

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 313**

51 Int. Cl.:

A61L 27/24 (2006.01)

A61L 27/48 (2006.01)

A61L 27/26 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.03.2013 PCT/EP2013/056045**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.09.2013 WO13139955**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2013 E 13714879 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2827914**

54 Título: **Método para la reparación de ligamento o tendón**

30 Prioridad:

22.03.2012 US 201261613998 P

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

28.11.2019

73 Titular/es:

**TRB CHEMEDICA INTERNATIONAL S.A. (100.0%)
Rue Michel-Servet 12
1211 Genève 12, CH**

72 Inventor/es:

MATHIES, BURKHARD

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 733 313 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

Método para la reparación de ligamento o tendón

Campo de la invención

5 Esta invención está en el campo de las composiciones para usar en un método para la reparación de un ligamento o tendón en un sujeto.

Antecedentes

10 Los ligamentos son tejidos blandos conjuntivos especializados que conectan diferentes órganos o tejidos y unen hueso con hueso. En este último caso, los ligamentos proporcionan estabilidad a las articulaciones al ser suficientemente flexibles para permitir el movimiento natural de los huesos, aunque también son fuertes e inextensibles para prevenir la resistencia a fuerzas aplicadas. Los tendones conectan músculo con hueso y son capaces de resistir tensión. Además, los tendones modulan de forma pasiva las fuerzas durante la locomoción, proporcionando estabilidad adicional sin trabajo activo. Sus propiedades elásticas permiten que los tendones almacenen y recuperen energía con alta eficacia. En los tendones y ligamentos, haces de fibras de colágeno están insertadas en una matriz de conexión hecha de componentes de proteoglicanos. Estos haces de fibras de colágeno proporcionan los elementos para llevar carga. En los tendones, las fibras de colágeno están dispuestas en formación casi paralela, permitiendo por lo tanto que resistan cargas unidireccionales altas. En los ligamentos, las fibras de colágeno están dispuestas en una formación menos paralela, permitiendo de esta forma resistir tensiones de tracción predominantes en una dirección y tensiones menores en otras direcciones.

20 Cada año, cientos de miles de personas sufren esguinces, desgarros y rotura de ligamentos en particular en la rodilla, hombro y tobillo, o padecen lesiones de tendones de las extremidades superiores e inferiores, en particular en el hombro, rodilla, pie y tobillo. Uno de dichos ligamentos afectados a menudo por este tipo de lesiones es el ligamento cruzado anterior (ACL) de la rodilla. El ACL sirve como estabilizador primario de la traslación tibial anterior y como un estabilizador secundario de la angulación de la rodilla valgo-varo, y con frecuencia es susceptible de rotura o desgarrado como resultado de una fuerza de flexión-rotación-valgo asociada con lesiones deportivas y accidentes de tráfico. Las roturas o desgarros con frecuencia dan como resultado: limitaciones importantes en la movilidad; dolor e incomodidad; y una incapacidad para participar en deportes y ejercicio. Más de 200.000 personas solo en EE.UU. sufren desgarrado o rotura del ACL cada año, conduciendo a costes de aproximadamente 3 mil millones de dólares para la cirugía reconstructiva del ACL y la rehabilitación amplia.

30 Es ampliamente conocido que el ACL tiene poca capacidad de curación. Son necesarios el reemplazo quirúrgico total y la reconstrucción cuando el ACL sufre un desgarrado o rotura importante dando como resultado la inestabilidad de la articulación. La práctica más común es reconstruir un ACL desgarrado sustituyendo el ligamento desgarrado con tejido del propio paciente, también conocido como autoinjerto. Otras opciones para sustituir ligamentos incluyen tejidos de donantes de otro organismo, conocidos también como aloinjertos, así como injertos sintéticos. Sin embargo, hay varios problemas asociados con estos tratamientos.

35 Los cirujanos han considerado las construcciones de ligamentos que comprenden fibras de colágeno, polímeros biodegradables y compuestos de los mismos. Se describen armazones de colágeno para la reconstrucción del ACL sembrados con fibroblastos de ACL y piel, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO 95/2550. La solicitud de patente de EE.UU. nº 20020123805 de Murray, et al., describe el uso de una composición de armazón tridimensional que incluye un núcleo inductivo hecho de colágeno u otro material, para reparar un ligamento cruzado anterior (ACL) roto y un método para unir la composición al ligamento cruzado anterior roto (véase también la solicitud de patente de EE.UU. nº 20040059416). El documento WO 2007/087353 describe armazones tridimensionales para reparar ligamentos desgarrados y rotos. El armazón puede estar hecho de proteína, y se puede tratar previamente con un material de reparación tal como hidrogel o colágeno. La solicitud de patente de EE.UU. nº 20080031923 de Murray, et al., describe la preparación de un gel de colágeno y un gel de colágeno-MATRIGEL™ que se aplica al ligamento desgarrado para la reparación del ligamento. Estas matrices de colágeno son dispositivos principalmente monocomponentes.

50 Se ha descrito una serie de prótesis de ligamento multicomponentes (véase, p. ej., las patentes de EE.UU. nº 3.797.047; 4.187.558; 4.483.023; 4.610.688 y 4.792.336. La patente de EE.UU. nº 4.792.336 describe un dispositivo con un componente absorbible que comprende una unión de éster de ácido glicólico o láctico, y el resto del dispositivo comprende un componente no absorbible. El dispositivo incluye una pluralidad de fibras que comprenden el componente absorbible que se puede usar como una trenza plana en la reparación de un ligamento o tendón. La resistencia a la tracción necesaria se obtiene aumentando el denier de la trenza final. La patente de EE.UU. nº 5.061.283 describe un dispositivo de bicomponente que comprende poli(tereftalato de etileno) y un copolímero de bloques de poliéster/poliéter para usar en la reparación de ligamentos. La patente de EE.UU. nº 5.263.984 describe un ligamento protésico que es un compuesto de dos densidades de filamentos biorresorbibles. Sin embargo, todavía se necesita en la técnica un parche y un método de reparación de ligamentos y tendones que aumente el crecimiento hacia dentro de células y la transformación metaplásica del tejido de injerto para obtener un neo-ligamento/tendón fuerte funcional.

El documento EP 1319415 A describe una membrana preventiva de adhesión que comprende una capa de tela no tejida de colágeno, que tiene en su superficie una capa de recubrimiento que contiene una mezcla de colágeno y ácido hialurónico. El documento US 2010/0040685 A describe una matriz basada en colágeno que comprende una capa de atelocolágeno densa y una capa porosa de atelocolágeno y ácido hialurónico para usar como material reconstituyente. El documento US 7.252.832 A describe un forro para reparar defectos de tejido blando de cartílagos, ligamentos o tendones, que comprende un sustrato de colágeno membranoso y un material biorresorbible tal como ácido hialurónico como forro sobre dicho sustrato de colágeno.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un ligamento o tendón en un sujeto, comprendiendo el método:

- aplicar dicha composición en forma de un parche flexible y biocompatible que comprende:

- una capa soporte que comprende colágeno, en donde la capa soporte es porosa para células, y
 - una capa matriz que comprende colágeno y ácido hialurónico,
- a dicho ligamento o tendón,

en donde

a) la capa soporte comprende una capa de piel porcina dividida seca; y/o

b) la capa matriz comprende además uno o más compuestos seleccionados de analgésicos, agentes antiinflamatorios, antibióticos y agentes que promueven la regeneración de ligamentos y/o tendones, en donde los agentes que promueven la regeneración de ligamentos y/o tendones se seleccionan del grupo que consiste en: factores de crecimiento, diacereína, reína, plasma rico en plaquetas (PRP), poli(ácido láctico) y quitosano, hidrocloreto de quitosano, carboximetil-quitosano, lactato de quitosano, acetato de quitosano, glutamato de quitosano, succinato de quitosano, cloruro de N-(2-hidroxi)propil-3-trimetilamonio-quitosano, cloruro de N-trimetileno-quitosano, y sus sales farmacéuticamente aceptables; y/o

c) la composición comprende además una tercera capa que se dispone sobre la capa matriz de modo que la capa matriz está interpuesta entre la capa soporte y la tercera capa.

En varias realizaciones, la capa soporte es una capa de lámina de colágeno.

En ciertas realizaciones, la capa soporte comprende membrana de pericardio porcino, bovino o equino o piel porcina dividida.

En algunas realizaciones, la capa matriz es una capa de colágeno poroso.

En ciertas realizaciones, la capa matriz comprende una matriz de fibras de colágeno.

En ciertas realizaciones, el colágeno de la capa matriz comprende colágeno de origen porcino, equino, bovino o vegetal.

En algunas realizaciones, el ácido hialurónico de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano.

En varias realizaciones, el ácido hialurónico natural de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano, de una fuente de fermentación bacteriana.

En ciertas realizaciones, la matriz comprende ácido hialurónico en forma de fibras, polvo, gel o suspensión en crema.

En realizaciones adicionales, la capa matriz es una almohadilla compuesta de colágeno poroso entremezclada con fibras de colágeno y ácido hialurónico natural dispersos en los espacios vacantes de las fibras de colágeno.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra una vista transversal de un parche de reparación de ligamento o tendón laminado flexible, esterilizable 10, que comprende dos capas, una capa soporte 22 y una capa matriz 30, que forman un laminado 12 para el método descrito en la presente memoria, que detalla la composición de la matriz del parche, en donde el colágeno y el ácido hialurónico están dispuestos como fibras y la capa soportes es porosa (Fig. 1A) o no porosa (Fig. 1B).

La figura 2 muestra una vista lateral transversal de ciertas realizaciones del parche de reparación de ligamento o tendón laminado flexible, esterilizable, que comprende dos o tres capas para el método descrito en la presente invención, que detalla en 2A la composición de la matriz del parche en donde el colágeno y el ácido hialurónico

están dispuestos como fibras, que detalla en 2B la composición de la matriz interna del parche, en donde el colágeno está dispuesto como fibras y el ácido hialurónico está dispuesto como una suspensión en crema o como una disolución viscoelástica, que muestra en 2C un soporte y una tercera capa teniendo ambos una característica de estabilización mecánica en cada capa, que muestra en 2D una realización que tiene una capa soporte con una característica de estabilización mecánica, y que muestra en 2E una realización en donde la capa soporte tiene características de estabilización mecánica del complejo, en la misma.

