

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 724 450**

51 Int. Cl.:

A61F 2/00 (2006.01)
A61K 33/42 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61F 2/28 (2006.01)
A61F 2/02 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01)
A61L 27/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2010 PCT/IL2010/000410**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2010 WO10146575**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2010 E 10789101 (2)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019 EP 2442750**

54 Título: **Formas sólidas para la reparación de tejidos**

30 Prioridad:

15.06.2009 US 187081 P
19.10.2009 US 252800 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.09.2019

73 Titular/es:

CARTIHEAL (2009) LTD. (100.0%)
Atir Yeda 17, 4th Floor
Kfar Saba 44643-13, IL

72 Inventor/es:

ALTSCHULER, NIR y
VAGO, RAZI

74 Agente/Representante:

INGENIAS CREACIONES, SIGNOS E
INVENCIONES, SLP

Observaciones:

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

ES 2 724 450 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

Formas sólidas para la reparación de tejidos

5 Antecedentes de la invención

La intervención y el injerto quirúrgicos en ocasiones son necesarios para restablecer la función mecánica y reconstruir la morfología del hueso y el cartílago, como resultado de traumatismos, tumores o desarrollos óseos anómalos.

10 Los materiales sintéticos, tales como los metales y los cementos óseos, también se han utilizado para restablecer y reconstruir el hueso durante muchos años, pero a menudo dan como resultado osteopenia del hueso circundante y la ruptura por fatiga del implante. Otra posibilidad es el injerto autólogo de hueso, aunque el suministro de tejido óseo autólogo es limitado y su recolección es dolorosa, con el riesgo de infección, hemorragia, desventaja cosmética, daño de nervios y pérdida de la función ósea. Además, se asocia una morbilidad significativa con los sitios de recogida de

15 autoinjerto. Estos problemas se pueden superar mediante la ingeniería de tejidos utilizando armazones fabricados de biomateriales sintéticos o naturales que estimulan la adhesión, migración, proliferación y diferenciación de células madre de la médula ósea, también conocidas como células madre mesenquimatosas (CMM). Se puede estimular una asociación entre los biocomponentes y las respuestas biológicas regenerativas y de reparación proporcionando un armazón que contenga espacios morfológicamente compatibles con las osteonas y sus interconexiones vasculares.

20 El microentorno inmediato y la organización tridimensional (3D) son factores importantes en la diferenciación en general, y particularmente en la diferenciación condrogénica y osteogénica.

25 Algunos armazones de ingeniería del tejido óseo consisten en polímeros naturales, tales como colágeno, alginato, ácido hialurónico y quitosano. Los materiales naturales ofrecen las ventajas de la interacción celular específica, la fácil siembra de células debido a sus interacciones hidrófilas, una baja toxicidad y una baja respuesta inflamatoria crónica. Sin embargo, estos armazones a menudo son mecánicamente inestables y no contribuyen fácilmente a la creación de estructuras tisulares con una forma específica predefinida para el trasplante. Para obtener resistencia mecánica, se precisa una modificación química, lo que puede conducir a toxicidad.

30 Los defectos y la degeneración de las superficies del cartílago articular de las articulaciones provocan dolor y rigidez. El daño al cartílago que protege las articulaciones puede ser el resultado de una lesión física como resultado de traumatismos, deportes o esfuerzos repetitivos (por ejemplo, fractura osteocondral, daño secundario debido a una lesión del ligamento cruzado) o por enfermedad (por ejemplo, osteoartritis, artritis reumatoide, osteocondrosis, osteocondritis disecante).

35

La osteoartritis (OA) es el resultado del desgaste y el desgarro general de las articulaciones, especialmente la articulación coxofemoral y la rodilla. La osteoartritis es común en los ancianos pero, de hecho, a la edad de 40 años, la mayoría de los individuos tienen algunos cambios osteoartíticos en sus articulaciones que soportan peso. Otra

40 tendencia reciente que aumenta la prevalencia de la osteoartritis es el aumento de la obesidad. El CDC estima que el 30 % de los adultos estadounidenses (o 60 millones de personas) son obesos. Los adultos obesos tienen 4 veces más probabilidades de presentar OA de rodilla que los adultos de peso normal. La artritis reumatoide es una afección inflamatoria que da como resultado la destrucción del cartílago. Se cree que es, al menos en parte, una enfermedad autoinmunitaria en pacientes que tienen una predisposición genética a la enfermedad.

45 La prevención y reparación ortopédica de las articulaciones dañadas es una carga importante para la profesión médica, tanto en términos de gastos como de tiempo dedicado a tratar a los pacientes. En parte, esto es debido a que el cartílago no posee la capacidad de auto reparación. Los intentos de volver a crecer el cartílago hialino para la reparación de los defectos de cartílago siguen sin tener éxito. La cirugía ortopédica está disponible para reparar

50 defectos y prevenir el daño articular en un esfuerzo por impedir cambios degenerativos graves en una articulación. El uso de las técnicas quirúrgicas a menudo precisa la extracción y donación de tejido sano para reemplazar el tejido dañado o enfermo. Las técnicas que utilizan tejido donado de autoinjertos, aloinjertos o xenoinjertos son totalmente insatisfactorias, dado que los autoinjertos añaden un traumatismo adicional al sujeto y los aloinjertos y xenoinjertos están limitados por la reactividad inmunológica contra el sujeto hospedador y la posible transferencia de agentes

55 infecciosos. Los intentos quirúrgicos de utilizar materiales distintos del tejido humano o animal para la regeneración del cartílago no han sido satisfactorios.

60 El documento 2008/281431 A1 divulga armazones de reparación ósea con un armazón cerámico poroso que comprende hidroxiapatita. El documento US 2008/065210 A1 divulga armazones en tacos osteocondrales que comprenden una fase polimérica porosa superior y una fase cerámica menos porosa inferior. Falta todavía un material ideal que restablezca la función mecánica y reconstruya la morfología del hueso y el cartílago.

Sumario de la invención

65 La invención proporciona un armazón para la reparación de tejidos, consistiendo dicho armazón en dos fases en

donde:

- una primera fase de dichas dos fases comprende coral sólido que comprende un polímero biocompatible y dicha primera fase comprende adicionalmente una serie de cavidades a lo largo de un eje longitudinal en dicha primera fase, en donde dicho polímero biocompatible está ubicado sustancialmente dentro de dicha serie de cavidades: y
- 5 • una segunda fase de dichas dos fases comprende un coral sólido.

La invención es útil en un método para inducir o potenciar la formación o reparación de cartílago o hueso, o una combinación de los mismos, comprendiendo dicho método implantar en un sujeto, algún armazón de la presente invención dentro de un sitio que necesite formación, reparación o una combinación de los mismos, de cartílago o hueso.

Dicho método puede comprender exponer dicho sitio que necesita formación o reparación de cartílago o hueso, o una combinación de los mismos, y opcionalmente exponer tejido óseo ubicado de forma proximal al sitio de reparación del cartílago en dicho sujeto que necesita reparación o regeneración de cartílago, antes de implantar dicho armazón.

Dicho método para inducir o potenciar la reparación o regeneración del cartílago puede comprender la etapa de fijar al menos una porción de dicho armazón dentro del hueso ubicado de forma proximal a dicho sitio de reparación del cartílago

Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un procedimiento para la purificación de construcciones de armazón de base coralina, comprendiendo dicho proceso las etapas de:

- poner en contacto aragonito sólido de un tamaño y forma deseados con una solución que comprende un agente oxidante; y
- 25 • lavar y secar de dicho aragonito sólido

por lo que una o cada una de dichas etapas se realiza bajo presión negativa aplicada.

Dicho procedimiento comprende realizar dicha puesta en contacto en condiciones ligeramente ácidas. La solución puede comprender hipoclorito de sodio.

Dicho procedimiento puede comprender adicionalmente someter al aragonito sólido a una temperatura de al menos 275 °C bajo presión negativa aplicada.

La presión negativa aplicada varía entre aproximadamente 0,02 MPa a 1 Pa (0,2 a 0,00001 bar) o entre 0,04 MPa a 0,001 Pa (0,4 a 0,000001 bar).

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 representa de forma esquemática el posicionamiento de un implante dentro de un sitio para la reparación de cartílago y hueso, en donde el armazón **1-10** se posiciona de forma que una primera fase se posiciona dentro del cartílago y una segunda fase se posiciona dentro del hueso situado de forma proximal.

La Figura 2 representa la incorporación satisfactoria de realizaciones de un armazón de la presente invención dentro de un defecto de cartílago y hueso. La Figura 2A muestra una fotografía de un orificio perforado en un cóndilo femoral medial de una cabra; D= 6 mm, L=7,5 mm. Las Figuras 2B y 2C muestran una fotografía de la implantación del armazón dentro del sitio de la lesión. La Figura 2D muestra que a los 19 días posimplantación: el implante se incorporó de forma satisfactoria dentro del cartílago, se observan signos de vascularización y un menisco intacto.

La Figura 3 muestra micrografías por microscopio óptico de tejido osteocondral, en el que se ha implantado un armazón realizado de la presente invención. La Figura 3A muestra un aumento bajo (2x) 9 semanas después de la implantación de un armazón realizado descrito en el presente documento, en un cóndilo femoral medial de una cabra; D=5,2 mm, L=7,5 mm; visualizado con tinción por H y E convencional. La Figura 3B muestra un corte comparable del tejido teñido con tricrómico de Masson. Tener en cuenta que el área del implante, (resaltada mediante el rectángulo punteado en 3A) se reemplaza por hueso reticular, cartílago y tejido fibroso.

La figura 4, similar a la Figura, 3 muestra micrografías por microscopio óptico de tejido osteocondral, en el que se ha implantado un armazón realizado de la presente invención, sometido a distintos protocolos de tinción. La Figura 4A presenta un aumento bajo (2x) del tejido 9 semanas después de la implantación en un cóndilo femoral medial de una cabra; D=5, teñido con Safranina O, y la figura 4B muestra un corte comparable teñido para la detección de colágeno de tipo II. La Figura 4A demuestra la presencia de una banda roja homogénea de cartílago que cubre el hueso normal y el área del defecto. De manera similar, la Figura 4B muestra una tinción positiva para colágeno de tipo II a lo largo de la banda de cartílago que cubre el defecto (y cartílago normal adyacente como un control positivo interno).

La Figura 5 muestra micrografías por microscopio óptico de tejido osteocondral, en el que se ha implantado un armazón realizado de la presente invención, sometido a tinción con H y E. El corte es de un cóndilo femoral medial de una

cabra, recogido 9 semanas después de la implantación del armazón; D=5,2 mm, L=7,5 mm. La Figura 5A es un aumento bajo del tejido, mientras que la Figura 5B es un aumento mayor del recuadro observado en la Figura 5A. Tener en cuenta la uniformidad del tejido en la región del cartílago hialino (recuadro). Hay un ligero agrupamiento de condrocitos dentro de la región de regeneración, pero la región parece comparable al tejido cartilaginoso vecino.

5 La Figura 6 representa la preparación y el uso de un armazón multigradiante. El posicionamiento del taco dentro del tamiz para la inmersión se muestra en la Figura 6A. Las Figuras 6B y 6C representan imágenes de microscopía óptica del corte de la parte superior (panel B) cortado del taco (panel C) y visualizadas a mayor aumento, donde se puede determinar el tamaño de los huecos. La Figura 6D representa de forma esquemática una realización de un armazón multifásico de la presente invención.

10 La Figura 7 muestra micrografías de la tinción con safranina O/verde Fast de cultivos de CMM, que indican el potencial condrogénico del implante en función de si las células se cultivaron sobre Aragonito (Figuras 7D, 7E y 7F), Aragonito y ácido hialurónico (Figuras 7G, 7H y 7I) o sin ningún armazón (control) (Figuras 7A, 7B y 7C) a lo largo del tiempo.

15 La Figura 8 muestra el área celular teñida (Figura 8A) y la intensidad (Figura 8B) de la tinción con safranina O/verde Fast de CMM cultivadas sobre un armazón de aragonito, Aragonito + ácido hialurónico y sin ningún armazón a lo largo del tiempo.

20 La Figura 9 muestra micrografías de MEB de las CMM, cultivadas sobre diversos armazones. Las Figuras 9A y 9B demuestran la morfología de las CMM cultivadas sobre armazones basados en coral frente a los cultivados sobre armazones que contienen coral y ácido hialurónico (Figuras 9C y 9D)

25 La Figura 10 muestra una realización de un armazón de la presente invención que demuestra un patrón de orificios perforados en la fase condral de un implante realizado, antes de (Figura 10A) y después (Figura 10B) de la impregnación del armazón con una solución de NaHA al 1 %, seguido de evaporación.

30 Las Figuras 11A-C representan realizaciones de armazones/implantes de la presente invención. De acuerdo con este aspecto, una fase comprende aragonito con una serie de orificios o huecos a lo largo de un eje longitudinal (11-30) y está impregnada con ácido hialurónico (11-10), y otra fase comprende solo aragonito (11-20). El extremo del armazón de acuerdo con este aspecto, es ahusado (11-40) para facilitar la inserción como un encaje firme, dentro de un sitio de reparación **osteocondral**. La Figura 11C muestra un armazón realizado, teñido con verde fast, que tiñe selectivamente el componente de ácido hialurónico del armazón.

35 Descripción detallada de la presente invención

La presente invención proporciona armazones adecuados para la reparación y/o formación de tejido cartilaginoso y/u óseo en un sujeto. La presente invención proporciona kits para la reparación y/o formación de tejido cartilaginoso y/u óseo en un sujeto.

40 El coral, que está comprendido de CaCO₃ en la forma cristalina de aragonito o calcita, tiene la ventaja de sustentar una invasión celular rápida, la adherencia, proliferación y diferenciación de células madre mesenquimatosas en tejido cartilaginoso y/u óseo.

45 Los armazones de coral tridimensionales (3-D) atraen a las células madre mesenquimatosas de los tejidos circundantes o ubicados de forma proximal y estimulan la formación de vasos sanguíneos en un sitio de reparación de cartílago. Dichos armazones pueden usarse para la regeneración, reparación y potenciación de la formación de cartílago y/o hueso en un sujeto para el tratamiento de defectos de cartílago de espesor completo, defectos de cartílago de espesor parcial y/o defectos osteocondrales.

50 Los términos "coral" y " aragonito" se usan indistintamente en el presente documento

Los armazones de base coralina de la presente invención también pueden usarse para la regeneración, reparación y potenciación de la formación de hueso en un sujeto, para el tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno óseo.

55 La presente invención se basa en la aplicación inesperada de construcciones de armazón de coral solos que son útiles en la regeneración, reparación y potenciación de la formación de cartílago y/o hueso y, además, la construcción de armazón de coral/calcita puede prepararse e insertarse específica y óptimamente dentro del cartílago y/o hueso en un sujeto que lo necesite, para métodos de regeneración, reparación y potenciación de la formación del cartílago y/o hueso.

60 En particular, esta invención se basa en la aplicación inesperada de que la regeneración, reparación y potenciación de la formación de cartílago y/o hueso es óptima cuando la construcción de armazón de coral consiste esencialmente en dos fases en donde una primera fase de dichas dos fases comprende coral sólido que comprende un polímero biocompatible y la primera la fase comprende adicionalmente una serie de cavidades a lo largo de un eje longitudinal en la primera fase, en donde el polímero biocompatible puede estar ubicado sustancialmente dentro de dicha serie de

cavidades; una segunda fase de dichas dos fases comprende un coral sólido solo.

En particular, la presente invención proporciona la ventaja inesperada en términos de una mayor condrogénesis, cuando los armazones como se describen en el presente documento incorporan un polímero biocompatible tal como ácido hialurónico en la fase insertada dentro del cartílago. Otra ventaja de los armazones de acuerdo con este aspecto, es la presencia de canales perforados previamente u orificios colocados longitudinalmente dentro de la fase que contiene el polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, orificios que están impregnados con el polímero biocompatible tal como el ácido hialurónico y sirven como depósitos para el polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, en una fase ubicada dentro de una región que necesita reparación de cartílago. La ubicación del polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, permite una mayor dirección de las células progenitoras que migran a lo largo de toda la fase de este armazón, para estimular la regeneración y reparación del cartílago. En algunas realizaciones, los canales que comprenden el polímero biocompatible concentrado, tal como ácido hialurónico, dentro de los huecos a lo largo del eje longitudinal de la fase del armazón proporcionan una guía quimiotáctica para las células reclutadas implicadas en la condrogénesis y/o, en algunas realizaciones, influyen en el reclutamiento local y la diferenciación de la población de células condrogénicas que migran al mismo. En algunas realizaciones, los canales que comprenden el polímero biocompatible concentrado tal como ácido hialurónico dentro de los huecos a lo largo del eje longitudinal de la fase del armazón, contribuyen a la homeostasis de la matriz de cartílago.

De acuerdo con este aspecto, la porosidad y la mayor rigidez de la segunda fase en comparación con la primera son más adecuadas para la inserción dentro del hueso y proporcionar un soporte, para la reparación de defectos osteocondrales. Los armazones de la presente invención son, por lo tanto, ideales para la incorporación dentro del sitio de un defecto que abarca dos tipos distintos de tejido, es decir, hueso y cartílago.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un armazón adecuado para la reparación de tejidos, consistiendo dicho armazón en dos fases en donde:

- una primera fase de dichas dos fases comprende coral sólido que comprende ácido hialurónico y dicha primera fase comprende adicionalmente una serie de cavidades a lo largo de un eje longitudinal en dicha primera fase; y
- una segunda fase de dichas dos fases comprende un coral sólido.

En algunas realizaciones, de acuerdo con este aspecto, la primera fase tiene una altura de entre 1-3 mm o, en algunas realizaciones, 0,5-5 mm o, en algunas realizaciones, 1-7 mm. En algunas realizaciones, de acuerdo con este aspecto, el ácido hialurónico se distribuye preferentemente dentro de las cavidades creadas dentro de esta fase. En algunas realizaciones, una capa delgada de ácido hialurónico puede formarse adicionalmente por encima del implante, la cual asume una capa esponjosa exterior al implante, en la región apical del implante.

En algunas realizaciones, el polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, es hidrófilo y cuando el líquido sinovial entra en contacto con él en la capa apical por encima del armazón o cuando la solución salina entra en contacto con él durante el procedimiento de implantación, el implante absorbe el líquido y vuelve a ser un hidrogel, a diferencia del estado deshidratado/desechado preimplantación. En algunas realizaciones, esta inversión proporciona protección mecánica en el lugar de la implantación.

La capa exterior, cuando se "reconstituye", como se describe, después de la implantación, puede eluir del armazón hacia el sitio circundante y, de este modo, participar en la estimulación o potenciación de la reparación en el sitio, incluyendo, entre otros, sirviendo como un quimioatrayente para las células que participan en el proceso de reparación.

De acuerdo con este aspecto, la primera fase comprenderá adicionalmente una serie de orificios longitudinales. Dichos orificios longitudinales pueden variar de 15-60 orificios colocados en toda la fase, a lo largo de un eje longitudinal del implante de acuerdo con este aspecto. En algunas realizaciones, los orificios o huecos agrandados tendrán un diámetro que varía de aproximadamente 250-450 μm . En algunas realizaciones, los orificios o huecos agrandados tendrán un diámetro que varía de aproximadamente 125-650 μm o, en algunas realizaciones, varía de aproximadamente 175-550 μm .

De acuerdo con este aspecto, la serie de orificios o huecos puede incorporarse mediante la manipulación física del implante, por ejemplo, y en algunas realizaciones, el aragonito sólido o la calcita se pueden aislar, limpiar y preparar de otro modo como se describe en el presente documento, y se puede utilizar un taladro para crear la serie de orificios/huecos como se describe en el presente documento. Se pueden llevar a cabo otros medios, tal como la disolución selectiva del material de la construcción de armazón, donde la disolución selectiva a lo largo de un eje longitudinal se lleva a cabo mediante métodos conocidos en la técnica, incluyendo los descritos y ejemplificados en el presente documento.

De acuerdo con este aspecto, la segunda fase contendrá coral sólido, que no se ha modificado adicionalmente para alterar la porosidad de la fase o, puede alterarse como se describe más adelante en el presente documento, para alterar específicamente el volumen de poro o el diámetro promedio de los poros en la fase, por lo que tales modificaciones son sustancialmente uniformes a lo largo de toda la fase.

La incorporación de un polímero biocompatible, tal como el ácido hialurónico, en la primera fase del implante se puede llevar a cabo a través de cualquier medio, incluyendo la aplicación impulsada por presión, por ejemplo, a través de aplicación bajo vacío, fuerza centrífuga o presión mecánica. La fuerza gravitatoria puede ser suficiente para permitir una penetración apropiada y relativamente homogénea del ácido hialurónico a una profundidad deseada del implante, creando la primera fase como se describe en el presente documento. De acuerdo con este aspecto, la inspección visual del implante, por ejemplo, utilizando la tinción con verde Fast/Safranina O, demuestra una distribución uniforme del ácido hialurónico a través de la fase y a la profundidad deseada en función del tiempo y las condiciones de aplicación.

De acuerdo con este aspecto, cuando se aplican los armazones en un sitio de reparación de hueso y/o cartílago, o en un sitio de un defecto donde tanto el hueso como los cartílagos están afectados y necesitan reparación y/o regeneración, el experto en la materia apreciará que la segunda fase del armazón se inserta dentro del sitio del defecto óseo, mientras que la primera fase se inserta dentro del sitio del defecto de cartílago.

