tejidos que comprende una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional puede dar lugar a un producto tratante de tejidos que tiene propiedades biomecánicas mejoradas, en comparación con láminas implantadas de tejido acelular. Las propiedades biomecánicas se pueden evaluar de diversos modos que resultarán familiares al experto en la técnica. Por ejemplo, la suavidad de un implante a lo largo del tiempo puede evaluarse observando la tonometría del implante (es decir, el nivel de desplazamiento que se produce cuando el implante se coloca bajo carga). Por ejemplo, se pueden utilizar tonometría de indentación, que implica la medición de la profundidad de la indentación producida por una varilla de peso conocido cuando se coloca encima del sitio de implantación. Un valor mayor de indentación indica un sitio de implantación más blando, mientras que un valor de indentación más bajo indica un sitio más duro. Del mismo modo, en otro ejemplo, se puede evaluar la rigidez del implante a lo largo del tiempo utilizando el BTC 2000™ (SRLI Technologies, Nashville, TN), que se puede utilizar para medir la rigidez y otras propiedades biomecánicas de la piel y el tejido blando subyacente. Un producto para el tratamiento de tejidos implantado que comprende una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional puede dar lugar a un sitio de implantación más firme, en comparación con el tejido circundante. En determinadas realizaciones, se implantan productos tratantes de tejidos de alta relación dimensional que han sido organizados para formar una malla, tejido u otra estructura terciaria en un tejido hospedador. La malla, tejido u otra estructura terciaria puede utilizarse para rellenar el sitio de implantación. Por ejemplo, se pueda utilizar una malla para llenar una herida u otro espacio existente entre tejidos separados debido a enfermedad, daño, o intervención quirúrgica. La malla flexible se puede compactar para rellenar de forma más compacta un espacio situado entre tejidos separados o se puede utilizar para proporcionar soporte estructural y refuerzo a un tejido después de la retirada de tejido natural del sitio de implantación. Por ejemplo, tras la retirada de un tumor, se puede utilizar una malla o producto tratante de tejidos para rellenar el espacio que queda después de la intervención quirúrgica y para reforzar la estructura del tejido restante en el sitio de implantación. Por ejemplo, tras la cirugía de mama (p. ej., tumorectomía), se puede implantar una malla o producto tratante de tejidos para preservar el aspecto y el tacto del pecho, y para favorecer la regeneración del tejido natural. La malla, tejido, u otra estructura terciaria puede permitir una continua movilidad del fluido dentro del sitio de implantación, permitiendo de este modo una acumulación no deseable de fluidos. Al mismo tiempo, la malla, tejido, u otra estructura terciaria proporciona una estructura base acelular en la que las células naturales y la vasculatura pueden migrar y proliferar, favoreciendo o mejorando de este modo la reparación, regeneración, y/o curación de los tejidos. Además, la estructura de malla puede evitar que el producto tratante de tejidos migre fuera del sitio de implantación; en estas situaciones puede no ser necesario el uso de agentes de reticulación química u otras intervenciones para inmovilizar el producto tratante de tejidos.

Tras la retirada quirúrgica de un tumor se puede utilizar un producto tratante de tejidos que comprende una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional. El tumor puede ser un tumor de mama. El tumor puede ser un tumor abdominal o dérmico, o cualquier otro tumor para el cual esté indicada la retirada quirúrgica y se desee un reemplazo posterior con una carga de tejido. Los productos tratantes de tejidos se pueden emplear para rellenar el espacio creado por la retirada quirúrgica de un tumor. Los productos tratantes de tejidos se pueden utilizar para rellenar el espacio creado por la retirada de un tumor, permitiendo al mismo tiempo una continua movilidad del fluido dentro del sitio de implantación, evitando de este modo la acumulación indeseada de fluidos. Al mismo tiempo, los productos tratantes de tejidos proporcionan una estructura base acelular en la que las células naturales y la vasculatura pueden migrar y proliferar, favoreciendo o mejorando de este modo la reparación, regeneración, y/o curación de los tejidos. Además, la estructura alargada o de alta relación dimensional de los elementos dentro de un producto tratante de tejidos permite evitar que el

producto tratante de tejidos migre fuera del sitio de implantación. En estos casos, puede no ser necesario el uso de agentes de reticulación química u otras intervenciones para inmovilizar los productos tratantes de tejidos.

Se puede utilizar un producto tratante de tejidos que comprenda una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional para rellenar un espacio situado entre planos de tejido separados debido a intervención quirúrgica, enfermedad o trauma. Por ejemplo, los productos tratantes de tejidos pueden usarse para rellenar una herida o llenar el espacio existente entre planos de tejido que se han separado durante una intervención quirúrgica. Los productos tratantes de tejidos proporcionan una estructura base acelular en la que las células naturales y la vasculatura pueden migrar y proliferar, favoreciendo o mejorando de este modo la reparación, regeneración, y/o curación de los tejidos. Al mismo tiempo, los productos tratantes de tejidos permiten una continua movilidad del fluido dentro del sitio de implantación, evitando de este modo una acumulación no deseable de fluidos. Además, la estructura alargada o de alta relación dimensional de la colección de elementos dentro de un producto tratante de tejidos evita que el producto tratante de tejidos migre fuera del sitio de implantación. En estos casos, puede no ser necesario el uso de agentes de reticulación química u otras intervenciones para inmovilizar el producto tratante de tejidos.

Los productos tratantes de tejidos que comprenden una colección de elementos alargados o de alta relación dimensional se pueden utilizar para fines estéticos. Por ejemplo, los productos tratantes de tejidos se pueden utilizar solos o junto con materiales de implante adicionales para mejorar o alterar la forma, textura, suavidad, elasticidad, rigidez, contornos u otras propiedades del tejido en el pecho, los labios, la nariz, las nalgas o cualquier otro tejido. Por ejemplo, los productos tratantes de tejidos pueden utilizarse para rellenar el espacio existente entre un implante mamario tradicional y el tejido circundante para proporcionar un aspecto y tacto más naturales evitándose al mismo tiempo la acumulación de fluidos en el espacio situado alrededor del implante. Del mismo modo, los productos tratantes de tejidos pueden usarse para rellenar el espacio existente entre un implante tradicional y el tejido circundante para soportar y anclar el implante tradicional y evitar que se mueva o deforme después de la implantación. Los productos tratantes de tejidos también pueden favorecer la reparación, regeneración y/o curación del tejido natural alrededor de un implante tradicional proporcionando una estructura base acelular en la que las células naturales y la vasculatura pueden migrar y proliferar. Los productos tratantes de tejidos implantados pueden no interferir con la mamografía clínica.

Ejemplos

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

Ejemplo 1a: Preparación de productos tratantes de tejidos

Se aclararon y lavaron láminas de aproximadamente 500 g de porcine acelular dermal tissue (tejido dérmico acelular porcino - PADM) y se trataron a continuación con solución de congelación PRTM con una relación 5:1 de solución a tejido durante un período de 6 horas a 36 horas. Las láminas de tejido dérmico porcino acelular se enrollaron a continuación en un cilindro y se colocaron a -80 °C durante la noche. Se montó un rebanador de charcutería dentro de una habitación limpia y se limpió a conciencia utilizando Spor Klenz e IPA a 70 %.

Se utilizó un rebanador de charcutería afilado y limpio para rebanar PADM congelado. Para mantener el rebanador de charcutería frío, se permitió un flujo de nitrógeno líquido por detrás de la cuchilla de corte del rebanador de charcutería. El cilindro congelado de tejido acelular se colocó dentro de un recipiente para facilitar la manipulación durante el corte, y se rebanó sobre el rebanador para producir productos tratantes de tejidos que tienen una alta relación dimensional, p. ej., una forma similar a un "fideo". La cara circular del cilindro enrollado de tejido congelado se mantuvo plana y el cilindro se mantuvo perpendicular a la cuchilla de corte del rebanador. El espesor del tejido de alta relación dimensional producido de este modo se podría modificar alterando la configuración del rebanador de charcutería. El rebanador de charcutería se ajustó a una profundidad con un diámetro de 1,5 mm y se rebanaron cilindros enrollados de tejido de forma individual o se rebanaron conjuntamente agrupaciones de cilindros enrollados.

Después del rebanado, la mitad de los fideos se lavó en una solución de conservante y la otra mitad en PBS. Los fideos se lavaron dos veces en cada solución durante 2 horas. Cada lavado fue con una relación 5:1 de solución a tejido y con agitación a 100 rpm. Los fideos lavados se almacenaron a 4 °C.

Los fideos hidratados se pesaron y se envasaron asépticamente dentro de una jeringa. Para la prueba de carga microbiana, la mitad del contenido de la jeringa se extruyó en una bolsa estéril, quedando la mitad restante retenida en la jeringa y guardándola para la esterilización e implantación. Las jeringas se colocaron en bolsas de aluminio-contra-aluminio para la esterilización y se irradiaron mediante haz de electrones con una dosis de 15,9-21,5 kGy.

Ejemplo 1b: Preparación de productos tratantes de tejidos

Se preconditionó STRATTICE™ (Lifecell Corp.) a mano cortando en muestras de 5 centímetros por 5 centímetros (2 pulgadas por 2 pulgadas). Las muestras se hicieron pasar a través de una trituradora de carne de mesa con una configuración de cortadora de 0,79375 (5/16 pulgadas) y se hicieron pasar por segunda vez a través de la trituradora con un ajuste de 0,47625 centímetros (3/16 pulgadas). El tejido se envió a Sympak Group

(Mandelein, IL) para la realización adicional de microcortes utilizando ajustes de corte de 0,35 y 0,9 mm. El tejido cortado final tendía a aglomerarse y formó “fibras” más largas cuando se enrolló.

Ejemplo 2: Prueba de glándula mamaria de minicerdo de Yucatán

Se utilizaron glándulas mamarias de minicerdo de Yucatán para simular una tumorectomía clínica y para analizar y comparar diferentes productos tratantes de tejidos implantados utilizados in vivo para tratar defectos debidos a tumorectomía. Se crearon cuatro defectos de 20 cc por animal utilizando electrocauterización. Cada defecto se rellenó con uno de seis productos tratantes de tejidos diferentes que comprendían materiales de carga de tejido de PADM (fideos en PBS, fideos en una solución de conservante, masilla de fibras en PBS, masilla de fibras en una solución de conservante, consolidated fiber strands (hilos de fibras consolidados - CFS) y láminas acelulares de STRATTICE®) o se dejaron sin rellenar. El modelo de tumorectomía de glándula mamaria de minicerdo de Yucatán comparte varias similitudes con la tumorectomía clínica, incluido el endurecimiento de defectos no reparados y reconstruidos, el hundimiento de defectos no reconstruidos y el aspecto realizado para muchos de los defectos reconstruidos.

Las técnicas quirúrgicas utilizadas en estos experimentos dieron lugar a la producción significativa de tejido granular. Se observó tejido granular para todos los sitios de implantación quirúrgica, incluidos huecos vacíos (p. ej., sitios de los que se había retirado tejido, pero no se había utilizado implante para rellenar el hueco). En cambio, la implantación de productos tratantes de tejidos sin la creación de hueco quirúrgico generó pocos indicios de presencia de tejido granular, en comparación con el mismo material cuando se implantó en un hueco preparado. Esto parece indicar que los productos tratantes de tejidos no son en sí mismos la causa principal de la presencia de tejido granular en estos experimentos.

Los productos tratantes de tejidos se evaluaron en parámetros de persistencia, biomecánica, respuesta biológica e interferencia con mamografía. Las características de implante se evaluaron en tres momentos diferentes (0, 4 y 12 semanas). Los implantes en general persistieron, como puso de manifiesto la ausencia de hoyuelos, el aspecto general, y los datos de ultrasonidos. La persistencia se midió mediante ultrasonidos y profundidad de hoyuelo. Las propiedades biomecánicas se evaluaron midiendo el desplazamiento del producto tratante de tejidos implantado cuando se colocó bajo carga (tonometría), utilizando un BTC 2000™ (SRLI Technologies, Nashville, TN) para medir la rigidez y otras propiedades biomecánicas de la piel y el tejido blando subyacente y, en el caso de los implantes de masilla, por métodos reológicos (viscosidad del tejido). La respuesta biológica se evaluó por métodos histológicos. La interferencia con mamografía fue evaluada mediante imagen de rayos x.