La figura 3 muestra una vista lateral transversal de una realización del parche de reparación de ligamento o tendón laminado flexible, esterilizable, que comprende una capa soporte, matriz y tercera capa para el método descrito en la presente memoria. La capa 22 es una capa soporte porosa, en donde la capa 16 es opcionalmente oclusiva o porosa. La configuración de la matriz se parece a la indicada en la figura 2E.

La figura 4 muestra un posible procedimiento de aplicación del parche de la presente invención (capa A) a un injerto, en donde el parche se fija al injerto usando un pegamento potenciado por factor de crecimiento autólogo inyectado entre el injerto y el parche e hilos circulares. Si el parche consiste en una capa soporte y matriz, se puede aplicar con la capa matriz o soporte de cara al sitio de la lesión, en donde en algunas realizaciones se prefiere si la capa matriz está de cara al sitio de la lesión. En realizaciones adicionales, si el parche comprende una capa soporte, matriz y tercera capa, el parche se puede aplicar con la capa soporte o la tercera de cara al sitio de la lesión. Los parches de ejemplo se detallan en las Fig. 1A, 1B, 2A-2E y 3.

La figura 5 muestra un dibujo esquemático adicional de un injerto de ligamento o tendón sin uniones óseas. El parche (capa A) de la presente invención, p. ej., un parche como se detalla en las Fig. 1A, 1B, 2A-2E y 3, se corta a una longitud y anchura aproximadamente correspondiente al tamaño del injerto. El parche se fija al injerto usando un pegamento potenciado por factor de crecimiento autólogo inyectado entre el injerto y el parche e hilos circulares.

La figura 6 muestra células progenitoras (60) que migran desde el coágulo de fibrina-sangre (59) al tendón/ligamento dañado (61) y a la matriz del parche de reparación (12) diferenciándose en fibroblastos (62). Figura 6a: vista lateral del parche de reparación de tendón/ligamento; Figura 6b: sección transversal del proceso de reparación de tendón/ligamento.

Descripción detallada

Uno de los problemas a los que se enfrenta el campo de la reparación de ligamentos y tendones es cómo promover la regeneración del tejido del ligamento o tendón en el lado de la lesión del ligamento o tendón.

La expresión "lesión del ligamento o tendón", como se usa en la presente memoria, se refiere a una afección crónica o aguda que afecta al ligamento o tendón. Los ejemplos de lesiones de los ligamentos o tendones son inflamación, enfermedad autoinmunitaria, infección, estrés, tensión, rotura, esguince, avulsión, estiramiento excesivo o desgarramiento del ligamento o tendón.

Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición para usar en un método para la reparación de ligamentos o tendones, que conduce a la reconstitución de un tejido de ligamento o tendón anatómico, funcional.

La expresión "reparación de un ligamento o tendón" como se usa en la presente invención significa que la lesión del ligamento o tendón, la afección crónica o aguda que afecta al ligamento o tendón, se cura o al menos se alivia de modo que la función del ligamento o tendón se restablece al menos parcialmente o se restablece completamente.

Un inconveniente de las prótesis absorbibles conocidas basadas solamente en polímeros no colágenos, sintéticos, es que las prótesis no pueden presentar las propiedades de curación de lesiones beneficiosas de biopolímeros tales como el colágeno. Es bien conocido que las células que curan lesiones tales como los fibroblastos tienen una afinidad especial por el colágeno y algunos otros biopolímeros. Esta propiedad se denomina el efecto quimiotáctico del colágeno.

La invención se basa en el descubrimiento sorprendente de los autores de la invención de que se puede usar ventajosamente un parche flexible y biocompatible que comprende una capa soporte que comprende colágeno, en donde la capa soporte es porosa para células, y una capa matriz que comprende colágeno y ácido hialurónico, en la reparación de ligamentos y tendones y, junto con la sangre subcondral y sus MSC o cultivo de células fibroblastos añadido y pegamento de fibrina, presenta una biofábrica que potencia fuertemente el proceso de reparación de ligamentos o la transformación de la estructura de injerto de ligamento implantada en un neoligamento. Lo mismo se aplica para el uso del parche en la reparación de tendones.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un ligamento o tendón en un sujeto, tal como un paciente humano, que comprende aplicar dicha composición en forma de un parche flexible y biocompatible a un ligamento o tendón de dicho sujeto.

Por consiguiente, en ciertas realizaciones, la presente invención se refiere a una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un ligamento en un sujeto, que

comprende aplicar dicha composición en forma de un parche flexible y biocompatible en un ligamento de dicho sujeto.

5 Además, en varias realizaciones, la presente invención se refiere a una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un tendón en un sujeto, que comprende aplicar dicha composición en forma de un parche flexible y biocompatible en un tendón de dicho sujeto.

El sujeto puede ser un paciente humano.

El método descrito en la presente memoria es ventajoso, ya que promueve la regeneración más rápida de los ligamentos y tendones lesionados o los injertos de ligamentos y tendones, y por lo tanto proporciona beneficio debido a una recuperación funcional y anatómica más rápida de los pacientes.

10 Además, el método descrito en la presente memoria es ventajoso, ya que el método de reparación del ligamento o tendón no requiere cultivo celular como los métodos de la técnica anterior. No obstante, en algunas realizaciones el método descrito en la presente memoria puede comprender el uso de un parche de reparación que comprende células cultivadas para la mejora adicional de la reparación del ligamento o tendón.

15 En ciertas realizaciones, el método descrito en la presente memoria no propaga la formación de tejido fibroso en el sitio de la lesión.

20 Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un ligamento o tendón en un paciente que comprende la etapa de aplicar dicha composición en forma de un parche en dicho ligamento o tendón, en donde el parche es flexible y biocompatible y comprende una capa soporte que comprende colágeno, en donde la capa soporte es porosa para células, y una capa matriz que comprende colágeno y ácido hialurónico.

El parche es biológicamente aceptable, compatible y fácil de usar. Tiene un tiempo de curado relativamente rápido y tiene propiedades adhesivas y cohesivas requeridas. No es tóxico y no es rígido. Adicionalmente, no interfiere con el proceso de curación o formación de nuevo tejido de ligamento o tendón, y no promueve la formación de otros tejidos que interfieren o indeseables.

25 Aunque esta invención se describe para uso en seres humanos, en ciertas realizaciones el método y el parche descritos en la presente memoria se pueden aplicar a animales, incluyendo, pero no limitado a mamíferos y aves. En varias realizaciones, el método de reparación de ligamento o tendón y el parche se aplican a mamíferos, tales como perro, gato, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono, simio, chimpancé, ser humano y otros mamíferos en los que se quiera reparar un ligamento o tendón lesionado. Sin embargo, esta lista no es exhaustiva, y este parche de reparación se podría usar fácilmente en cualquier animal.

35 El término "tratar", "tratamiento", "reparar", "reparación", "curar" o "curación" de una afección descrita en la presente memoria se refiere a ejecutar un protocolo, que puede incluir administrar uno o más fármacos a un sujeto (humano o de otro tipo) y/o llevar a cabo cirugía (mínimamente invasiva o de otro tipo) en un paciente, en un esfuerzo para aliviar signos y síntomas de las afecciones descritas en la presente memoria, por ejemplo, el seccionamiento u otro tipo de lesión de un ligamento o tendón. Los términos también incluyen la prevención de dicha afección, por ejemplo previniendo la reaparición. La reaparición puede ocurrir cuando un ligamento o tendón seccionado o lesionado no cura de forma adecuada y deja la articulación inestable y dolorosa. Además, la prevención puede incluir inhibir la formación de tejido de cicatriz y/o las adherencias que se producen a veces a un ligamento durante la curación de otro tipo de lesión. Además, "tratar" o "tratamiento" no requiere el alivio completo de signos o síntomas y no requiere una cura.

En ciertas realizaciones, el parche de reparación está hecho de capas que comprenden polímeros naturales y/o polímeros sintéticos. En varias realizaciones, el colágeno de la capa soporte y/o la capa matriz comprende colágeno de origen animal o vegetal.

45 En ciertas realizaciones, el colágeno de la capa soporte y/o la capa matriz se puede obtener de animales, preferiblemente mamíferos, tales como perros, gatos, caballos, vacas, ovejas, cerdos, monos, simios, chimpancés o seres humanos. En ciertas realizaciones, se usa un parche de reparación autólogo, en donde el colágeno se prepara a partir del sujeto que se va a tratar con el parche de reparación para la reparación de un ligamento o tendón. Entre estas realizaciones, se puede aislar colágeno de un paciente humano para preparar el parche que posteriormente se implanta en el paciente para la reparación del ligamento o tendón.

50 Las fuentes de colágeno son tejidos colágenos, que en mamíferos incluyen piel (pellejo), tendón, intestino, fascia lata, pericardio y duramadre. Una posibilidad para obtener el colágeno es el uso de la capa submucosa del intestino delgado. La capa de colágeno se puede preparar a partir de dentina y hueso cortical, por ejemplo, de dentina y hueso cortical porcino o bovino.

Por ejemplo, el colágeno puede ser de tipo I, II, III, IV, V, IX o X. Preferiblemente, el colágeno es de tipo I.