Dichos armazones pueden administrarse a un sujeto con un defecto óseo que necesita reparación, en donde el acceso al defecto óseo da como resultado la creación de un defecto en el cartílago suprayacente, y los armazones de la presente invención permiten la curación de ambos tejidos afectados. Dichos armazones pueden administrarse a un sujeto con un defecto del cartílago que necesita reparación, en donde la inserción óptima del armazón para la estimulación de la reparación del cartílago precisa el anclaje del armazón en el hueso subyacente, por ejemplo, creando un hueco mínimo en el hueso subyacente para la inserción del armazón y, una vez insertado, el armazón facilita la reparación tanto del cartílago suprayacente como del hueso subyacente.

Dichos armazones pueden administrarse a un sujeto con un defecto osteocondral, donde tanto el hueso como el cartílago necesiten reparación como parte de la patogenia del trastorno. Los armazones de acuerdo con este aspecto son particularmente adecuados para tales aplicaciones.

La presente invención también proporciona la aplicación inesperada de que la regeneración, reparación y potenciación de la formación de cartílago y/o hueso son óptimas cuando la construcción de armazón de coral consiste en dos fases, fases que comprenden hueco y varían en términos del diámetro promedio de los huecos dentro de cada fase, y/o que la regeneración, reparación y potenciación de la formación del cartílago y/o hueso son óptimas cuando la construcción de armazón de coral consiste en al menos dos fases, fases que varían en términos de sus respectivos volúmenes de poro (porosidad).

Se apreciará que el término "coral" se referirá a un material de partida a partir del cual se puede aislar aragonito y/o calcita.

El coral para su uso en la preparación de los armazones de la presente invención puede procesarse por cualquier medio conocido en la técnica, por ejemplo, como se describe en la Publicación Internacional PCT N.º W02010026565 A1.

El coral puede procesarse de acuerdo con un procedimiento descrito en el presente documento.

Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un procedimiento para la purificación de una construcción de armazón de base coralina, comprendiendo dicho proceso las etapas de:

- poner en contacto aragonito sólido de un tamaño y forma deseados con una solución que comprende un agente oxidante; y
- lavar y secar de dicho aragonito sólido

por lo que una o cada una de dichas etapas se realiza bajo presión negativa aplicada.

De acuerdo con este aspecto y en algunas realizaciones, la presión negativa aplicada varía entre aproximadamente 0,02 MPa y 1 Pa (0,2 a 0,00001 bar) o, en algunas realizaciones, la presión negativa aplicada varía entre 0,04 MPa y 0,001 Pa (0,4 y 0,000001 bar).

De acuerdo con este aspecto y en algunas realizaciones, el agente oxidante para su uso en los procedimientos divulgados puede ser cualquier agente oxidante adecuado, que facilite la eliminación de residuos orgánicos de los armazones de base coralina.

El agente oxidante puede incluir, entre otros, nitrato de potasio (KN03), hipoclorito y otros compuestos de hipohalito, yodo y otros halógenos, clorito, clorato, perclorato, sales de permanganato, nitrato de amonio y cerio (IV), compuestos de cromo hexavalente, clorocromato de piridinio (PCC) y compuestos de cromato/dicromato, compuestos de peróxido, sulfóxidos, ácido persulfúrico o ácido nítrico, acetona, peroxidisulfato amónico, 1,4-benzoquinona, N-*terc*-butilbencensulfínimidoilo, cloruro, hidroperóxido de *terc*-butilo, hipoclorito de *terc*-butilo, ácido 3-cloroperóxibenzoico, ácido meta-cloroperbenzoico, hidroperóxido de cumeno, dimetilsulfóxido, peróxido de hidrógeno, óxido de manganeso, ácido meta-cloroperbenzoico, N-metilmorfolina-N-óxido, metiltrioxo renio (MTO), cloruro de oxalilo, cloruro de N-*terc*-butilbencensulfínimidoilo, oxona, oxígeno, ozono, ácido peracético, ácido peryódico, peroxiácido, pivaldehído,

permanganato de potasio, peroxidisulfato de potasio, peroximonosulfato de potasio, 2-propanona, clorito de sodio, percarbonato de sodio, peryodato de sodio, estireno, ácido tricloroisocianúrico (TCCA), 2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloxi, TEMPO, hidroperóxido de *tert*-butilo, hipoclorito de *tert*-butilo, peroxidisulfato de tetrabutilamonio, trimetilacetaldehído. En algunas realizaciones, el agente oxidante es hipoclorito de sodio.

5 El procedimiento puede comprender realizar dicha puesta en contacto en condiciones ligeramente ácidas.

El procedimiento puede comprender someter al aragonito sólido a una temperatura de al menos 275 °C bajo presión negativa aplicada.

10 El procedimiento puede comprender poner en contacto el aragonito con un agente oxidante bajo presión negativa aplicada, lavar y secar el aragonito con presión negativa aplicada, o ambas etapas se realizan bajo presión negativa aplicada. La presión negativa aplicada varía entre 0,02 MPa y 1 Pa (0,2 a 0,00001 bar) o, en algunas realizaciones, entre aproximadamente 0,04 MPa a 0,001 Pa (0,4 a 0,0000001 bar).

15 Los armazones y kits de la presente invención hacen uso de formas coralinas sólidas.

Las formas sólidas o armazones pueden ser de aragonito o calcita.

20 La expresión "forma sólida", con respecto a la calcita, se refiere a la calcita aislada a partir de coral, calcita que se trata para eliminar residuos, proteínas y otra materia en forma de partículas, sin embargo, tales materiales no se transforman hidrotérmicamente, ni se muelen y resuspenden. En algunas realizaciones, la calcita de "forma sólida" se refiere a la calcita obtenida por la preparación de una forma sólida de aragonito, cuya forma se convierte después en calcita por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, exponiendo la forma a alta temperatura bajo vacío.

25 Para preparar armazones de calcita puede usarse cualquier método para la conversión de aragonito en calcita, como se conoce en la técnica.

30 La construcción de armazón de la presente invención comprende, en algunas realizaciones, una serie de huecos, y las dos fases presentes en la construcción de armazón de la presente invención varían en términos del diámetro promedio de los huecos presentes en cada fase. En algunas realizaciones, el armazón comprende una primera fase, que comprende huecos que tienen un diámetro promedio que varía aproximadamente 60-160 μm . En algunas realizaciones, la primera fase comprende huecos que tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 60-90 μm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 80-130 μm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 120-160 μm .

35 En algunas realizaciones, el armazón comprenderá una segunda fase, que comprende huecos que tienen un diámetro promedio que varía aproximadamente 170-850 μm . En algunas realizaciones, la segunda fase comprende huecos que tienen un diámetro promedio que varía de aproximadamente 170-400 μm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 250-500 μm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 450-700 μm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 550-850 μm .

40 En algunas realizaciones, el armazón es de forma cilíndrica y tiene un diámetro de aproximadamente 5-15 mm y una altura de aproximadamente 5-25 mm. En algunas realizaciones, el armazón tiene un diámetro de aproximadamente 1-35 mm, y una altura de aproximadamente 1-45 mm, o de aproximadamente 5-40 mm y una altura de aproximadamente 5-60 mm, o de aproximadamente 5-15 mm y una altura de aproximadamente 5-45 mm.

45 El diámetro promedio de los huecos dentro de las fases de la construcción de armazón de la presente invención puede determinarse por cualquier medio, incluyendo el análisis de imágenes digitales, como se ejemplifica adicionalmente más adelante en el presente documento. En una realización, un coral para su uso en un armazón de la presente invención comprende un diámetro de huecos promedio apropiado para la siembra de células y/o el desarrollo de la vasculatura.

50 Las formas sólidas de la presente invención consisten en dos fases, fases que contienen poros, debido a la naturaleza porosa de los materiales de los cuales está compuesta la construcción de armazón. En algunas realizaciones, las fases varían en términos del volumen de poro (porosidad) de cada fase.

55 Se apreciará que, de acuerdo con este aspecto, las expresiones "primera fase" y "segunda fase" no se aplican a un orden particular con respecto a la inserción de la fase dentro del sitio de un defecto, por ejemplo, dentro de un defecto osteocondral, y ya sea la primera fase o la segunda fase pueden estar orientadas para ser proximales a, por ejemplo, el cartílago dentro de un sitio de reparación, a diferencia de la realización anterior de un armazón como se describe con anterioridad en el presente documento, en donde la primera fase se inserta proximal a un sitio de reparación de cartílago. De acuerdo con este aspecto, el armazón puede modificarse adicionalmente para comprender fases que comprenden poros que tienen el volumen de poro indicado, y cualquiera de las fases puede comprender adicionalmente un polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, y una serie de huecos u orificios a lo largo de un eje longitudinal de dicha fase, en donde el polímero biocompatible, tal como ácido hialurónico, está ubicado

sustancialmente dentro de tales series de huecos u orificios.

Como se usa en el presente documento, la expresión "volumen de poro" se refiere al volumen o espacios abiertos dentro de la construcción de armazón porosa de la presente invención. El volumen de poro se determina por cualquier medio conocido en la técnica. La porosidad se puede calcular mediante métodos convencionales, un ejemplo de lo cual se proporciona más adelante en el presente documento, véase, por ejemplo, Karageorgiou V, Kaplan D. (2005) "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis" *Biomaterials.*;26(27):5474-9¹.

Se apreciará que las distintas especies de coral varían en términos de su diámetro de poro promedio y volumen de poro y la invención contempla el uso de cualquiera de tales corales como material de partida para la preparación de los armazones como se describe en el presente documento, donde el armazón se caracteriza porque consiste en dos fases, en donde una primera fase contiene huecos, y un volumen de poro natural del coral a partir del cual se preparan los armazones, y una segunda fase, cuyos huecos están agrandados, cuyo volumen global de poros aumenta, o una combinación de los mismos.

Se han descrito polimorfos de calcita de carbonato de calcio de caliza natural {Fujita Y, Yamamuro T, Nakamura T, Kotani S, Ohtsuki C, Kokubo T. *J Bimed Mater Res.* agosto de 1991;25(8):991-1003}. También se descrito la transformación *in vitro* de la calcita calentando aragonito aislado de coral natural (Fricain JC, Bareille R, Ulysse F, Dupuy B, Amedee J. J. *Biomed Mater Res.* octubre de 1998;42(1):96-102);

El término "proximal" se refiere a que algo está situado cerca de un lugar en particular. Un armazón de la presente invención puede mantenerse por la fuerza en posición dentro de un sitio de reparación de cartílago por una región elevada del tejido que está en contacto con el armazón situado en o proximal a un sitio de reparación de cartílago.

Optimizando el posicionamiento específico de un armazón, la estructura cristalina porosa de un armazón de coral de la presente invención, descrito a continuación, es accesible a los componentes beneficiosos ubicados dentro de un medio tisular. Por ejemplo, la estructura cristalina porosa del coral permite la penetración de los vasos sanguíneos para crear un suministro de sangre para el cartílago que se infiltrará en el armazón durante la reparación del cartílago. Penetrando en un hueco de la médula ósea, las células madre mesenquimatosas ubicadas dentro de la médula ósea ahora tienen acceso a la superficie expuesta del armazón. En una realización, la región del armazón que penetra en un hueco de la médula ósea atrae a las células madre mesenquimatosas de la médula ósea y estimula la formación de vasos sanguíneos en el sitio de reparación del cartílago. La región del armazón que penetra en un hueco de la médula ósea puede estimular la adhesión, proliferación o diferenciación o una combinación de las mismas, de las células madre mesenquimatosas atraídas al armazón.

Por tanto, será evidente para un experto en la materia que el posicionamiento específico del armazón dentro de un sitio de reparación de cartílago dispone el armazón de la presente invención de forma tal que el armazón es más eficaz para la reparación de cartílago.

La región del armazón que penetra a través del hueso y se inserta de forma estable dentro de la médula ósea también puede ser la región del armazón que posiciona y confina el armazón dentro de un sitio de reparación de cartílago o, en algunas realizaciones, la región del armazón que penetra a través del hueso y se inserta de forma estable dentro de la médula ósea no es la región que posiciona y confina el armazón dentro de un sitio de reparación de cartílago. La región se inserta de manera tal que ninguna otra porción del armazón esté en contacto con el tejido en el sitio. La región se puede insertar de manera tal que las paredes laterales del armazón hacen contacto con el tejido en el sitio de reparación de cartílago.

En algunas realizaciones, el armazón tiene una forma que se amolda al sitio de reparación.

En algunas realizaciones, el armazón se aproxima a la forma de un cilindro, cono, taco, pasador, tornillo, barra rectangular, placa, disco, pirámide, gránulo, bola o cubo.

Los armazones de la presente invención se pueden usar junto con otros materiales conocidos y/o disponibles para estimular/potenciar la reparación de hueso y/o cartílago. Los armazones de la presente invención se pueden utilizar para fijar armazones adicionales, por ejemplo para su uso en la reparación de articulaciones completas o la reparación de ligamentos, u otra reparación de tejido conectivo.

Los armazones de la presente invención pueden usarse, por ejemplo, como un pasador, junto con otros armazones para reparación o regeneración de hueso, etc. Se apreciará que los armazones divulgados en el presente documento pueden ser de cualquier forma o tamaño adecuado para amoldar su aplicación en conformidad con los métodos de la presente invención. Por ejemplo, para las aplicaciones de los armazones de la presente invención dentro de los huesos largos de un sujeto, las dimensiones del armazón se cambiarán de escala para aproximarse a la del sitio en el que se implantará el armazón, y pueden ser de un orden de magnitud de cambio de escala de milímetros a centímetros, según sea necesario. De manera similar, las formas de los armazones de la invención pueden ser cualquier forma en la que se puedan producir o procesar los armazones de la presente invención, y pueden tener cualquier configuración que sea apropiada para lograr el crecimiento, reparación o regeneración deseada de hueso y/o cartílago.

De acuerdo con la invención, el armazón comprende una cavidad o cavidades a lo largo de un eje de coordenadas cartesianas de dicho armazón, y en algunas realizaciones, el eje es un eje largo de dicho armazón.

5 En algunas realizaciones, la invención proporciona un kit para la reparación, regeneración o potenciación de la formación de cartílago, hueso o una combinación de los mismos, que comprende el armazón de la presente invención, instrucciones para la utilización de dicho armazón en la reparación, regeneración o potenciación de la formación de cartílago, hueso o una combinación de los mismos, y opcionalmente una herramienta o herramientas para la inserción óptima de dicho armazón, sembrando dicho armazón con células o una combinación de los mismos.

10 El coral puede sembrarse con una célula precursora. La célula precursora puede ser una célula madre mesenquimatosas. La célula puede ser una célula mesenquimatosas; condrocito; fibrocondrocito; osteocito; osteoblasto; osteoclasto; sinoviocito; célula de médula ósea; célula estromal; célula madre; célula precursora, procedente de tejido adiposo; célula progenitora de sangre periférica; célula madre aislada de tejido adulto; célula genéticamente transformada; o una combinación de los mismos. Una célula precursora puede referirse a una combinación de condrocitos y otras células; una combinación de osteocitos y otras células; una combinación de sinoviocitos y otras células; una combinación de células madre de médula ósea y otras células; una combinación de células mesenquimatosas y otras células; una combinación de células estromales y otras células; una combinación de células madre y otras células; una combinación de células madre embrionarias y otras células; una combinación de células precursoras aisladas de tejido adulto y otras células; una combinación de células progenitoras de sangre periférica y otras células; una combinación de células madre aisladas de tejido adulto y otras células; y una combinación de células transformadas genéticamente y otras células. Las células precursoras para su uso pueden prepararse a partir de un tejido de un órgano del mamífero receptor (es decir, autólogo), o de un mamífero singénico. En otra realización, se pueden utilizar células precursoras alogénicas y xenogénicas.

25 La primera fase o dicha segunda fase pueden insertarse en una región que es proximal al hueso subcondral.

La fase que se inserta puede comprender al menos una modificación terminal, que potencie la reparación de tejidos.

30 Se puede considerar que un sitio de reparación de cartílago comprende un espacio tridimensional (3-D) en o proximal a un sitio de un cartílago y/o defecto o posible defecto. Este espacio 3-D puede comprender al menos una pared o un piso, o una combinación de los mismos, y el posicionamiento dentro de tal sitio puede describirse en el presente documento, con respecto a dicha pared o piso, o el posicionamiento puede ser con respecto a la inserción dentro de un sitio de tejido proximal a dicha pared o piso. El posicionamiento puede incluir la inserción del armazón o una región del mismo, más allá de la pared y/o el piso del cartílago y/o tejido óseo, o un sitio de defecto o lesión o posible defecto o lesión en el tejido de cartílago y/u óseo, de forma que se produzca la inserción en el tejido óseo.

40 Un experto en la materia reconocerá que la forma de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso y la forma de un armazón 3-D de la presente invención proporcionan muchas combinaciones distintas para posicionar de manera estable un armazón dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o de hueso. Un armazón de la presente invención puede conformarse antes de su uso para la reparación de cartílago y/o hueso. Un armazón de la presente invención puede conformarse de forma simultánea al uso para la reparación de cartílago y/o hueso. Al conformar un armazón de forma simultánea el uso del armazón, las dimensiones del armazón pueden seleccionarse de forma precisa para el posicionamiento específico del armazón dentro de un sitio de reparación. Se apreciará que múltiples armazones de la presente invención pueden colocarse dentro o conformarse y colocarse dentro de un sitio de reparación de cartílago y/ hueso.

50 La referencia a un "armazón", "implante" o "tapón", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier realización o realizaciones combinadas como se describen en el presente documento con respecto a los armazones a considerar como incluidos en el aspecto descrito de la presente invención. Por ejemplo, la referencia a un "armazón" como se usa en el presente documento, debe entenderse que se refiere a cualquier realización de un armazón como se describe en el presente documento que sea aplicable para el fin indicado o que contenga el atributo indicado, etc.

55 "Armazón" se refiere a una plataforma conformada utilizada para la reparación de cartílago y/o hueso, en donde la plataforma conformada proporciona un sitio para la regeneración de cartílago y/o hueso. En una realización, el armazón es una plataforma temporal. "Plataforma temporal" se refiere a una degradación natural de un coral de la presente invención, que se produce a lo largo del tiempo durante la reparación del cartílago y/o hueso, en donde la degradación total o parcial del coral puede dar como resultado con el tiempo en un cambio de la forma del armazón y/o un cambio con el tiempo del tamaño del armazón.

60 En una realización, el coral se conforma en la forma del tejido a cultivar. Por ejemplo, el coral puede conformarse como una pieza de tejido cartilaginoso, tal como un menisco para una rodilla o un codo; una articulación; una superficie articular de un hueso, la jaula torácica, una cadera, una pelvis, una oreja, una nariz, un ligamento, los tubos bronquiales y los discos intervertebrales.

65 La invención proporciona, en algunas realizaciones, armazones de coral adecuados para su uso en la reparación de

cartílago y/o defectos del tejido óseo asociados con traumatismos físicos, o defectos del tejido cartilaginoso y/u óseo asociados con una enfermedad o trastorno en un sujeto.

5 En una realización de la presente invención, el término "coral" se refiere al coral que se corta de una pieza individual de coral. En una realización, el coral tiene concavidades o intersticios similares a poros.

10 El armazón de coral puede conformarse antes del uso en la reparación de cartílago y/o hueso. El armazón de coral puede conformarse de forma simultánea a la reparación de cartílago y/o hueso, por ejemplo, el armazón de coral puede conformarse durante una cirugía, cuando se puede observar mejor el sitio de reparación, optimizando así la forma del armazón utilizado.

Los armazones y kits de la presente invención emplean el uso de un coral sólido. En una realización, el coral comprende cualquier especie, incluyendo, entre otros, *Porites*, *Acropora*, *Millepora* o una combinación de los mismos.

15 En una realización, el coral es de una especie de *Porites*. En una realización, el coral es *Porites Lutea*. En la mayoría de las especies, las relaciones de huecos con respecto al sólido están generalmente en el intervalo de 0,4 a 0,6, y la fase hueca se interconecta completamente, formando una red altamente regular que interpenetra la fase sólida de carbonato de calcio. Esta arquitectura uniforme e interconectada es particularmente útil como una estructura en los armazones y kits de la presente invención.

20 En una realización, el coral es de una especie de *Acropora*. En una realización, el coral es *Acropora grandis*, que en una realización es muy común, de rápido crecimiento y fácil de crecer en cultivo. Por tanto, las muestras de *Acropora* se pueden recoger fácilmente en áreas protegidas de los arrecifes de coral y la recolección de los arrecifes de coral se puede evitar mediante el uso de material de coral cultivado.

25 La densidad esquelética promedio de *Acropora grandis* es de 2,7 g/ml. Debido a que el esqueleto de esta especie de coral es denso y fuerte, se puede producir fácilmente en una diversidad de configuraciones de productos conformados o estructuras de distintos tamaños, por ejemplo mediante trituración. Este material es particularmente adecuado para su uso en un dispositivo de implante, en particular para articulaciones que soportan peso, tales como la rodilla y las articulaciones coxofemorales, en que la fuerza es una propiedad esencial del dispositivo de implante. Por tanto, El coral *Acropora* es útil como una estructura en los armazones y kits de la presente invención.

