

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 712**

51 Int. Cl.:

A61L 27/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2012 PCT/US2012/070246**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13096249**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2012 E 12809972 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2019 EP 2793964**

54 Título: **Productos de tejido de lámina**

30 Prioridad:

20.12.2011 US 201161577721 P

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

05.11.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

HAYZLETT, MARK

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 729 712 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

Productos de tejido de lámina

La presente divulgación se refiere a productos de tejido y, más en particular, a productos de tejido formados como láminas alargadas.

5 Se han producido diversos productos de tejido para reemplazar, aumentar o tratar los defectos del tejido. Por ejemplo, para reemplazar o aumentar los defectos del tejido, se pueden usar matrices de tejido dérmico acelular como ALLODERM® y STRATTICE™, que están disponibles en LIFECELL® Corporation (Branchburg, NJ).

10 Aunque son adecuados para determinadas aplicaciones, son deseables mejoras adicionales en la capacidad de los productos de tejido que se van a usar en el tratamiento de tejidos blandos o duros. En consecuencia, la presente divulgación proporciona productos de tejido mejorados producidos a partir de matrices de tejido.

El documento WO94/03584 se refiere a láminas de matriz de tejido que se forman a partir de partículas de tejido conjuntivo como material de partida. El diámetro de las partículas es de 100 a 200 µm. Las partículas se pueden reticular para formar capas de tejido reconstituidas.

SUMARIO

15 La invención se define en las reivindicaciones.

De acuerdo con determinados modos de realización, se proporciona un producto de tejido. El producto incluye una lámina de material, en el que la lámina comprende una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 µm y 300 µm, en el que los fragmentos de matriz de tejido se unen entre sí para formar la lámina de tejido como se define en la reivindicación 1.

20 De acuerdo con determinados modos de realización, se proporciona un procedimiento para producir una composición para el tratamiento de tejidos como se define en la reivindicación 9. El procedimiento incluye seleccionar una matriz de tejido y tratar la matriz de tejido para producir fragmentos que tengan una longitud de entre 5 µm y 300 µm. El procedimiento incluye además formar los fragmentos en una lámina; y tratar la lámina para unir los fragmentos entre sí.

25 El alcance de la invención se define por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a procedimientos de tratamiento se refiere a los productos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante tratamiento.

30 Se proporciona un procedimiento para tratar un sitio de tejido. El procedimiento puede incluir seleccionar un sitio de tejido y seleccionar un producto de tejido que comprende una lámina de material, en el que la lámina comprende una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 µm y 300 µm, en el que los fragmentos de matriz de tejido se unen entre sí para formar la lámina de tejido. El procedimiento puede incluir además colocar la lámina de tejido en o sobre el sitio del tejido.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La fig. 1 ilustra un procedimiento para producir un producto de tejido de acuerdo con diversos modos de realización.

35 DESCRIPCIÓN DE DETERMINADOS MODOS DE REALIZACIÓN EJEMPLARES

Se hará ahora referencia con detalle a determinados modos de realización ejemplares de acuerdo con la presente divulgación, determinados ejemplos de los cuales se ilustran en los dibujos adjuntos. Siempre que sea posible, se usarán los mismos números de referencia a lo largo de los dibujos para referirse a las mismas partes o similares.

40 En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural, a menos que se especifique de otro modo. En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique de otro modo. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante.

Los encabezados de sección usados en el presente documento son solo para fines organizativos y no deben interpretarse como limitantes de la materia descrita.

45 Como se usa en el presente documento, "producto de tejido" se referirá a cualquier tejido humano o animal que contenga proteínas de la matriz extracelular. Los "productos de tejido" pueden incluir matrices de tejido intacto, matrices de tejido acelular o parcialmente descelularizado, matrices de tejido descelularizado que se han repoblado con células exógenas y/o tejidos celulares que se han procesado para cambiar la orientación de al menos algunas de las fibras de colágeno dentro de la matriz extracelular del tejido.