Se utilizaron ultrasonidos para evaluar el volumen del implante para los seis productos tratantes de tejidos implantados diferentes cuatro semanas después de la implantación. Se obtuvieron imágenes transversales y longitudinales para cada sitio de implantación, y se calculó el volumen como $4/3 \text{ nabc}$. La Fig. 2 muestra el volumen de ultrasonidos calculado para cada uno de los diferentes implantes cuatro semanas después de la implantación. La Fig. 3 es una representación del volumen de ultrasonidos frente a la masa de tejido seco para los diversos implantes, medido cuatro semanas después de la implantación. La calibración de los cálculos de ultrasonidos se llevó a cabo comparando el volumen de ultrasonidos calculado en el momento $T=0$ con los volúmenes reales de material implantado. Fig. 4. El análisis de calibración indicó que con los ultrasonidos se tiende a subestimar el volumen de implantes y se obtiene una variabilidad considerable entre sitios y dentro de ellos. Por lo tanto, aunque el volumen de ultrasonidos es adecuado para obtener tendencias, no es adecuado para la cuantificación o para detectar pequeñas diferencias entre implantes. La Fig. 16 proporciona una comparación del volumen de ultrasonido para los diferentes implantes en el transcurso de cuatro semanas y doce semanas después de la implantación. Se pierde un volumen significativo para todos los implantes excepto para CFS.

Se utilizó tonometría de indentación (es decir, medición del desplazamiento bajo carga) para evaluar las propiedades biomecánicas del producto tratante de tejidos implantado. Se colocó una varilla de 1,27 cm (0,5 pulgadas) de 176 gramos sobre cada sitio de implantación y se midió la profundidad de penetración de la varilla. Un valor mayor indica un sitio de implantación más blando (más amoldable), mientras que un valor más bajo indica un sitio de implantación más duro (menos amoldable). En la Fig. 5 se ilustran los resultados de los ensayos de tonometría de indentación de diversos productos para el tratamiento de tejidos implantados 4 semanas después de la implantación. En la figura 6 se comparan los resultados de tonometría de indentación en el momento $T=0$ y $T=4$ semanas para cada producto tratante de tejidos. Todos los productos tratantes de tejidos se volvieron menos amoldables después de 4 semanas, según lo medido mediante tonometría de indentación. Estos resultados cuantitativos fueron confirmados mediante palpación manual. Debido al hundimiento del implante a las 12 semanas, los datos de tonometría no fueron constantes y, por lo tanto, no se recopilaron, excepto para implantes de CFS e implantes de masilla en una solución de conservante que no se hundió (no se muestra).

Para evaluar de forma adicional las propiedades biomecánicas de los productos tratantes de tejidos implantados, se utilizó un BTC 2000™ (SRLI Technologies, Nashville, TN) para medir la rigidez de implantes de tejidos en el momento de la implantación y al cabo de 4 semanas. El BTC-2000 se puede utilizar para análisis cuantitativos y sensibles de las propiedades biomecánicas de los tejidos blandos y de la piel, así como las características intactas y/o disruptivas de materiales elásticos. En la Fig. 7 se indica que la rigidez del implante disminuyó en el transcurso de 4 semanas en comparación con la situación previa a la cirugía, a diferencia del aumento de rigidez a lo largo del tiempo observado mediante tonometría de indentación.

Finalmente, se evaluó el impacto de productos tratantes de tejidos implantados en el contorno de los tejidos midiendo la profundidad de hoyuelo para sitios de implante hundidos, y mediante observación fotográfica de sitios de implante realzados. La Fig. 8 es un ejemplo representativo de un sitio realzado. Se estimó que el realzado de dichos sitios era de 5-10 mm. La profundidad de hoyuelo se midió utilizando tonometría sin carga. Se utilizó una varilla de 176 g para medir la profundidad de hoyuelo, mientras se sujetaba el peso de la varilla desde arriba, para que la medición no incorporase una profundidad adicional debido al desplazamiento o compresión del tejido bajo la carga. La Fig. 9 es una representación de la profundidad de hoyuelo en el transcurso de cuatro semanas, medida mediante tonometría sin carga, para los diversos productos tratantes de tejidos implantados, incluidos fideos implantados. La Fig. 17 es una comparación de implantes realzados o hundidos en el transcurso de 4 semanas y 12 semanas para cada tipo de implante.

Para evaluar el potencial de interferencia de los productos tratantes de tejidos implantados con mamografía, se tomaron imágenes de las glándulas mamarias de minicerdos de Yucatán mediante rayos X de 70 kV antes de la cirugía y 4 semanas después de la implantación de un producto tratante de tejidos en forma de fideos (Fig. 10A y B, respectivamente). No se observaron diferencias en la densidad de tejido entre el sitio de implantación y el tejido circundante mediante rayos X después de la implantación del fideo. Sin embargo, la energía de 70 KV utilizada en este experimento fue superior a los 15-52 KV normalmente utilizados en mamografía, lo que pudo haber impedido la detección de las diferencias en la densidad de tejido.

Para evaluar la respuesta biológica a los productos tratantes de tejidos implantados, incluidos fideos implantados, se registró la observación general y se llevó a cabo un análisis histológico cuatro semanas y doce semanas después de la implantación.

Al cabo de cuatro semanas, se registraron fotográficamente las observaciones generales correspondientes a fideos implantados en PBS y a fideos implantados en una solución de conservante. Ver las Figs. 11 y 12, respectivamente. La histología se realizó con tinción de hematoxilina y eosina (H&E) para evaluar la repoblación de fibroblastos, la inflamación y la revascularización. Las Figs. 13 y 14 muestran la tinción con H&E de fideos implantados en PBS y en una solución de conservante, respectivamente. La Fig. 15 muestra la evaluación histológica de tejido con tinción de H&E para fibroblastos (Fig. 15A), revascularización (Fig. 15B) e inflamación (Fig. 15C). Se realizó una evaluación histológica para muestras teñidas de diversos productos tratantes de tejidos, incluidos fideos implantados, cuatro semanas después de la implantación.

Al cabo de doce semanas, los fideos implantados en PBS mostraron una repoblación significativa de fibroblastos y una ligera revascularización. Hubo también una respuesta inflamatoria moderada, como puso de manifiesto la presencia de linfocitos, macrófagos, y células gigantes. Se observó la presencia de tejido conectivo denso entre los fideos implantados. Fig. 18. En el caso de los fideos en solución de conservación, se observó de nuevo una repoblación significativa de fibroblastos y una revascularización moderada. Se observó una respuesta inflamatoria leve. Se observó la presencia de tejido conectivo denso entre los fideos implantados. Fig. 19. La Fig. 20 muestra la evaluación histológica de tejido con tinción de H&E para fibroblastos (Fig. 20A), revascularización (Fig. 20B) e inflamación (Fig. 20C) cuatro semanas y doce semanas después de la implantación.

Los ejemplos anteriores pretenden ilustrar y no limitar de ninguna manera la presente descripción. Otras realizaciones de los dispositivos y métodos descritos serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de los dispositivos y métodos descritos en la presente memoria.

REIVINDICACIONES

1. Una composición tratante de tejidos que comprende:
5 una colección de elementos alargados, sin una estructura terciaria organizada, comprendiendo cada elemento alargado una matriz de tejido que ha sido al menos parcialmente descelularizada, y
10 en donde cada elemento alargado tiene una estructura tridimensional flexible que comprende una dimensión de longitud, una dimensión de anchura, y una dimensión de altura, y en donde una dimensión es sustancialmente mayor que las otras dos dimensiones y la relación dimensional de la una dimensión en comparación con las otras dos dimensiones es al menos 50:1.
2. La composición de la reivindicación 1, en donde el producto tratante de tejidos comprende una matriz de
15 tejido parcial o completamente descelularizada de al menos uno de tejido de humano, primate no humano, cerdo, vaca, caballo, cabra, oveja, perro, gato, conejo, cobaya, gerbilino, hámster, rata, y ratón.
3. La composición de la reivindicación 2, en donde el producto tratante de tejidos comprende al menos una
20 matriz de tejido acelular porcino.
4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el producto tratante de tejidos
comprende la matriz de tejido parcial o completamente descelularizado de al menos uno de tejido de hueso,
25 piel, dermis, intestino, vascular, vejiga urinaria, tendón, ligamento, músculo, fascia, tejido neurológico, vaso, hígado, corazón, pulmón, riñón, o cartílago.
5. La composición de la reivindicación 4, en donde el producto tratante de tejidos comprende al menos una
matriz de tejido acelular dérmico.
6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el producto tratante de tejidos
30 comprende una matriz de tejido acelular de una o más fuentes animales o de tejido.
7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el producto tratante de tejidos
carece sustancialmente de todo resto alfa-galactosa.
8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que además comprende una o más
35 células viables e histocompatibles.
9. La composición de la reivindicación 8, en donde la una o más células son células de mamífero.
10. La composición de la reivindicación 9, en donde la una o más células son células madre.
- 40 11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que además comprende al menos un factor adicional seleccionado de un agente antiinflamatorio, un analgésico, un factor de crecimiento celular, un factor angiogénico, un factor de diferenciación, una citoquina, una hormona, y una quimiocina.
- 45 12. La composición de la reivindicación 11, en donde el al menos un factor adicional está codificado por una secuencia de ácido nucleico contenida dentro de un vector de expresión.
13. La composición de la reivindicación 12, en donde el vector de expresión está contenido dentro de una o
50 más células viables e histocompatibles.
14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde el producto tratante de tejidos
tiene una carga microbiana reducida o carece de toda carga microbiana.
- 55 15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde cada elemento alargado tiene una dimensión que es al menos 100 veces tan grande como las otras dos dimensiones.