- El colágeno de tipo I es el componente predominante de la matriz extracelular para el ligamento cruzado anterior y proporciona un ejemplo de elección para la fabricación de un armazón biodiseñado. El colágeno se encuentra predominantemente en una forma fibrosa, que permite el diseño de materiales con propiedades mecánicas muy diferentes alterando la fracción en volumen, la orientación de las fibras y el grado de reticulación del colágeno. Las propiedades biológicas de la velocidad de infiltración de células y degradación del armazón también se pueden alterar variando el tamaño de poros, grado de reticulación y el uso de compuestos adicionales, tales como glucosaminoglucanos, factores de crecimiento y citoquinas. En algunas realizaciones, las capas basadas en colágeno descritas en la presente memoria se fabrican a partir de la propia piel de un paciente, minimizando así la antigenicidad del implante.
- 5
- 10 Las citoquinas son moléculas de proteína de señalización celular pequeñas que son secretadas por numerosas células. Las citoquinas pueden ser proteínas, péptidos o glucoproteínas. Basándose en su supuesta función, célula de secreción u objetivo de la acción, las citoquinas se han clasificado en linfoquinas, interleuquinas y quimioquinas. El grupo de citoquinas incluye, pero no se limita a IL-2, IL-4, interferón gamma (IFN- γ), TGF- β , IL-10, IL-13, eritropoyetina (EPO), trombopoyetina (TPO), IL-17 e IL-18.
- 15 En varias realizaciones, la capa soporte es una capa de lámina de colágeno.
- En ciertas realizaciones, la capa soporte descrita en la presente memoria es preferiblemente biocompatible, biodegradable, hidrófila, no reactiva y/o es capaz de tener o tiene una estructura definida.
- La capa soporte de lámina de colágeno descrita en la presente memoria es porosa.
- 20 Poroso en el sentido de la presente invención significa que la capa es permeable a células y por lo tanto comprende agujeros a través de los cuales pueden migrar células. En ciertas realizaciones, la capa soporte tiene poros con un diámetro de 1 μ m - 2 mm.
- Además, en varias realizaciones la capa soporte está recubierta o impregnada con un agente o agentes que potencian la reparación del ligamento o tendón, tales como ácido hialurónico, factores angiogénicos, factores de crecimiento, compuestos antiinflamatorios, citoquinas y/o inhibidores de colagenasa. Dichos agentes se pueden difundir inmediatamente en el cuerpo directamente al sitio de reparación y/o ser liberados a lo largo del tiempo o permanecer residentes en la capa soporte. Para este último efecto, los agentes se pueden formular en formulaciones de liberación controlada, tales como formulaciones de liberación sostenida o formulaciones de liberación retardada.
- 25
- En diferentes realizaciones, la capa soporte comprende membrana de pericardio o piel dividida.
- 30 La membrana de pericardio se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a membrana de pericardio de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano.
- La piel dividida se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a piel dividida de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano.
- 35 En varias realizaciones, la capa soporte comprende membrana de pericardio porcino o piel dividida porcina. En algunas realizaciones, la capa soporte comprende piel dividida porcina seca.
- Los poros en la capa soporte de colágeno pueden ser de origen natural o pueden ser el resultado de un proceso llevado a cabo después de la preparación de la capa de colágeno. Por ejemplo, los poros se pueden introducir en la capa soporte por estampado, punzonado, troquelado y/o corte.
- 40 En una realización, la capa soporte comprende una membrana de pericardio, que originalmente no es porosa o esencialmente no tiene poros, y que se somete a un proceso para introducir poros en la membrana. Este proceso conduce a proporcionar una capa de colágeno porosa para células hecha de membrana de pericardio. Por ejemplo, los poros se pueden introducir en la membrana de pericardio por estampado, punzonado, troquelado y/o corte. En ciertas realizaciones, la capa soporte comprende membrana de pericardio porosa para células que se selecciona del grupo que incluye, pero no se limita a membrana de pericardio porosa para células de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano. En ciertas realizaciones, la capa soporte comprende membrana de pericardio porcina porosa para células.
- 45
- En varias realizaciones, la capa soporte comprende una capa de piel dividida seca, en donde la piel dividida se puede seleccionar procedente de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano. En una realización, la capa soporte comprende una capa de piel dividida porcina seca (Xenoderm).
- 50 Por lo tanto, como se muestra en las figuras 1A y 1B, el parche de reparación usado en la presente invención puede ser un parche de reparación de ligamento o tendón implantable 10 que comprende dos capas, que es biocompatible y fisiológicamente absorbible, y que funciona in situ para promover la regeneración del tejido de ligamento o tendón en la lesión de ligamentos o tendones. El presente parche de reparación de ligamento o tendón 10 es una lámina flexible 12 que se puede implantar en un sitio de lesión y actuar para promover la regeneración del tejido del

- ligamento o tendón. El objetivo del parche de reparación de ligamento o tendón 10 es estimular la reparación del tejido del ligamento o tendón in situ, p. ej., después de aplicación artroscópica o de cirugía abierta del parche de reparación de ligamento o tendón 10 en pacientes con lesiones de ligamentos y/o tendones. El parche puede consistir en una capa soporte (porosa en 1A, no porosa en 1B) y una capa matriz 30 que comprende fibras de colágeno 36, fibras de ácido hialurónico 40, diacereína 46a y reína 46b.
- En ciertas realizaciones, el parche de reparación de ligamento o tendón 10 es biodegradable a través de la interacción de sus constituyentes con colagenasa y otras proteasas y será reabsorbido y desaparecerá con el tiempo. En estas circunstancias, el laminado 12 del parche de reparación de ligamento o tendón 10 se construye completamente con materiales que son tanto biocompatibles como fisiológicamente absorbibles, de modo que el parche de reparación de ligamento o tendón se puede implantar permanente en un paciente y desaparecer del sitio del implante a lo largo del tiempo.
- En general, una capa matriz se puede hacer de material natural o sintético. Las matrices sintéticas están hechas predominantemente de materiales poliméricos. Las matrices sintéticas ofrecen la ventaja de una variedad de composiciones químicas y disposiciones estructurales definidas con cuidado. Algunas matrices sintéticas no son degradables. Aunque las matrices no degradables pueden ayudar a la reparación, las matrices no degradables no son sustituidas por remodelado y por lo tanto a menudo no se pueden usar para regenerar completamente ligamentos o tendones. Tampoco es deseable dejar materiales extraños de forma permanente en una articulación debido a los problemas asociados con la generación de partículas de desgaste, por lo tanto, se prefieren materiales degradables. Las matrices sintéticas degradables se pueden diseñar para controlar la velocidad de degradación.
- En ciertas realizaciones, la capa matriz comprende colágeno y ácido hialurónico y se prepara de modo que preferiblemente es compresible y/o resiliente y tiene cierta resistencia a la degradación, p. ej., por el líquido sinovial y enzimas catabólicas del proceso inflamatorio. El líquido sinovial como parte de la actividad de la articulación normal previene de forma natural la formación de coágulos.
- Una capa matriz puede ser un material sólido de modo que se mantenga su forma, o un material semisólido que puede alterar su forma y/o tamaño. Se puede hacer una capa matriz como material expandible que permite ser contraído o expandido según se requiera. En ciertas realizaciones, la capa matriz es capaz de absorber plasma, sangre, otros fluidos corporales, células, proteínas, polímeros, líquido, hidrogel y otro material con el que la capa matriz se ponga en contacto o se añada a la capa matriz.
- En realizaciones adicionales, la capa matriz es una capa de colágeno porosa. En ciertas realizaciones, los poros de la capa matriz de colágeno son porosos para células.
- En ciertas realizaciones, la capa matriz de colágeno está hecha de fibras de colágeno o colágeno altamente reticulado.
- En algunas realizaciones, la capa matriz comprende una matriz de fibras de colágeno.
- El colágeno de la capa matriz se puede seleccionar de origen animal o vegetal.
- En ciertas realizaciones, el colágeno de la matriz se selecciona del grupo que incluye, pero no se limita a colágeno procedente de perro, gato, caballo, vaca, oveja, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja, ser humano o planta.
- En varias realizaciones, el colágeno de la capa matriz comprende colágeno de origen porcino, equino, bovino o de plantas.
- En ciertas realizaciones, la capa matriz de colágeno comprende un sol-gel, gel, matriz de fibras, esponja, colágeno espumado, armazón, panal, hidrogel o malla de polímero de colágeno biológicamente aceptable.
- En varias realizaciones, la matriz es una disolución de sol-gel simple, una suspensión coloidal que, en determinadas condiciones, se transforma de un material líquido (sol) a un material sólido (gel). El sol es una suspensión de colágeno acuosa que se transforma, por tratamiento térmico, en un gel.
- En varias realizaciones, la capa matriz comprende colágeno que se puede preparar a partir de colágeno de tipo I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, y/o de tipo X. En ciertas realizaciones, la capa matriz está hecha de colágeno de tipo I, colágeno de tipo II, colágeno de tipo IV, colágeno contraído celular que contiene proteoglicanos, glucosaminoglicanos o glucoproteínas y/o gelatina. En varias realizaciones, la capa matriz comprende además agarosa, polímeros de ácidos orgánicos aromáticos, fibronectina, laminina, factores de crecimiento bioactivos, compuestos antiinflamatorios, citoquinas, elastina, fibrina, fibras poliméricas naturales y/o sintéticas hechas de poliácidos tales como poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) o poliaminoácidos, policaprolactonas, poliaminoácidos, gel polipeptídico, copolímeros de los mismos y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, la matriz comprende una matriz de disolución de gel que puede ser un hidrogel que gelifica termorreversible polimérico.
- En varias realizaciones, la capa matriz está recubierta por polímero(s) natural(es) o no natural(es). El recubrimiento comprende un gel, específicamente un hidrogel, seleccionado del grupo que consiste en alginato de sodio, ácido

hialurónico, ácido hialurónico reticulado, alginato de calcio reticulado y una mezcla de ácido hialurónico reticulado y alginato de calcio.

5 El ácido hialurónico, también llamado hialuronano o hialuronato es un glucosaminoglucano. Es un biopolímero que se encuentra de forma natural que tiene funciones biológicas en desde bacterias hasta animales superiores incluyendo seres humanos. En animales, es uno de los componentes principales de la matriz extracelular. Contribuye significativamente a la proliferación y migración celular, y también puede estar implicado en el avance de algunos tumores malignos. El hialuronano se encuentra de forma natural en muchos tejidos del cuerpo tales como la piel, cartílago y el humor vítreo. Por lo tanto, es adecuado para aplicaciones biomédicas que se dirigen a esos tejidos. El hialuronano que se puede usar en la presente invención puede ser de cualquier peso molecular, por ejemplo, de aproximadamente 100 kDa a varios millones de Da, preferiblemente entre 500 kDa y 6000 kDa. En 10 varias realizaciones, el ácido hialurónico de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural. En ciertas realizaciones, el ácido hialurónico de la matriz se selecciona del grupo que incluye, pero no se limita a ácido hialurónico procedente de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja, ser humano, vegetal o microbiano.