50 Diversos productos de tejido están disponibles para el tratamiento de tejidos duros y blandos. Dichos productos de tejido pueden incluir tejidos procesados, que se han tratado para eliminar algunos o todos los componentes

celulares y/u otros materiales (por ejemplo, antígenos y lípidos). Dichos productos de tejido se pueden usar para el tratamiento, reparación, regeneración y/o aumento de una variedad de tejidos diferentes. Por ejemplo, las matrices de tejido acelular se pueden usar para reemplazar tejido blando perdido o dañado debido, por ejemplo, a cirugía, traumatismo, enfermedad y/o atrofia.

- 5 Las matrices de tejido acelular actual u otros andamiajes de tejido o materiales de reemplazo (por ejemplo, colágeno procesado o materiales sintéticos) están disponibles en una variedad de formas diferentes. STRATTICE™ y ALLODERM® (LIFECCELL® Corporation, Branchburg, NJ) son dos productos de matriz de tejido dérmico acelular, que se venden como láminas. Por ejemplo, STRATTICE™ y ALLODERM® se pueden usar, por ejemplo, para el aumento de tejidos blandos, por ejemplo, para tratar defectos de la pared abdominal; y
 10 CYMETRA® se puede inyectar para el aumento de tejidos blandos.

De acuerdo con determinados modos de realización, un producto de tejido es como se define en la reivindicación 1 proporcionada. El producto incluye una lámina de material, en el que la lámina comprende una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 µm y 300 µm, en el que los fragmentos de matriz de tejido se unen entre sí para formar la lámina de tejido.

- 15 De acuerdo con determinados modos de realización, se proporciona un procedimiento para producir una composición para el tratamiento de tejidos como se define en la reivindicación 9. El procedimiento incluye seleccionar una matriz de tejido y tratar la matriz de tejido para producir fragmentos que tengan una longitud de entre 5 µm y 300 µm. El procedimiento incluye además formar los fragmentos en una lámina; y tratar la lámina para unir los fragmentos entre sí.

- 20 Se proporciona un procedimiento para tratar un sitio de tejido. El procedimiento puede incluir seleccionar un sitio de tejido y seleccionar un producto de tejido que comprende una lámina de material, en el que la lámina comprende una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 µm y 300 µm, en el que los fragmentos de matriz de tejido se unen entre sí para formar la lámina de tejido. El procedimiento puede incluir además colocar la lámina de tejido en o sobre el sitio del tejido.

- 25 En determinados modos de realización, los productos de tejido producidos como se describe en el presente documento proporcionan propiedades mejoradas cuando se implantan o durante el almacenamiento. Por ejemplo, los productos descritos en el presente documento pueden ser menos susceptibles al daño causado durante la congelación que otras matrices de tejido acelular. Además, las matrices pueden tener una capacidad mejorada para permitir el crecimiento infiltrante celular y la vascularización.

- 30 La fig. 1 ilustra un procedimiento para producir un producto de tejido de acuerdo con diversos modos de realización. Como se muestra en la etapa 101, el procedimiento comienza con la selección de una matriz de tejido 100. Las matrices de tejido adecuadas se analizan con más detalle más adelante, pero las matrices de tejido pueden incluir cualquier matriz de tejido sustancialmente acelular producida a partir de tejido humano o animal, que conserva la capacidad de soportar el crecimiento infiltrante celular y la regeneración de tejido sin una inflamación excesiva.
 35 Determinadas matrices de tejido ejemplares que se pueden usar incluyen STRATTICE™ y ALLODERM® (LIFECCELL® Corporation, Branchburg, NJ), que son matrices dérmicas acelulares porcinas y humanas, respectivamente. Sin embargo, se pueden usar otras matrices de tejido adecuadas, incluyendo, por ejemplo, submucosa de intestino delgado. Además, las matrices de tejido pueden incluir tejidos intactos (no descelularizados) y/o tejidos que han sido parcialmente descelularizados y/o poblados con células exógenas.