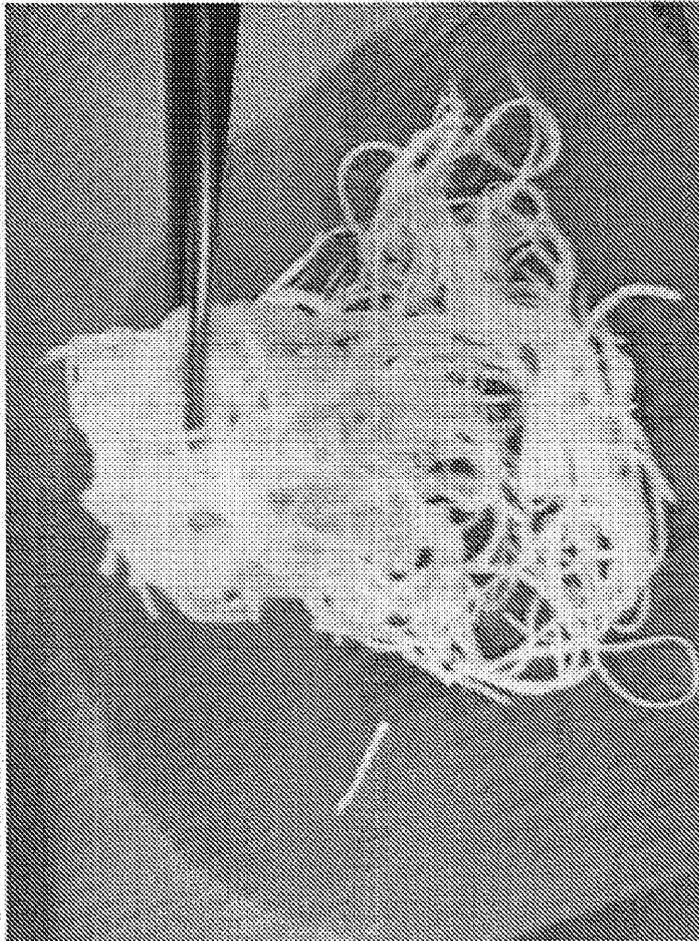


FIG. 1

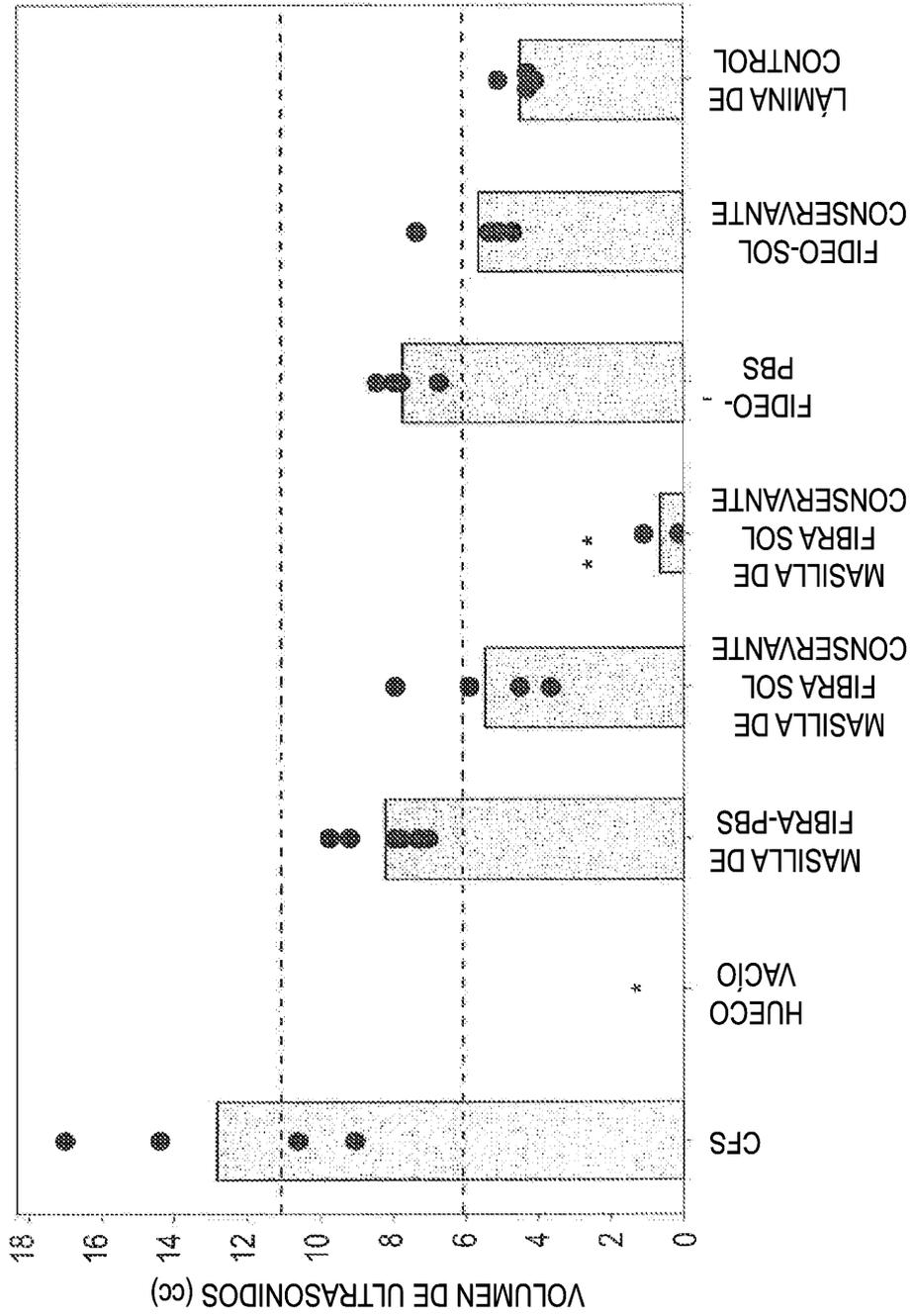


FIG. 2

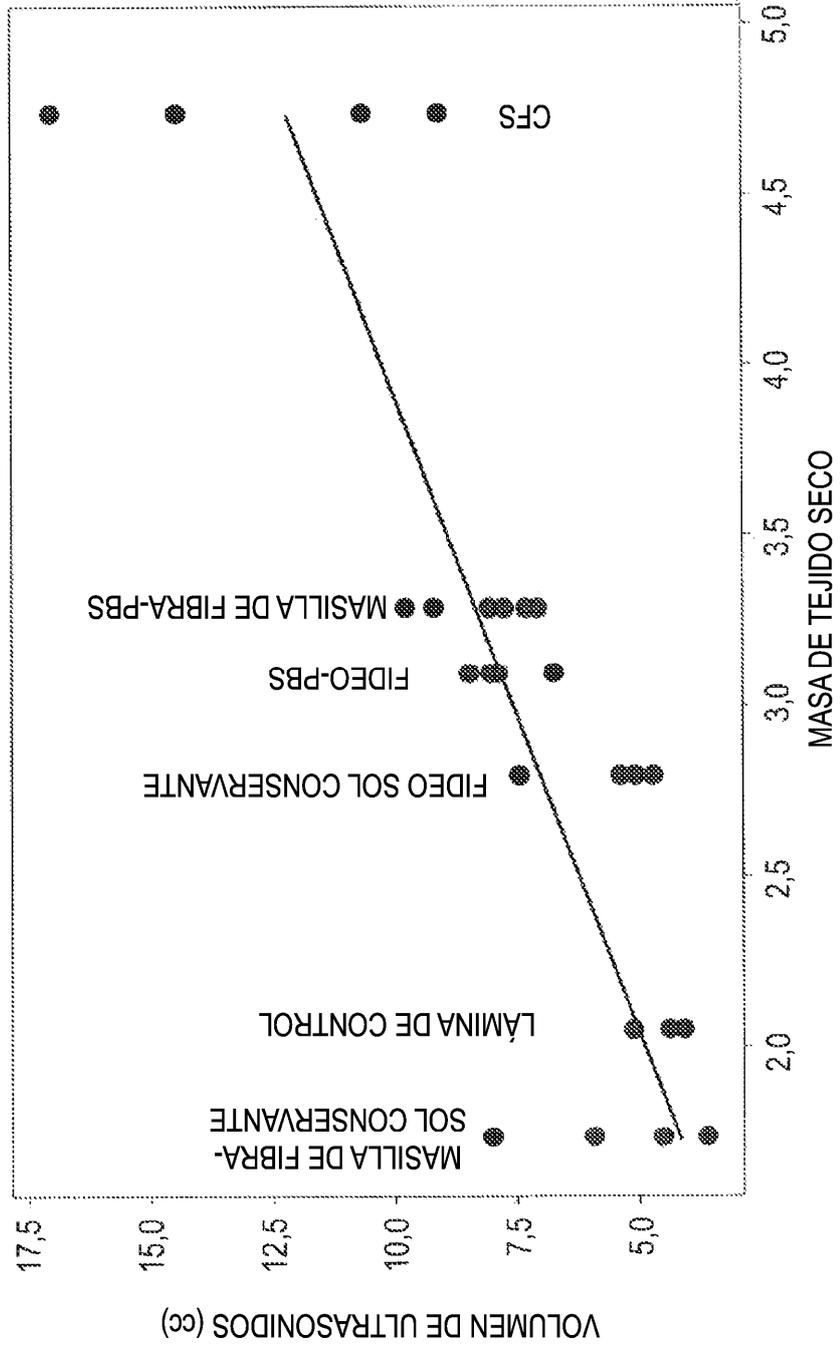


FIG. 3

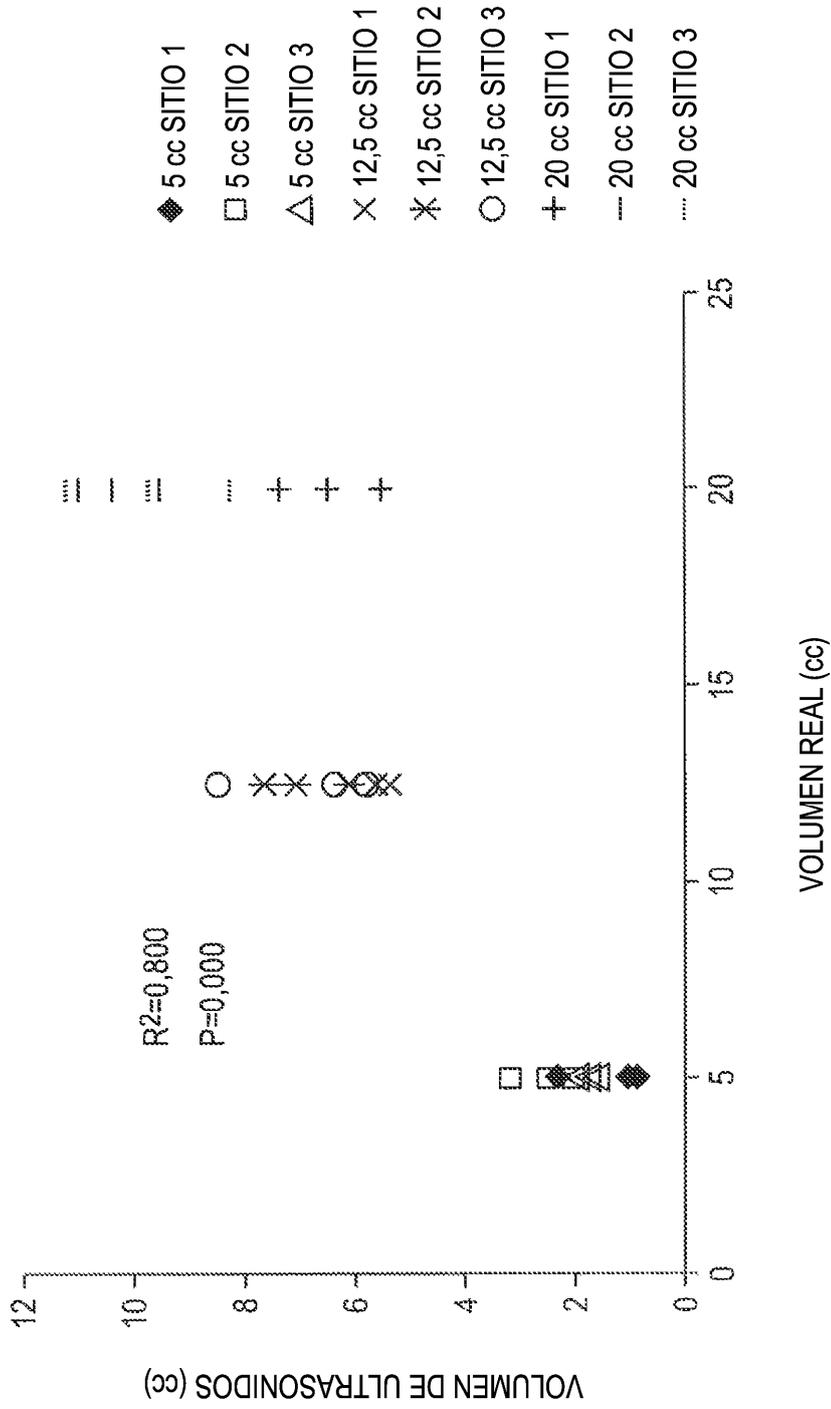


FIG. 4