30 En otra realización, el coral es de una especie de *Millepora*. En una realización, el coral es *Millepora dichotoma*. En una realización, el coral tiene un tamaño de poro de 150 µm y se puede clonar y cultivar, lo que hace a *Millepora* útil como estructura en los armazones, métodos y/o kits de la presente invención.

35 En otra realización, el coral es de una o más de las siguientes especies: *Favites halicora*; *Goniastrea retiformis*; *Acanthastrea echinata*; *Acanthastrea hemprichi*; *Acanthastrea ishigakiensis*; *Acropora aspera*; *Acropora austera*; *Acropora sp. "brown digitate"*; *Acropora carduus*; *Acropora cerealis*; *Acropora chesterfieldensis*; *Acropora clathrata*; *Acropora cophodactyla*; *Acropora sp. "danai-like"*; *Acropora divaricata*; *Acropora donei*; *Acropora echinata*; *Acropora efflorescens*; *Acropora gemmifera*; *Acropora globiceps*; *Acropora granulosa*; *Acropora cf hemprichi*; *Acropora kosurini*; *Acropora cf loisettae*; *Acropora longicyathus*; *Acropora loripes*; *Acropora cf lutkeni*; *Acropora paniculata*; *Acropora proximalis*; *Acropora rudis*; *Acropora selago*; *Acropora solitaryensis*; *Acropora cf spicifera* según Veron; *Acropora cf spicifera* según Wallace; *Acropora tenuis*; *Acropora valenciennesi*; *Acropora vaughani*; *Acropora vermiculata*; *Astreopora gracilis*; *Astreopora myriophthalma*; *Astreopora randalli*; *Astreopora suggesta*; *Australomussa rowleyensis*; *Coscinaraea collumna*; *Coscinaraea crassa*; *Cynarina lacrymalis*; *Distichopora violacea*; *Echinophyllia echinata*; *Echinophyllia cf echinoporoides*; *Echinopora gemmacea*; *Echinopora hirsutissima*; *Euphyllia ancora*; *Euphyllia divisa*; *Euphyllia yaeyamensis*; *Favia rotundata*; *Favia truncatus*; *Favites acuticollis*; *Favites pentagona*; *Fungia granulosa*; *Fungia klunzingeri*; *Fungia mollucensis*; *Galaxea acrhelia*; *Goniastrea edwardsi*; *Goniastrea minuta*; *Hydnophora pilosa*; *Leptoseris explanata*; *Leptoseris incrustans*; *Leptoseris mycetoseroides*; *Leptoseris scabra*; *Leptoseris yabei*; *Lithophyllon undulatum*; *Lobophyllia hemprichii*; *Merulina scabricula*; *Millepora dichotoma*; *Millepora exaesa*; *Millipora intricata*; *Millepora murrayensis*; *Millipora platyphylla*; *Monastrea curta*; *Monastrea colemani*; *Montipora calculata*; *Montipora capitata*; *Montipora foveolata*; *Montipora meandrina*; *Montipora tuberculosa*; *Montipora cf vietnamensis*; *Oulophyllia laevis*; *Oxypora crassispinosa*; *Oxypora lacera*; *Pavona bipartita*; *Pavona venosa*; *Pectinia alcornis*; *Pectinia paeonea*; *Platygyra acuta*; *Platygyra pini*; *Platygyra sp "green "*; *Platygyra verweyi*; *Podabacia cf lanakensis*; *Porites annae*; *Porites cylindrica*; *Porites evermanni*; *Porites monticulosa*; *Psammocora digitata*; *Psammocora explanulata*; *Psammocora haimeana*; *Psammocora superficialis*; *Sandalolitha dentata*; *Seriatopora calidrum*; *Stylocoeniella armata*; *Stylocoeniella guentheri*; *Stylaster sp.*; *Tubipora musica*; *Turbinaria stellulata*; o cualquier coral conocido en la técnica, o una combinación de los mismos.

60 En otra realización, un coral de los armazones y kits de la presente invención puede ser *Madreporaria*, *Helioporida* del orden *Coenothecalia*, *Tubipora* del orden *Stolonifera*, *Millepora* del orden *Milleporina* y otros conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, un coral de los armazones y kits de la presente invención puede comprender corales escleractinios, incluyendo en algunas realizaciones, *Goniopora* y otros. En algunas realizaciones, un coral de los armazones y kits de la presente invención puede comprender *Alveopora*. En algunas realizaciones, un coral de los armazones y kits de la presente invención puede comprender corales bambú, incluyendo en algunas realizaciones,

coral de la familia *Isididae*, los géneros *Keratoisis*, *Isidella* y otros.

- 5 Como se describe anteriormente, la capacidad de la región del armazón para posicionar y confinar el armazón de la presente invención depende de la geometría de la región y de la geometría en el sitio de reparación del cartílago y/o hueso donde se implantará el armazón. En una realización, la geometría de la región comprende un borde afilado. En una realización, la geometría de la región comprende un borde redondeado. En una realización, la geometría de la región comprende un borde irregular.
- 10 Una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso comprenden la profundidad y el ángulo más beneficiosos para la reparación de cartílago y/o hueso. La profundidad y el ángulo óptimos más beneficiosos comprenden una posición para que un armazón de la presente invención sea accesible a un conjunto de células madre mesenquimatosas, un medio tisular, vasos sanguíneos, nutrientes, un compuesto efector o un compuesto terapéutico, o una combinación de los mismos.
- 15 El término "profundidad" se refiere a una medida de un armazón de la presente invención que se extiende desde una línea imaginaria que encuentra sobre la superficie abierta de un sitio de reparación hasta un lugar debajo del piso de tejido en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.
- 20 Un experto en la materia reconocerá que la profundidad de otras regiones del armazón puede no estar por debajo de alguna superficie de tejido. Por ejemplo, basándose en un sitio de reparación de cartílago con forma de una oquedad cilíndrica, una línea imaginaria trazada para extenderse a través de la abertura de la oquedad representa la parte superior de la oquedad. El posicionamiento del armazón puede dar como resultado que la totalidad del armazón esté debajo de la parte superior de la oquedad y, por lo tanto, a una profundidad por debajo de la línea imaginaria a través de la abertura. El posicionamiento del armazón puede dar como resultado que una porción del armazón esté por encima de la parte superior de la oquedad y, por lo tanto, no totalmente dentro de un sitio de reparación de cartílago. El beneficio de colocar un armazón a una profundidad dada puede depender del contacto resultante que haga el armazón con el tejido circundante, ya sea dentro del sitio de reparación del cartílago o proximal al sitio de la reparación del cartílago.
- 30 De manera similar, con respecto a la implantación de los armazones de la presente invención dentro de hueso, el sitio de implantación también se puede prever como una oquedad, con una línea imaginaria dibujada para que se extienda a través de la abertura de la oquedad, que representa la parte superior de la oquedad. Por consiguiente, el posicionamiento del armazón da como resultado que la totalidad del armazón esté por debajo de la parte superior de la oquedad o el posicionamiento del armazón puede dar como resultado que una porción del armazón esté por encima de la parte superior de la oquedad y, por lo tanto, no esté completamente dentro del sitio de la reparación del hueso. El beneficio de colocar un armazón a una profundidad dada puede depender del contacto resultante que haga el armazón con el tejido circundante, ya sea dentro del sitio de reparación del hueso o proximal al sitio de la reparación del hueso.
- 35 El término "ángulo" se refiere a una medida del arco formado por una línea imaginaria a lo largo del eje largo del armazón y una línea vertical perpendicular a la línea que se extiende en la abertura de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso descrito anteriormente, con el arco progresando en el sentido de las agujas del reloj alrededor de esta línea vertical imaginaria. Por tanto, un armazón de la presente invención puede posicionarse y confinarse a una profundidad y ángulo óptimos de forma que el armazón se sitúe paralelo a la línea perpendicular, y por lo tanto el ángulo sería de 0 grados. Un armazón de la presente invención puede posicionarse perpendicular a la línea vertical imaginaria y, por lo tanto, el ángulo sería de 90 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 10 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 35 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 55 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 75 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 95 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 115 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 125 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo inferior a 145 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo igual o inferior a 165 grados. El armazón puede posicionarse y confinarse en un ángulo inferior a 180 grados.
- 50 Se pueden insertar múltiples armazones para ocupar al máximo el sitio de un defecto, de forma que cada material de armazón se puede insertar en un ángulo y/o forma y/o profundidad y/o porosidad distintos para amoldar una inserción adecuada en la región deseada dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Debe entenderse que la referencia a los ángulos de posicionamiento anteriores puede ser con respecto a uno o más armazones insertados en un sitio particular de defecto de cartílago y/u óseo.
- 60 El contacto entre las superficies expuestas de un armazón y un tejido en o cerca de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso proporciona una superficie bioactiva que, puede inducir o potenciar la reparación de cartílago y/o hueso. Por ejemplo, la superficie expuesta de un armazón proporciona una superficie bioactiva que atrae a las células madre mesenquimatosas. La superficie expuesta puede proporcionar un lugar para la unión, el crecimiento, la proliferación o la diferenciación de células madre mesenquimatosas, o una combinación de los mismos, todos procesos que inducen o potencian la reparación de cartílago. Además, la superficie expuesta de un armazón puede atraer vasos sanguíneos.
- 65

Además, el tejido en o cerca de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso puede ser una fuente rica de nutrientes, compuestos efectores, un compuesto terapéutico o una combinación de los mismos, lo que puede ser beneficioso en la reparación de cartílago y/o hueso, de modo que el contacto entre una superficie expuesta de un armazón y tal tejido induzca o potencie la reparación del cartílago y/o hueso.

5 El ángulo de colocación de un armazón puede ser tal que el armazón esté en contacto con una región de una pared dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Un armazón de la presente invención puede posicionarse y confinarse de forma que haya un contacto máximo entre el armazón y los tejidos en o cerca de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. El armazón de la presente invención puede posicionarse y confinarse de forma que una región del armazón penetre en un hueco de hueso subcondral y/o de médula ósea y haya un contacto máximo entre el armazón y los tejidos en o cerca de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. El contacto entre la superficie expuesta del armazón y el tejido en o cerca de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso proporciona un área de superficie máxima del armazón para la interacción con una población de células madre mesenquimatosas, vasos sanguíneos, compuestos efectores u otros componentes de un medio tisular, o una combinación de los mismos.

15 Un armazón de la presente invención puede comprender múltiples porciones elevadas. Es posible que distintas porciones de un armazón sirvan para distintas funciones. Por ejemplo, en una realización, una porción elevada de un armazón puede sostener el armazón en su lugar dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, o una porción elevada de un armazón puede funcionar como una superficie expuesta para la atracción, crecimiento, proliferación o diferenciación de células madre mesenquimatosas, o una parte elevada de un armazón puede funcionar para adaptarse a una herramienta de la presente invención, o cualquier combinación de las mismas.

20 En una realización, el 100 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 80 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 60 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 40 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 20 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 10 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral. En una realización, al menos el 1 % de las múltiples porciones elevadas posiciona y confina específicamente un coral.

30 La colocación y confinamiento de un armazón de la presente invención a una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso proporciona la penetración de una porción de la superficie expuesta del armazón, a través de un tejido óseo.

35 Optimizando el posicionamiento específico de un armazón, la estructura cristalina porosa del armazón de la presente invención, descrito a continuación, es accesible a los componentes beneficiosos ubicados dentro de un medio tisular. Por ejemplo, la estructura cristalina porosa del armazón permite la penetración de los vasos sanguíneos para crear un suministro de sangre para el cartílago y/o hueso que se infiltrará en el armazón durante la reparación de cartílago y/o hueso. El armazón puede atraer células madre mesenquimatosas y estimular la formación de vasos sanguíneos en el sitio de reparación de cartílago.

40 Por tanto, será evidente para un experto en la materia que el posicionamiento específico del armazón dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso dispone el armazón de la presente invención de forma tal que el armazón es más eficaz para la reparación de cartílago y/o hueso.

45 "Armazón" se refiere a una plataforma conformada utilizada para la reparación de cartílago y/o hueso, en donde la plataforma conformada proporciona un sitio para la formación y/o regeneración de cartílago y/o hueso. En una realización, el armazón es una plataforma temporal. "Plataforma temporal" se refiere a una degradación natural total o parcial de un coral de la presente invención, que se produce a lo largo del tiempo durante la reparación del cartílago, en donde la degradación natural del coral puede dar como resultado con el tiempo en un cambio de la forma del armazón y/o un cambio con el tiempo del tamaño del armazón.

50 En una realización, el coral se conforma en la forma del tejido a cultivar. Por ejemplo, el coral puede conformarse como una pieza de tejido cartilaginoso u óseo, tal como un menisco para una rodilla o un codo; una articulación; una superficie articular de un hueso, la jaula torácica, una cadera, una pelvis, una oreja, una nariz, los bronquios, los discos intervertebrales, un ligamento, una vértebra, la tibia, el fémur, el hombro o un maxilar. Los armazones de coral pueden usarse en la reparación de cartílago y/o defectos del tejido óseo asociados con traumatismos físicos, o defectos del tejido cartilaginoso y/u óseo asociados con una enfermedad o trastorno en un sujeto.

55 En una realización de la presente invención, el término "coral" se refiere al coral que se corta de una pieza individual de coral. En una realización, el coral tiene concavidades o intersticios similares a poros.

60 El armazón de coral puede conformarse antes del uso en la reparación de cartílago y/o hueso. El armazón de coral puede conformarse de forma simultánea con un método de reparación de cartílago y/o hueso, por ejemplo, el armazón

de coral puede conformarse durante una cirugía, cuando se puede observar mejor el sitio de reparación, optimizando así la forma del armazón utilizado.

5 El tamaño de un armazón puede ser de cualquier tamaño que sea útil para los fines de la presente invención, como sabría un experto en la materia. En una realización, el armazón o una porción del mismo puede tener aproximadamente el tamaño de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. El armazón o una porción del mismo puede tener aproximadamente el tamaño de un defecto de cartílago y/o hueso, de modo que el armazón se pueda colocar dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. El armazón puede ser más grande que el tamaño de un defecto del cartílago y/o hueso. Por ejemplo, el armazón de la presente invención puede ser más grande que el tamaño de un defecto de cartílago y/o hueso, por lo que el armazón puede extenderse hasta un sitio de disponibilidad de células mesenquimáticas. El armazón puede ser más pequeño que el tamaño de un defecto del cartílago y/o hueso.

15 En algunas realizaciones, el tamaño del armazón estará en una escala de milímetros, por ejemplo, teniendo al menos un eje largo de aproximadamente 2-200 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 1-18 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 0,5 mm-3 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 6-12 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 10-15 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 12-40 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 30-100 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 50-150 mm o, en algunas realizaciones, de aproximadamente 100-200 mm.

20 En algunas realizaciones, el tamaño del armazón estará en la escala de centímetros, teniendo, por ejemplo, al menos un eje largo de aproximadamente 0,5-30 cm.

25 El armazón puede ser aproximadamente del mismo tamaño que un hueco en el tejido en un sitio de reparación de tejido. Este hueco en el tejido puede deberse a un defecto de cartílago y/o hueso, degeneración de cartílago y/o hueso, o puede haberse creado artificialmente durante los métodos de reparación de cartílago y/o hueso o cualquier combinación de los mismos. El hueco en el tejido puede comprender una ausencia de tejido cartilaginoso y/u óseo. El armazón o una porción del mismo puede tener el tamaño de un defecto de cartílago y/o hueso, de forma que el armazón se pueda colocar dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso para potenciar la formación de cartílago y/o hueso en el sitio de reparación de cartílago y/o hueso. El armazón puede ser más grande que el tamaño de un defecto de cartílago y/o hueso, de modo que el armazón pueda llegar a un sitio de disponibilidad de células madre mesenquimáticas.

35 Con respecto al ajuste del implante dentro del sitio de reparación del tejido, es conveniente un encaje firme. Puede ser conveniente reducir gradualmente un extremo de los armazones de la presente invención para una fácil inserción dentro de un espacio estrecho para un encaje firme óptimo del implante. La Figura 11, por ejemplo, muestra un esquema de un armazón realizado de la presente invención, en forma que el extremo que se inserta en el hueso, en la segunda fase del armazón, es ahusado (11-40) para amoldarse a un encaje firme más fácil.

40 En el contexto de la presente invención, "aproximadamente" se refiere a una calidad en donde se cumplen los medios para satisfacer una necesidad específica, por ejemplo, el tamaño puede ser en gran parte, pero no totalmente, el que se especifica, pero satisface la necesidad específica de reparación de cartílago y/o hueso en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. "Aproximadamente" puede referirse a cercano o alrededor de, pero no exactamente. Está presente un pequeño margen de error. Este margen de error no excederá más o menos el mismo valor entero. Por ejemplo, alrededor de 0,1 micrómetros significaría no menor que 0 pero no mayor que 0,2.

45 El término "hueco" se refiere a un espacio no ocupado. En la presente invención, por ejemplo, un hueco puede ser un espacio en un armazón naturalmente no ocupado. Un hueco puede ser un espacio no ocupado en un sitio de reparación. Un hueco puede ser un espacio no ocupado dentro de un armazón de la actual invención. En una realización, un hueco puede ser un volumen de un poro o una región de poros.

50 El coral puede lavarse, decolorarse, congelarse, secarse, esterilizarse o una combinación de los mismos. El coral puede procesarse, como se ejemplifica adicionalmente más adelante en el presente documento. El coral, una vez procesado en los armazones de la presente invención, puede sembrarse con una población de células o poblaciones de células deseadas, antes de la implantación dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

55 Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un procedimiento para la preparación de un armazón multifásico para la reparación de cartílago, comprendiendo dicho proceso las etapas de:

- poner en contacto solo una porción de una forma sólida de aragonito o calcita con un quelante de calcio y un ácido, para producir una forma sólida que comprende huecos agrandados en al menos una porción de dicha forma sólida;
- y
- lavar y secar dicha forma sólida bajo presión negativa aplicada.

65 El quelante de calcio puede ser EDTA. El quelante puede comprender: ácido etilendiamina-N,N,N',N'-tetraacético (EDTA), ácido O,O'-bis(2-aminofeniletilenglicol)etilendiamina- N,N,N',N'-tetraacético (BAPTA), N,N-bis(2-hidroxietil) glicina (Bicina), ácido trans-1,2-diaminociclohexano-etolendiamina-N,N,N',N'-tetraacético (CyDTA), ácido 1,3-diamino-

2- hidroxipropano-etiendiamina-N,N,N',N'-tetraacético (DPTA-OH), ácido dietilentriamino-N,N,N',N",N"-pentaacético (DPTA), diclorhidrato del ácido etilendiamina-N,N'-dipropiónico (EDDP), hemihidrato etilendiamina-N,N'-bis(ácido metilfosfónico) (EDDPO), ácido N-(2-hidroxietil)etilenadiamina-N,N',N'-triacético (EDTA-OH), etilendiamina-N,N,N',N'-tetraquis (ácido metilfosfónico) (EDTPO), ácido O,O'-bis(2- aminoetil) etilenglicol tetraacético (EGTA),
 5 ácido N,N'-bis(2- hidroxibencil)etilendiamina-N,N'-diacético (HBED), ácido 1,6-hexametilendiamina-N,N,N',N'-tetraacético (HDTA), ácido N-(2-hidroxietil)iminodiacético (HIDA), ácido iminodiacético (IDA), ácido 1,2-diaminopropano-N,N,N',N'-tetraacético (metil-EDTA), ácido nitrilotriacético (NTA), ácido nitrilotripropiónico (NTP), sal trisódica nitrilotris(ácido metilfosfónico) (NTPO), N,N,N',N'-tetraquis(2-piridilmetil)etilendiamina (TPEN) y ácido trietilentetramina-N,N,N',N",N"-hexaacético (TTHA), rhod-2, DMSA, FLUO 3, FURA 2, INDO 1, QUIN 2 u otros
 10 quelantes conocidos en la técnica, o una combinación de los mismos.

El ácido puede ser ácido fórmico. El ácido puede ser un ácido débil, tal como ácido pícrico, ácido acético u otros conocidos para el experto en la materia. El ácido puede ser un ácido fuerte tal como ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico u otros, conocidos para el experto en la materia. El ácido puede ser un haluro de hidrógeno, oxoácido
 15 de halógeno, tales como: ácido hipocloroso, ácido clórico, ácido perclórico, ácido peryódico, un ácido fluoro sulfúrico, un ácido nítrico, un ácido fosfórico, un ácido fluoroantimónico, un ácido fluorobórico, un ácido hexafluorofosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido tartárico o un ácido crómico.

Sin quedar ligado a teoría alguna, los procedimientos divulgados en el presente documento hacen uso de un quelante de calcio, que actúa como un descalcificador lento del material coralino. El quelante, por ejemplo, EDTA, se une al calcio ionizado presente en la capa exterior del cristal mineral, reduciendo lentamente el tamaño del cristal. La adición
 20 solo de un quelante puede, en algunas realizaciones, ser suficiente para llegar a los armazones de esta invención.