- 40 A continuación, como se muestra en la etapa 111, la matriz 100 se procesa para producir fragmentos 110. Los fragmentos de tejido 110 se pueden formar usando un intervalo de tamaños y diferentes morfologías. Por ejemplo, en algunos modos de realización, los fragmentos de tejido 110 están en forma de pequeñas hebras o hilos de matriz de tejido que se han tratado para producir la distribución de tamaño y/o la conformación deseadas. En diversos modos de realización, las hebras o hilos tienen una longitud de entre 5 µm y 300 µm, entre 50 µm y
 45 200 µm, entre 50 µm y 300 µm, o cualquier valor intermedio. En determinados modos de realización, las hebras son de aproximadamente 40 micrómetros × 140 micrómetros a 100 micrómetros por 350 micrómetros.

- Los fragmentos de tejido 110 se pueden producir usando una variedad de procedimientos. Por ejemplo, se puede usar cualquier procedimiento adecuado de corte, trituración, molienda, mezclado, cizallamiento u otro procedimiento mecánico, que produzca el tamaño y la conformación deseados y no cause daños o cambios
 50 inadecuados en la matriz del tejido. En determinados modos de realización, los fragmentos de tejido 110 se procesan usando un molino como un molino de alimentos SYMPAK® o un molino de atrición QUADRO (Quadro, Canadá). En algunos modos de realización, la matriz de tejido 100 se corta en trozos pequeños (por ejemplo, 4 cm × 4 cm) y, a continuación, se muele. Además, la matriz se puede mezclar brevemente en una solución (por ejemplo, PBS) antes de la molienda.

- 55 En algunos casos, las matrices de tejido 100 se pueden procesar para producir los fragmentos 110 cuando están húmedos o sumergidos en un líquido. Por ejemplo, las matrices de tejido 100 se pueden moler o procesar de otro modo cuando están sumergidas en un tampón tal como PBS o cualquier otro tampón adecuado. Además, después del procesamiento, el tampón se puede eliminar al menos parcialmente mediante centrifugación o filtrado para

eliminar parte o la totalidad del componente líquido. Por ejemplo, un protocolo de centrifugación adecuado puede incluir la centrifugación a 4500 rpm durante aproximadamente 60 min.

5 Después del procesamiento para producir fragmentos de tejido 110, se forman grupos de los fragmentos 120 para producir láminas 120 que tienen una conformación deseada, como se muestra en la etapa 121. Las conformaciones y tamaños específicos de la lámina 120 pueden variar en base al sitio de implantación previsto, para controlar el espacio entre las partículas para proporcionar canales para el crecimiento infiltrante celular y vascular, o para controlar la capacidad de la lámina para adaptarse a la anatomía relacionada. Las láminas de tejido 120 se pueden conformar usando una variedad de procedimientos de moldeo o conformación. Por ejemplo, los fragmentos 110 se pueden comprimir usando un dispositivo rodante tal como un rodillo de pasta/masa o un dispositivo similar.

10 En algunos modos de realización, los tejidos se comprimen con fuerza suficiente para alinear al menos parcialmente fragmentos dentro de las láminas. Por ejemplo, los fragmentos se pueden enrollar o comprimir para alinear al menos algo a lo largo del eje de la hoja. De forma alternativa, el material se puede enrollar a lo largo de un eje, plegar y, a continuación, enrollar a lo largo de un eje diferente. El procedimiento se puede repetir para producir fragmentos parcialmente alineados, o para producir una lámina con distribución aleatoria de fragmentos (por ejemplo, sin alineación).

15 Después de producir la conformación deseada, los fragmentos se unen entre sí para formar estructuras estables, como se muestra en la etapa 131. En determinados modos de realización, los fragmentos se unen sin el uso de cantidades sustanciales de aglutinante o adhesivos. Además, en algunos modos de realización, los fragmentos se secan usando un procedimiento que se cree que une los fragmentos sin una reticulación significativa. Los fragmentos tienen extremos deshilachados que se entrelazan entre sí. Además, en algunos modos de realización, los fragmentos se pueden unir entre sí mediante una unión no covalente. Como se analiza en otra parte, las láminas se pueden secar usando un procedimiento tal como el secado por convección, y dichos procedimientos pueden producir hojas que tienen fragmentos que se unen entre sí.