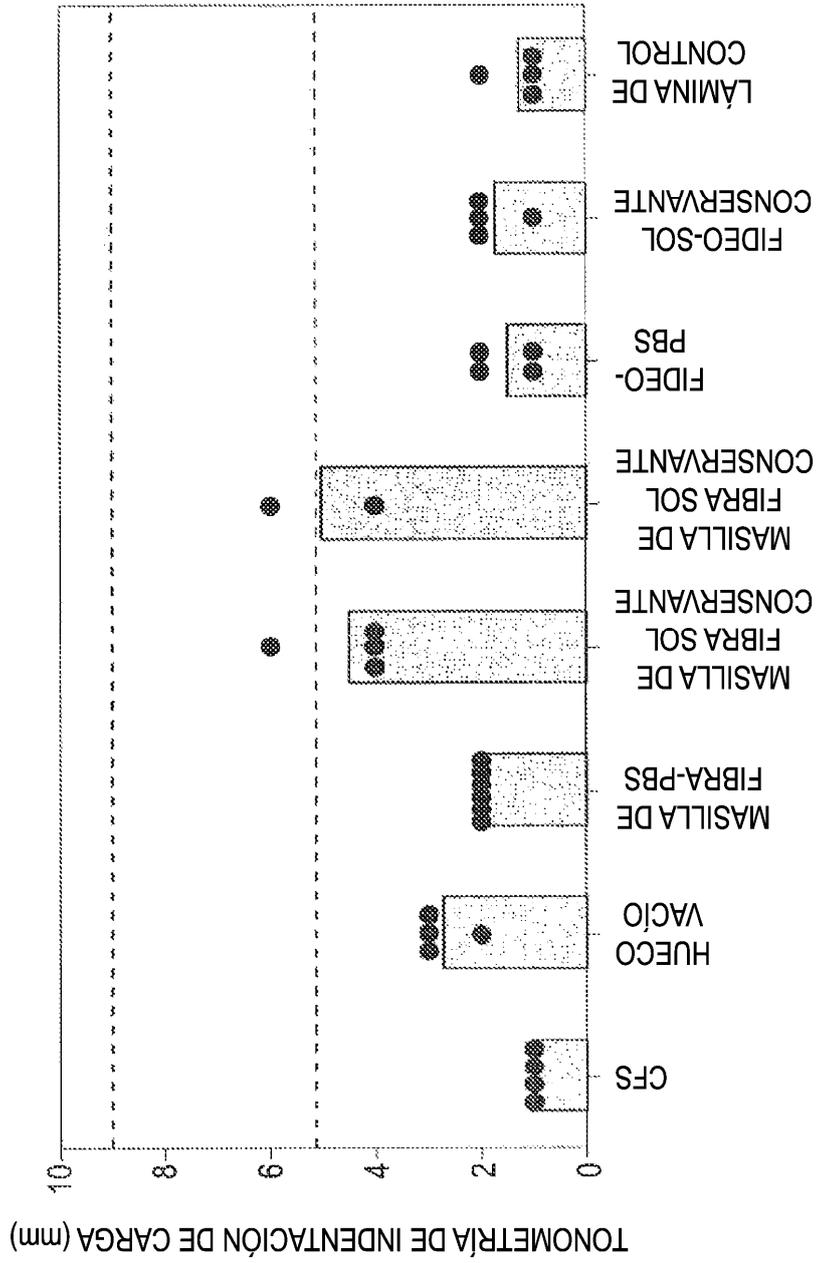


FIG. 5

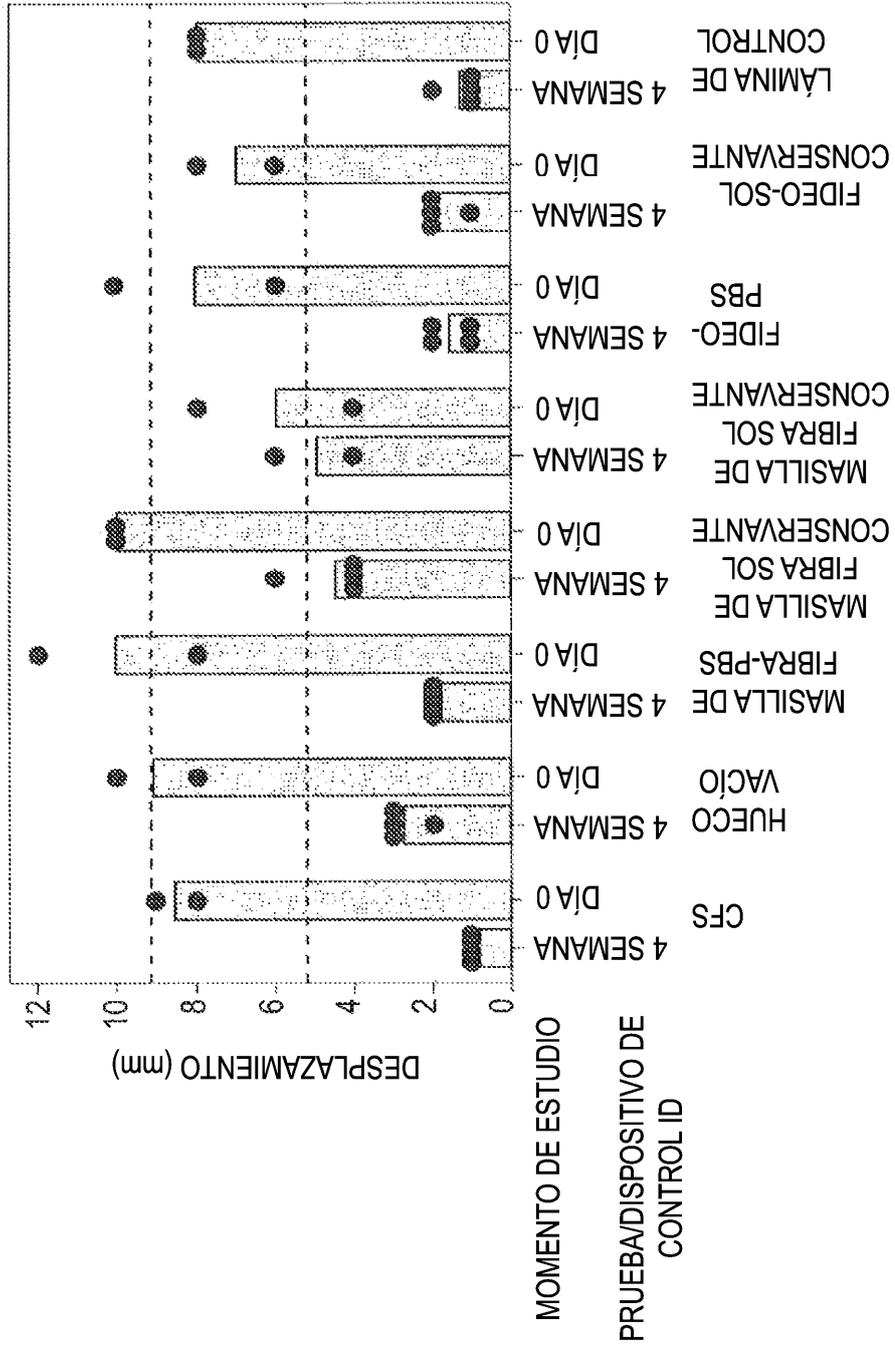


FIG. 6

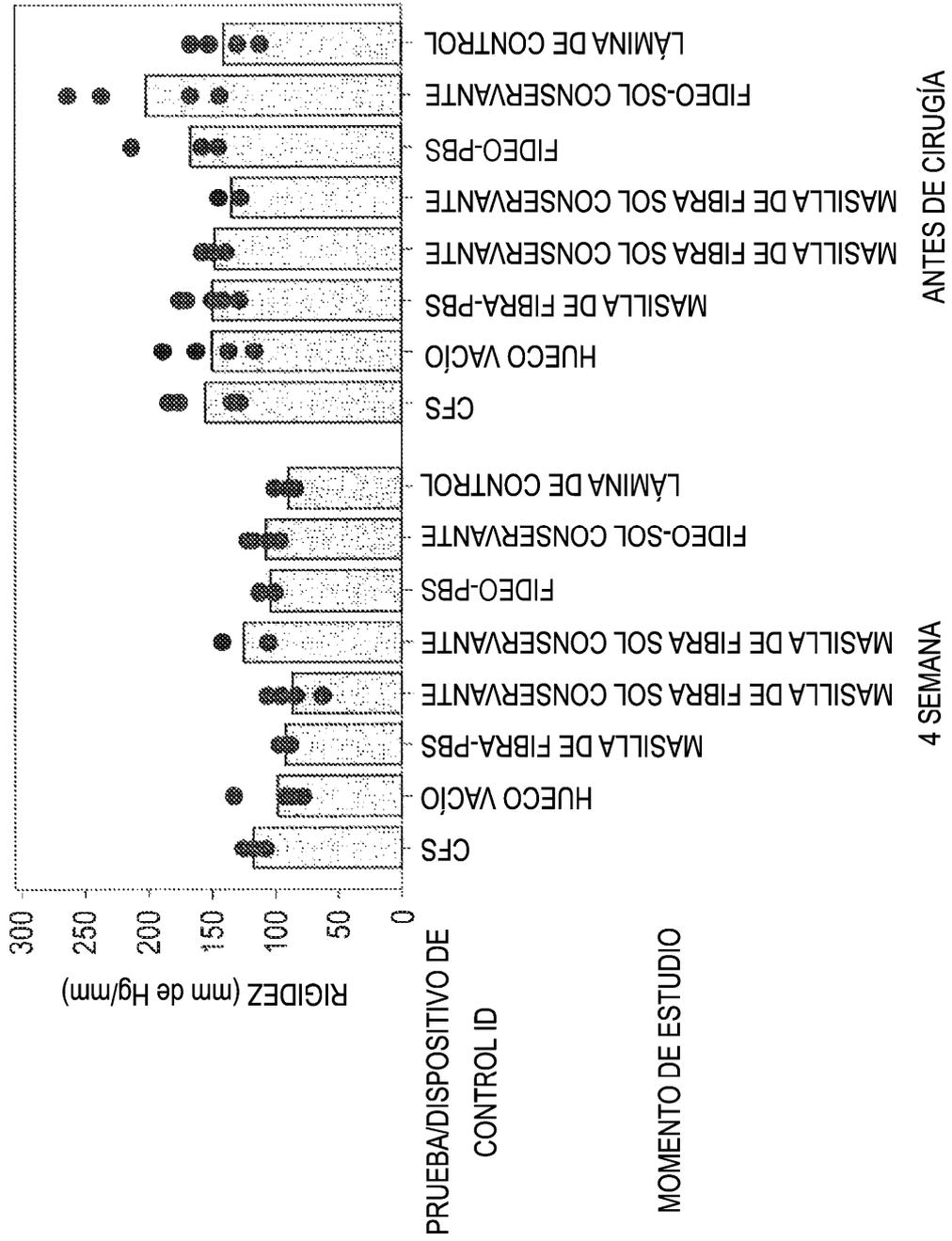


FIG. 7

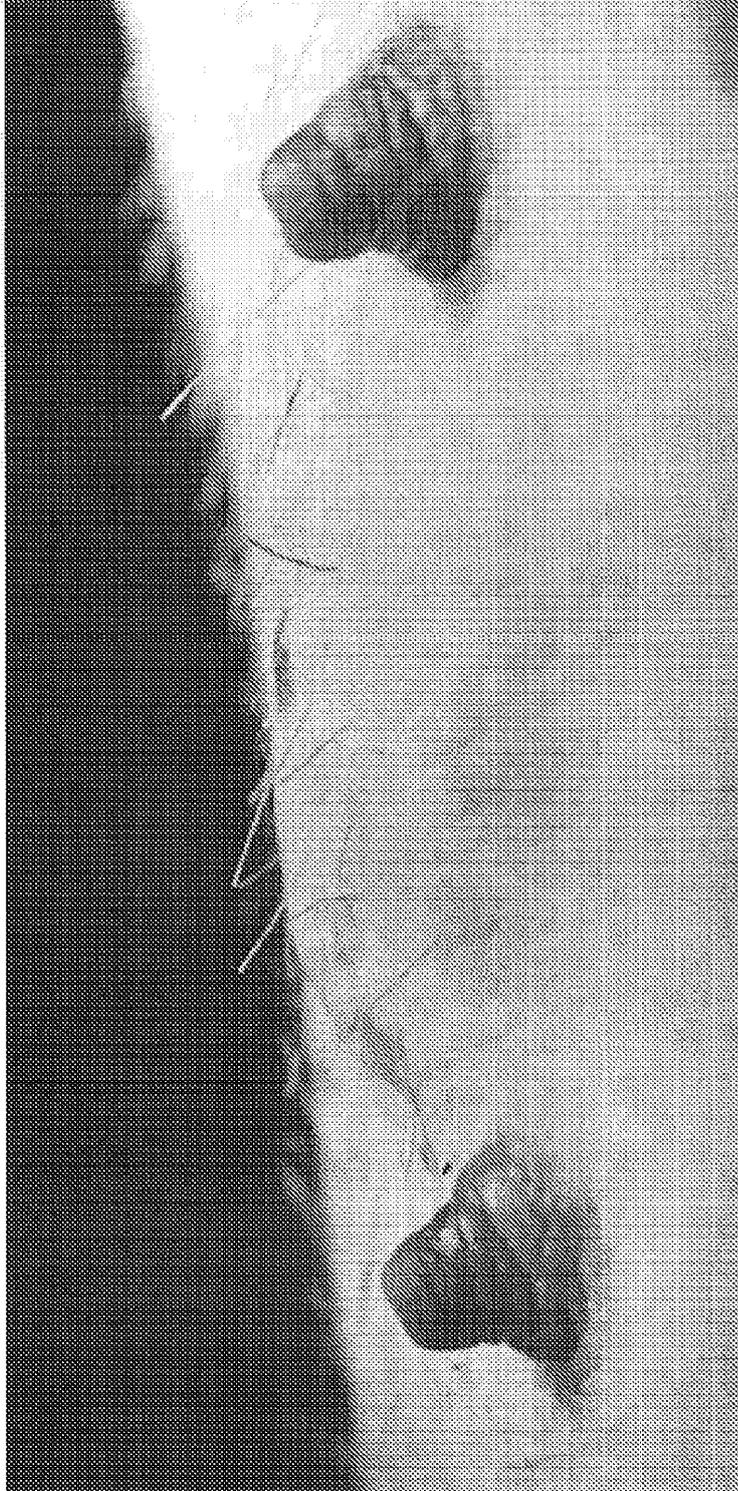


FIG. 8