De manera acorde, el material coralino puede ponerse en contacto adicionalmente con un ácido, por ejemplo, ácido fórmico. Sin quedar ligado a teoría alguna, la adición del ácido da como resultado una disolución más rápida del material coralino, en comparación con las muestras en contacto con un quelante solo.
 25

La aplicación combinada de quelante y ácido da como resultado una disolución controlada, que proporciona un tamaño y volumen de poros homogéneos.
 30

La elección del quelante o ácido, la concentración de cada uno, o una combinación de los mismos proporcionará un control adicional de los huecos agrandados dentro de los armazones de base coralina de la presente invención producidos de este modo. Se apreciará que el experto seleccionará un ácido débil o fuerte, a una concentración alta o baja, y favorecerá que determinados quelantes de calcio lleguen a un volumen o diámetro promedio de poro
 35 deseados para los huecos agrandados en los armazones, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la concentración del quelante variará entre aproximadamente el 0,1 % - aproximadamente el 20 % durante una evolución temporal de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 24 horas, y la concentración de ácido variará de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 10 %, durante una evolución temporal de aproximadamente 0,1 minutos a aproximadamente 24 horas.
 40

La puesta en contacto se realiza durante una duración y en condiciones, que varían como consecuencia de la geometría final deseada del armazón.
 45

En el contexto de la presente invención, el término "porción" se refiere a una parte limitada de un todo. El término "porción" con respecto a la superficie expuesta como consecuencia de los métodos divulgados puede referirse a una parte limitada de una superficie expuesta completa. Por ejemplo, una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 100 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 90 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 80 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 70 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 60 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 50 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 40 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 30 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 20 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 10 % de la superficie expuesta. Una porción de una superficie expuesta puede comprender menos del 1 % de la superficie expuesta.
 50
 55

En el contexto de la presente invención, el término "superficie" se refiere a un límite exterior o superior de un objeto.

En el contexto de la presente invención, el término "expuesto" se refiere a estar abierto al medio entorno circundante, de forma que pueda producirse el contacto entre un armazón de la presente invención y los medios de inmersión.
 60

La forma sólida producida mediante dicho procedimiento comprende al menos dos fases, fases que difieren en su volumen de poros, o fases que comprenden huecos que difieren en términos del diámetro promedio de dichos huecos, o una combinación de los mismos. El método como se describe en el presente documento es un medio mediante el cual se pueden preparar los armazones como se describe anteriormente en el presente documento.
 65

5 Los métodos divulgados dan como resultado armazones producidos que comprenden fases, que difieren en términos del diámetro promedio de los huecos contenidos en ellos o difieren en términos del volumen de poros dentro de las fases creadas en el armazón, o difieren en términos de una combinación de los mismos, cuyo diámetro promedio y/o el volumen de poros son más pequeños o más grandes que los intervalos descritos en el presente documento.

10 En una realización, un armazón de la presente invención comprende un sólido en todo el armazón. Un experto en la materia reconocerá que la construcción de armazón sólida de la presente invención aún comprende concavidades y/o intersticios de tipo poro.

15 En una realización, un armazón de la presente invención comprende una cavidad a lo largo de un eje de coordenadas cartesianas de un armazón. La cavidad puede estar a lo largo del eje largo de un armazón de la presente invención. El término "cavidad" se refiere a una concavidad dentro de un armazón de la presente invención. La cavidad puede comprender al menos una única abertura en el armazón, de forma tal que la concavidad esté expuesta al entorno externo. La cavidad puede proporcionar un área de superficie expuesta adicional para un armazón de la presente invención.

20 En algunas realizaciones, el armazón de la presente invención comprenderá múltiples cavidades, que pueden estar en cualquier orientación o, en algunas realizaciones, los armazones de la presente invención comprenderán una red de cavidades dentro de los armazones. Se implantan múltiples armazones en un sitio de reparación, en donde las cavidades de los armazones están alineadas para formar una red de cavidades en todos los armazones implantados.

25 El experto en la materia apreciará que los métodos para la creación selectiva de cavidades o huecos (palabras que pueden usarse indistintamente) en los armazones de la presente invención pueden prepararse por cualquier medio conocido por el experto en la materia, por ejemplo, en conformidad con los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, reemplazando la inmersión de sumersión de la porción del armazón por la aplicación por goteo de la solución de sumersión para crear huecos de forma selectiva dentro de los armazones de esta aplicación.

30 El área de superficie expuesta de un armazón de la presente invención proporciona una ubicación para células madre mesenquimatosas, condrocitos, osteoblastos, etc., la unión, crecimiento, proliferación o diferenciación, o una combinación y una ubicación para la formación de vasos sanguíneos. Por lo tanto, el área de superficie de un armazón de la presente invención proporciona en última instancia una ubicación beneficiosa para la regeneración de cartílago y/o tejido óseo. En una realización de la presente invención, un armazón comprende una cavidad, en el que la presencia de la cavidad aumenta el área de superficie expuesta de un armazón en comparación con un armazón análogo sin una cavidad.

35 En una realización de la presente invención, el armazón comprende un recubrimiento polimérico.

40 El término "recubrimiento polimérico" se refiere, en algunas realizaciones, a la presencia de una capa de material polimérico en asociación con al menos una porción del material de la construcción de armazón. En algunas realizaciones, tal recubrimiento puede estar presente en la totalidad del armazón y, en algunas realizaciones, tal recubrimiento puede penetrar dentro de los huecos y/o poros, y/o cavidades del armazón. En algunas realizaciones, tal recubrimiento está presente selectivamente en una región particular del armazón, de forma que crea una fase separada sobre el armazón y, en algunas realizaciones, tal polímero es una capa o fase polimérica gruesa asociada con una porción de un armazón, creando de este modo una fase polimérica separada en asociación con los armazones como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, están abarcados los polímeros biocompatibles.

50 El recubrimiento polimérico puede reforzar el armazón, y el recubrimiento polimérico puede dar como resultado una mayor atracción y unión de las células a la construcción de armazón, lo que a su vez, entre otros, da como resultado una reparación potenciada en términos de cantidad, calidad y tiempo de reparación. El recubrimiento polimérico puede potenciar la proliferación y/o diferenciación de las células en cartílago y/o hueso que, a su vez, entre otros, da como resultado una reparación potenciada en términos de cantidad, calidad y tiempo de reparación.

55 Un recubrimiento polimérico puede ser permeable. El recubrimiento polimérico permeable puede comprender una membrana porosa especial. El término "permeable" puede referirse a que tiene poros y aberturas. El recubrimiento polimérico permeable puede tener poros y aberturas que permiten la entrada de nutrientes, un compuesto terapéutico, una población celular, un quelante o una combinación de los mismos. El recubrimiento polimérico permeable puede tener poros y aberturas que permiten la salida/liberación de nutrientes, un compuesto terapéutico, una población celular, un quelante o una combinación de los mismos.

60 Un recubrimiento polimérico puede ser discontinuo. Una región o una pluralidad de subregiones del coral pueden comprender una ausencia de recubrimiento polimérico, permitiendo el contacto directo entre el coral y el entorno.

65 En algunas realizaciones, el armazón incorpora un polímero biocompatible en su interior, que está asociado con el componente de aragonito o calcita, a través de cualquier asociación física o química. El polímero puede ser parte de un hidrogel, el cual se incorpora en los armazones de la presente invención. Dichos armazones que contienen hidrogel pueden posteriormente liofilizarse o desecarse, y posteriormente pueden reconstituirse.

En los armazones de la presente invención que contienen dos fases distintas, los polímeros biocompatibles se incorporan solo en la primera fase o solo en la segunda fase.

5 Dichos armazones que contienen polímero pueden ser particularmente adecuados para la reparación del cartílago, la regeneración o potenciación de la formación del mismo. Por ejemplo, en el tratamiento de defectos osteocondrales, la construcción de armazón de base coralina es de una dimensión adecuada para la incorporación dentro del hueso afectado y comprende adicionalmente una fase que contiene polímero, fase que, cuando se inserta dentro del sitio de defecto afectado, está cerca del cartílago afectado. En otro aspecto, el armazón comprende un polímero, que ha permeado dentro de los huecos y poros del armazón, armazón que se inserta dentro de un sitio de reparación de cartílago y polímero que facilita el crecimiento, la regeneración o la consolidación del cartílago del sitio de defecto.

15 Dichos armazones que contienen polímero pueden ser particularmente adecuados para la reparación del hueso, la regeneración o potenciación de la formación del mismo. De acuerdo con este aspecto, por ejemplo, en el tratamiento de la rotura o fragmentación, enfermedad o defecto óseo, la construcción de armazón de base coralina puede ser de una dimensión adecuada para la incorporación dentro del hueso afectado y comprende adicionalmente un polímero, polímero que ha penetrado dentro de los huecos y poros del armazón, armazón que se inserta dentro del hueso y cuyo polímero facilita el crecimiento, la regeneración o la consolidación del hueso del sitio del defecto.

20 Un recubrimiento polimérico puede comprender un polímero natural que comprende, colágeno, elastina, seda, ácido hialurónico, hialuronato de sodio, ácido hialurónico reticulado, quitosano, quitosano reticulado, alginato, alginato de calcio, alginato de calcio reticulado y cualquier combinación de los mismos.

25 El polímero puede comprender polímeros naturales modificados sintéticamente, y puede incluir derivados de celulosa tales como alquil celulosas, hidroxialquil celulosas, éteres de celulosa, ésteres de celulosa y nitrocelulosas. Los ejemplos derivados de celulosa adecuados incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxibutil metilcelulosa, acetato de celulosa, propionato de celulosa, butirato acetato de celulosa, ftalato acetato de celulosa, carboximetilcelulosa, triacetato de celulosa y sal sódica de sulfato de celulosa.

30 Un polímero puede comprender un polímero sintético biodegradable. Un polímero biodegradable sintético comprende alfa-hidroxiácidos, incluyendo ácido poli-láctico, ácido poliglicólico, enantiómeros de los mismos, copolímeros de los mismos, poliortoésteres y combinaciones de los mismos.

35 Un polímero comprende poli(cianoacrilato), poli(alquil-cianoacrilato), poli(cetal), poli(caprolactona), poli(acetal), poli(α -hidroxi-éster), poli(α -hidroxi-éster), poli(hidroxil- alcanoato), poli(propilen-fumarato), poli(imino-carbonato), poli(éster), poli(éteres), poli(carbonatos), poli(amida), poli(siloxano), poli(silano), poli(sulfuro), poli(imidas), poli(urea), poli(amida-enamina), poli(ácido orgánico), poli(electrolitos), poli(p-dioxanona), poli(olefina), poloxámero, polímeros inorgánicos u organometálicos, elastómero o cualquiera de sus derivados, o un copolímero obtenido por una combinación de los mismos.

40 Un polímero comprende poli(D,L-lactida-co-glicólido) (PLGA). Como alternativa, el polímero comprende poli(D,L-lactida) (PLA). En otra realización, el polímero comprende poli(D,L-glicólido) (PGA). En una realización, el polímero comprende un glucosaminoglucano.

45 El polímero puede comprender polímeros sintéticos degradables, que puedes incluir, pero sin limitación, polihidroxiácidos, tales como poli(lactidas), poli(glicólidos) y copolímeros de los mismos; tereftalato de poli(etileno); poli(ácido hidroxibutírico); poli(ácido hidroxivalérico); poli[lactida-co-(ϵ -caprolactona)]; poli[glicólido-co-(ϵ -caprolactona)]; poli(carbonatos), poli(seudo aminoácidos); poli(aminoácidos); poli(hidroxialcanoatos); poli(anhídridos); poli(ortoésteres); y mezclas y copolímeros de los mismos.

50 Un polímero puede comprender proteínas tales como zeína, zeína modificada, caseína, gelatina, gluten, albúmina sérica, colágeno, actina, α -fetoproteína, globulina, macroglobulina, cohesina, laminina, fibronectina, fibrinógeno, osteocalcina, osteopontina, osteoprotegerina u otros, como apreciará un experto en la materia. Como alternativa, un polímero puede comprender azúcares cíclicas, ciclodextrinas, derivados sintéticos de ciclodextrinas, glucolípidos, glucosaminoglucanos, oligosacárido, polisacáridos, tales como alginato, carragenano (χ , λ , μ , κ), quitosano, celulosas, sulfato de condroitina, curdlano, dextranos, elsinano, furcellerán, galactomanano, gellan, glucógeno, goma arábiga, hemicelulosa, inulina, goma karaya, levan, pectina, polulano, pululano, profirano, escleroglucano, almidón, goma tragacanto, welano, xantana, xilano, xiloglucano, ácido hialurónico, quitina o una poli(3-hidroxialcanoatos), tales como poli(β -hidroxibutirato), poli(3-hidroxi octanoato) o poli(ácidos 3-hidroxi grasos), o cualquier combinación de los mismos.

60 El polímero puede comprender un polímero bioerosionable tal como poli(láctido-co-glicólidos), poli(anhídridos) y poli(ortoésteres), que tienen grupos carboxílicos expuestos en la superficie externa a medida que se erosiona la superficie lisa del polímero, que también se puede usar. El polímero puede contener enlaces lábiles, tales como polianhídridos y poliésteres.

65 Un polímero puede comprender derivados químicos del mismo (sustituciones, adiciones y eliminación de grupos

químicos, por ejemplo, alquilo, alquileo, hidroxilaciones, oxidaciones y otras modificaciones que hacen de forma rutinaria los expertos en la materia), mezclas de, por ejemplo, proteínas o hidratos de carbono solos o en combinación con polímeros sintéticos.

5 El polímero puede ser biodegradable. El término "biodegradable" o formas gramaticales del mismo, se refiere a un material que se degrada en el entorno biológico del sujeto en el que se encuentra. El material biodegradable puede experimentar degradación, durante el cual, se liberan productos ácidos o, en otra realización, productos básicos. La biodegradación puede implicar la degradación de un material en sus subunidades componentes, a través, por ejemplo, de digestión, mediante un proceso bioquímico. La biodegradación puede implicar la escisión de enlaces (ya sea covalente o de otro tipo), por ejemplo, en la estructura principal del polímero de la presente invención. La biodegradación puede implicar la escisión de un enlace (ya sea covalente o de otro tipo) interno a una cadena lateral o uno que conecta una cadena lateral a, por ejemplo, la estructura principal del polímero.

15 Un coral puede asociarse covalentemente con el recubrimiento polimérico a través del uso de un agente de reticulación. La frase "agente de reticulación" se refiere a un agente que facilita la formación de un enlace covalente entre 2 átomos. El agente de reticulación puede ser un agente de reticulación de longitud cero.

20 El agente de reticulación es (1 etil 3-(3dimetil aminopropil)carbodiimida (EDAC), N-Sulfohidroxi succinamida (Sulfo NHS), 5-iodopirimidinas, N-carbalcoxidihidroquinolinas, pirroloquinolina quinonas o una combinación de los mismos.

25 En una realización, el agente de reticulación es un agente de reticulación homobifuncional, tal como, por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida (por ejemplo, suberato de disuccinimidilo o ditiobis(succinimidilpropionato), imidoésteres homobifuncionales (por ejemplo, dimetiladipimidato o dimetil pimelimidato), reticulante reactivo con sulfhidrilo (por ejemplo, 1,4-di-[3'-(2'-piridilditio)propionamido]butano), derivado de difluorobenceno (por ejemplo, 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno), aldehído (por ejemplo, formaldehído, glutaraldehído), bis-epoxido (por ejemplo, 1,4-butanodiol diglicidil éter), hidrazida (por ejemplo, ácido adípico dihidrazida), derivado de bis-diazonio (por ejemplo, o- tolidina), bis-alquilhaluro o una combinación de los mismos.

30 El agente de reticulación puede ser un agente de reticulación heterobifuncional, tal como, por ejemplo, un reticulante reactivo con amina y reactivo con sulfhidrilo (por ejemplo, N-succinimidil 3-(2-piridilditio) propionato, un reticulante reactivo con carbonilo y reactivo con sulfhidrilo (por ejemplo, hidrazida del ácido 4-(4-N- maleimidofenil)butírico) o una combinación de los mismos.

35 El agente de reticulación puede ser un agente de reticulación trifuncional, tal como, por ejemplo, 4-azido-2-nitrofenilbiocitin-4-nitrofenil éster, sulfosuccinimidil-2-[6-biotinamido]-2-(p- azidobenzamido)hexanoamido]etil-1,3'-ditiopropionato (sulfo-SBED), o una combinación de los mismos.

40 Como alternativa, el agente de reticulación es una enzima. El agente de reticulación puede comprender una transglutaminasa, una peroxidasa, una xantina oxidasa, una polimerasa o una ligasa, o una combinación de las mismas.

La elección de la concentración del agente de reticulación utilizado para la actividad variará, en función del volumen, el agente y el polímero elegido, en una aplicación dada, como apreciará un experto en la materia.

45 La asociación de un coral con un recubrimiento polimérico puede comprender una asociación física y/o mecánica. Por ejemplo, una asociación física y/o mecánica puede comprender la impregnación de cualquier medio, secando al aire, utilizando un agente de reticulación, aplicando calor, aplicando vacío, aplicando métodos de liofilización, congelación, aplicando fuerzas mecánicas o cualquier combinación de los mismos, para estimular la asociación física entre un coral y un recubrimiento polimérico como se describe en el presente documento.

50 Será obvio para un experto en la materia que las propiedades físicas y/o químicas de un recubrimiento polimérico y los componentes del mismo pueden influir en los métodos de uso de la presente invención y kits del mismo, para inducir o potenciar la reparación de cartílago y/o hueso.

55 El recubrimiento polimérico puede tener un espesor de entre 2,0 μm y 0,1 μm . El recubrimiento polimérico puede tener un espesor de aproximadamente 1,0 μm . El recubrimiento polimérico de la presente invención puede tener un espesor de entre 10 μm y 50 μm . El recubrimiento polimérico puede tener un espesor de aproximadamente 10-25, o aproximadamente 15-30, o aproximadamente 25-50 μm .

60 El recubrimiento polimérico puede ser un recubrimiento delgado, que está asociado con los armazones de la presente invención, tiene un espesor como se indica anteriormente en el presente documento.

65 El recubrimiento polimérico puede estar presente en todo el armazón de la presente invención, de forma que, en algunas realizaciones, los poros y huecos dentro de los armazones de la invención pueden rellenarse con polímeros como se describe en el presente documento, y tales recubrimientos poliméricos pueden tener un espesor de aproximadamente 60-900 μm .

El recubrimiento polimérico puede estar presente en un extremo o una porción del recubrimiento que forma una fase polimérica adicional en los armazones de la invención. De acuerdo con este aspecto y en algunas realizaciones, el recubrimiento polimérico tendrá un espesor de entre 0,1-10 mm.

5 En un sitio de reparación se pueden implantar múltiples armazones que comprenden recubrimientos poliméricos, en donde el espesor del recubrimiento de un primer armazón puede variar en comparación con el espesor del recubrimiento de un segundo armazón, implantado en el sitio de reparación. Las variaciones en el espesor del recubrimiento pueden reflejar el intervalo descrito en el presente documento.

10 El espesor del recubrimiento polimérico puede influir en las características físicas de un armazón de la presente invención. Por ejemplo, el espesor de un recubrimiento polimérico puede influir en la elasticidad, resistencia a la tracción, adherencia o poder de retención, o cualquier combinación de los mismos de un armazón de la presente invención. Un recubrimiento polimérico puede aumentar la elasticidad de un armazón de la presente invención. La adherencia de un recubrimiento polimérico puede relacionarse con la adhesión de células madre mesenquimatosas, vasos sanguíneos, tejido en un sitio de reparación de cartílago, tejido cartilaginoso o tejido óseo, o una combinación de los mismos. Un recubrimiento polimérico puede disminuir la adherencia de un armazón de la presente invención. Un recubrimiento polimérico puede aumentar la adherencia de un armazón de la presente invención. Un experto en la materia reconocerá que un revestimiento polimérico puede aumentar la adherencia de un artículo mientras que disminuye la adherencia para otro artículo. Por ejemplo, el recubrimiento polimérico aumenta la adherencia para una célula madre mesenquimatosas y disminuye la adherencia de un agente antiinfeccioso. El poder de retención de un recubrimiento polimérico puede relacionarse con la retención de una población celular. La población de células retenida dentro de un recubrimiento polimérico puede ser una población de células madre mesenquimatosas, una población de osteoblastos o población de condrocitos, etc. El poder de retención de un recubrimiento polimérico puede relacionarse con la retención de compuestos efectores.

25 El espesor del recubrimiento polimérico puede influir en la proliferación y/o diferenciación de las células madre mesenquimatosas aplicadas a los armazones de la presente invención, o influye en la activación o migración de células asociadas con la formación o reparación de cartílago y/o hueso para los armazones de la presente invención, o una combinación de los mismos.

30 Las células como se utilizan con los armazones o kits de la presente invención, pueden diseñarse técnicamente para expresar un producto deseado.

35 En una realización, un recubrimiento polimérico de la presente invención comprende un compuesto efector. El compuesto efector se puede aplicar directamente a un recubrimiento polimérico del armazón de la presente invención. En una realización, el compuesto efector comprende un componente de un kit de la presente invención para su uso para la incorporación en un armazón de la presente invención como se describe en el presente documento. El compuesto efector se puede aplicar directamente a un recubrimiento polimérico de la presente invención, sin dispersarlo en ningún disolvente.

40 El recubrimiento polimérico puede comprender un compuesto efector que comprende una citocina, una proteína morfogenética ósea (BMP), factores de crecimiento, un quelante, una población celular, un compuesto terapéutico o un antibiótico, o cualquier combinación de los mismos.

45 Los compuestos efectores para su uso en un armazón y/o un kit de la presente invención pueden comprender, entre otros, una citocina, una proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento, un quelante, una población celular, un compuesto terapéutico, un compuesto antiinflamatorio, un compuesto proangiogénico o un antibiótico, o cualquier combinación de los mismos.