20 En algunos casos, los fragmentos se unen mientras se están comprimiendo. Por ejemplo, como se indica anteriormente, las láminas se pueden comprimir para alinear al menos parcialmente los fragmentos. En algunos casos, se puede aplicar una fuerza de compresión durante el procedimiento de unión, por ejemplo, las láminas se comprimen durante el secado. Como tal, la lámina final puede formar una estructura estable en la que los fragmentos están alineados.

25 En algunos modos de realización no de acuerdo con la invención, los fragmentos se unen entre sí mediante reticulación. La reticulación se puede realizar usando varios procedimientos, tales como reticulación deshidrotérmica, exposición a la luz UV y/o reticulación química. En algunos modos de realización, se usa un procedimiento de reticulación deshidrotérmica para permitir la reticulación mientras se secan simultáneamente las láminas. Además, usando cualquiera de los procedimientos de reticulación, las láminas se pueden secar más (por ejemplo, por liofilización o secado al aire) para eliminar la humedad adicional.

30 En diversos modos de realización, los productos de tejido se pueden seleccionar para tener determinadas propiedades que facilitan la implantación y el llenado y/o regeneración de tejido. Por ejemplo, las láminas se pueden seleccionar de modo que se hinchen cuando se ponen en contacto con un entorno acuoso, como puede estar presente en un sitio de tejido. Como tal, las láminas se pueden expandir cuando se implantan para llenar un sitio de tejido seleccionado.

35 En algunos modos de realización, las láminas se secan mediante calentamiento por convección. Por ejemplo, se pueden colocar partículas congeladas en un secador por convección (por ejemplo, el secador por convección de cocina de marca HARVEST). El secado se puede realizar a aproximadamente 45 °C. Sin embargo, se pueden usar temperaturas más bajas o más altas, siempre que no se usen temperaturas que causen desnaturalización inaceptable u otro daño tisular. Además, se debe tener en cuenta que, incluso cuando se secan parcial o en su mayoría, como se describe anteriormente usando una batea, las partículas se pueden secar más para eliminar el exceso de humedad.

40 En diversos modos de realización, las láminas producidas como se describe anteriormente se pueden ensamblar para producir productos que tienen diversas estructuras. Por ejemplo, en algunos modos de realización, múltiples láminas se superponen y se unen entre sí. En algunos casos, se apilan láminas que tienen fragmentos alineados en una dirección particular para producir una lámina más gruesa. En algunos casos, una o más de las láminas en la pila se pueden situar de modo que los fragmentos se orienten en una dirección diferente a la orientación de los fragmentos en otra lámina. Como tal, se pueden producir láminas que tienen diversas propiedades mecánicas (por ejemplo, mayor resistencia a la tracción y/o flexibilidad variable).

45 Después del secado, las láminas se envasan y se esterilizan para formar un producto final 140, como se muestra en la etapa 141. El producto se puede envasar en una variedad de recipientes médicos conocidos y se puede esterilizar usando procesos convencionales siempre que los procesos no dañen el producto (por ejemplo, por reticulación excesiva) de una manera inaceptable. En algunos modos de realización, el producto se puede envasar en bolsas de lámina a lámina e irradiar. En algunos modos de realización, el producto se puede irradiar con

radiación de haz de electrones. Las dosis adecuadas de haz de electrones pueden incluir 15-22 kGy o intervalos intermedios.

5 Los productos de tejido de la presente divulgación se pueden usar para tratar una variedad de diferentes sitios de tejido blando o tejido duro. Por ejemplo, los productos se pueden usar para reemplazar, reparar, regenerar o aumentar tejido perdido o destruido debido a cirugía, traumatismo y/o cualquier proceso patológico. En algunos modos de realización, los productos de tejido se pueden implantar en un sitio de tejido blando tal como un sitio de tumorectomía. En otros modos de realización, los productos se pueden usar para tratar o aumentar hueso, músculo, tejido subcutáneo y/o tejido adiposo.

10 En determinados modos de realización, se puede aplicar presión negativa interna dentro del producto de tejido. En determinados modos de realización, la presión negativa puede servir para atraer células del tejido circundante al producto de tejido acelular implantado, incrementando la tasa a la que las células naturales migran hacia el producto de tejido y potenciando la velocidad y/o la eficacia general de la aproximación del tejido.