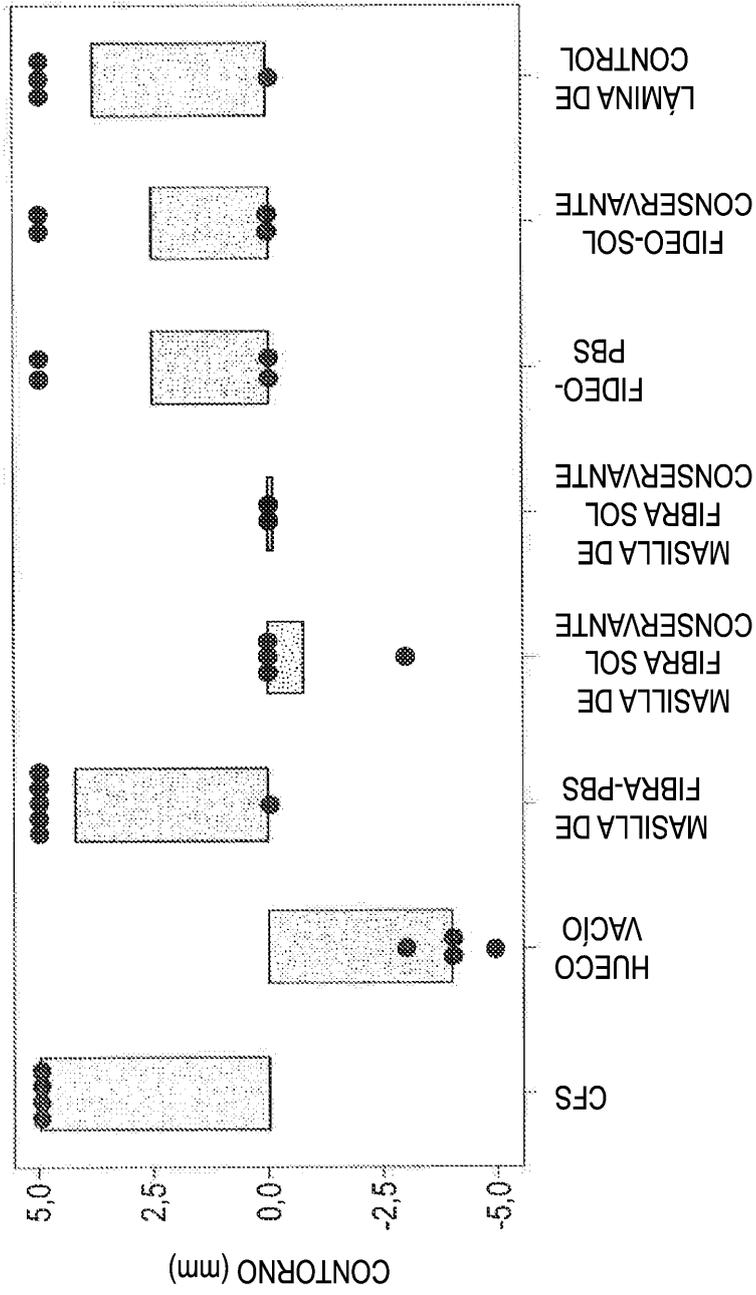


FIG. 9

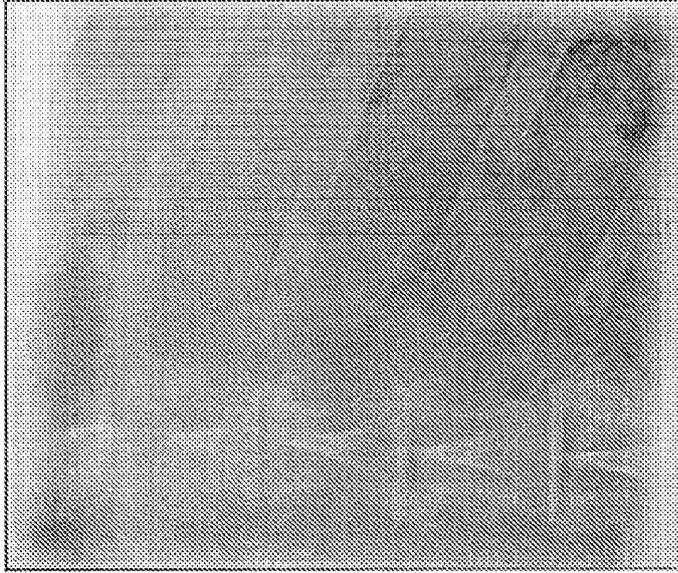


FIG. 10B



FIG. 10A

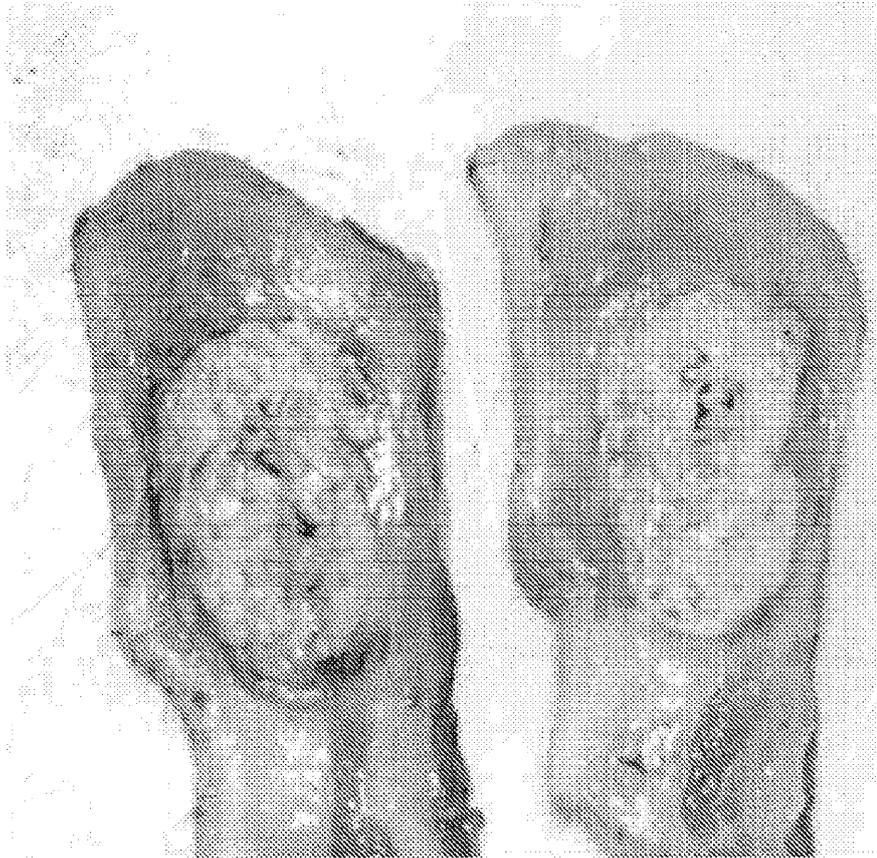


FIG. 11

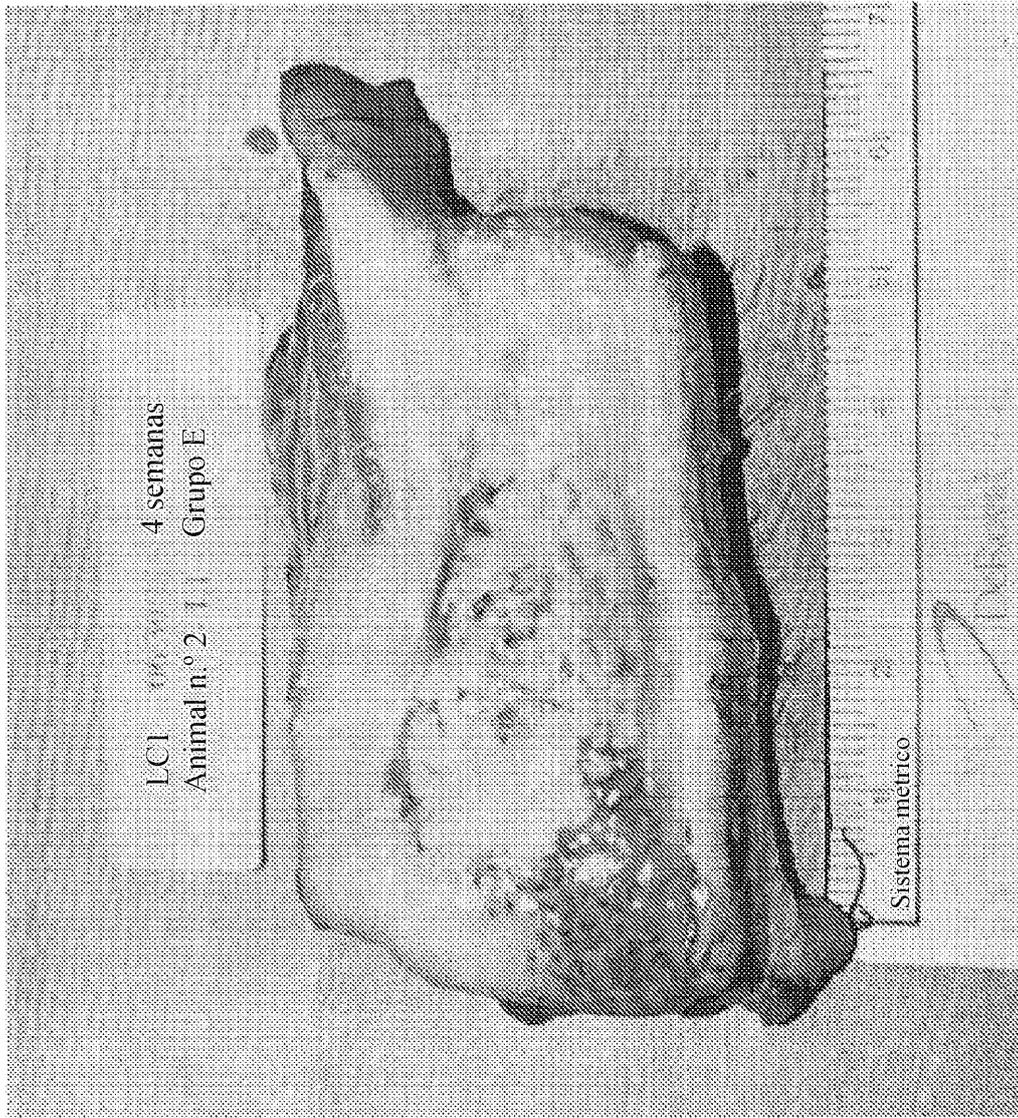


FIG. 12