15 En varias realizaciones, el ácido hialurónico de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano.

En ciertas realizaciones, el ácido hialurónico natural de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano, de una fuente de fermentación bacteriana.

La producción bacteriana de ácido hialurónico (HA) que implica una cepa de *Streptococcus zooepidemicus* se describió por primera vez en 1989, dando lugar a la primera comercialización del HA fermentado.

20 El hialuronato de sodio ultrapuro, comercializado como HyaCare por Novozymes se produce por fermentación de una cepa nueva y no patógena, *Bacillus subtilis*, a partir de la cual los productos son Considerados Generalmente Como Seguros (GRAS).

En ciertas realizaciones, la fuente del ácido hialurónico puede ser *Streptococcus zooepidemicus* o *Bacillus subtilis*.

25 En varias realizaciones, la matriz comprende ácido hialurónico en forma de fibras, polvo, disolución, gel o suspensión en crema.

En ciertas realizaciones, la matriz de colágeno se sumerge en una disolución de ácido hialurónico o gel. Por lo tanto, la matriz es dispersada por el ácido hialurónico.

En varias realizaciones, la capa matriz comprende colágeno copolimerizado con ácido hialurónico.

30 El parche de reparación usado en el método de la presente invención puede comprender un cierto intervalo de la relación en peso de colágeno a HA, lo cual es ventajoso en la reparación de ligamentos o tendones. En ciertas realizaciones, el intervalo de la relación en peso de colágeno a HA es de aproximadamente 0,1:99,9 a aproximadamente 50:50 si el HA tiene un peso molecular de entre 0,5 y 6 millones de Dalton.

35 En ciertas realizaciones, la capa matriz es una almohadilla de compuesto de colágeno porosa para células entremezclado con fibras de colágeno y ácido hialurónico natural disperso en los espacios vacantes de las fibras de colágeno.

En algunas realizaciones, la capa matriz comprende colágeno, ácido hialurónico y poli(ácido láctico), p. ej., poli(ácido L-láctico). Por ejemplo, la capa matriz puede ser una almohadilla de compuesto de colágeno porosa para células entremezclado con fibras de colágeno y ácido hialurónico natural y poli(ácido láctico), p. ej., poli(ácido L-láctico), disperso en los espacios vacantes de las fibras de colágeno.

40 La capa matriz puede comprender además proteína, material liofilizado o cualquier otro material adecuado. En este contexto, una proteína puede ser sintética, bioabsorbible o una proteína que se encuentra de forma natural. En varias realizaciones, la capa matriz incluye proteínas seleccionadas del grupo de proteínas de la matriz extracelular. El grupo de proteínas de la matriz extracelular incluye, pero no se limita a fibrina, elastina, fibronectina y laminina.

45 El material liofilizado es material que es capaz de hincharse cuando se añade líquido, gel y otro fluido o se pone en contacto con el mismo.

En varias realizaciones, la capa matriz comprende además glucosaminoglucano (GSG), composiciones de hialuronano, y varias composiciones sintéticas.

50 Se han usado con éxito copolímeros de colágeno-glucosaminoglucano (CG) en la regeneración de dermis y nervio periférico. Los polímeros naturales porosos, fabricados como armazones fibrosos y tipo esponja, se han investigado como implantes para facilitar la regeneración de tejidos musculoesqueléticos seleccionados que incluyen ligamentos y tendones. Un armazón, tal como un armazón de esponja, también puede estar hecho de tendón (xenoinjerto, aloinjerto, autoinjerto) o ligamento o piel u otro tejido conjuntivo que podría estar en el estado natural o procesado para facilitar el crecimiento hacia dentro de células u otras características biológicas.

En varias realizaciones, la capa matriz comprende copolímeros de colágeno-glucosaminoglucano (CG).

5 Los glucosaminoglucanos (GAG) o mucopolisacáridos son polisacáridos formados por restos de hexoaminas unidos de forma glucosídica y que alternan de forma más o menos regular con restos de ácido hexourónico o hexosa. Los GAG son de origen animal y tienen una distribución de tejidos específica (véase, p. ej., Dodgson et al., en Carbohydrate Metabolism and its Disorders, Dickens et al., eds., Vol. 1, Academic Press (1968)). La reacción con los GAG también proporciona colágeno con otra propiedad valiosa, es decir, la incapacidad para provocar una reacción inmunitaria (reacción a cuerpo extraño) de un hospedante animal.

10 En ciertas realizaciones, la matriz comprende GAG que incluyen, pero no se limitan a los que contienen grupos sulfato, tales como ácido hialurónico, heparina, sulfato de heparina, condroitín-6-sulfato, condroitín-4-sulfato, dermatán sulfato y sulfato de queratina.

Otros GAG también pueden ser adecuados para formar la matriz descrita en la presente memoria, y los expertos en la técnica sabrán o podrán determinar otros GAG adecuados usando solo experimentación rutinaria. Para una descripción más detallada de mucopolisacáridos, véase Aspinall, Polysaccharides, Pergamon Press, Oxford (1970).

15 En ciertas realizaciones, la matriz comprende al menos uno o más copolímeros de colágeno-GAG, que incluyen, pero no se limitan a ácido hialurónico, heparina, sulfato de heparina, condroitín-6-sulfato, condroitín-4-sulfato, dermatán sulfato y sulfato de queratina.

En ciertos aspectos de la invención, la capa matriz comprende una estructura de esponja o de tipo esponja.

20 El material que establece el armazón de esponja puede ser hidrófilo. Un armazón de esponja es capaz de comprimirse y expandirse según se desee. Por ejemplo, un armazón de esponja se puede comprimir antes de o durante el implante en el sitio de reparación. Un armazón de esponja comprimido permite que el armazón de esponja se expanda dentro del sitio de reparación. Una esponja puede estar liofilizada y/o comprimida cuando se pone en el sitio de reparación y expandirse una vez en el sitio. La expansión de un armazón de esponja puede ocurrir después de ponerse en contacto con sangre u otro fluido en el sitio de reparación o añadido al sitio de reparación. Un armazón de esponja puede ser poroso. Un armazón de esponja puede estar saturado o recubierto con un material de reparación líquido, gel o hidrogel antes de implantarlo en un sitio de reparación. El recubrimiento o la saturación de un armazón de esponja puede facilitar el implante en una zona defectuosa relativamente indefinida, así como ayudar a llenar una zona defectuosa particularmente grande. En una realización preferida, un armazón de esponja se trata con un hidrogel. Los ejemplos de armazones y materiales de reparación útiles de acuerdo con la invención se encuentran en la patente de EE.UU. n° 6.964.685 y solicitudes de patente de EE.UU. n° 2004/0059416 y 2005/0261736.

Todos los recubrimientos de matriz descritos en los presentes documentos de solicitud se describen explícitamente en este documento como recubrimientos adecuados para matrices de armazones de esponja.

En varias realizaciones, el colágeno forma un armazón de esponja.

35 En varias realizaciones, la capa matriz comprende además uno o más de los siguientes polímeros: polímeros naturales o sintéticos, polímeros resorbibles o no resorbibles.

40 Los ejemplos de polímeros resorbibles incluyen, pero no se limitan a, poli(alfa-hidroxiácidos), poliláctida-co-glicólido (PLGA), poliláctida (PLA), poliglicólido (PG), polietilenglicol (PEG) conjugados de poli(alfa-hidroxiácidos), poliortoésteres, poliaspirinas, polifosfazenos, elastina, seda, celulosa almidón, quitosanos, gelatina, alginatos, ciclodextrina, polidextrosa, dextranos, vinilpirrolidona, poli(alcohol vinílico) (PVA), PVA-g-PLGA, copolímero de poli(tereftalato de etilenglicol) y poli(tereftalato de butileno) (PEGT-PBT) (poliactivo), metacrilatos, poli(N-isopropilacrilamida), poli(óxidos de etileno) (también conocidos como polioxietileno o PEO), poli(óxido de propileno) (también conocido como polioxipropileno o PPO), poli(ácido aspártico) (PAA), PEO-PPO-PEO (Pluronic(R), BASF), copolímeros de PEO-PPO-PAA, PLGA-PEO-PLGA, polifosfoésteres, polianhídridos, poliéster-anhídridos, poliaminoácidos, poliuretano-ésteres, polifosfazinas, policaprolactonas, poli(carbonatos de trimetileno), polidioxanonas, poliamida-ésteres, policetales, poliactetales, glucosaminoglucanos, condroitín-sulfato, ésteres de ácido hialurónico, poli(etileno-acetatos de vinilo), siliconas, poliuretanos, poli(fumaratos de propileno), poli(carbonatos de desaminotirosina), poli(arilatos de desaminotirosina), poli(éster carbonatos de desaminotirosina), poli(éster arilatos de desaminotirosina), poliortocarbonatos, policarbonatos, o copolímeros o mezclas físicas de los mismos o sus combinaciones.