15 En determinados modos de realización, se administra presión negativa interna a la matriz de tejido acelular mediante un dispositivo de tratamiento de presión reducida. El dispositivo de tratamiento de presión reducida puede incluir una bomba conectada de manera fluida, por ejemplo, a través de un conducto o tubo de fluido a la matriz de tejido acelular, y que administra presión reducida o negativa a la matriz de tejido acelular. Se puede usar una variedad de dispositivos de tratamiento de presión reducida. Por ejemplo, los dispositivos de tratamiento de presión reducida adecuados incluyen dispositivos de tratamiento VAC® producidos por KCI (San Antonio, Texas).

Matrices de tejido acelular

20 El término "matriz de tejido acelular", como se usa en el presente documento, se refiere, en general, a cualquier matriz de tejido que está sustancialmente libre de células y/o componentes celulares. La piel, partes de la piel (por ejemplo, la dermis) y otros tejidos tales como vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, fascia, cartílago, hueso y tejido conjuntivo nervioso se pueden usar para crear matrices acelulares dentro del alcance de la presente divulgación. Las matrices de tejido acelular se pueden someter a prueba o evaluar para determinar si están sustancialmente libres de células y/o componentes celulares de varias maneras. Por ejemplo, los tejidos procesados se pueden inspeccionar con microscopía óptica para determinar si quedan células (vivas o muertas) y/o componentes celulares. Además, se pueden usar determinados ensayos para identificar la presencia de células o componentes celulares. Por ejemplo, se pueden usar ensayos de ADN u otros ácidos nucleicos para cuantificar los materiales nucleares restantes dentro de las matrices de tejido. En general, la ausencia de ADN restante u otros ácidos nucleicos será indicativa de una descelularización completa (es decir, la eliminación de células y/o componentes celulares). Finalmente, se pueden usar otros ensayos que identifican componentes específicos de la célula (por ejemplo, antígenos de superficie) para determinar si las matrices tisulares son acelulares.

35 En general, las etapas implicadas en la producción de una matriz de tejido acelular incluyen la recogida del tejido de un donante (por ejemplo, un cadáver humano o una fuente animal) y la eliminación de células en condiciones que conservan la función biológica y estructural. En determinados modos de realización, el procedimiento incluye tratamiento químico para estabilizar el tejido y evitar la degradación bioquímica y estructural conjuntamente con o antes de la eliminación de células. En diversos modos de realización, la solución estabilizante detiene y evita la degradación osmótica, hipóxica, autolítica y proteolítica, protege contra la contaminación microbiana y reduce el daño mecánico que se puede producir con tejidos que contienen, por ejemplo, componentes musculares lisos (por ejemplo, vasos sanguíneos). La solución estabilizante puede contener un tampón apropiado, uno o más antioxidantes, uno o más agentes oncóticos, uno o más antibióticos, uno o más inhibidores de la proteasa y/o uno o más relajantes del músculo liso.

45 A continuación, el tejido se coloca en una solución de descelularización para eliminar las células viables (por ejemplo, células epiteliales, células endoteliales, células musculares lisas y fibroblastos) de la matriz estructural sin dañar la integridad biológica y estructural de la matriz de colágeno. La solución de descelularización puede contener un tampón apropiado, sal, un antibiótico, uno o más detergentes (por ejemplo, TRITON X-100™, desoxicolato de sodio, polioxietileno (20) mono-oleato de sorbitán), uno o más agentes para evitar la reticulación, uno o más inhibidores de la proteasa, y/o una o más enzimas. En algunos modos de realización, la solución de descelularización comprende TRITON X-100™ al 1 % en medios RPMI con gentamicina y EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 25 mM. En algunos modos de realización, el tejido se incuba en la solución de descelularización durante la noche a 37 °C con agitación suave a 90 rpm. En determinados modos de realización, se pueden usar detergentes adicionales para eliminar la grasa de la muestra de tejido. Por ejemplo, en algunos modos de realización, se añade desoxicolato de sodio al 2 % a la solución de descelularización.