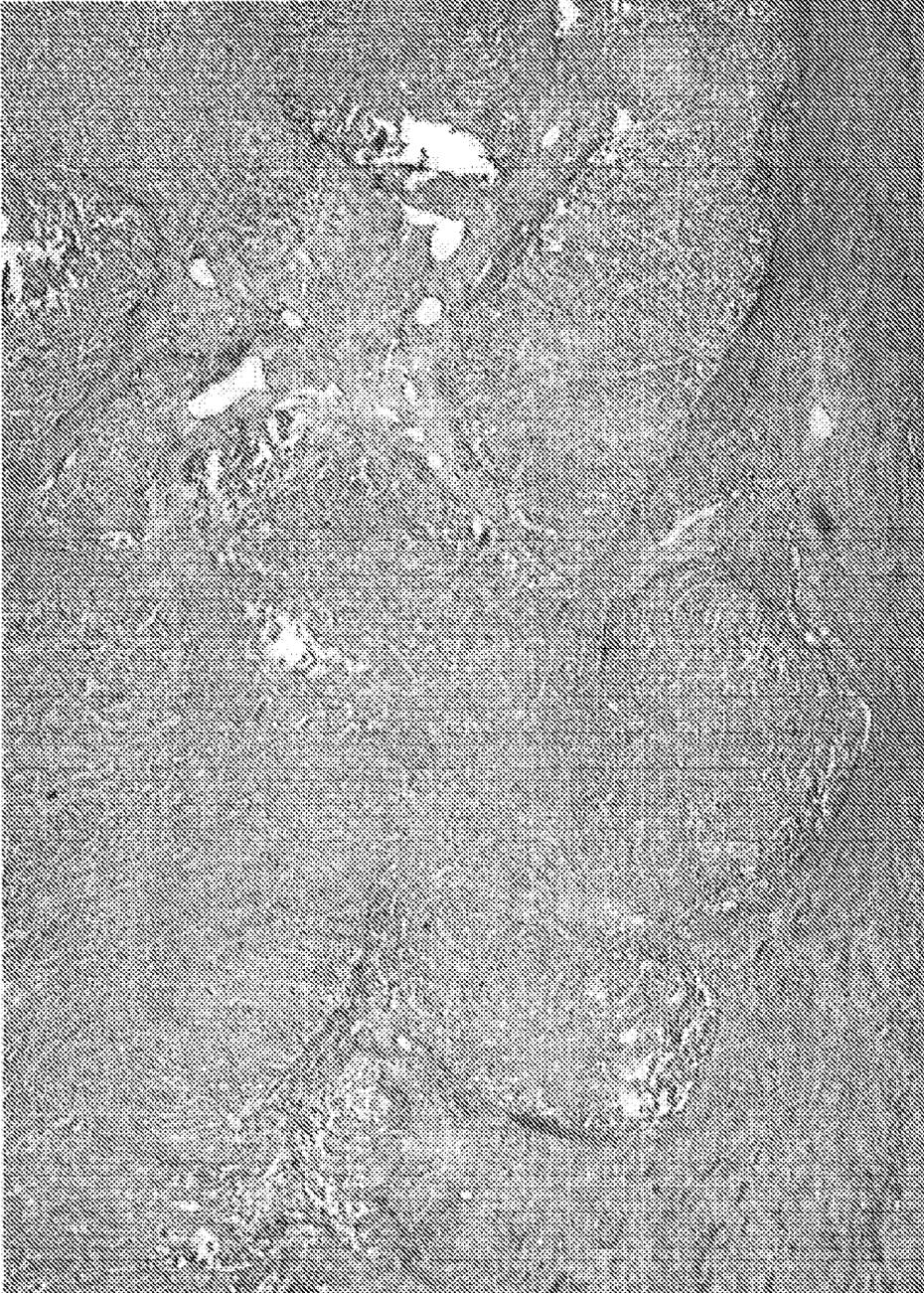


FIG. 13

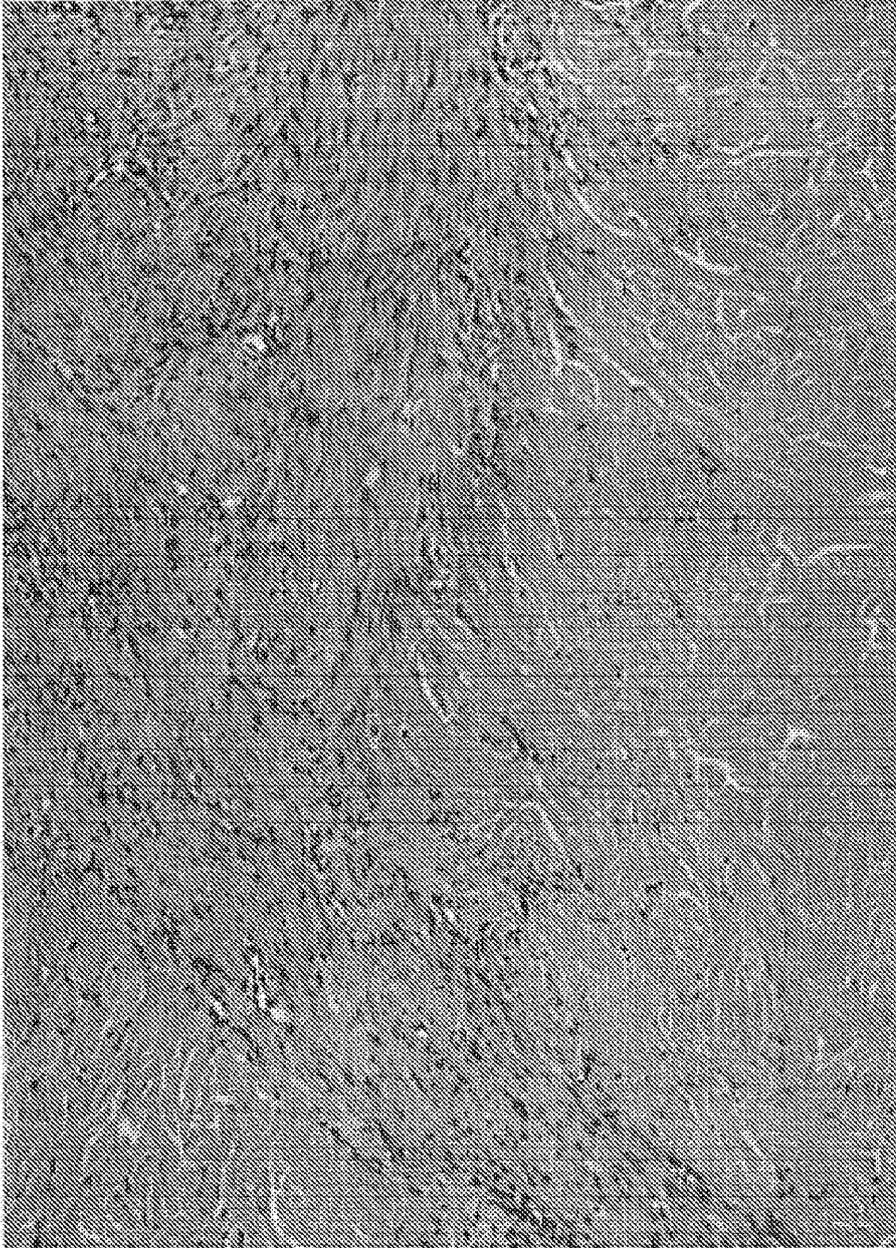


FIG. 14

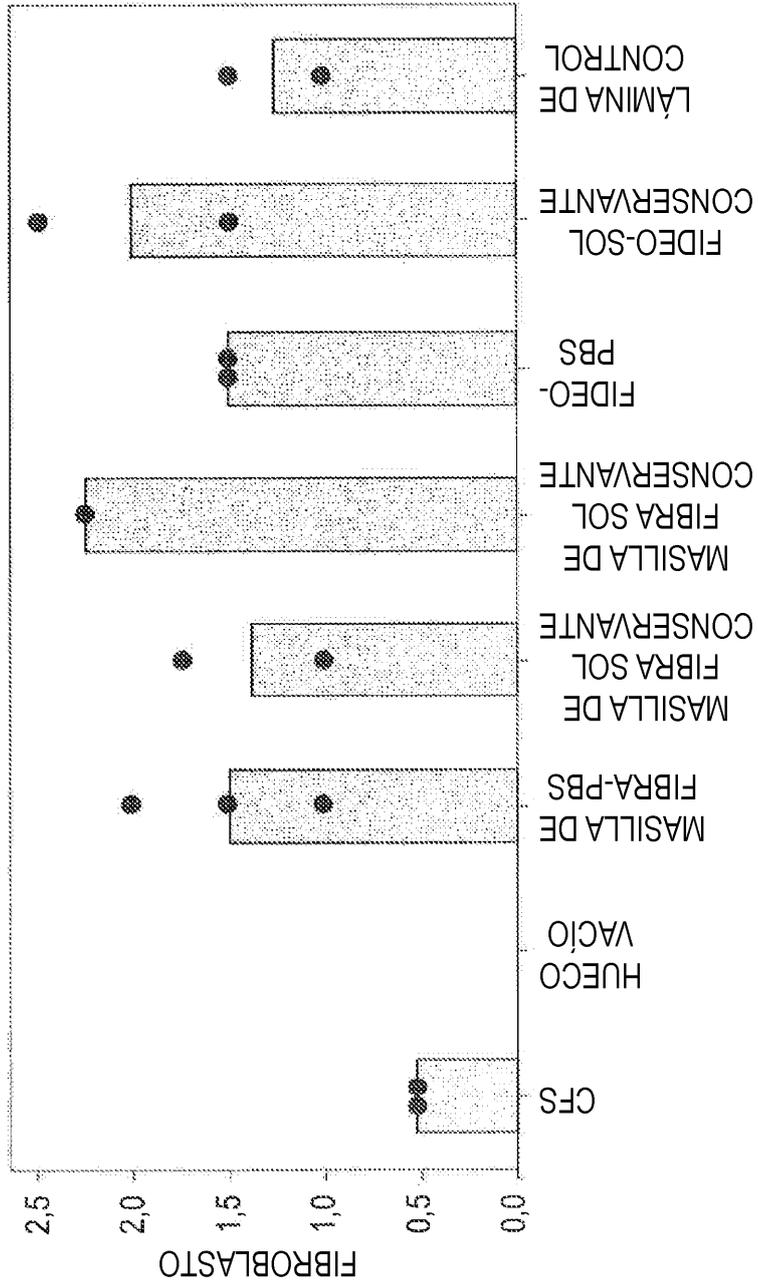


FIG. 15A

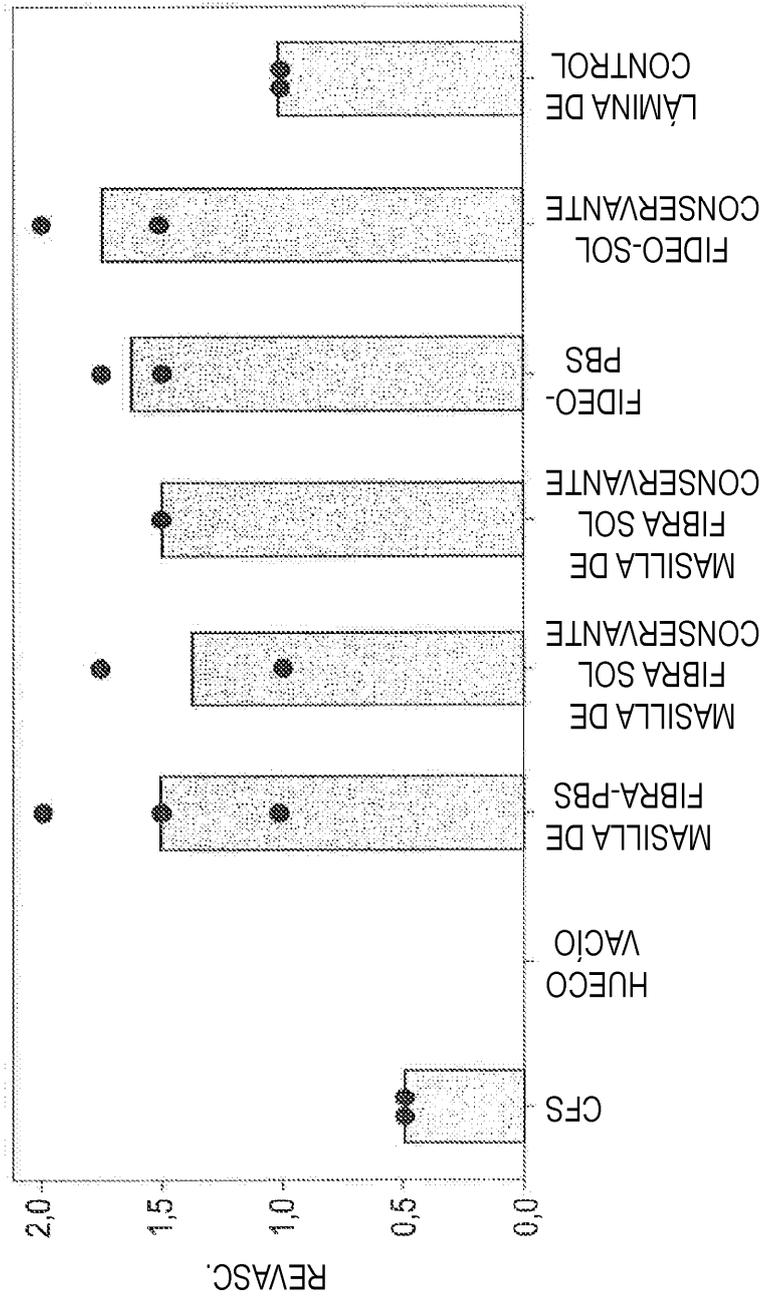


FIG. 15B