50 En el contexto de la invención, la frase "una población de células" se refiere a una población de células transfectadas, una población de células transducidas, una población de células transformadas, o una población de células aislada de un sujeto, o una combinación de los mismos. Las células transfectadas, transducidas o transformadas, pueden incorporarse en un recubrimiento polimérico, o un armazón de la presente invención, o una combinación de las mismas.

55 Las células transfectadas, transducidas o transformadas, pueden incorporarse en un recubrimiento polimérico, o un armazón de la presente invención.

60 Una población de células puede comprender células madre mesenquimatosas. Pueden transformarse células madre mesenquimatosas. Una población celular puede comprender células beneficiosas en la formación y/o reparación de cartílago y/o hueso, tales como condroblastos o condrocitos; fibrocondrocitos; osteocito; osteoblasto; osteoclasto; sinoviocito; célula de médula ósea; célula estromal; célula madre; células madre embrionarias; célula precursora, procedente de tejido adiposo; células progenitoras de sangre periférica; células madre aisladas de tejido adulto; células genéticamente transformadas; o una combinación de los mismos. Una célula precursora puede referirse a una combinación de condrocitos y otras células; una combinación de osteocitos y otras células; una combinación de

sinoviocitos y otras células; una combinación de células madre de médula ósea y otras células; una combinación de células mesenquimatosas y otras células; una combinación de células estromales y otras células; una combinación de células madre y otras células; una combinación de células madre embrionarias y otras células; una combinación de células precursoras aisladas de tejido adulto y otras células; una combinación de células progenitoras de sangre periférica y otras células; una combinación de células madre aisladas de tejido adulto y otras células; y una combinación de células transformadas genéticamente y otras células. Las células precursoras pueden prepararse a partir de un tejido de un órgano del mamífero receptor (es decir, autólogo), o de un mamífero singénico. Se pueden utilizar células precursoras alogénicas y xenogénicas.

En el contexto de la presente invención, la frase "un compuesto terapéutico" se refiere a un péptido, una proteína o un ácido nucleico, o una combinación de los mismos. El compuesto terapéutico puede ser un compuesto antibacteriano, antivírico, antifúngico o antiparasitario. El compuesto terapéutico puede tener actividad citotóxica o antineoplásica. El compuesto terapéutico puede ser una enzima, un receptor, una proteína canal, una hormona, una citocina o un factor de crecimiento. El compuesto terapéutico puede ser inmunoestimulante. El compuesto terapéutico puede inhibir las respuestas inflamatorias o inmunitarias. El compuesto terapéutico puede comprender un factor proangiogénico.

La frase "un compuesto terapéutico", se refiere a una molécula, que cuando se proporciona a un sujeto que lo necesita, proporciona un efecto beneficioso. En algunos casos, la molécula es terapéutica en el sentido de que funciona para reemplazar una ausencia o la presencia disminuida de tal molécula en un sujeto. La molécula puede ser un ácido nucleico que codifica para la expresión de una proteína que está ausente, tal como en los casos de un mutante nulo endógeno compensado por la expresión de la proteína exógena. La proteína endógena puede estar mutada y producir una proteína no funcional, compensada por la expresión de una proteína funcional heteróloga. La expresión de una proteína heteróloga puede ser aditiva a niveles endógenos bajos, dando como resultado una expresión potenciada acumulativa de una proteína dada. La molécula puede estimular una cascada de señalización que proporciona la expresión, la secreción u otros elementos críticos para el funcionamiento celular o del hospedador.

El compuesto terapéutico puede ser insulinas naturales o no naturales, amilasas, proteasas, lipasas, quinasas, fosfatasa, glucosil transferasas, tripsinógeno, chimotripsinógeno, carboxipeptidasas, hormonas, ribonucleasas, desoxirribonucleasas, triacilglicerol lipasa, fosfolipasa A2, elastasas, amilasas, factores de coagulación sanguínea, UDP glucuronil transferasas, ornitina transcarbamoilasas, enzimas de citocromo p450, adenosina desaminasas, factores tímicos del suero, factores humorales tímicos, timopoyetinas, hormonas de crecimiento, somatomedinas, factores coestimulantes, anticuerpos, factores estimulantes de colonias, eritropoyetina, factores de crecimiento epidérmico, factores eritropoyéticos hepáticos (hepatopoyetina), factor de crecimiento de células hepáticas, interleucinas, interferones, factores de crecimiento negativos, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento transformantes de la familia α , factores de crecimiento transformantes de la familia β , gastrinas, secretinas, pancreociminas, somatostatinas, serotoninas, sustancia P, factores de transcripción o combinaciones de los mismos.

El compuesto efector puede comprender, un antihelmíntico, un antihistamínico, un inmunomodulador, un anticoagulante, un tensioactivo, un anticuerpo, un inhibidor de receptor beta adrenérgico, un bloqueante de los canales de calcio, un inhibidor de la ace, un factor de crecimiento, una hormona, un ADN, un ARNip o un vector, o cualquier combinación de los mismos.

La frase "compuesto efector" se refiere a cualquier agente o compuesto, que tiene un propósito o aplicación específica que es útil en el tratamiento, prevención, inhibición, supresión, retraso o reducción de la incidencia de una infección, una enfermedad, un trastorno o una afección, cuando se aplica a los armazones o kits de la presente invención. Un compuesto efector puede producir un efecto deseado que es exclusivo para la capacidad de obtener imágenes del compuesto. El compuesto efector puede ser útil para la obtención de imágenes en un sitio en el que el compuesto está presente, sin embargo, tal capacidad es secundaria al fin o elección de uso del compuesto.

La expresión "compuesto efector" debe entenderse que también incluye los términos "fármaco" y "agente", cuando se hace referencia en el presente documento, y representa una molécula cuya incorporación dentro del armazón y/o kits de la presente invención, o cuyo uso, se desea. El agente puede incorporarse directamente dentro de un armazón y/o kit de la presente invención. El agente puede incorporarse dentro de un armazón y/o kit de la presente invención, ya sea por interacción física con un recubrimiento polimérico, un coral o partículas de coral, y/o un kit de la presente invención, o asociación al mismo.

Los compuestos para su uso en un armazón y/o un kit de la presente invención pueden comprender, entre otros, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, un péptido, un oligonucleótido, un ligando para una diana biológica, un inmunoconjugado, un grupo funcional quimiomimético, un glucolípido, un agente de marcaje, una enzima, un quelante de iones metálicos, un cofactor enzimático, un compuesto citotóxico, un compuesto bactericida, un compuesto bacteriostático, un compuesto fungicida, un compuesto fungistático, un producto quimioterapéutico, un factor de crecimiento, una hormona, una citocina, una toxina, un profármaco, un antimetabolito, un inhibidor de microtúbulos, un material radiactivo o una fracción de direccionamiento, o cualquier combinación de los mismos.

En una realización, los armazones y/o kits de la presente invención comprenden un oligonucleótido, un ácido nucleico o un vector. En algunas realizaciones, el término "oligonucleótido" es intercambiable con la expresión "ácido nucleico",

y puede referirse a una molécula, que puedes incluir, pero sin limitación, secuencias procarióticas, ARNm eucoariótico, ADNc de ARNm eucariótico, secuencias de ADN genómico de ADN eucariótico (por ejemplo, de mamífero) e incluso secuencias de ADN sintético. El término también se refiere a secuencias que incluyen cualquiera de los análogos de bases de ADN y ARN conocidos.

5 Los armazones y/o kits de la presente invención pueden comprender ácidos nucleicos o los armazones y/o kits de la presente invención pueden proporcionar el suministro de los mismos, como parte de un vector particular. Los segmentos polinucleotídicos que codifican secuencias de interés pueden ligarse en sistemas de vectores de expresión disponibles en el mercado adecuados para transducir/transformar células de mamífero y para dirigir la expresión de productos recombinantes dentro de las células transducidas. Se apreciará que tales sistemas de vectores disponibles en el mercado pueden modificarse fácilmente a través de técnicas recombinantes comúnmente utilizadas para reemplazar, duplicar o mutar secuencias promotoras o potenciadoras existentes y/o introducir cualquier secuencia polinucleotídica adicional, tal como, por ejemplo, secuencias que codifican marcadores de selección adicionales o secuencias que codifican polipéptidos indicadores.

15 El almacén de la presente invención puede incorporar células madre o progenitoras, o células precursoras. Dichas células pueden obtenerse directamente de un donante mamífero, por ejemplo, las células del propio paciente, de un cultivo de células de un donante, o de líneas de cultivo celular establecidas. El mamífero puede ser un ratón, rata, conejo, cobaya, hámster, vaca, cerdo, caballo, cabra, oveja, perro, gato, mono, simio o un ser humano. Se pueden obtener células de la misma especie y/o del mismo perfil inmunológico mediante biopsia, ya sea del paciente o de un familiar cercano. Utilizando técnicas y condiciones de cultivo celular convencionales, las células se cultivan después en cultivo hasta que están confluentes y se usan cuando es necesario. Las células pueden cultivarse hasta que se haya obtenido una cantidad suficiente de células para una aplicación particular.

25 En una realización, el almacén de la presente invención incorpora cualquier célula que pueda participar en la formación o reparación de cartílago y/o hueso. Dichas células pueden representar autoinjertos, ya que las células se cultivan *ex vivo* para sembrarlas en los armazones de la invención, y dichos armazones sembrados están listos para implantarse en el sujeto.

30 Dichas células pueden representar aloinjertos o xenoinjertos, que pueden incorporarse dentro de los armazones de la presente invención e implantarse dentro de un sitio de reparación.

Un coral puede comprender una población de células procedente del cultivo *in vitro* del coral durante un período suficiente, para sembrar las células en el coral. La población de células puede ser una población de células madre mesenquimatosas, condrocitos; fibrocondrocitos; osteocitos; osteoblastos; osteoclastos; sinoviocitos; células de médula ósea; células estromales; células madre; células madre embrionarias; células precursoras, procedentes de tejido adiposo; células progenitoras de sangre periférica; células madre aisladas de tejido adulto; células genéticamente transformadas; o una combinación de los mismos. Las células madre mesenquimatosas; condrocitos; fibrocondrocitos; osteocitos; osteoblastos; osteoclastos; sinoviocitos; células de médula ósea; células estromales; células madre; células madre embrionarias; células precursoras, procedentes de tejido adiposo; células progenitoras de sangre periférica; células madre aisladas de tejido adulto; células genéticamente transformadas; o una combinación de las mismas sembradas *in vitro* se pueden transformar. La población celular puede comprender una población celular beneficiosa para la reparación de cartílago. El cultivo puede comprender un quelante. El quelante del cultivo puede comprender un quelante de calcio.

45 Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un método que induce o potencia la formación y/o reparación de cartílago y/o hueso, en donde el método comprende implantar en un sujeto, un almacén de la presente invención dentro de un sitio de formación y/o reparación de cartílago y/o hueso, en donde una región del almacén penetra a través de un hueso, dando como resultado la inserción de la región dentro de un hueco de la médula ósea, proximal al sitio de formación y/o reparación de cartílago y/o hueso.

55 La frase "reparación de cartílago" se refiere a reconstituir un defecto de cartílago a un estado más saludable. La reconstitución de cartílago puede dar como resultado la regeneración del tejido cartilaginoso. La reconstitución de cartílago puede dar como resultado la regeneración de un defecto de cartílago articular de grosor parcial. La reconstitución de cartílago puede dar como resultado la regeneración completa o parcial de tejido cartilaginoso en un sitio de reparación de cartílago. La reparación de cartílago puede dar como resultado la reconstitución/reparación de tejido óseo faltante o defectuoso, en donde la reparación de un defecto de cartílago precisa la extracción del tejido óseo en un sitio de reparación de cartílago. La reconstitución de cartílago puede dar como resultado la regeneración de un defecto osteocondral. La reparación del cartílago puede comprender la reconstitución de los defectos de cartílago de las articulaciones (por ejemplo, las articulaciones de la rodilla, el codo, la cadera, el hombro), de orejas, de una nariz o de una tráquea.

65 La frase "reparación de hueso" se refiere a reconstituir un defecto óseo a un estado más saludable. La reconstitución del hueso da como resultado la regeneración del tejido óseo. La reconstitución del hueso da como resultado el relleno de cualquier fractura o hueco dentro de un tejido óseo. La reconstitución de hueso da como resultado la regeneración completa o parcial de tejido óseo en un sitio de reparación de hueso. La reparación de hueso puede dar como resultado

la reconstitución/repación de tejido óseo faltante o defectuoso. La repación de hueso comprende reconstituir defectos óseos de cualquier hueso, según sea necesario.

5 La frase "repación ósea" se refiere al tratamiento de un sujeto con osteoporosis, enfermedad de Paget, displasias fibrosas u osteodistrofias. El sujeto puede tener una debilidad ósea y/o cartilaginosa. El sujeto puede tener otros trastornos de remodelación ósea que incluyen osteomalacia, raquitismo, artritis reumatoide, acondroplasia, osteocondritis, hiperparatiroidismo, osteogénesis imperfecta, hipofosfatasa congénita, lesiones fibromatosas, mieloma múltiple, recambio óseo anómalo, enfermedad osteolítica ósea, una enfermedad periodontal o una combinación de los mismos. Los trastornos de remodelación ósea incluyen enfermedades metabólicas óseas que se caracterizan por alteraciones en la matriz orgánica, la mineralización ósea, remodelación ósea, factores endocrinos, nutricionales y otros que regulan la homeostasis esquelética y mineral, o una combinación de los mismos. Dichos trastornos pueden ser hereditarios o adquiridos y, en una realización, son sistémicos y afectan a todo el aparato óseo.

15 Los armazones y kits de la invención también se pueden usar para potenciar la formación de hueso y/o cartílago en afecciones en que una carencia de hueso y/o cartílago está provocada por factores distintos de los trastornos de remodelación ósea. Dichas carencias óseas incluyen fracturas, traumatismos óseos, afecciones asociadas con cirugía ósea postraumática, cirugía articular posprotésica, cirugía ósea posplástica, quimioterapia ósea, cirugía posdental y radioterapia ósea. Las fracturas incluyen todo tipo de fracturas microscópicas y macroscópicas. Algunos ejemplos de fracturas incluyen fracturas por avulsión, fractura conminuta, fractura transversal, fractura oblicua, fractura con astillamiento, fractura segmentaria, fractura con desplazamiento, fractura impactada, fractura en tallo verde, fractura en rodete, fractura por fatiga, fractura intrarticular (fractura epifisaria), fractura cerrada (fractura simple), fractura abierta (fractura compuesta) y fractura oculta. Las fracturas pueden ser fracturas de pseudoarticulación.

25 Los armazones y kits de la invención también pueden usarse para aumentar la repación de fracturas de huesos largos; generar hueso en defectos segmentarios; proporcionar un injerto de hueso sustituto de fracturas; facilitar la reconstrucción de un tumor o la fusión de la columna vertebral; proporcionar un tratamiento local (por inyección) para el hueso débil u osteoporótico, tal como en la osteoporosis de la cadera, las vértebras o la muñeca, o una combinación de las mismas. Los armazones y kits de la invención también pueden usarse para acelerar la repación de huesos largos fracturados; el tratamiento de la unión retardada o pseudoarticulaciones de fracturas de huesos largos o de la pseudoartrosis de fusiones de la columna vertebral; inducir la formación de hueso nuevo en la osteocondrosis de la cadera o la rodilla, o una combinación de los mismos.

35 Un método puede comprender inducir y potenciar la repación de cartílago y/o hueso, en donde la implantación de un almacén de la presente invención dentro de un sitio de repación de cartílago y/o hueso influye y mejora la repación de cartílago y/o hueso.

Un método puede inducir o potenciar la repación de cartílago y/o hueso, en donde el almacén atrae una población de células al almacén, influyendo o mejorando de este modo la repación de cartílago y/o hueso.

40 La arquitectura 3-D y la composición química de un almacén de la presente invención son de gran importancia para posicionar y confinar específicamente un almacén dentro de un sitio de repación de cartílago y/o hueso; para el reconocimiento celular, la adhesión, la proliferación y diferenciación de poblaciones celulares que inducen o potencian la repación de cartílago y/o hueso o una combinación de los mismos.

45 En una realización, un almacén de la presente invención comprende una población de células sembradas antes de implantarlas en un sujeto. Un método puede inducir o potenciar la repación de cartílago y/o hueso, en donde la implantación en un sujeto de un almacén de la presente invención estimula la adhesión, proliferación o diferenciación, o una combinación de las mismas, de células madre mesenquimatosas transformadas. Un método puede inducir o potenciar la repación de cartílago y/o hueso, en donde la implantación en un sujeto de un almacén de la presente invención estimula la formación de vasos sanguíneos.

55 Un almacén puede comprender al menos una región que posiciona y confina específicamente el almacén de coral a una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de repación de hueso y/o cartílago, de forma que la implantación del almacén en un sujeto induce o potencia la repación de hueso y/o cartílago. Un almacén puede comprender al menos una región que posiciona y confina específicamente el coral a una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de repación de cartílago y/o hueso, de forma que la implantación del almacén maximiza el área de contacto entre un almacén de la presente invención y un sitio de repación de cartílago y/o hueso.

60 Se puede usar un almacén para adsorber o unir, y suministrar, otras sustancias terapéuticamente activas que ayudan en el proceso de repación o regeneración del cartílago y/o hueso, o que tienen otra actividad terapéutica deseada. Dichas sustancias incluyen, a modo de ejemplo, antibióticos sintéticos o semisintéticos conocidos que pueden introducirse en las concavidades de los poros del producto o estructura conformada, o un factor de crecimiento tal como el factor de crecimiento y transformación, o una de las proteínas morfogénicas óseas, los cuales se pueden usar para ayudar o estimular el crecimiento óseo.

65 Los armazones pueden comprender adicionalmente, o implantarse con, otros compuestos tales como, por ejemplo,

antioxidantes, factores de crecimiento, citocinas, antibióticos, antiinflamatorios, inmunosupresores, conservante, medicamento para el dolor, otros fármacos y excipientes. En una realización, los ejemplos de factores de crecimiento que pueden administrarse además del inhibidor de la HMG-CoA reductasa incluyen, pero sin limitación, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante-alfa (TGF- α), factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β), factor de crecimiento celular endotelial humano (ECGF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento insulínico (IGF), proteína morfogenética derivada de cartílago (CDMP), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o cualquier combinación de los mismos. Ejemplos de antibióticos incluyen antimicrobianos y antibacterianos.

Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un método que comprende implantar un almacén de la presente invención en un sujeto que padece un defecto o trastorno o enfermedad del cartílago y/o hueso.

El término "implantación" se refiere a la inserción y fijación de un almacén de la presente invención en un lugar vivo de un sujeto, comprendiendo el sitio un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Un método puede implantar un almacén, tal región del almacén ahora tiene acceso a células madre mesenquimatosas, nutrientes, vasos sanguíneos o compuestos efectores, o cualquier combinación de los mismos. Dicho método puede comprender implantar en un sujeto un almacén de la presente invención, en donde el método da como resultado la extracción de una región de cartílago y/o hueso, y/u otro tejido, de modo que una región del almacén penetre a través del cartílago y/o hueso, y/u otro tejido, y finalmente alcance un hueco de la médula ósea.

Un facultativo experto en la materia reconocerá que tales métodos, que implican implantar un almacén dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, pueden precisar la preparación de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Estas preparaciones pueden tener lugar antes de la implantación de un almacén o simultáneamente con la implantación. Por ejemplo, el tejido cartilaginoso y/u óseo, y/u otros tejidos proximales a un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, pueden perforarse inicialmente para crear un canal de dimensiones apropiadas para un almacén usado en los métodos de la presente invención. Después, el almacén se implanta dentro del sitio de modo que una región del almacén penetre en los tejidos cartílago y/u óseo perforados. Como alternativa, el almacén puede acoplarse a una herramienta de la presente invención que tenga la capacidad de penetrar a través del cartílago y/o el hueso u otros tejidos, o una combinación de los mismos. En este caso, a medida que la herramienta penetra a través del tejido cartilaginoso y/u óseo, el almacén acoplado se implanta de forma simultánea.

Después de la implantación del almacén dentro de un sitio de reparación, o de varios almacenes dentro del sitio de reparación, el almacén puede procesarse para optimizar la incorporación y la reparación óptima de cartílago y/o hueso. Dicho procesamiento puede comprender cortar, lijar o alisar de otra forma la superficie del almacén o almacenes, para una reparación óptima.

Dichos métodos pueden comprender implantar un almacén en un sujeto humano.

Dichos métodos pueden implicar la colocación de un almacén sobre una superficie en el sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Dichos métodos pueden implicar componentes de un medio tisular en un sitio de reparación de coral que migren a una superficie expuesta de un coral y, así, se produciría el contacto entre el coral de la presente invención y el entorno.

Dichos métodos pueden implicar la implantación de un almacén de modo que las superficies expuestas elevadas del almacén se pongan en contacto con fuerza con el tejido en, o adyacente a, un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. De esta manera, la superficie expuesta de coral ahora proximal a un sitio de reparación de cartílago y/o hueso es proximal a un entorno que comprende tejido cartilaginoso, tejido óseo, tejido de médula ósea, células madre mesenquimatosas, nutrientes, vasos sanguíneos o compuestos efectores, o una combinación de los mismos, lo que puede ser beneficioso para la reparación de cartílago y/o hueso.