55 Después del procedimiento de descelularización, la muestra de tejido se lava a fondo con solución salina. En algunos modos de realización ejemplares, por ejemplo, cuando se usa material xenogénico, el tejido descelularizado después se trata durante la noche a temperatura ambiente con una solución de desoxirribonucleasa (DNasa). En algunos modos de realización, la muestra de tejido se trata con una solución de DNasa preparada en tampón de DNasa (HEPES 20 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetasulfónico), CaCl₂ 20 mM y MgCl₂ 20 mM). Opcionalmente, se puede añadir una solución de antibiótico (por ejemplo, gentamicina) a

la solución de DNasa. Se puede usar cualquier tampón adecuado siempre que el tampón proporcione una actividad DNasa adecuada.

5 Si bien una matriz de tejido acelular puede estar hecha de uno o más individuos de la misma especie que el receptor del injerto de matriz de tejido acelular, no es necesariamente así. Por tanto, por ejemplo, una matriz de tejido acelular puede estar hecha de tejido porcino e implantarse en un paciente humano. Las especies que pueden servir como receptores de una matriz de tejido acelular y donantes de tejidos u órganos para la producción de la matriz de tejido acelular incluyen, sin limitación, mamíferos, tales como humanos, primates no humanos (por ejemplo, monos, babuinos o chimpancés), cerdos, vacas, caballos, cabras, ovejas, perros, gatos, conejos, cobayas, jerbos, hámsteres, ratas o ratones.

10 La eliminación de los epítomos α -gal del material que contiene colágeno puede disminuir la respuesta inmunitaria contra el material que contiene colágeno. El epítomo α -gal se expresa en mamíferos no primates y en monos del Nuevo Mundo (monos de Sudamérica), así como en macromoléculas tales como los proteoglicanos de los componentes extracelulares. U. Galili *et al.*, J. Biol. Chem. 263: 17755 (1988). Sin embargo, este epítomo está ausente en los primates del Viejo Mundo (monos de Asia y África y simios) y en humanos. *Id.* Los anticuerpos anti-gal se producen en humanos y primates como resultado de una respuesta inmunitaria a las estructuras de hidratos de carbono del epítomo α -gal en bacterias gastrointestinales. U. Galili *et al.*, Infect. Immun. 56: 1730 (1988); R. M. Hamadeh *et al.*, J. Clin. Invest. 89: 1223 (1992).

20 Dado que los mamíferos no primates (por ejemplo, cerdos) producen epítomos α -gal, el xenotrasplante de material que contiene colágeno de estos mamíferos a primates a menudo da como resultado un rechazo debido a la unión de anti-Gal de primate a estos epítomos en el material que contiene colágeno. La unión da como resultado la destrucción del material que contiene colágeno por la fijación del complemento y por la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. U. Galili *et al.*, Immunology Today 14: 480 (1993); M. Sandrin *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 11391 (1993); H. Good *et al.*, Transplant. Proc. 24: 559 (1992); B. H. Collins *et al.*, J. Immunol. 154: 5500 (1995). Además, el xenotrasplante da como resultado una activación importante del sistema inmunitario para producir cantidades incrementadas de anticuerpos anti-gal de alta afinidad. En consecuencia, en algunos modos de realización, cuando se usan animales que producen epítomos α -gal como fuente de tejido, la eliminación sustancial de epítomos α -gal de las células y de los componentes extracelulares del material que contiene colágeno, y la prevención de la reexpresión de los epítomos celulares α -gal pueden disminuir la respuesta inmunitaria contra el material que contiene colágeno asociado con la unión del anticuerpo anti-gal a los epítomos α -gal.

30 Para eliminar los epítomos α -gal, después de lavar el tejido a fondo con solución salina para eliminar la solución de DNasa, se puede someter la muestra de tejido a uno o más tratamientos enzimáticos para eliminar determinados antígenos inmunógenos, si están presentes en la muestra. En algunos modos de realización, la muestra de tejido se puede tratar con una enzima α -galactosidasa para eliminar los epítomos α -gal si están presentes en el tejido. En algunos modos de realización, la muestra de tejido se trata con α -galactosidasa a una concentración de 300 U/l preparada en tampón fosfato 100 mM a pH 6,0. En otros modos de realización, la concentración de α -galactosidasa se incrementa a 400 U/l para la eliminación apropiada de los epítomos α -gal del tejido recogido. Se puede usar cualquier concentración de enzima y tampón adecuados siempre que se logre la eliminación suficiente de antígenos.