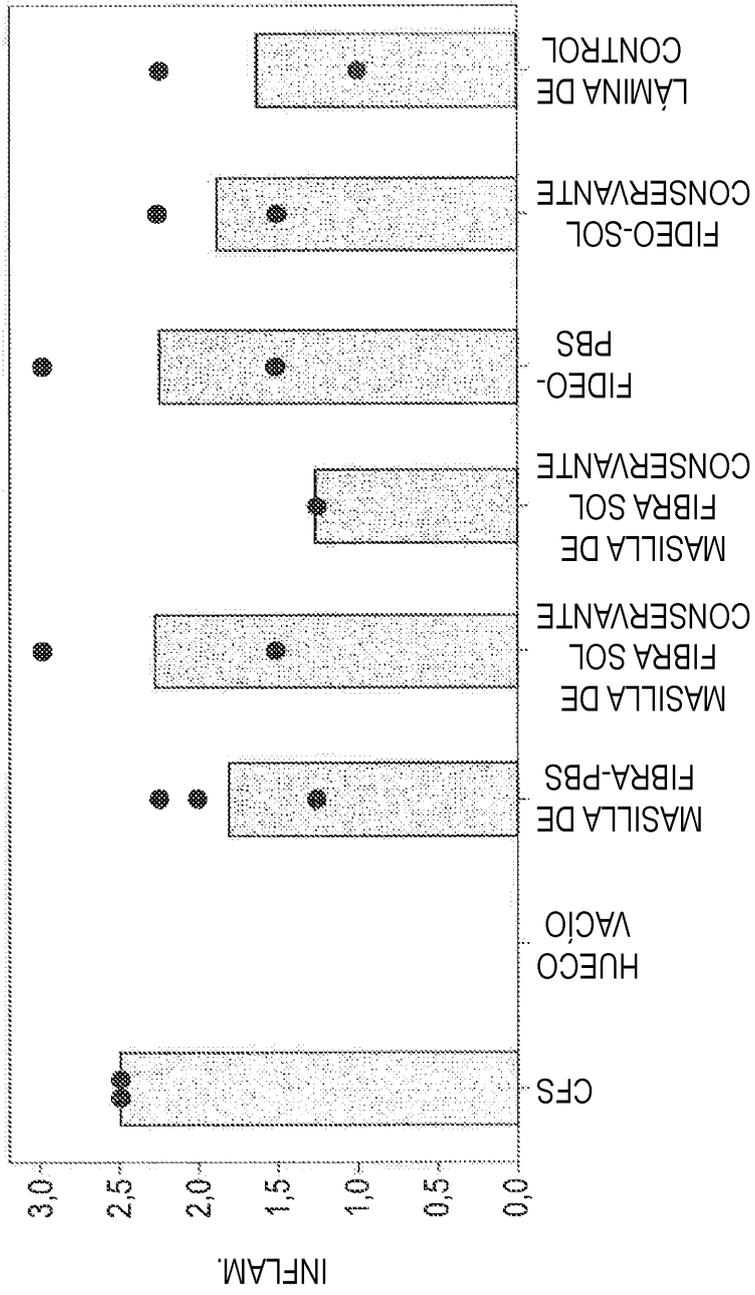


FIG. 15C

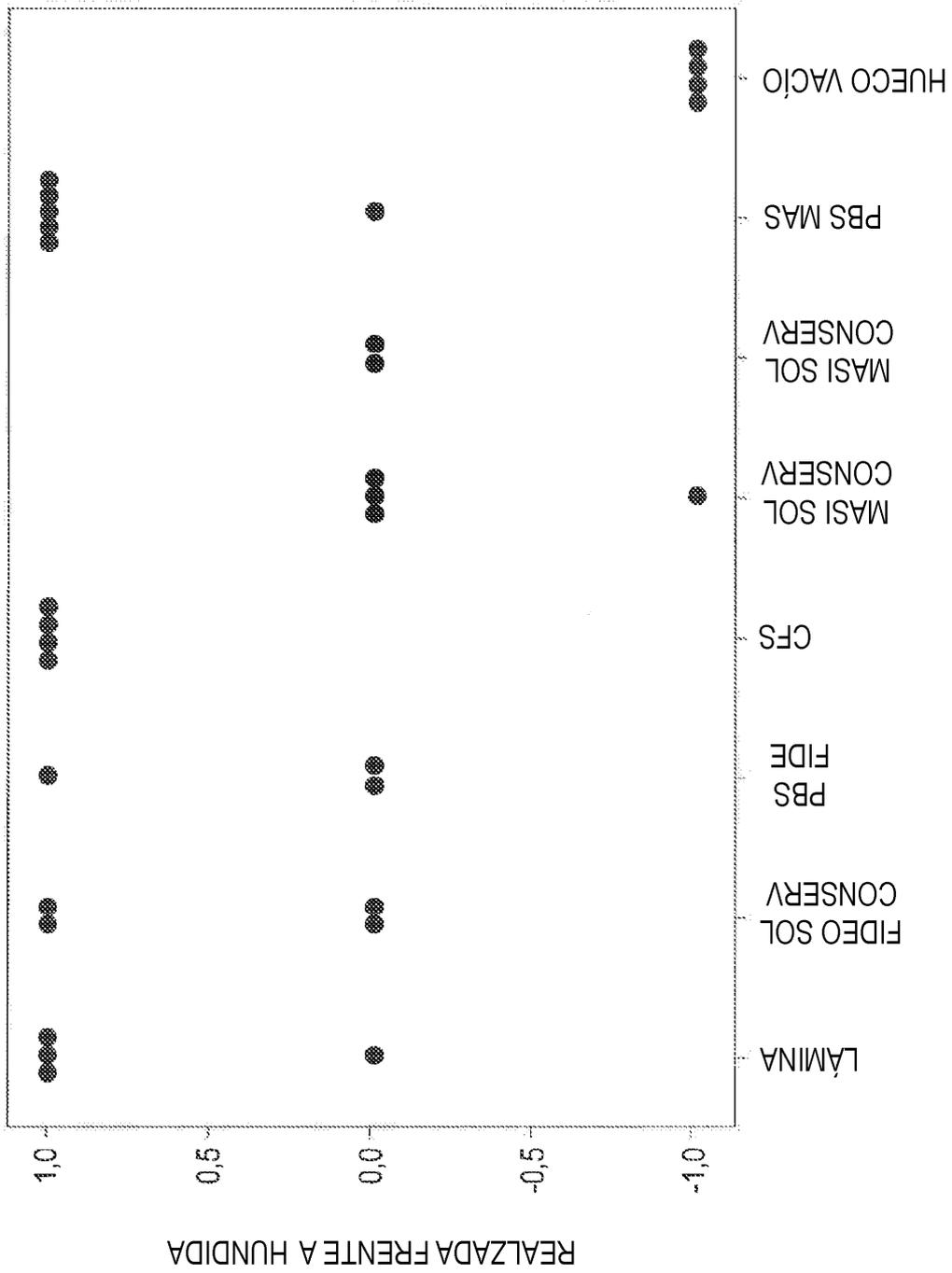


FIG. 17A

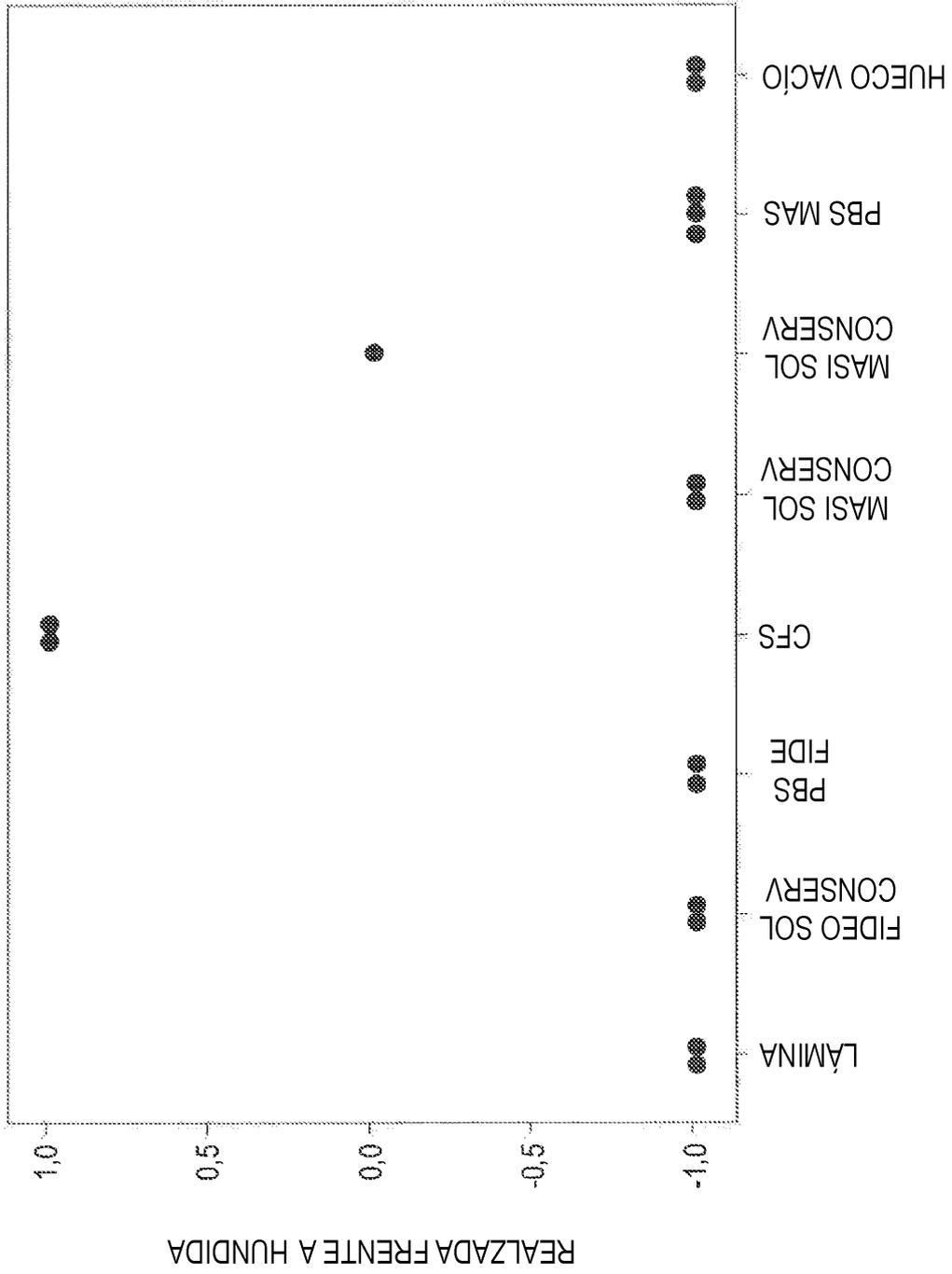


FIG. 17B

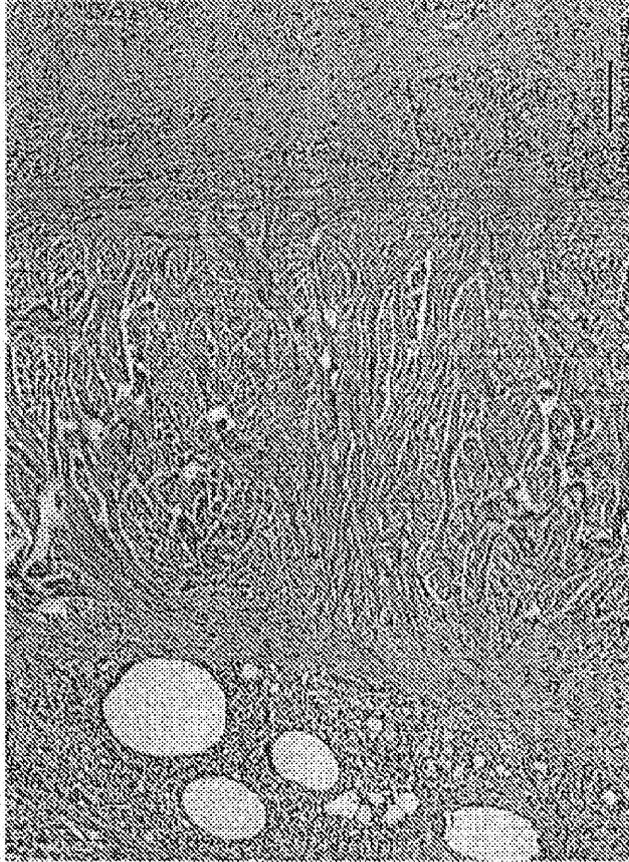


FIG. 18