En el contexto de la presente invención, las frases "eje largo del almacén" y "eje longitudinal del almacén" se usan indistintamente y se refieren a una línea que se extiende paralela a lo largo del almacén. El término "a lo largo" se refiere a la dirección de la longitud de un almacén. Puede ser que se haya cortado una forma geométrica original para producir una sección horizontal del almacén original. En tales casos, a lo largo se debe ver como la dirección original de la longitud a lo largo de un almacén.

Será obvio para un experto en la materia que las propiedades físicas y/o químicas de un almacén de la presente invención y los componentes del mismo pueden influir en los métodos de uso y kits del mismo, para inducir o potenciar la reparación de cartílago y/o hueso.

Dichos métodos para inducir o potenciar la reparación del cartílago y/o hueso pueden utilizar la geometría 3-D de un almacén de la presente invención, para proporcionar un posicionamiento y confinamiento específicos del almacén dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

El término "proximal" se refiere a que algo está situado cerca de un lugar en particular. Un almacén de la presente

invención puede mantenerse por la fuerza en posición dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso por una región elevada del tejido que está en contacto con el almacén situado en o proximal a un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

5 Un experto en la materia reconocerá que la forma de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso y la forma de un almacén 3-D de la presente invención proporcionan muchas combinaciones distintas para posicionar de manera estable un almacén dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Un almacén de la presente invención puede conformarse antes del uso para la reparación de cartílago y/o hueso. Un almacén de la presente invención puede conformarse de forma simultánea al uso en los métodos de la presente invención para la reparación de cartílago y/o hueso. Al conformar un almacén de forma simultánea el uso del almacén, las dimensiones del almacén pueden seleccionarse de forma precisa para el posicionamiento específico del almacén dentro de un sitio de reparación.

15 Dichos métodos comprenden la implantación de un almacén en un sujeto mamífero no humano y no mamífero. Dichos métodos pueden comprender implantar un almacén en un caballo, un caballo de carreras, una vaca, un buey, un cerdo, un conejo, una cabra, una oveja, un animal de granja, una mascota, un perro, un gato, un mono, un simio, un pájaro y un ave.

20 Dichos métodos pueden utilizarse para la reparación inducida o potenciada de un defecto o trastorno o enfermedad ósea y/o del cartílago. El defecto del cartílago puede dar como resultado un trauma, un desgarro, la lesión deportiva, un defecto de cartílago articular de espesor completo, un defecto de una articulación o una lesión por esfuerzos repetitivos (por ejemplo, fractura osteocondral, daño secundario por lesión del ligamento cruzado). El trastorno del cartílago puede comprender una enfermedad del cartílago. Dichos métodos pueden inducir o potenciar la reparación del cartílago en la osteoartritis, artritis reumatoide, osteocondrosis, osteocondritis disecante, lesiones de cartílago articular, condromalacia rotuliana, condrosarcoma, condrosarcoma de cabeza y cuello, costocondritis, encondroma, artrosis de la primera articulación metatarsofalángica, desgarro del rodete cotiloideo, osteocondritis disecante, desgarro de menisco, policondritis recidivante, artritis canina, defecto del cuarto arco branquial u oreja del luchador. Dichos métodos pueden inducir o potenciar la reparación del cartílago en trastornos cartilagosos degenerativos que comprenden trastornos caracterizados, al menos en parte, por la degeneración o el desarreglo metabólico de los tejidos conjuntivos del cuerpo, que incluyen no solo a las articulaciones o estructuras relacionadas, incluyendo

25 músculos, bolsa (membrana sinovial), tendón y tejido fibroso, sino también a la placa de crecimiento, el sistema meniscal y los discos intervertebrales.

30 Un defecto o trastorno o enfermedad de cartílago y/o hueso reparado utilizando un almacén y/o al menos una herramienta de la presente invención, puede comprender una articulación de un sujeto (por ejemplo, una rodilla, codo, tobillo, hombro o articulación coxofemoral), un manguito de los rotadores, una oreja, una nariz, una tráquea, una pelvis, una columna vertebral, una costilla, un maxilar, un cráneo o cualquier otro sitio de defecto o trastorno o enfermedad del cartílago y/o hueso, que se encuentre dentro del sujeto.

40 La forma 3-D y la composición química de un almacén de la presente invención, serán determinadas por médicos expertos, basándose en factores tales como la naturaleza exacta de la condición que se está tratando, la gravedad de la afección, la edad y el estado físico general del sujeto, el peso corporal y la respuesta del sujeto individual, etc.

45 El posicionamiento específico de un almacén de la presente invención durante los métodos de la presente invención será determinado por médicos expertos, basándose en factores tales como la naturaleza exacta de la condición que se está tratando, la gravedad de la afección, la edad y el estado físico general del sujeto, el peso corporal y la respuesta del sujeto individual, etc.

50 Dichos métodos pueden evaluarse examinando el sitio de reparación de tejido cartilaginoso y/u óseo, en donde la evaluación es mediante histología, histoquímica, palpación, biopsia, endoscopia, artroscopia o técnicas de obtención de imágenes que comprenden fotografías de rayos X, densitometría computarizada de rayos X, densitometría computarizada de fluorescencia, CT, MRI u otro método conocido en la técnica, o cualquier combinación de los mismos.

55 Además se divulga, pero no es parte de la invención reivindicada, un instrumento para ayudar en la reparación de cartílago y/o hueso que comprende una herramienta para guiar un almacén de la presente invención a un ángulo óptimo en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, una herramienta para guiar un almacén de la presente invención a un ángulo óptimo en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, una herramienta para suministrar un almacén de la presente invención a un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, una herramienta para insertar un almacén de la presente invención en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso de modo que el almacén penetre a través de un cartílago y/o hueso, y se inserte dentro de un hueco de la médula ósea, proximal a dicho sitio de reparación de cartílago y/o hueso, una herramienta para liberar un almacén de la presente invención a un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, o una herramienta capaz de proporcionar una combinación de los mismos, por lo que la herramienta se puede separar del almacén después de la colocación del almacén dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

65 El instrumento puede comprender al menos una única herramienta.

Los métodos pueden utilizar este instrumento, en donde la implantación de un armazón de la presente invención comprende específicamente posicionar y confinar el coral a una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

5 Dichas herramientas pueden comprender una herramienta para la inserción de un armazón en un sitio de reparación, herramienta que está construida específicamente para sostener el armazón y posicionarlo de manera óptima dentro del sitio. Dentro de los kits de la invención se pueden incorporar múltiples herramientas para armazones de distintos tamaños o formas, para amoldar la implantación de armazones variados dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. Los kits de la presente invención comprenden una herramienta para procesar el armazón después de la inserción dentro del sitio de reparación, para afectar una superficie óptima lisa para una reparación óptima del cartílago y/o hueso. En algunas realizaciones, los kits de la presente invención pueden comprender adicionalmente una herramienta para crear un hueco entre el sitio de reparación y una fuente de células madre mesenquimatosas. En algunas realizaciones, el kit puede comprender una pieza, que se inserta dentro de una herramienta común para efectuar tal hueco, por ejemplo, se incluye en los kits una broca de un tamaño y profundidad tal como para perforar de forma fácil y apropiada a través del hueso próximo, para que la construcción de armazón se pueda insertar en un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, donde al menos una porción del armazón, o de los armazones contiguos se insertan dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, y llegan a la médula ósea subyacente, para servir como una fuente de células madre mesenquimatosas que migran para efectuar la reparación de cartílago y/o hueso.

20 Un experto en la materia reconocerá que la trayectoria creada por la perforación a través del tejido para alcanzar un hueco de la médula ósea es tal que permite que un armazón de la presente invención alcance el hueco de la médula ósea y se implante de forma estable en este sitio. El armazón debe estar suficientemente firme dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso para que no se desprenda cuando se articula una articulación. Un médico experto en la técnica también reconocerá que la extensión de la trayectoria perforada es tal que un armazón se sostenga firmemente, pero que la trayectoria no es tan extensa como para provocar un mayor daño al tejido circundante.

25 La preparación de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso también puede implicar la extracción de tejido cartilaginoso u óseo dañado, o una combinación de los mismos. Por lo tanto, una herramienta puede perforar una trayectoria de forma que se extraiga tejido dañado en el sitio de reparación o próximo a un sitio de reparación.

30 Una herramienta puede preparar el camino que seguirá un armazón, guiar el armazón que se está implantando e implantar el armazón de forma simultánea. Al preparar de forma simultánea el sitio e implantar el armazón, puede acortarse el tiempo que se somete a un sujeto a una cirugía invasiva o mínimamente invasiva.

35 Una región del armazón puede separarse de la herramienta después de la colocación del armazón dentro del sitio de reparación del cartílago. La región puede separarse de la herramienta, en donde la separación de la herramienta del armazón comprende separación activada por luz UV, separación activada por LÁSER, separación dependiente de torsión o separación activada químicamente, o una combinación de las mismas. La separación de la herramienta del armazón deja al armazón específicamente posicionado dentro de un sitio de reparación. El mecanismo de separación tampoco debe provocar un traumatismo adicional en el sitio de reparación.

40 La separación de la herramienta del armazón puede tener como resultado que el armazón se posicione y confine específicamente a una profundidad y ángulo óptimos dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso. La separación de la herramienta del armazón da como resultado que el armazón se implante en un sujeto dentro de un sitio de reparación de cartílago y/o hueso, en donde una región del armazón penetra a través de un cartílago y/o hueso, lo que da como resultado la inserción de la región dentro de un hueco de la médula ósea, proximal al sitio de reparación de cartílago y/o hueso.

45 Un experto en la materia reconocerá que la elección de un kit por parte de un médico experto dependerá de factores tales como la naturaleza exacta de la afección que se está tratando, la gravedad de la afección, la edad y el estado físico general del sujeto, el peso corporal y la respuesta del sujeto individual.

50 Por tanto, en una realización, el armazón comprendido en un kit de la presente invención comprende distintos tamaños, formas o composiciones químicas, o una combinación de los mismos. En una realización, la presente invención proporciona un kit para la reparación de cartílago y/o hueso que comprende un armazón de la presente invención, al menos una herramienta como se describe en el presente documento e instrucciones para utilizar el armazón en la reparación de cartílago.

55 Será evidente para los expertos en la materia que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en los armazones, kits, procedimientos y métodos de la presente invención, sin apartarse del espíritu o alcance de la invención.

60 En el contexto de la presente invención, el término "comprende", o las formas gramaticales del mismo, se refiere a la inclusión de los componentes indicados de la presente invención, así como a la inclusión de otros agentes activos y vehículos, excipientes, emolientes, estabilizantes farmacéuticamente aceptables, etc., como se conoce en la industria

farmacéutica.

5 En el contexto de la presente invención, la expresión "una preparación combinada" define especialmente un "kit de partes" en el sentido de que los componentes de la combinación, como se definieron anteriormente, se pueden usar independientemente o en distintas combinaciones, es decir, simultáneamente, al mismo tiempo, de forma separada o secuencialmente.

Ejemplos

10 Ejemplo 1

Aplicaciones de la construcción de armazón de base coralina de la presente invención

15 La construcción de armazón de base coralina de la presente invención puede insertarse en el cartílago, hueso o una combinación de los mismos, en un sujeto que lo necesite.

Dicha colocación incluirá la perforación en el área para exponer el sitio en el que se desea la implantación, y un encaje firme del armazón dentro del defecto/sitio.

20 Para la implantación para la reparación, regeneración de cartílago, etc., los armazones se implantan en el sitio del cartílago deseado y dentro del hueso ubicado de forma proximal, de modo que, de esta manera, el armazón de coral se injerta a través de dos tipos de tejido, cartílago y hueso. La Figura 1 representa de forma esquemática la orientación de un dibujo de un armazón de la presente invención dentro de un sitio de reparación de cartílago/hueso.

25 Los armazones pueden prepararse como se describe en el presente documento, como apreciará el experto en la materia.

30 Los armazones están previstos para su uso en aplicaciones veterinarias, así como en el tratamiento de sujetos humanos. Debe entenderse que se pueden realizar estudios en animales para determinar las configuraciones óptimas y los parámetros y procedimientos de implantación.

35 Por ejemplo, los estudios en animales pueden incluir la implantación de un armazón como se describe en el presente documento dentro de un sujeto animal y los armazones se examinan y observan durante un período de tiempo prolongado, poscirugía. La rodilla no tratada de cada animal se utiliza como control para las comparaciones que siguen a dichas cirugías. A intervalos apropiados, se sacrifican los animales y se realiza la histología. Los períodos apropiados para examinar el sitio de reparación de cartílago son 2,5, 4, 9, 12, 26, 52 semanas poscirugía. En este momento, las superficies articulares se fotografían y se extrae tejido del sitio de reparación, y se prepara para observaciones histológicas. Específicamente, se extrae con una sierra fina un bloque que consiste en el área injertada y el tejido circundante. El material se procesa adicionalmente para histología de rutina, la cual incluye descalcificación lenta.

40 Ejemplo 2

Reparación de un defecto osteocondral

45 Se realizó la reconstitución de un defecto osteocondral en cabras maduras utilizando implantes redondeados que tenían 6 mm de diámetro y 8 mm de longitud. Se perforó un núcleo de tejido cartilaginoso y óseo de 5,5 x 8 mm del cóndilo femoral medial de cada cabra (Figura 2A) y el implante se encajó por presión en el sitio de reparación de cartílago y hueso (Figura 2B y 2C).

50 Algunos animales recolectados a las 2,5 semanas poscirugía presentaron signos de que el implante estaba bien incorporado en el tejido natural, y se desarrolló tejido cartilaginoso proximal al implante, además se observaron signos de vascularización (Figura 2C).

55 Se sacrificó un grupo de animales y se recogió tejido del sitio del implante 9 semanas poscirugía. La evaluación histológica del tejido por H y E y tricrómico de Masson (Figuras 3A y 3B, respectivamente) mostró que el área del implante se reemplazó por cartílago y hueso reticular recién formados, y que el cartílago era liso y se había regenerado casi por completo. La tinción por Safranina O y la exploración de la expresión de Colágeno de tipo II revelaron la existencia de una banda de cartílago roja homogénea que cubría el hueso normal (Figura 4A) y la deposición de colágeno de tipo II a lo largo de la banda de cartílago (Figura 4B). El cartílago regenerado era virtualmente indistinguible del cartílago normal adyacente. La superficie de reparación era lisa, sin evidencia de fibrilación. Además, hubo evidencia de cierre completo del defecto a nivel del cartílago articular y evidencia de transformación de las células mesenquimáticas a condrocitos y osteoblastos, con formación y remodelación (por osteoclastos) de hueso subcondral nuevo. La Figura 11 A y la Figura 11B muestran una tinción por H y E de cortes similares que muestran cartílago regenerado.

65

Ejemplo 3

Preparación de un almacén de aragonito sólido multifásico

5 Para crear un almacén multifásico que varía en términos del volumen de poros (porosidad) de cada fase y/o que varía en función del diámetro de los huecos presentes en cada fase, se utilizaron tacos de 5,2 mm de diámetro y 7,5 mm de longitud posicionados dentro de un soporte de silicona, mediante lo cual se expuso solo 1 mm de la parte superior del taco, y el soporte con el taco se colocó en una posición invertida, y se sumergió en la mezcla de reacción, de forma que solo 1 mm de la parte superior del taco estuviera en contacto directo con la mezcla.

10 El taco se sumergió en primer lugar en una solución de sal disódica al 5 % durante dos horas a temperatura ambiente, seguido de la adición de una solución de ácido fórmico al 99 % para producir una concentración final del 0,5 %, donde los tacos se sumergieron otra vez en la solución durante un tiempo adicional de 20 minutos. La mezcla se vertió y los tacos se lavaron en agua destilada durante una noche, en condiciones de una presión de aproximadamente 0,02 MPa a 1 Pa (0,2-0,00001 bar) a través de la aplicación de vacío después de colocar el taco en un recipiente sellado y de aplicar el vacío a la cámara. Los tacos se secaron al vacío durante una noche a temperatura ambiente.

15 La Figura 6A representa un soporte que expone una porción de un taco para la inmersión como se describe en el presente documento.

20 La Tabla 1 representa los resultados de la inmersión de 15 tacos aislados de distintas regiones de la misma pieza de coral (*Porites Lutea*) procesados como se describe en este ejemplo. Se usó una sierra de diamante para retirar cortes de las fases individuales y los cortes se procesaron para el análisis por microscopía óptica, y se usó un microscopio óptico bifocal para obtener imágenes del almacén; y las imágenes se capturaron y se evaluaron los diámetros de los huecos para determinar el tamaño mediante la metodología convencional.

25 Se identificaron 30 huecos en tres implantes distintos dentro de la región del taco sumergido dentro de la mezcla de reacción, se identificaron 41 huecos en cuatro implantes distintos dentro de la región ubicada de forma proximal a la región de inmersión y se identificaron 46 huecos en cuatro implantes distintos dentro de la región ubicada de forma distal a la región de inmersión, y se determinó el diámetro de cada hueco. El resultado de estas determinaciones se presenta a continuación en la Tabla 3:

35 Tabla 1:

	Región sumergida del implante	Región proximal	Región distal
Mediana	700	200	110
Dev. Típ.	50,2	69,8	39,9

La Figura 6B y la 6C representan imágenes de microscopía óptica del corte de la parte superior (panel B) cortado del taco (panel C) y visualizadas a mayor aumento, donde se puede determinar el tamaño de los huecos.

40 En términos de volumen de poro (porosidad), la porción sumergida presentó que aproximadamente el 85-90 % del taco era poroso, presentando la región proximal del mismo (que tiene una longitud de aproximadamente 0,5-1 mm a lo largo de un eje longitudinal, ubicada de forma proximal a la región sumergida) aproximadamente el 65-75 % de porosidad, mientras que la región distal presentaba aproximadamente el 45-50 % de porosidad.

45 La porosidad se obtuvo, como se ha descrito (Karageorgiou V, Kaplan D. (2005) "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis" *Biomaterials*.;26(27):5474-91).

50 El nivel de porosidad se puede controlar mediante parámetros tales como el tipo y la concentración del quelante utilizado, el tipo y la concentración del ácido utilizado, la temperatura a la que se realiza el método y el tiempo de reacción, mientras que el tamaño de toda la fase porosa aumentada se puede controlar por la longitud del taco que se pone en contacto directo con la mezcla de reacción.

55 El control de la porosidad y el tamaño de las distintas fases permitirá el diseño de implantes para distintos fines, que presenten distintas resistencias, y características físicas y estructurales, que tengan el potencial de imitar distintos óseas y cartilaginosas naturales. Este control proporcionará un mejor ajuste del implante a la ubicación exacta deseada de implantación, según se precise para cada defecto de cartílago/hueso específico o solo defecto de hueso.

Ejemplo 4**Los armazones de aragonito impregnados con ácido hialurónico son más condrogénicos que los armazones basados en aragonito *in vitro***

5 Con el fin de evaluar el potencial condrogénico de la fase condral de un implante, se compararon los armazones basados en aragonito con armazones de aragonito impregnados ácido hialurónico. Los ensayos *in vitro* se realizaron utilizando las células madre mesenquimatosas (las CMM) murinas ATCC/CRL-12424 y se evaluó su diferenciación hacia un linaje condrogénico. Se sembraron 5000 CMM sobre 1 mg de partículas pequeñas (~ 1 mm de tamaño) de aragonito de base coralina (sp. *Porites lutea*) con o sin ácido hialurónico (NaHA al 1 %). Un tercer grupo sin ningún implante sirvió de control. Los métodos de la preparación del armazón se describen en el presente documento. El ácido hialurónico (HA) utilizado fue un gel inyectable de hialuronato de sodio al 1 % comercializado como Arthrease, fabricado por Bio-Technology General (Israel) LTD. Lote: RD0131B.

15 Cada partícula se cultivó individualmente y se sembró por separado. Las células se cultivaron en medio DMEM complementado, sin la adición de ningún agente inductivo condrogénico. El medio se reemplazó cada 2-3 días durante un período de 21 días. Se tuvo cuidado durante el reemplazo de los medios para no perturbar las partículas en los cultivos. El ensayo se realizó con triplicados.

20 Después de una, dos y tres semanas de cultivo, se sometió a ensayo la diferenciación de las CMM mediante tinción del cultivo con tinción con Safranin O/verde Fast [Kahveci Z, Minbay FZ, Cavusoglu L (2000) Safranin O staining using a microwave oven. *Biotech Histochem.* 75(6):264-8] de células fijadas con solución de glutaraldehído al 4 %. Se procesaron imágenes digitales de las células teñidas.

25 La Figura 7 muestra la tinción con verde Fast del citoplasma de todas las células en un color verde brillante, mientras que la tinción con Safranina O de los glucosaminoglucanos (GAG) secretados por los condrocitos en la matriz extracelular de las células es evidente por un color rosa característico.

30 Las imágenes se analizaron utilizando el programa informático ImageJ. La intensidad del color se utilizó para estimar la condrogénesis. Cada imagen se analizó en cuanto al área de células teñidas con Safranina O (8A) y su densidad integrada (8B) de color rosa- se calculó contando el número de píxeles de color rosa en un área específica de la imagen, excluyendo el área de las partículas del cálculo.

35 Durante todo el estudio, el aragonito impregnado con ácido hialurónico mostró una mayor condrogénesis en comparación con el aragonito solo, tanto en términos del área teñida (cantidad de células) como de la intensidad del color (cantidad de GAG en la MEB).