40 De forma alternativa, en lugar de tratar el tejido con enzimas, se pueden seleccionar como fuente de tejido animales que han sido modificados genéticamente para que carezcan de uno o más epítomos antigénicos. Por ejemplo, se pueden seleccionar como fuente de tejido animales (por ejemplo, cerdos) que han sido modificados genéticamente para que carezcan del resto α -galactosa terminal. Para descripciones de los animales apropiados, véase la solicitud de EE. UU. en tramitación con n.º de serie 10/896.594 y la patente de EE. UU. n.º 6.166.288. Además, determinados procedimientos ejemplares de procesamiento de tejidos para producir matrices acelulares con o sin cantidades reducidas o que carecen de restos de alfa-1,3-galactosa se describen en Xu, Hui. *et al.*, "A Porcine-Derived Acellular Dermal Scaffold that Supports Soft Tissue Regeneration: Removal of Terminal Galactose- α -(1,3)-Galactose and Retention of Matrix Structure", Tissue Engineering, Vol. 15, 1-13 (2009).

50 Después de que se forma la matriz de tejido acelular, las células viables histocompatibles se pueden sembrar opcionalmente en la matriz de tejido acelular para producir un injerto que puede ser remodelado más por el huésped. En algunos modos de realización, se pueden añadir células viables histocompatibles a las matrices mediante técnicas estándar de cocultivo celular *in vitro* antes del trasplante, o mediante repoblación *in vivo* después del trasplante. La repoblación *in vivo* puede ser por migración de células propias del receptor a la matriz de tejido acelular o infundiendo o inyectando células obtenidas del receptor o células histocompatibles de otro donante en la matriz de tejido acelular *in situ*. Se pueden usar diversos tipos de células, incluyendo células madre embrionarias, células madre adultas (por ejemplo, células madre mesenquimales) y/o células neuronales. En diversos modos de realización, las células se pueden aplicar directamente a la parte interna de la matriz de tejido acelular justo antes o después de la implantación. En determinados modos de realización, las células se pueden colocar dentro de la matriz de tejido acelular que se va a implantar, y cultivar antes de la implantación.

REIVINDICACIONES

1. Un producto de lámina de tejido, que comprende:
una lámina de material,
5 en el que la lámina de material comprende una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 μm y 300 μm ,
en el que la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido incluye extremos deshilachados;
en el que la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido se unen entre sí en los extremos deshilachados para formar una lámina de tejido, y los extremos deshilachados se entrelazan.
- 10 2. El producto de lámina de tejido de la reivindicación 1, en el que la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido se unen sin el uso de un aglutinante o adhesivo.
3. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido se unen mediante secado por convección.
4. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la lámina de tejido se hincha cuando se pone en contacto con agua.
- 15 5. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la lámina de tejido forma una estructura porosa con canales abiertos que pueden soportar el crecimiento infiltrante celular y la vascularización.
6. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido son hebras alargadas de matriz de tejido.
- 20 7. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la lámina de tejido está seca.
8. El producto de lámina de tejido de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la lámina de tejido está hidratada y es flexible.
9. Un procedimiento para producir una composición para el tratamiento de tejidos, que comprende:
25 tratar una matriz de tejido para producir una pluralidad de fragmentos de matriz de tejido que tienen una longitud de entre 5 μm y 300 μm , incluyendo la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido extremos deshilachados;
formar la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido en una lámina de tejido; y
30 tratar la lámina de tejido para unir la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido entre sí en los extremos deshilachados por los extremos deshilachados que se entrelazan.
10. El procedimiento de la reivindicación 9, que comprende además secar la lámina de tejido.
11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el secado incluye someter la lámina de tejido a un procedimiento de secado por convección.
- 35 12. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en el que la formación de la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido en la lámina de tejido incluye grupos de compresión de la pluralidad de fragmentos de matriz de tejido.