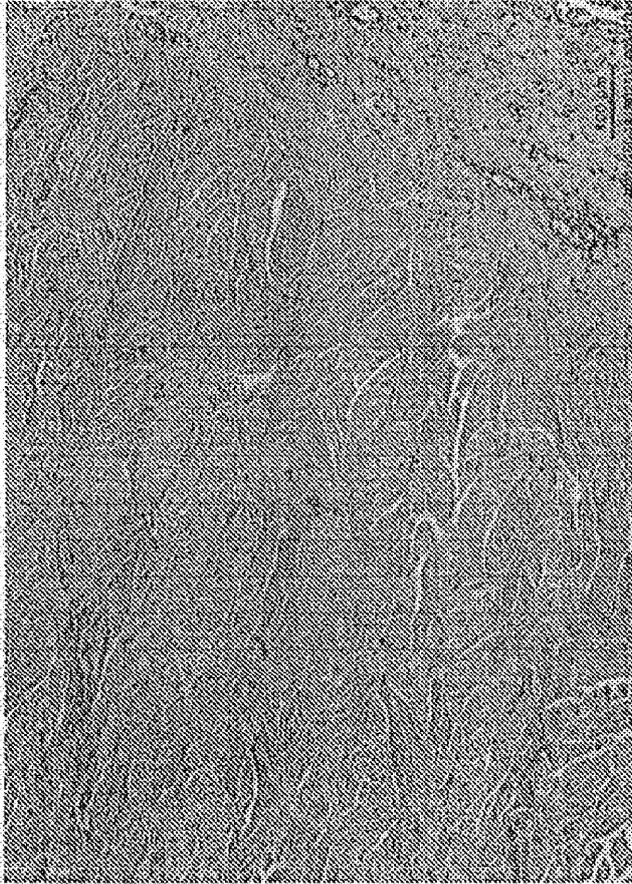


FIG. 19

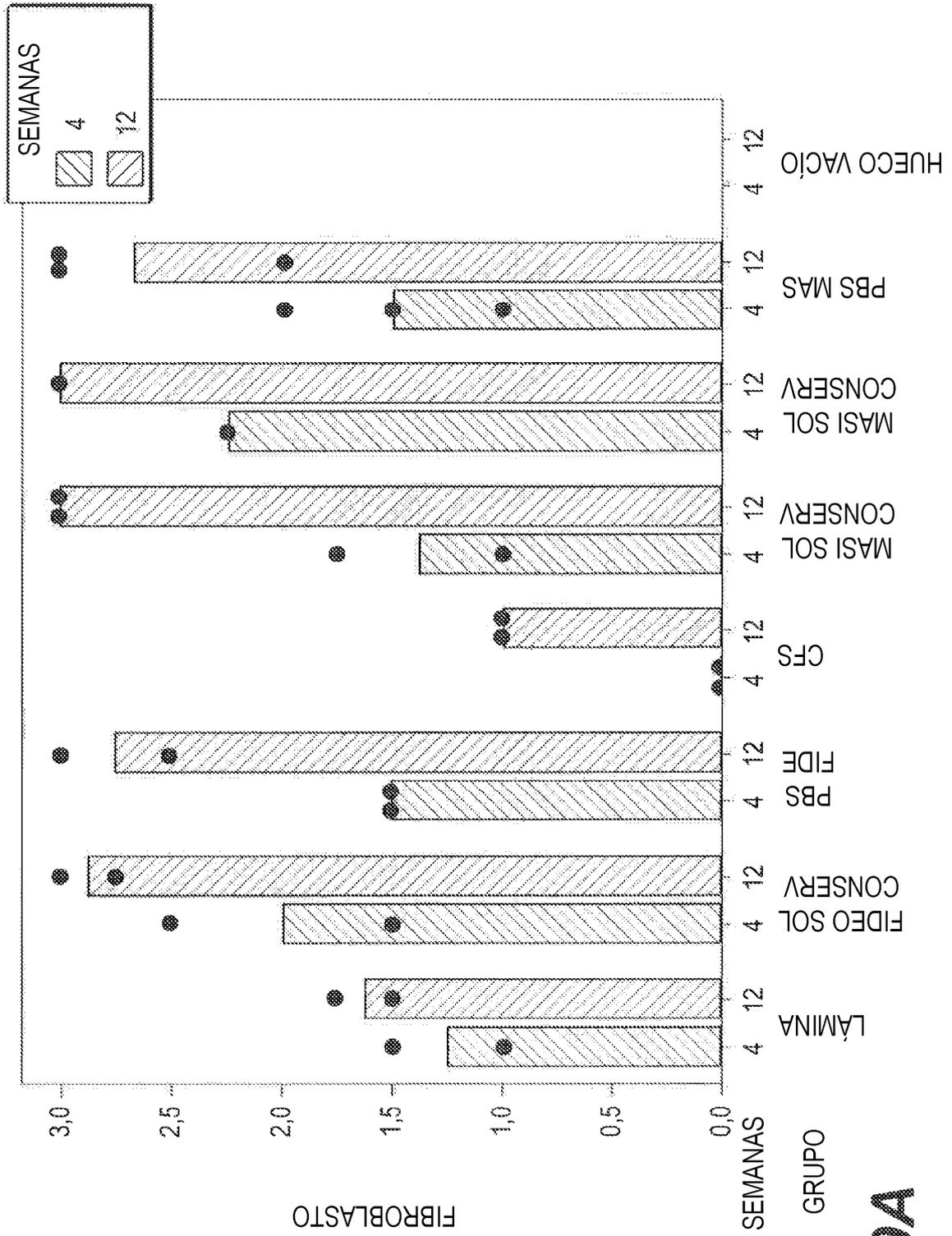


FIG. 20A

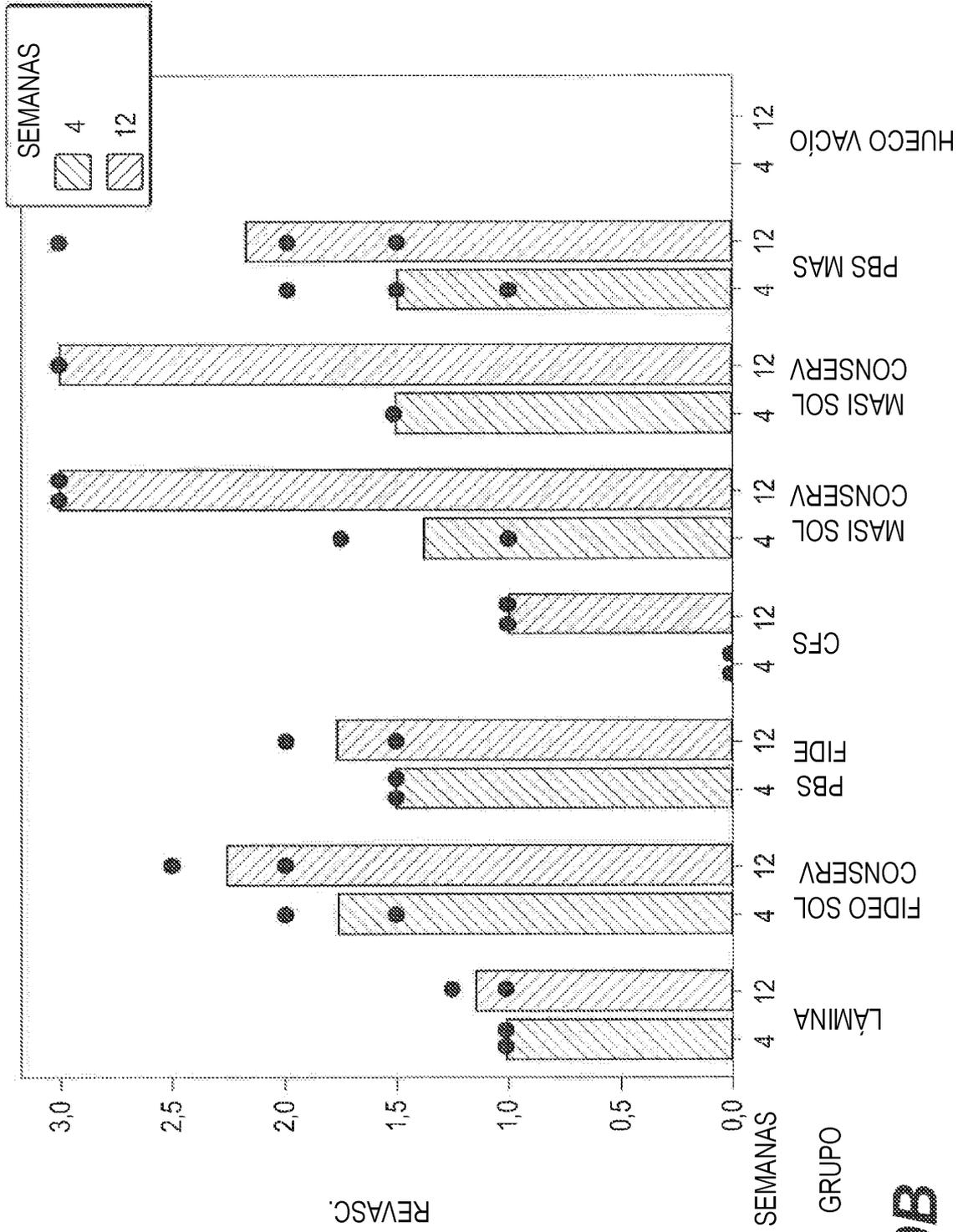


FIG. 20B

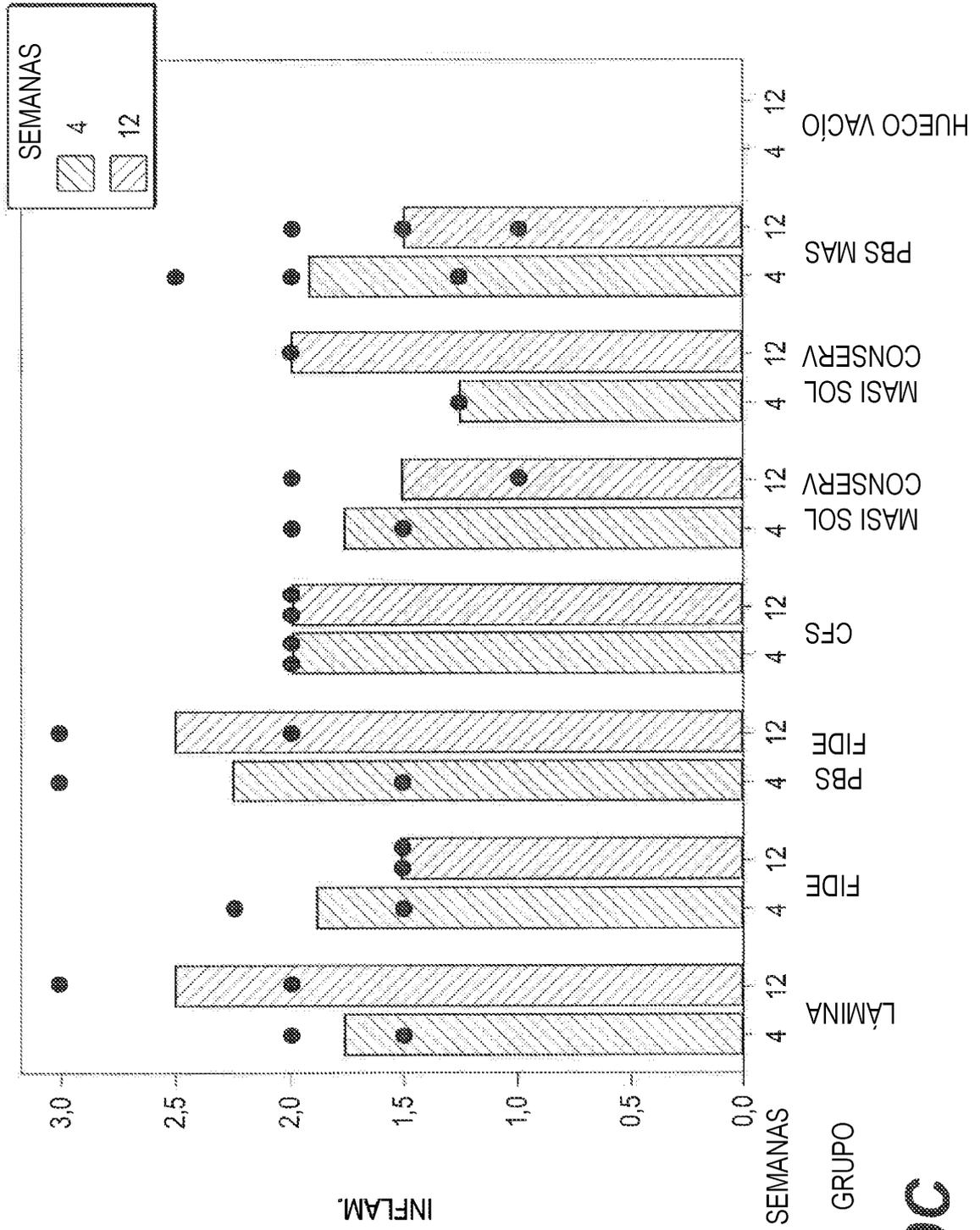


FIG. 20C