40 El ensayo de control incluyó el ensayo de células cultivadas de forma idéntica, en ausencia de armazón, que mostró significativamente menos características hacia la tinción de GAG.

45 La morfología de las células se visualizó utilizando microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (JEOL, JSM-7400F). Las CMM sembradas sobre el aragonito con ácido hialurónico presentaron una morfología redonda y desarrollaron una matriz extracelular densa, que es típica de los condrocitos maduros (Figuras 9C-D). En contraste, las CMM cultivadas sobre aragonito sin HA, mostraron una morfología aplanada, similar a fibroblastos (Figuras 9A-B).

El complejo aragonito-HA permitió, así, la adherencia, proliferación y la diferenciación hacia un fenotipo condrogénico de las CMM.

50 Se demostró en el presente documento que el potencial condrogénico del aragonito impregnado con ácido hialurónico proporciona una condrogénesis superior, apoyando de este modo el alcance de la invención dirigida a un implante bifásico, en que la fase condral está compuesta por aragonito con orificios/huecos que están impregnados con un polímero biocompatible tal como el ácido hialurónico y una fase ósea que está compuesta sola por aragonito o calcita.

Ejemplo 5**Los armazones con base de aragonito y calcita son condrogénicos *in vivo***

60 La implantación puede ser en cualquier ubicación adecuada, por ejemplo, para la reparación de la rodilla, la implantación puede ser dentro del cóndilo femoral medial (CFM), el cóndilo femoral lateral (CFL), la rótula, la cavidad sigmoidea mayor (CSM) y la tibia.

65 Se pueden utilizar sistemas modelo que utilizan ovejas, cabras o caballos para determinados armazones realizados de la presente invención. En la ubicación de implantación elegida, por ejemplo, en el área de carga del CMF, se realiza un defecto utilizando un punzón. Se miden las dimensiones del defecto, por ejemplo, de 5-10 mm y 6-12 mm de diámetro y profundidad, respectivamente.

El diámetro del implante será apropiado para el diámetro del defecto osteocondral que se está analizando. Por ejemplo, el diámetro elegido de un implante puede ser de 6 mm, para abarcar un diámetro del defecto de 5,8 mm para asegurar una buena fijación al defecto de una forma de ajuste por presión. A efectos de comparación, se puede elegir una segunda ubicación en un lugar que no soporte peso, por ejemplo dentro del CSM.

5 Para tratar lesiones de cartílago grandes, se pueden introducir varios implantes, que tengan las mismas o distintas formas geométricas y propiedades, para rellenar el defecto. La implantación se puede realizar por artroscopia o por una incisión abierta (artrotomía).

10 Se pueden obtener imágenes de rayos X, CT o RMN para verificar la posición de los implantes.

Ejemplo 6

15 Preparación de un armazón bifásico de aragonito que comprende orificios y ácido hialurónico en la fase condral, para su envasado y distribución

Preparación del armazón con núcleo de aragonito: El coral del hidrocoral *Porites lutea*, que tiene un tamaño de poro promedio de 100-150 μm , se recoge, se evalúa visualmente en cuanto a su apariencia, densidad y porosidad, y se somete a análisis por FTIR. Además, se puede determinar la cuantificación de aminoácidos. El coral se sumerge luego en hipoclorito de sodio al 5 % para eliminar el tejido orgánico externo.

20 Sin quedar ligado a teoría alguna, un medio por el cual se produce una construcción de armazón superior mediante este procedimiento es el resultado de la penetración profunda en el coral, mientras que los procesos de inmersión o la aplicación de presión positiva durante la purificación permiten que las burbujas de aire queden atrapadas dentro de la red de poros del armazón, dando como resultado una mala accesibilidad de los disolventes a los compartimentos internos del coral. Además, el procedimiento de purificación facilita la eliminación de los agentes oxidantes empleados de una manera más minuciosa, un resultado claramente conveniente para la construcción de armazón implantada posteriormente en seres vivos.

30 Se utiliza una sierra, por ejemplo, una sierra de disco de diamante, para eliminar la capa externa del coral, y se cortan de un bloque de coral más grande tacos de las dimensiones deseadas. Luego se perforan una serie de orificios a través de parte de los tacos así obtenidos, a una profundidad deseada y en un patrón/número deseado, etc., véase, por ejemplo, la Figura 10A y 10B.

35 La materia orgánica se elimina del coral de la siguiente manera: los tacos se exponen en primer lugar a un líquido que contiene un agente oxidante bajo presión negativa, por ejemplo, una solución de hipoclorito de sodio al 5 % durante 30 minutos, 3 intercambios en el intervalo de temperatura de TA a 50 °C, y presión subatmosférica usando una presión de vacío que varía de 0,02 MPa a 1 Pa (0,2-0,00001 bar). Después, los tacos se exponen a una solución de peróxido de hidrógeno al 10 % durante 15 minutos a un intervalo de temperatura de TA - 50 °C, y presión subatmosférica usando una presión de vacío que varía de 0,02 MPa a 1 Pa (0,2-0,00001 bar). Después, los tacos limpios se lavan en agua destilada durante 30 minutos, 3 intercambios a un intervalo de temperatura de TA - 50 °C, y presión subatmosférica usando una presión de vacío que varía de 0,02 MPa a 1 Pa (0,2-0,00001 bar).

45 El coral se esteriliza por exposición a radiación gamma a una intensidad de al menos 22,5 kGy y a continuación puede almacenarse de forma aséptica, en material de envasado.

50 Se aplica de forma apical al taco hialuronato de sodio al 1 % (solución de ácido hialurónico al 1 % en solución salina tamponada con fosfato, descrita anteriormente en el presente documento). Una porción apical del taco está constreñida dentro de un anillo, por ejemplo un anillo de silicona, el cual se extiende en una región sobre el extremo del taco, creando un depósito en el extremo del mismo. Después, se aplica la solución de ácido hialurónico a la región del depósito, por ejemplo, se aplican 70 ml de la solución sobre un taco de 6 mm de diámetro para producir una fase homogénea de coral de 2 mm con orificios, que impregna el ácido hialurónico para tratar el defecto condral, el cual está inmovilizado en un anillo de silicona que se extiende por el extremo del taco y 4 mm por encima del extremo. La aplicación de la solución de ácido hialurónico continúa durante 45-60 minutos y después se retira el anillo. El taco se inserta en un embalaje estéril y se sella. El embalaje sellado se somete después a evaporación en condiciones de vacío para secar la solución de NaHA al 1% del tapón, para formar un recubrimiento de HA seco de la fase condral del taco (por ejemplo, mediante liofilización/desecado). De este modo, se obtiene un envase estéril que contiene el producto seco.

60 La Figura 11 representa de forma esquemática un armazón realizado de la invención, en donde una primera fase **11-10** que comprende una serie de agujeros o huecos **11-30** se muestra en la parte superior de una segunda fase **11-20**. El extremo de la segunda fase puede ser ahusado **11-40** para permitir un fácil encaje ajustado del armazón en cuestión.

65 En una realización de la presente invención, "aproximadamente" se refiere a una calidad en donde se cumplen los medios para satisfacer una necesidad específica, por ejemplo, el tamaño puede ser en gran parte, pero no totalmente, el que se especifica, pero satisface la necesidad específica de reparación de cartílago en un sitio de reparación de cartílago. En una realización, "aproximadamente" se refiere a estar cerca o alrededor de, pero no exactamente. Está

presente un pequeño margen de error. Este margen de error no excederá más o menos el mismo valor entero. Por ejemplo, alrededor de 0,1 micrómetros significaría no menor que 0 pero no mayor que 0,2. En algunas realizaciones, el término "aproximadamente", con respecto a un valor de referencia, abarca una desviación de la cantidad de no más del 5 %, no más del 10 % o no más del 20 % por encima o por debajo del valor indicado.

5

REIVINDICACIONES

1. Un almacén para la reparación de tejidos, consistiendo dicho almacén en dos fases en donde:
 5 una primera fase de dichas dos fases comprende coral sólido que comprende un polímero biocompatible y dicha primera fase comprende adicionalmente una serie de cavidades a lo largo de un eje longitudinal en dicha primera fase, en donde dicho polímero biocompatible está ubicado sustancialmente dentro de dicha serie de cavidades; y una segunda fase de dichas dos fases comprende un coral sólido.
2. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho polímero biocompatible es un glucosaminoglucano, colágeno,
 10 elastina, seda, quitosano, alginato o una combinación de los mismos.
3. El almacén de la reivindicación 2, en donde dicho glucosaminoglucano es ácido hialurónico o hialuronato de sodio.
4. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho polímero biocompatible comprende un polímero biodegradable
 15 sintético, que comprende alfa-hidroxiácidos que incluyen ácido poli-láctico, ácido poliglicólico, enantiómeros de los mismos, copolímeros de los mismos, polioroésteres y combinaciones de los mismos.
5. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho polímero biocompatible está incorporado dentro de al menos una
 20 porción de dicho almacén.
6. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho almacén comprende adicionalmente una citocina, un quelante, una población celular, un compuesto antiinflamatorio, un compuesto antiinfeccioso, un factor de crecimiento, un antibiótico, un factor proangiogénico, un compuesto terapéutico o cualquier combinación de los mismos.
7. El almacén de la reivindicación 6, en donde dicha población celular comprende células madre mesenquimatosas,
 25 osteoblastos, osteocitos, osteoclastos, condroblastos, condrocitos, fibroblastos o una combinación de los mismos, u otras células implicadas en la reparación de cartílago o hueso.
8. El almacén de la reivindicación 6, en donde dicho factor de crecimiento es factor de crecimiento epidérmico (EGF),
 30 factor de crecimiento transformante-beta (TGF-β), factor de crecimiento celular endotelial humano (ECGF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento insulínico (IGF), proteína morfogenética derivada de cartílago (CDMP), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o una combinación de los mismos.
9. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho almacén se asemeja a la forma de un cilindro, cono, tornillo, barra
 35 rectangular, placa, disco, pirámide, gránulo, bola o cubo.
10. El almacén de la reivindicación 1, en donde el almacén adopta una forma para asemejarse a un menisco de una
 40 rodilla o codo; una articulación; una superficie articular de un hueso, una porción de una jaula torácica, una cadera, una pelvis, una oreja, una nariz, un ligamento, un bronquio o un disco intervertebral.
11. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho almacén es de forma cilíndrica y tiene un diámetro de
 45 aproximadamente 5-25 mm y una altura de aproximadamente 5-25 mm.
12. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho polímero biocompatible está en forma de un recubrimiento
 50 polimérico, que forma una capa polimérica asociada con una porción de dicho almacén.
13. El almacén de la reivindicación 12, en donde dicho recubrimiento polimérico está presente en un extremo de dicho
 55 almacén y dicho recubrimiento tiene un espesor de entre aproximadamente 0,1-10 mm.
14. El almacén de la reivindicación 1, en donde dicho almacén es adecuado para su uso en la inducción o potenciación
 de la reparación, regeneración o potenciación de la formación de cartílago, hueso o una combinación de los mismos.
15. Almacén para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho almacén se construye de forma que
 60 dicha primera fase es adecuada para la implantación dentro o de forma proximal al tejido cartilaginosa y dicha segunda fase es adecuada para la implantación dentro o de forma proximal al tejido óseo.
16. Un kit para la reparación de cartílago o hueso que comprende el almacén de la reivindicación 1; instrucciones para
 la utilización de dicho almacén en la reparación de tejidos; y opcionalmente herramientas para la inserción óptima de dicho almacén, opcionalmente, en donde dicho kit comprende una serie de almacenes de distintos tamaños, formas o una combinación de los mismos.