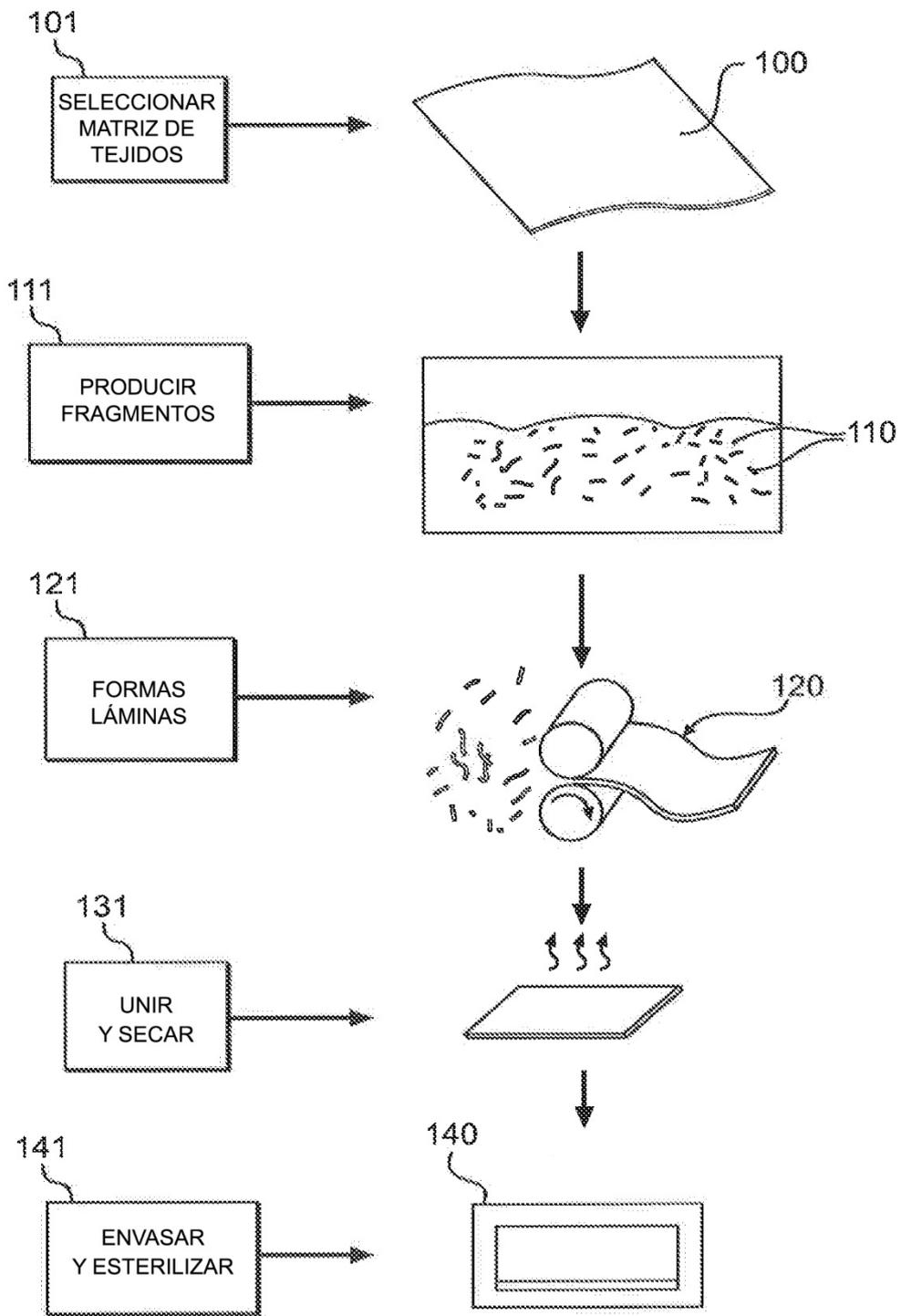


FIG. 1