50 El término "quitosanos" y "quitosano y sus derivados" se refiere al grupo de compuestos que incluyen, pero no se limitan a quitosano, hidrocloreuro de quitosano, carboximetil-quitosano, lactato de quitosano, acetato de quitosano, glutamato de quitosano, succinato de quitosano, cloruro de N-(2-hidroxi)propil-3-trimetilamonio-quitosano, cloruro de N-trimetilen-quitosano, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

55 Los polímeros no resorbibles pueden incluir, pero no se limitan a polietileno, delrina, silicona, poliuretano, copolímeros de silicona y poliuretano, poliolefinas tales como poliisobutileno y poliisopreno, acrilamidas tales como poli(ácido acrílico) y poli(acrilonitrilo-ácido acrílico), neopreno, nitrilo, acrilatos tales como poli(acrilatos,

- 5 poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), metacrilato de metilo, metacrilato de 2-hidroxietilo, y copolímeros de acrilatos con N-vinil-pirrolidona, N-vinil-lactamas, acrilamida, poliuretanos y poliacrilonitrilo, gel de glucomanano, alquilcelulosas, hidroxialquilmetilcelulosas, caucho vulcanizado y sus combinaciones. Los ejemplos de poliuretanos incluyen poliuretanos termoplásticos, poliuretanos alifáticos, poliuretanos segmentados, poliuretanos hidrófilos, poliéter-uretano, policarbonato-uretano y silicona poliéter-uretano. El caucho vulcanizado descrito en la presente memoria se puede producir, por ejemplo, por un procedimiento de vulcanización usando un copolímero producido como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N° 5.245.098 de Summers et al., a partir de 1-hexeno y 5-metil-1,4-hexadieno.
- 10 Otro material no resorbible adecuado incluye, pero no se limita a homopolímeros y copolímeros biocompatibles ligeramente o altamente reticulados de monómeros hidrófilos tales como acrilatos y metacrilatos de 2-hidroxialquilo, monómeros de N-vinilo, y ácidos y bases etilénicamente insaturados; policianoacrilato, copolímeros de bloques de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno), poli(ácido galacturónico), polivinilpirrolidona, poli(acetato de vinilo), polialquilenglicoles, poli(óxido de etileno), polímeros sulfonados, monómeros o polímeros de éter vinílico, alginato, polivinilaminas, polivinilpiridina y polivinilimidazol.
- 15 En ciertas realizaciones, los polímeros anteriores están reticulados con el colágeno y/o ácido hialurónico de la capa matriz.
- El experto en la técnica es muy consciente de que dependiendo de la cantidad de reticulación dentro de los polímeros biorresorbibles, el tiempo de degradación del polímero se puede reducir, permitiendo así el control de la velocidad de degradación de la matriz.
- 20 En varias realizaciones, la capa matriz comprende además uno o más compuestos seleccionados de analgésicos, agentes antiinflamatorios, antibióticos y agentes que promueven la regeneración de ligamentos o tendones.
- Estos compuestos se seleccionan, en el sentido de la presente invención, del grupo que comprende, pero no se limita a moléculas pequeñas, proteínas, ARN, ADN, PNA.
- 25 Por lo tanto, la matriz puede incorporar proteínas terapéuticas que incluyen, pero no se limitan a hormonas, citoquinas, factores de crecimiento, compuestos antiinflamatorios, factores de coagulación, proteínas antiproteasa, p. ej., alfa-1-antitripsina, proteínas angiogénicas, p. ej. factor de crecimiento endotelial vascular, factores de crecimiento de fibroblastos, proteínas antiangiogénicas, p. ej. endostatina, angiostatina y otras proteínas que están presentes en la sangre, proteínas morfogenéticas óseas (BMP), factor osteoinductivo (IFO), fibronectina (FN), factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF), extractos de unión de cemento (CAE), ketanserina, hormona de crecimiento humano (HGH), hormonas de crecimiento animal, factor de crecimiento epidérmico (EGF), trombina alfa humana, factor de crecimiento transformante (TGF-beta), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I), factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF, bFGF, etc.) y factor quimiotáctico del ligamento periodontal (PDLGF), somatotropina, para fines terapéuticos, y proteínas de la matriz extracelular, que incluyen, pero no se limitan a fibrina, elastina, fibronectina, laminina.
- 30 Los compuestos antiinflamatorios son compuestos químicos que reducen o previenen una respuesta inflamatoria en un sitio dado. El grupo de compuestos antiinflamatorios incluye, pero no se limita a diacereína y reína.
- 35 La diacereína 46a y la reína 46b (véanse las figuras 1 y 2) inhiben la producción y actividad de citoquinas inflamatorias tales como la interleuquina-1 (IL-1), IL-6, óxido nítrico (NO), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), ADAMTS (una desintegrina y metaloproteínasa con motivos de trombospondina), radicales libres y metaloproteínas de la matriz, todos los cuales están implicados en la inflamación y destrucción de ligamentos y tendones. La diacereína 46a y reína 46b también estimulan la producción de factores de crecimiento tales como TGF- β que a su vez estimulan la expresión de componentes de ligamentos y tendones tales como el ácido hialurónico, proteoglicanos, agreganos y colagenasa II, todos los cuales son componentes importantes del tejido de ligamentos y tendones. La hormona del crecimiento también estimula el crecimiento de tejidos de ligamentos y tendones.
- 40 En ciertas realizaciones, la matriz comprende moléculas pequeñas seleccionadas del grupo que incluye, pero no se limita a aspirina, paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno y agua.
- 45 En ciertas realizaciones, los agentes que promueven la regeneración de ligamentos o tendones se seleccionan del grupo que consiste en: factores de crecimiento, diacereína, reína, quitosanos, plasma rico en plaquetas (PRP) y poli(ácido láctico). Por lo tanto, en algunas realizaciones, la capa matriz comprende o consiste en colágeno, ácido hialurónico y quitosano o quitosanos.
- 50 En varias realizaciones, las cantidades de diacereína y/o reína en el parche están en el intervalo de aproximadamente 300 ng a 5 mg. En varias realizaciones, las cantidades de diacereína y/o reína en el parche están en el intervalo de aproximadamente 300 ng a 75 μ g. En algunas realizaciones, las cantidades de diacereína y/o reína en la capa matriz están en el intervalo seleccionado del grupo que consiste en de 300 ng a 5 mg, de 300 ng a 1 mg, de 300 ng a 750 μ g, de 300 ng a 500 μ g, de 300 ng a 250 μ g, de 300 ng a 100 μ g, de 300 ng a 75 μ g, de 300 ng a 50 μ g, de 300 ng a 25 μ g, de 300 ng a 10 μ g, de 300 ng a 5 μ g, de 300 ng a 2,5 μ g, y de 300 ng a 1 μ g.

La diacereína y/o reína se pueden añadir a la matriz en una forma de polvo, como disolución o como un gel o crema de HA que contiene diacereína y/o reína.

5 Los polímeros aniónicos también pueden ser útiles para inhibir la fibrosis, cicatrices o adherencias. En ciertas realizaciones, la matriz comprende además polímeros aniónicos. El grupo de polímeros aniónicos incluye, pero no se limita a sulfato de dextrano, pentosano, quitosanos.

10 La capa matriz puede comprender además sangre. El término sangre incluye sangre entera, plasma sanguíneo, suero sanguíneo y componentes aislados de la sangre, y puede ser de origen autólogo o heterólogo. En ciertas realizaciones, el parche de reparación primero se empapa con sangre de modo que la capa matriz comprenda sangre y después se aplica al ligamento o tendón lesionado. En realizaciones alternativas, se aplica primero el parche de reparación al ligamento o tendón lesionado y después se añade sangre al parche unido o la recibe del sitio lesionado, de modo que la capa matriz comprende sangre. En particular, la capa matriz del parche de reparación puede comprender suero sanguíneo, que se aplica al parche antes o después de la aplicación del parche al ligamento o tendón lesionado.

15 El plasma sanguíneo en el sentido de la presente invención incluye la parte de la sangre que permanece después de separación de los componentes celulares de la sangre. Esta fracción corresponde a aproximadamente 55% del volumen de sangre. El plasma sanguíneo comprende agua, proteínas, hidratos de carbono, electrolitos, grasas y lípidos. El grupo de proteínas del plasma sanguíneo comprende inmunoglobulinas, albúminas, hormonas y factores de coagulación. El grupo de factores de coagulación comprende fibrinógeno (Factor I), fibrina (Factor Ia), protrombina (Factor II), trombina (Factor IIa), tromboplastina (llamada también Factor tisular, TF o Factor III), proacelerina (Factor V), proconvertina (Factor VII), globulina antihemofílica A (Factor VIII), globulina antihemofílica B (también llamada Factor IX o Factor Christmas), factor de Stuart-Prower (Factor X), antecedente de la tromboplastina plasmática (llamado también PTA, Factor XI o Factor de Rosenthal), Factor de Hageman (Factor XII) y factor estabilizador de fibrina (Factor XIII). El grupo de factores de coagulación comprende las variantes inactivas y activadas de los factores de coagulación. El experto en la técnica designa los factores de coagulación activados añadiendo una "a", por ejemplo, Ia, IIa, IIIa, VIIa, VIIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa y XIIIa.

20

25

El suero sanguíneo es la fracción líquida de la sangre que permanece después de la coagulación de la sangre y separación de los componentes celulares de la sangre. Esencialmente, la composición del suero sanguíneo corresponde a la composición del plasma sanguíneo menos los factores de coagulación gastados.

30 En varias realizaciones, el parche comprende además una tercera capa que se dispone en la capa matriz de modo que la capa matriz está interpuesta entre la capa soporte y la tercera capa.

En ciertas realizaciones, la tercera capa incluye, pero no se limita a poli(alfa-hidroxiácidos), poliláctida-co-glicólido (PLGA), poliláctida (PLA), poliglicólido (PG), polietilenglicol (PEG) conjugados de poli(alfa-hidroxiácidos), poliortoésteres, poliaspirinas, polifosfazenos, colágeno, elastina, seda, celulosa almidón, quitosanos, gelatina, alginatos, fibronectina, laminina, elastina, fibrina o combinaciones de los mismos.

35 En varias realizaciones, la tercera capa comprende una capa de lámina de colágeno.

El origen del colágeno de la capa de lámina de colágeno se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano.

En varias realizaciones, la tercera capa comprende membrana de pericardio o piel dividida, p. ej., piel dividida porcina seca.

40 La membrana de pericardio se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a membrana de pericardio de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano.

La piel dividida se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a piel dividida de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano.

45 En varias realizaciones, la tercera capa comprende membrana de pericardio porcino, bovino o equino o piel dividida porcina.

La tercera capa de colágeno puede ser porosa o no porosa para células.

En algunas realizaciones, la tercera capa de colágeno es porosa para células.

Si la tercera capa de colágeno comprende poros, los poros en la tercera capa de colágeno pueden ser de origen natural o pueden ser el resultado de un proceso llevado a cabo después de la preparación de la capa de colágeno.

50 En una realización, la tercera capa comprende una membrana de pericardio, que esencialmente no tiene poros, y que se somete a un proceso para introducir poros en la membrana. Este proceso conduce a proporcionar una capa de colágeno porosa para células hecha de membrana de pericardio. Por ejemplo, los poros se pueden introducir en la membrana de pericardio por estampado, punzonado, troquelado y/o corte. En ciertas realizaciones, la tercera

capa comprende membrana de pericardio porosa para células que se selecciona del grupo que incluye, pero no se limita a membrana de pericardio porosa para células de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano. En ciertas realizaciones, la tercera capa comprende membrana de pericardio porcina porosa para células.