Figura 1

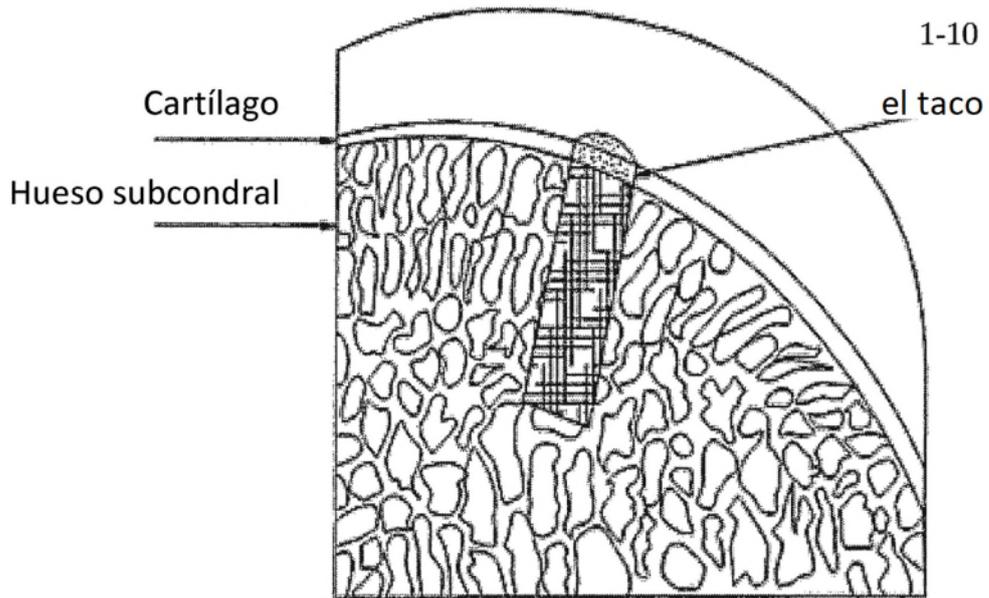


Figura 2C

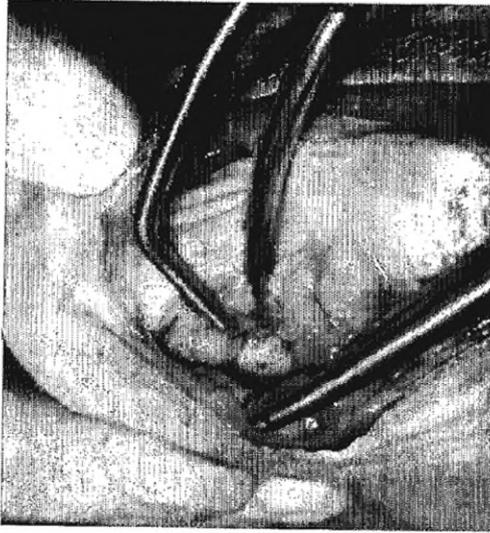


Figura 2B



Figura 2A



Figura 2D



Figura 3B

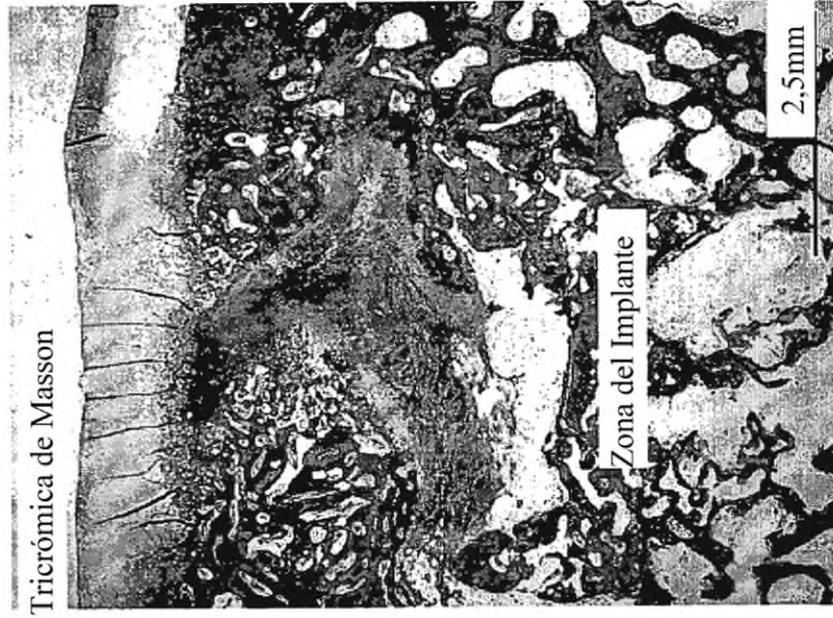


Figura 3A

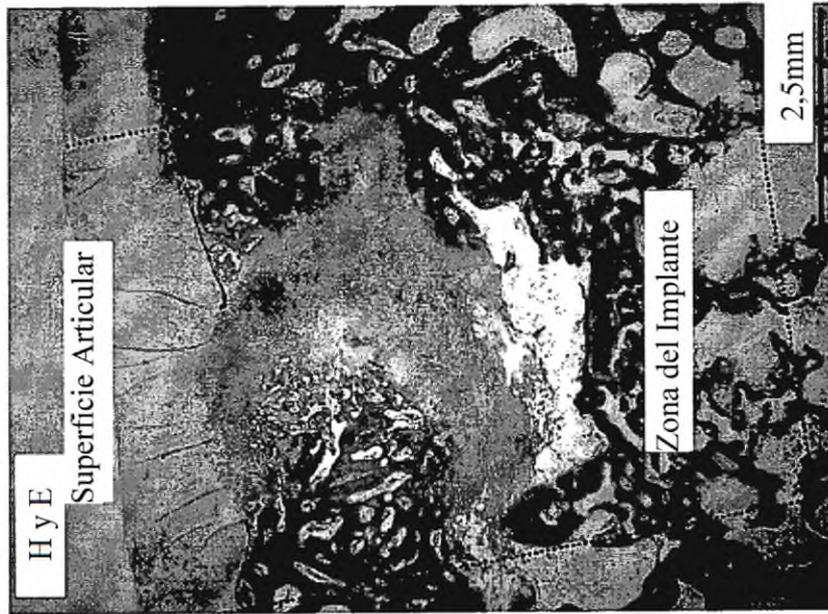


Figura 4B

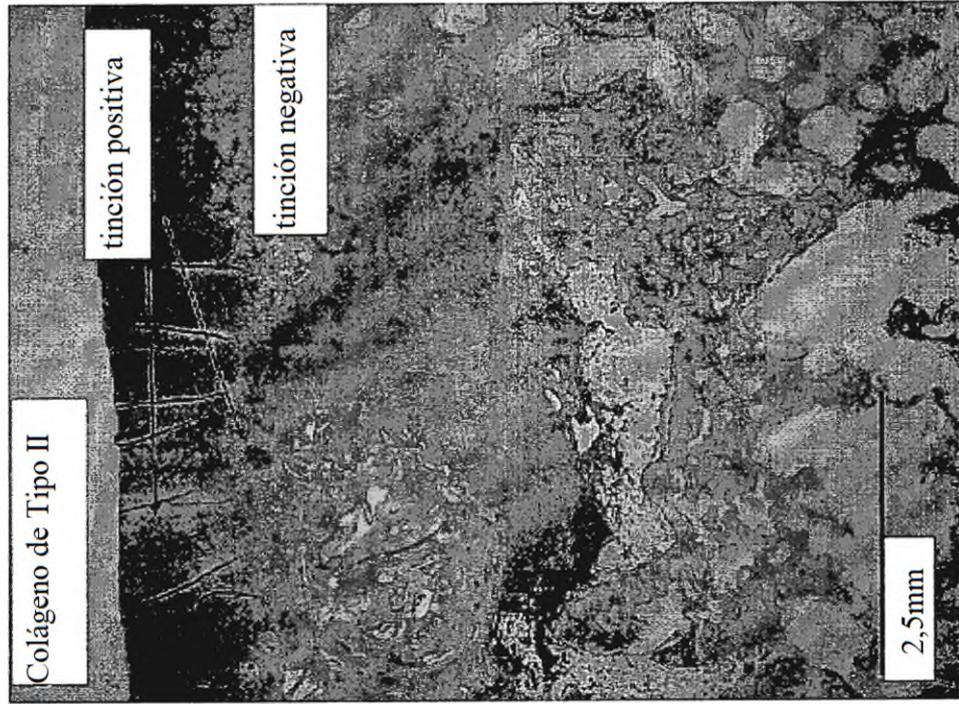


Figura 4A

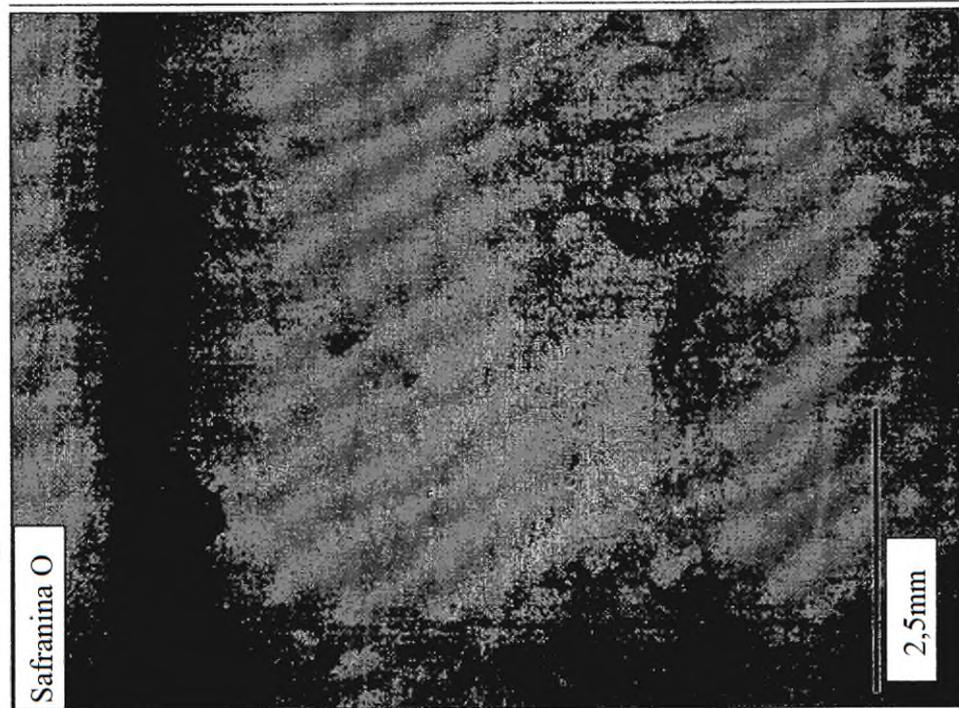


Figura 5B

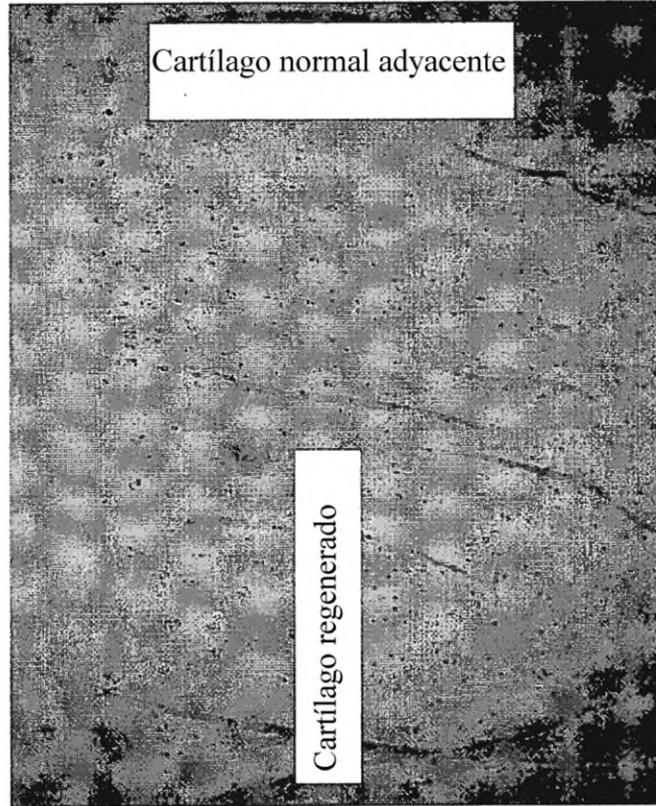


Figura 5A

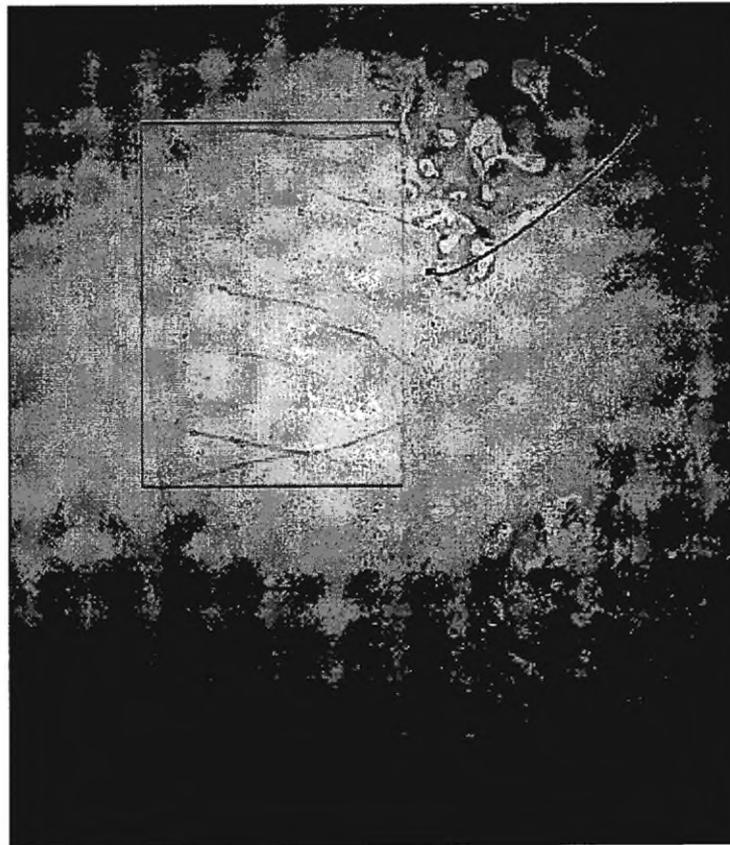


Figura 6A

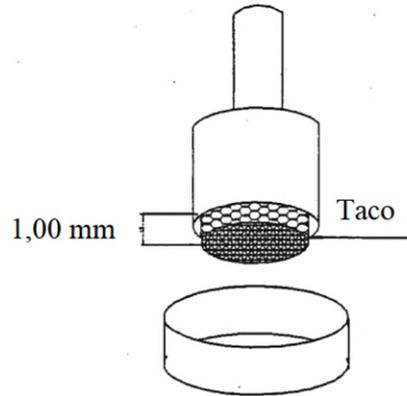


Figura 6B

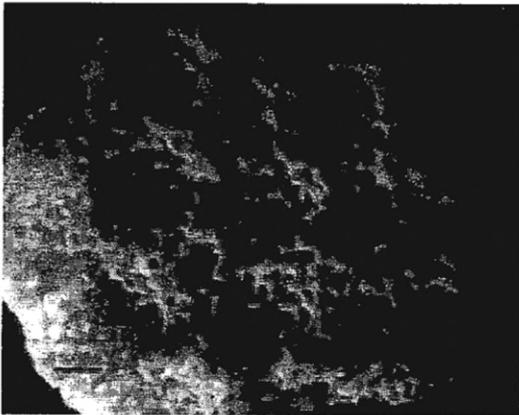


Figura 6C

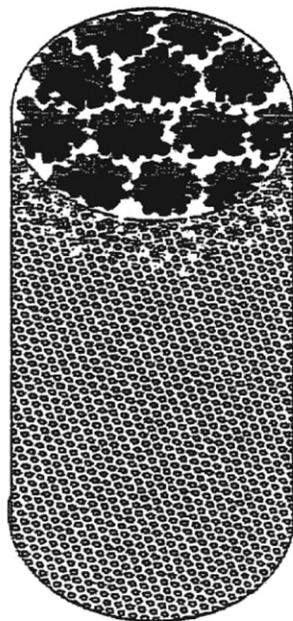
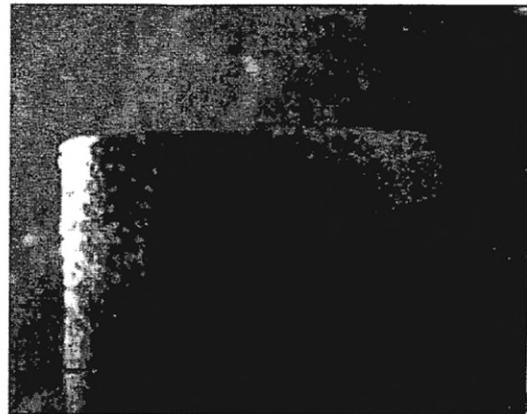


Figura 6D

0,5 mm	Fase de la parte superior: porosidad de ~85-90 %
0,5 mm	Fase intermedia 1: porosidad de ~70-80 %
0,5 mm	Fase intermedia 2: porosidad de ~60-70 %
6 mm	Fase de la parte inferior: porosidad de ~45-55 %

1 semana



Figura 7A

2 semanas

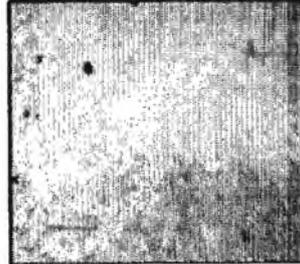


Figura 7B

3 semanas

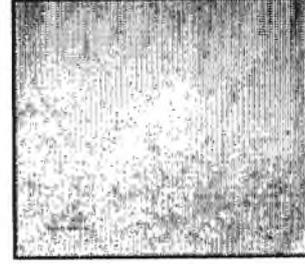


Figura 7C

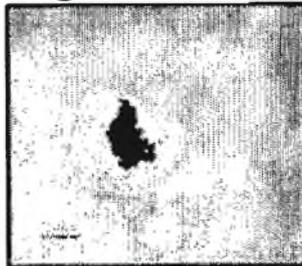


Figura 7D

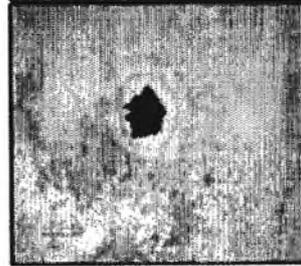


Figura 7E

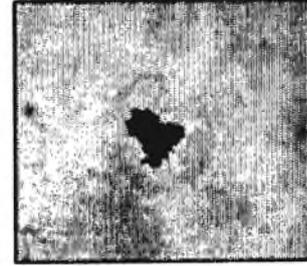


Figura 7F

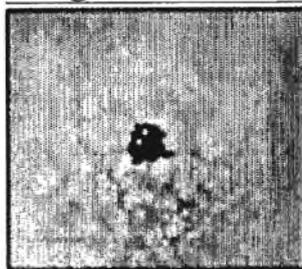


Figura 7G



Figura 7H

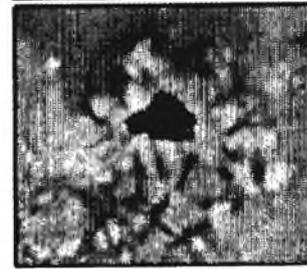


Figura 7I

Figura 8A

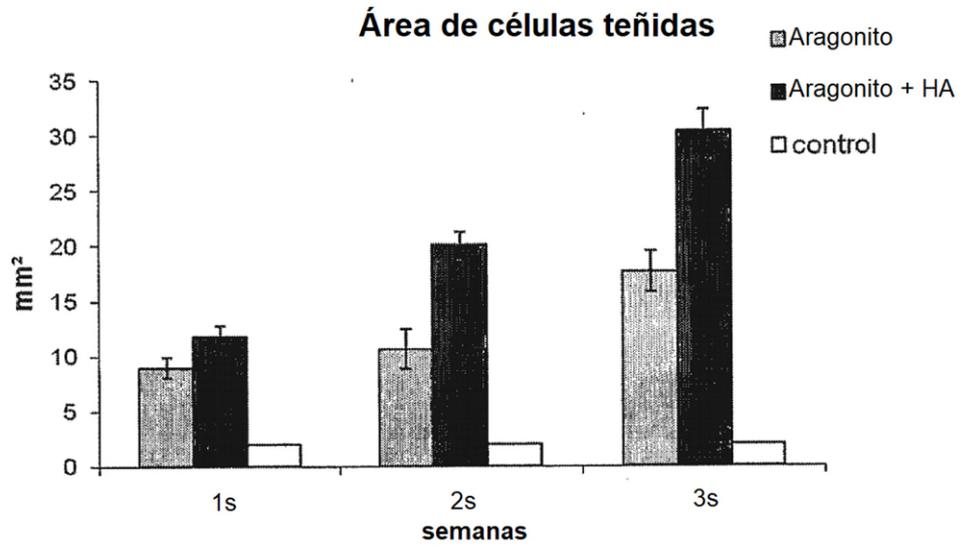
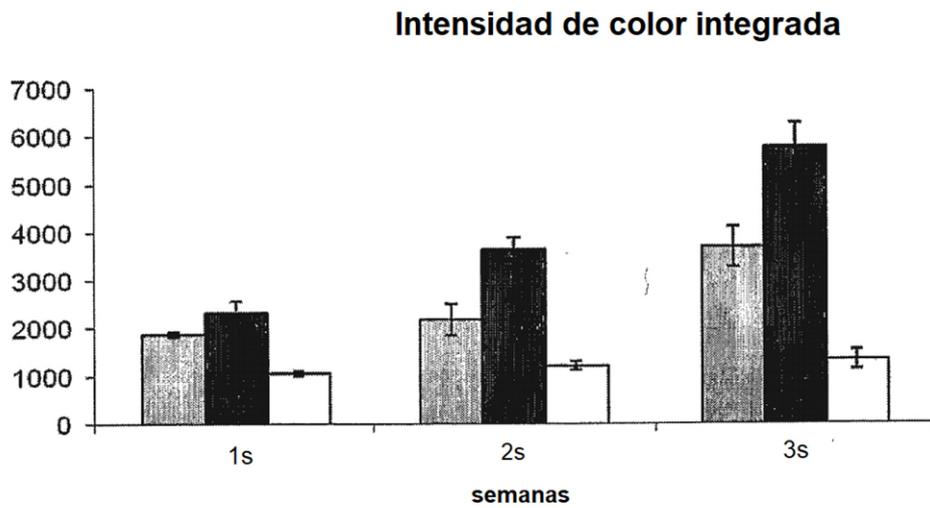


Figura 8B



MEB: CMM sobre Coral

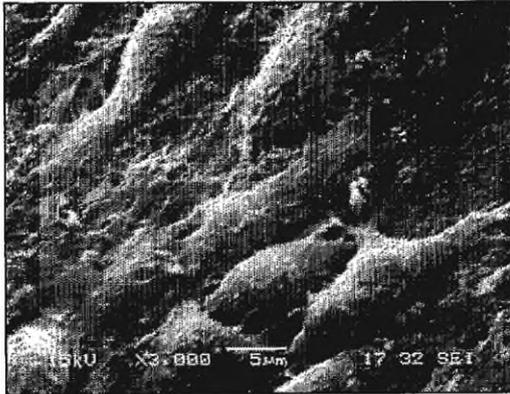


Figura 9A

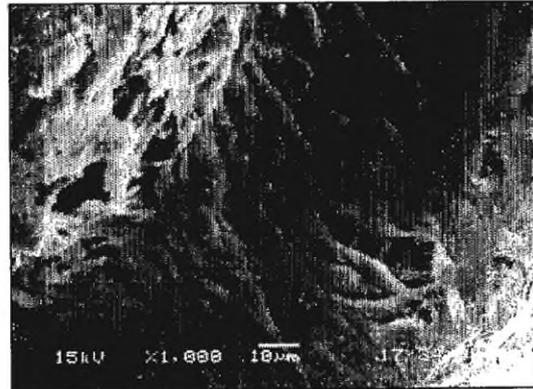


Figura 9B

MEB: CMM sobre Coral + Ácido Hialurónico

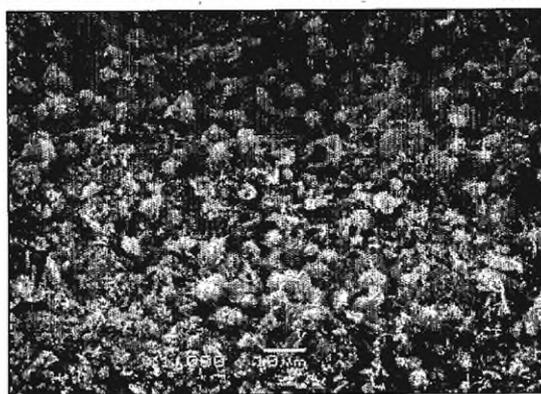


Figura 9C

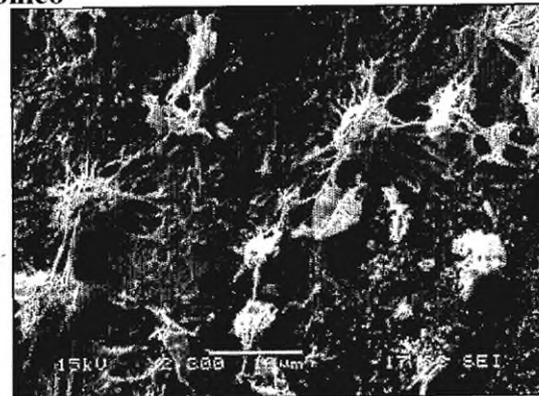


Figura 9D

Figura 10A

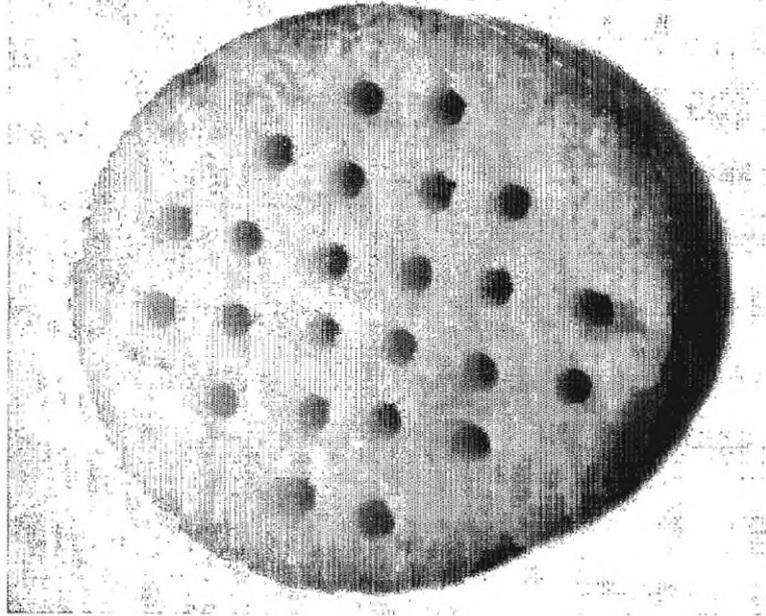


Figura 10B

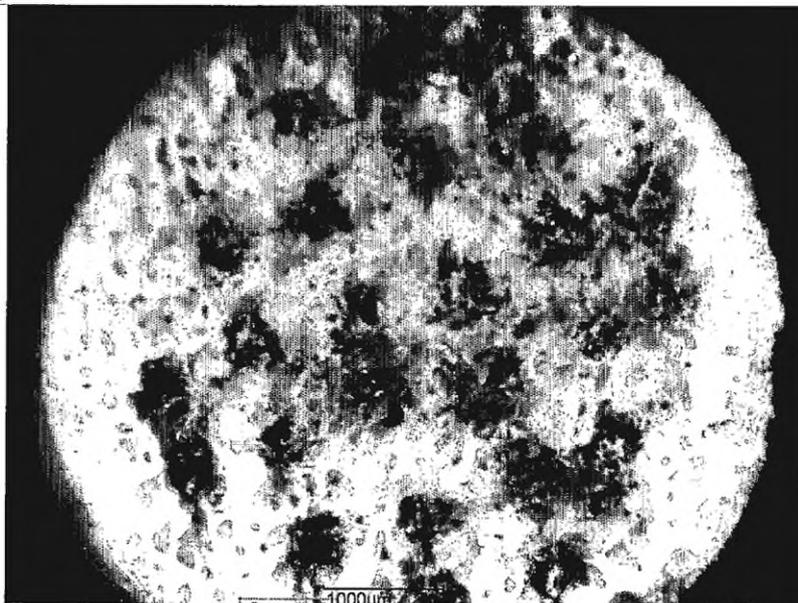


Figura 11A

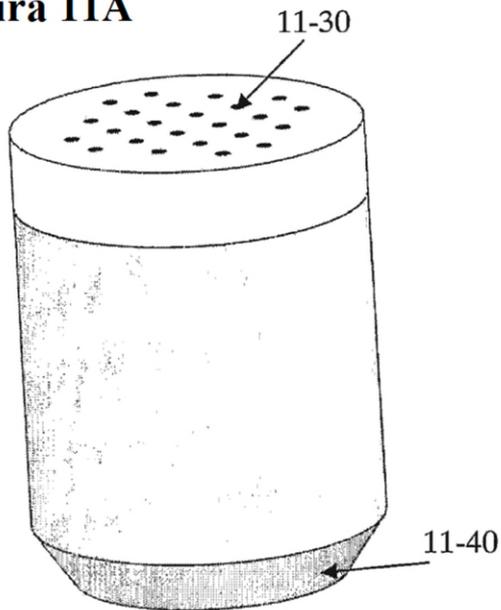


Figura 11B

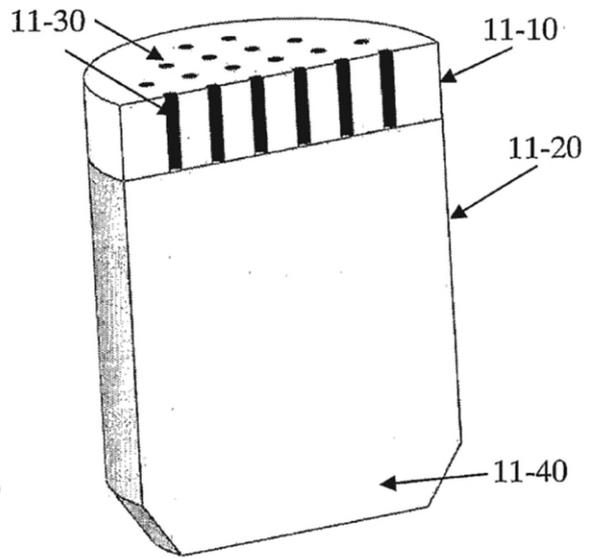


Figura 11C