- 5 En varias realizaciones, la tercera capa comprende una capa de piel dividida seca, en donde la piel dividida se puede seleccionar procedente de perro, gato, caballo, vaca, cerdo, mono, simio, chimpancé, oveja o ser humano. En una realización, la tercera capa comprende una capa de piel dividida porcina seca (Xenoderm).

10 En ciertas realizaciones, la capa soporte y la tercera capa son idénticas en cuanto que están hechas del mismo material. Esto significa que, en varias realizaciones, la tercera capa está hecha de los mismos materiales descritos antes para la capa soporte.

En varias realizaciones, el parche comprende una capa soporte y una capa matriz. En varias realizaciones adicionales, el parche comprende una capa soporte, una capa matriz y una tercera capa.

15 En modos alternativos, el parche incluye las capas soporte y matriz, en donde la capa soporte está hecha de membrana de pericardio, y la membrana es no porosa. En una determinada realización de los mismos, la membrana de pericardio es membrana de pericardio porcino.

En realizaciones alternativas, el parche incluye las capas soporte y matriz, en donde la capa soporte está hecha de membrana de pericardio, en donde la membrana es porosa para células. En una determinada realización de los mismos, la membrana de pericardio es membrana de pericardio porcino.

20 En ciertas realizaciones, el parche comprende una capa soporte, una matriz y una tercera, en donde la capa soporte y la tercera capa son membranas de pericardio no porosas. En una determinada realización de las mismas, las membranas de pericardio no porosas son membranas de pericardio porcino no porosas.

25 En ciertas realizaciones, el parche comprende una capa soporte, una matriz y una tercera, en donde la capa soporte y la tercera capa son membranas de pericardio porosas para células. En una determinada realización de las mismas, las membranas de pericardio porosas para células son membranas de pericardio porcino porosas para células.

30 En modos alternativos, el parche comprende una capa soporte, una matriz y una tercera, en donde la capa soporte y la tercera capa son membranas de pericardio, en donde la capa soporte o la tercera capa es no porosa y la otra capa es porosa para células. En una determinada realización de los mismos, las membranas de pericardio son membranas de pericardio porcino. En ciertas realizaciones de los mismos, el parche se aplica de modo que la capa no porosa está de cara al sitio de la lesión del ligamento o tendón, en donde en otras realizaciones, el parche se aplica al sitio de la lesión de modo que la capa porosa para células está de cara al sitio lesionado.

35 En ciertas circunstancias puede ser además ventajoso aplicar un parche que comprende una capa soporte y/o tercera capa no porosa al ligamento o tendón lesionado. De este modo, los factores de crecimiento secretados de las células que residen debajo o junto al sitio lesionado son atrapados y concentrados localmente conduciendo así a un mayor crecimiento de células en el sitio lesionado y a una reparación más rápida del ligamento o tendón. Además, los compuestos y células adversos para la reparación del ligamento o tendón son excluidos del sitio de lesión.

40 Además, los parches que comprenden una capa soporte y una capa matriz, en donde la capa soporte es no porosa y el parche se aplica al ligamento o tendón lesionado con la matriz de cara a la lesión, son ventajosos, puesto que los factores de crecimiento suministrados por fracciones de suero centrifugado autólogo, PRP o coágulo de sangre subcondral, junto con las MSC subcondrales, sinoviales o de grasa sembradas en el soporte de colágeno o la capa matriz, mejoran el proceso de reparación del sitio de lesión del ligamento y/o tendón o en la superficie del injerto autólogo, aloinjerto o xenoinjerto. Además, los compuestos exógenos, p. ej., factores de crecimiento y compuestos antiinflamatorios, que se han añadido a la matriz antes de la aplicación del parche a la lesión, son liberados solo hacia el ligamento o tendón lesionado. De esta forma, en el sitio lesionado aumenta la concentración de compuestos exógenos en comparación con afecciones en donde los compuestos se deja que difundan en todas las direcciones. Esto aumenta los beneficios de los compuestos exógenos.

50 Si el parche comprende una capa soporte y una matriz, las capas del parche se pueden laminar juntas usando calor o técnicas de laminación química u otras adecuadas. En ciertas realizaciones, primero se forma una capa y después la segunda encima de esta. Por ejemplo, primero se forma la capa matriz, y después se forma la capa soporte encima de esta. Alternativamente, primero se forma la capa soporte y después la capa matriz encima de la capa soporte.

55 Si el parche comprende una capa soporte, una matriz y una tercera capa, las capas del parche se pueden laminar juntas usando calor o técnicas de laminación química u otras adecuadas. En ciertas realizaciones, primero se forma una capa y después la segunda encima de esta, y la tercera capa se forma en la combinación de la primera y la segunda capa. Por ejemplo, primero se forma la capa matriz, y después se forma la capa soporte encima de la capa

matriz. En una tercera etapa, se forma la tercera capa sobre la capa matriz, quedando interpuesta la capa matriz con la capa soporte. Alternativamente, primero se forma la capa soporte/tercera, después la capa matriz encima de la capa soporte/tercera y después la capa tercera/soporte encima de la capa matriz, en el lado opuesto de la capa soporte/tercera. En realizaciones adicionales, las tres capas se disponen una encima de otra y el parche se lamina en una sola etapa.

El parche de reparación de ligamento o tendón laminado implantable es un dispositivo quirúrgico que es biocompatible. En ciertas realizaciones, el parche es fisiológicamente absorbible. En varias realizaciones, el parche está dirigido a la reparación de ligamentos o tendones in situ.

En algunas realizaciones, el parche se adapta de modo que en ciertas realizaciones permite la migración de células desde el sitio de la lesión para pasar a la capa matriz. La capa matriz es una capa de colágeno y puede ser un sumidero para la difusión de citoblastos autólogos y otros componentes de la sangre en el sitio de la lesión. La capa matriz puede incluir componentes químicos que promueven la reparación del ligamento y/o tendón en presencia de citoblastos autólogos de origen subcondral, sinovial, grasa o hematopoyético. Por lo tanto, en algunas realizaciones el parche se coloca en el sitio de la lesión con la capa matriz de cara al sitio lesionado. También opcionalmente, la capa matriz puede estar ocluida por la capa soporte y/o tercera, de modo que las células no pueden pasar a través de la matriz, pero permite que pasen otros compuestos pequeños, como agua, gas y moléculas pequeñas. Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método que promueve la curación/crecimiento de tejido in situ para reparar lesiones de ligamentos o tendones.

En ciertas realizaciones, el laminado del parche de reparación de ligamento o tendón 12 tiene una tercera capa, que es opcionalmente oclusiva o porosa, capa 16, y una capa soporte porosa 22 (véanse las figuras 2A a 2C y 3). En otra realización preferida, laminado del parche de reparación de ligamento o tendón 12 incluye solo dos capas, una capa soporte 22 y una capa matriz 30 (véanse las figuras 2D y 2E). En varias realizaciones, la capa soporte está destinada a estar de cara a la superficie del ligamento o tendón en el sitio de la lesión. En varias realizaciones, la tercera capa está destinada a estar de cara a la superficie del ligamento o tendón en el sitio de la lesión. En otras realizaciones, la capa matriz de un parche de dos capas está de cara al sitio de la lesión del ligamento o tendón (véanse también las figuras 4 y 5). Tanto la tercera capa 16 como/o la capa soporte 22 de un parche de reparación de tres capas, puede estar hecha de lámina de colágeno (véase, Angele et al., patente de EE.UU. nº 6.737.072). Un ejemplo de una fuente colágeno en lámina disponible en el mercado satisfactoria es: XENODERM(tm), mbp GmbH, Alemania. En ciertas realizaciones, la capa matriz 30 proporciona un sustrato de colágeno en el que atrapar citoblastos mesenquimales o citoblastos de ligamento o tendón, y un medio de soporte de crecimiento celular sobre el que crecerán y se diferenciarán en presencia de otros componentes naturales de la capa matriz 30.

En varias realizaciones, la capa matriz 30 es una almohadilla compuesta de colágeno porosa, entremezclado con fibras de colágeno no humano 36 y fibras de ácido hialurónico natural 40. El HA natural se puede proporcionar en la matriz 30 en forma de fibras de HA natural 40 como se muestra en la figura 2A, o como polvo de HA 40a en un gel o suspensión en crema 42 dispersa en los espacios vacantes de las fibras de colágeno 36 en la figura 2B.

En ciertas realizaciones, la capa matriz 30 (véase la figura 2B) también incluye una o más hormonas de crecimiento tisular y/o compuestos antiinflamatorios 46. En ciertas realizaciones, los compuestos antiinflamatorios son diacereína 46a y reína 46b. En la realización ilustrada en la figura 2B, la suspensión 42 también contiene reína 46b y/o diacereína 46a. En varias realizaciones, la capa matriz 30 incluye además composiciones de quitosano y/o composiciones de poli(ácido láctico).

El parche de reparación se configura, en varias realizaciones, de modo que citoblastos mesenquimales autólogos 60 procedentes de una fuente externa al parche de reparación 10, se difunden en el parche 10 a través de la capa soporte porosa 22 y en la capa matriz 30 donde son soportados por los componentes fibrosos (fibras de colágeno 36 y/o fibras de HA 40a) de la matriz 30 (por ejemplo, figura 2A-2E, 3, 6a y 6b). En varias realizaciones, las fibras de la matriz 40 y 40a pueden proporcionar un medio de soporte para que los citoblastos crezcan y se diferencian en células de ligamentos o tendones. Los factores exógenos 46, tales como diacereína, regulan por disminución parámetros inflamatorios (p. ej., citoquinas: IL-1, TNF-alfa y radicales libres) que contribuyen a la inflamación. En ciertas realizaciones, están presentes una o más hormonas del crecimiento en la capa matriz. Estas una o más hormonas del crecimiento pueden estimular la producción de tejido de ligamento y/o tendón.

En varias realizaciones, el parche de reparación puede comprender una capa soporte, matriz y tercera capa, en donde la capa soporte comprende una capa de piel dividida perforada, p. ej., una capa de piel dividida porcina (Xenoderm), y la tercera capa comprende una capa de piel dividida no perforada, p. ej., una capa de piel dividida porcina (Xenoderm). Alternativamente, tanto la capa soporte como la tercera, comprenden una capa de piel dividida, p. ej., una capa de piel dividida porcina (Xenoderm). En ciertas realizaciones, la capa soporte y la tercera, consisten en una capa de piel dividida. En algunas realizaciones, la capa matriz puede comprender colágeno, ácido hialurónico y poli(ácido láctico), p. ej., poli(ácido L-láctico). Por ejemplo, la capa matriz puede ser una almohadilla de compuesto de colágeno poroso para células entremezclado con fibras de colágeno y ácido hialurónico natural y poli(ácido láctico), p. ej., poli(ácido L-láctico), disperso en los espacios vacantes de las fibras de colágeno. En algunas realizaciones, la capa matriz puede comprender además compuestos como se describen en la presente memoria, p. ej., factores de crecimiento, quitosanos, reína y diacereína.

En general, el parche de reparación de la presente invención mejora la reparación del tendón y ligamento, fortalece y favorece la integración de injertos autólogos de ligamento y tendón. En ciertas realizaciones, la capa matriz se usa como una estructura de soporte para añadir, adherir, incorporar, insertar o sembrar células de forma exógena, tales como fibroblastos, tenocitos, sus progenitores, células mesenquimales, células de ligamentos o tendones, citoblastos de diferentes orígenes, al sitio de tratamiento. Estas células se añaden, de acuerdo con la invención, para aumentar o proporcionar estimulación para potenciar el proceso de reparación en el sitio del ligamento o tendón lesionado o en el sitio del injerto del ligamento y/o tendón. Las células adecuadas para usar en esta invención son las células que son células autólogas o heterólogas, tales como células alogénicas o xenogénicas, líneas celulares y/o células procariotas. Típicamente, las células añadidas de forma exógena a la capa matriz o a un almacén de colágeno se obtienen comercialmente o se aíslan de ligamentos o tendones cultivados in vitro usando métodos conocidos en la técnica.

El método, en una realización, comprende la adición in vitro y ex vivo de células progenitoras, fibroblastos maduros, células de ligamentos o tendones u otras células al dispositivo de la invención, adhiriendo, incorporando, insertando o sembrando las células en la capa matriz del almacén de colágeno o en la capa soporte/tercera. Las células cultivadas se añaden a la capa matriz como tales o se adhieren a la capa soporte y/o tercera capa antes, durante o incluso después de cirugía. Las células añadidas de forma exógena pueden inducir la producción o producir proteínas y componentes de la matriz de acuerdo con neoligamentos o neotendones, o inducir la migración de las células nativas desde el ligamento o tendón no lesionado al sitio de la lesión.

En varias realizaciones, el parche tiene un espesor entre 0,1 - 10 mm, 0,5 - 2 mm, 0,5 - 1 mm o 0,75 - 1,25 mm.

Si el parche incluye capas de soporte y matriz laminadas, el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la capa matriz de cara al ligamento. En un modo alternativo, el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la capa soporte de cara al ligamento. Aquí también, se describen los mismos modos de aplicación del parche para la aplicación a los tendones lesionados.

Si el parche incluye capas de soporte, matriz y tercera capa laminadas, el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la tercera capa de cara al ligamento. En un modo alternativo, el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la capa soporte de cara al ligamento. Aquí también, se describen los mismos modos de aplicación del parche para la aplicación a los tendones lesionados.

En ciertas realizaciones, el parche comprende una capa soporte de colágeno porosa para células y una capa matriz y el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la capa soporte de cara al ligamento. En ciertas realizaciones alternativas, el parche incluye una capa soporte de colágeno porosa para células y una capa matriz y el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la capa matriz de cara al ligamento. En realizaciones adicionales, el parche comprende una tercera capa de colágeno porosa para células, una capa soporte de colágeno porosa para células, una capa soporte de colágeno no porosa para células y una capa matriz, y el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la tercera capa o la capa soporte de cara al ligamento. En realizaciones adicionales, el parche comprende una tercera capa de colágeno no porosa para células, una capa soporte de colágeno no porosa y una capa matriz, y el parche se puede aplicar al ligamento lesionado con la tercera capa o la capa soporte de cara al ligamento. Estos modos de aplicación del parche son igualmente adecuados para la aplicación a tendones lesionados.

En ciertas realizaciones, la capa soporte está recubierta con glucosaminoglucanos (GAG) o mucopolisacáridos descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, la capa soporte está recubierta con ácido hialurónico como se describe en la presente memoria.

En realizaciones adicionales, si el parche comprende una tercera capa, la tercera capa está recubierta con glucosaminoglucanos (GAG) o mucopolisacáridos descritos en la presente memoria. En varias realizaciones, la tercera capa está recubierta con ácido hialurónico como se describe en la presente memoria.

En ciertas realizaciones, el parche se diseña de modo que el parche sea completamente bioabsorbible. Por lo tanto, una vez implantado, el parche se degrada automáticamente a lo largo del tiempo. El experto en la técnica podrá diseñar el parche de modo que el parche se degrade durante la curación del ligamento o tendón o después de conseguir la curación del ligamento o tendón.

En varias realizaciones, el parche no es biodegradable y se debe extraer una vez que se ha reparado el ligamento o tendón.

Los métodos descritos en la presente memoria son adecuados para la reparación de ligamentos y/o tendones.

En varias realizaciones, el ligamento se selecciona del grupo de ligamentos, pero no se limita a, conectados a extremidades inferiores y superiores, cabeza y cuello, p. ej., hombro, codo, muñeca, mano, cadera, rodilla, tobillo del pie y columna vertebral.

- 5 En ciertas realizaciones, el ligamento se selecciona del grupo que comprende, pero no se limita a ligamento cricotiroides, ligamento periodontal, ligamento suspensorio del cristalino, ligamento suspensorio de la mama, ligamento sacroilíaco anterior, ligamento sacroilíaco posterior, ligamento sacrotuberoso, ligamento sacroespinoso, ligamento púbico inferior, ligamento púbico superior, ligamento suspensorio del pene, ligamento radiocarpiano palmar, ligamento radiocarpiano dorsal, ligamento colateral cubital, ligamento colateral radial, ligamento cruzado, ligamento cruzado anterior (ACL), ligamento colateral lateral (LCL), ligamento cruzado posterior (PCL), ligamento colateral medial (MCL) y ligamento patelar.
- 10 En varias realizaciones, el tendón se selecciona del grupo de tendones, pero no se limita a tendones conectados a las extremidades inferiores y superiores, tales como tendones en el codo, manos, rodilla, pie y tobillo, y tendones en el hombro, cadera y columna vertebral, tendones torácicos y abdominales.
- 15 En ciertas realizaciones, el tendón se selecciona del grupo que comprende, pero no se limita al tendón de Aquiles, tendón del bíceps braquial, tendón del tríceps braquial, tendón del extensor largo y tendón peroneo, tendones tibial anterior y posterior, tendón subescapular, tendones del manguito rotador, tendón del cuádriceps y tendón patelar. Se pueden incluir todos los tendones presentes en la mano y pie. El método descrito en la presente memoria se puede aplicar a un paciente, en donde el paciente padece un trastorno que afecta a un ligamento y/o tendón que comprende, pero no se limita a inflamación, enfermedad autoinmunitaria, infección, estrés, tensión, rotura, esguince, avulsión, estiramiento excesivo o desgarramiento del ligamento y/o tendón.
- 20 En ciertas realizaciones, antes de aplicar el parche de reparación al ligamento y/o tendón lesionado, el sitio de la lesión se prepara para recibir el parche.
- 25 En ciertas realizaciones, antes o después de la unión al ligamento o tendón lesionado, el parche se empapa con sangre para atrapar citoblastos mesenquimales (MSC) autólogos en el parche y liberar factores de crecimiento en el sitio lesionado. Estos MSC pluripotentes en presencia del parche de colágeno se diferenciarán en fibroblastos y más tarde en células maduras de ligamento o tendón para reparar el sitio de lesión del ligamento o tendón o transformar el tejido de injerto del ligamento o tendón.
- Después de preparar el sitio de la lesión, se pueden llevar a cabo procedimientos adicionales.
- En ciertas realizaciones, con el fin de fijar el parche de reparación en el ligamento o tendón lesionado, el parche se puede fijar al ligamento o tendón usando sutura quirúrgica. En ciertas realizaciones, el parche se fija al ligamento o tendón lesionado por sutura y/o atando el parche al ligamento o tendón lesionado usando sutura y/o por la adición de pegamento al sitio de fijado en el ligamento o tendón lesionado.
- 30 La sutura puede estar hecha de material seleccionado de, pero no limitado a dimetilsiloxano, politetrafluoretileno (PTFE), en particular PTFE condensado (cPTFE) o PTFE extendido (ePTFE), polietileno, poli(ácido láctico), polidioxanona, caprolactona, poli(ácido glicólico), colágeno poliéster y polímeros basados en acrílico, por ejemplo, ésteres de ácido acrílico o ácido metacrílico. Los polímeros adecuados particulares son, por ejemplo, polímeros mixtos de polipropileno (PP) y poliglicaprona, polímeros de poli-p-dioxanona, poliéster, poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF), polipropileno (PP), en particular PP condensado (cPP), politetrafluoretileno (PTFE), poli(metacrilato de metilo) (PMMA), poli(tereftalato de etileno), polietercetona (PEK), y polieteretercetona (PEEK).
- 35 La sutura quirúrgica puede ser biocompatible.
- En varias realizaciones, el parche de reparación se fija al ligamento o tendón lesionado suturando el parche al ligamento o tendón. Típicamente, se usan suturas quirúrgicas biológicamente absorbibles para fijar el parche. Las suturas quirúrgicas pueden estar hechas de poli(ácido láctico), polidioxanona y caprolactona, poli(ácido glicólico) y colágeno.
- 40 En ciertas realizaciones, el parche de reparación comprende factores de crecimiento, compuestos antiinflamatorios y/o anticuerpos que pueden ser de origen recombinante y/o aislados de la sangre, p. ej., sangre autóloga. Por lo tanto, en algunas realizaciones el parche comprende, p. ej., TGF-β1 y/o uno o más factores de crecimiento, como se describe en la presente memoria.
- 45 En ciertas realizaciones, con el fin de fijar el parche de reparación al ligamento o tendón herido, el parche se puede fijar al ligamento o tendón mediante pegamento y/o soldadura usando sutura quirúrgica y/o atando usando sutura quirúrgica.
- El pegamento y/o la sutura quirúrgica pueden ser biocompatibles.
- 50 El pegamento se puede seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a gelatina, ácido algínico, agarosa, almidón, fibrina, colágeno, laminina, elastina, fibronectina, proteoglucanos y/o glucosaminoglucanos, p. ej., sulfato de heparán, condroitín sulfato y/o queratán sulfato, caseína, dextranos, caramelo, pectina, carragenano y xantano.
- Por ejemplo, el método descrito en la presente memoria puede comprender la preparación y aplicación del pegamento de fibrina/composición de pegamento de fibrina en el sitio lesionado. El pegamento de

fibrina/composición de pegamento de fibrina puede mezclarse con fluidos corporales para formar un compuesto de fluido corporal y pegamento de fibrina.

En varias realizaciones, el método descrito en la presente memoria puede comprender además la etapa de aplicar pegamento, p. ej., pegamento de fibrina, al ligamento o tendón lesionado antes y/o después de la aplicación del parche de reparación y/o aplicación de pegamento, p. ej., pegamento de fibrina al parche. En ciertas realizaciones, si el parche incluye una capa soporte y una capa matriz, el pegamento, p. ej., pegamento de fibrina, se puede aplicar a la capa soporte y/o capa matriz antes y/o después de aplicar el parche al ligamento o tendón lesionado. En varias realizaciones, si el parche incluye una capa soporte, una capa matriz y una tercera capa, el pegamento, p. ej., pegamento de fibrina, se puede aplicar a la capa soporte y/o tercera capa antes y/o después de aplicar el parche al ligamento o tendón herido.

En ciertas realizaciones, el pegamento es fibrina o una composición de fibrina. La composición de fibrina puede comprender fibrina y componentes adicionales. Los componentes adicionales pueden ser factores de crecimiento, compuestos antiinflamatorios y/o anticuerpos. En ciertas realizaciones, los componentes adicionales, p. ej., los factores de crecimiento, compuestos antiinflamatorios y/o anticuerpos, son recombinantes y/o se aíslan de la sangre. Por lo tanto, en algunas realizaciones al menos un componente de la composición de pegamento de fibrina se aísla de la sangre o suero sanguíneo, es decir, suero sanguíneo recuperado después de centrifugación, incluyendo varios factores de crecimiento, tales como TGF- β 1 y/o uno o más factores de crecimiento, como se describen en la presente memoria. En varias realizaciones, la composición de pegamento de fibrina comprende al menos un factor de crecimiento autólogo aislado de la sangre autóloga. La composición de pegamento de fibrina después puede estimular la diferenciación de citoblastos en la interfase de lesión/parche del ligamento y/o tendón.

En ciertas realizaciones, el pegamento, p. ej., pegamento de fibrina, se aplica al sitio de la lesión, seguido de la colocación del parche de reparación de laminado flexible en el sitio de la lesión sobre el pegamento en el sitio de la lesión. El pegamento, p. ej., pegamento de fibrina, también se puede aplicar libremente después de que el parche de reparación esté en su sitio, en el sitio de la lesión para conseguir adherir mejor el parche de reparación al sitio de la lesión. Por ejemplo, el pegamento se puede inyectar para que llegue al sitio de la lesión cubierto. Además, el parche se puede fijar además mediante sutura quirúrgica. Una vez llevada a cabo esta etapa, las fases quirúrgicas se han completado y el parche de reparación del ligamento/tendón continua con su fin de curación in situ.

En ciertas realizaciones, el parche se aplica al ligamento o tendón in situ. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el parche se puede aplicar al ligamento o tendón en un procedimiento endoscópico, p. ej., una operación artroscópica.

Alternativamente, se recoge un injerto de ligamento/tendón del paciente, después se aplica el parche como se ha descrito antes y posteriormente el injerto se introduce en el sitio quirúrgico preparado

Se describe también en la presente memoria un parche de reparación de ligamento y/o tendón como se describe en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria un parche de reparación de ligamento y/o tendón como se describe en la presente memoria para usar en el tratamiento de un ligamento y/o tendón lesionado.

Todos los procedimientos y dispositivos descritos en la presente memoria en relación con la reparación de ligamentos se describen también en este documento como procedimientos relacionados con la reparación de tendones y viceversa.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación del parche de reparación

Se usó una lámina de colágeno 22 (Xenoderm - colágeno tipo 1 y 3 porcino) como la capa soporte 22. La capa soporte tenía propiedades mecánicas para resistir la tensión de cizalladura y tracción y era resorbible en aproximadamente 6 semanas. La lámina de colágeno 22 se puso en un molde y después se cargó con una suspensión de colágeno-HA a la que se había añadido una disolución de diacereína o polvo de diacereína para obtener una cantidad de 0,3-75 μ g en peso seco en el parche después de liofilización y esterilización. El resultado era una almohadilla de colágeno de doble capa con la capa soporte para disponer sobre el sitio del ligamento/tendón lesionado. Después de la fabricación y antes de la esterilización, las almohadillas se pusieron en una prensa mecánica para obtener un espesor de 0,5 - 2 mm. La concentración de HA en el producto final liofilizado estaba en el intervalo de aproximadamente 0,1% a 2%. El HA es HA natural, es decir, HA no modificado químicamente, procedente de fermentación.

Ejemplo 2: Producción de una membrana de pericardio

1. Recuperación de materia prima de origen bovino

Los sacos cardiacos (pericardios) bovinos usados como el material de partida, después de inspección de la carne convencional por un veterinario oficial en el matadero, primero se separan de las partes de órganos unidas y se

elimina groseramente la grasa y tejido conjuntivo. De esta forma se obtienen piezas de tipo lámina de aproximadamente 30 cm x 15 cm de tamaño y un peso de aproximadamente un kilogramo por pieza. Los pericardios bovinos preparados de esta forma se transportan en una bolsa fría cargada con hielo desde el matadero al sitio de producción y, dependiendo de la cantidad de materia prima recuperada, se almacenan inmediatamente allí por debajo de -20°C antes de procesarlos adicionalmente.

2. Procesamiento químico por vía húmeda

Las piezas de pericardio brutas primero se lavaron individualmente con agua purificada, normalmente remojadas en agua corriente, para eliminar la sangre adherida y las partes de proteínas solubles en agua. Después de remojo, se eliminaron todos los residuos macroscópicamente visibles de tejido graso y membranas basales. A esto le siguió un tratamiento con disolución acuosa de hidróxido sódico al 2% a temperatura ambiente. Las piezas de pericardio (5.000 gramos) permanecieron en el baño alcalino (37,5 litros) durante un total de 16 horas. A la retirada de las mismas le siguió un procedimiento de lavado que duraba aproximadamente 10 minutos en agua desmineralizada, procedimiento que se repitió hasta que el pH del agua que salía del lavado se había reducido por debajo de 8. Esto se consiguió después de aproximadamente 1 hora. Si todavía se podía observar cualquier resto de membranas basales y grasa, entonces se eliminaron en esta etapa del procedimiento. Las piezas de pericardio muy hinchadas después se transfirieron a 37,5 litros de una disolución salina acuosa al 10% para ajustar el estado de hinchamiento (deshinchamiento parcial) según fuera necesario para las etapas posteriores del procedimiento. Se llevó a cabo un tratamiento con NaCl a temperatura ambiente, al que le siguió un procedimiento de lavado con agua desmineralizada. Con el fin de eliminar cualquier ion de metal pesado que interfiriera y cualquier posible inclusión de cal del material pericárdico, después el material se sometió a un tratamiento con 37,5 litros de una disolución de EDTA ajustada para que fuera débilmente alcalina y que tenía la concentración de 0,3 g en 100 ml. Después, el material se lavó con agua desmineralizada como en las etapas precedentes del procedimiento para eliminar el exceso de agente complejante y al mismo tiempo llevar el valor de pH a 8,5. Este tratamiento de una vez seguido después con 37,5 litros de tampón de acetato (pH 4,8; composición, por 100 ml: 59 partes en volumen de una disolución de 0,01 moles de acetato de sodio más 3 H₂O en 100 ml y 41 partes en volumen de 0,01 moles de ácido acético en 100 ml) tenía el propósito de tamponar todos los residuos, si había alguno, dejados en el tejido pericárdico y preparar un medio débilmente ácido para la posterior operación de blanqueo. Se eliminó cualquier sustancia tampón excesiva como se ha descrito antes lavando con agua desmineralizada.

3. Blanqueo oxidativo

Posteriormente al procesamiento químico por vía húmeda, las piezas de pericardio se sometieron a una operación de blanqueo oxidativo que duraba una hora, en 37,5 litros de una disolución de peróxido de hidrógeno al 1,5%. El procedimiento de blanqueo se llevó a cabo, así como las etapas del procedimiento precedente, a temperatura ambiente. De esta forma, por un lado, se asegura la eficacia de las operaciones de purificación mientras que, por otro lado, se evita un deterioro del tejido de colágeno.

4. Lavado

Con el fin de eliminar cualquier exceso de reactivo, el material posteriormente se lavó con agua desmineralizada de acuerdo con el régimen convencional.

5. Desgrasado

Las piezas de pericardio bovino lavadas se pusieron en una cantidad de acetona tal que el tejido de pericardio bovino se cubriera completamente con acetona. El disolvente se reemplazó tres veces en el espacio de 8 horas. Las piezas de pericardio bovino así deshidratadas después se transfirieron a un aparato Soxhlet y se extrajeron con acetona durante aproximadamente 8 horas. Después de la extracción las piezas de pericardio se secaron al aire y después se rehidrataron en un recipiente de transporte con agua desmineralizada.

6. Liofilización

El secado se realizó en un liofilizador controlado automáticamente. La liofilización en detalle procede como sigue:

Disminución de la temperatura a +1°C, disminución de la temperatura a -40°C, encendido del horno, calentamiento de las bandejas a +40°C y secado con alto vacío.

7. Esterilización

La esterilización se realizó por esterilización por radiación con 25 kGy (2,5 Mrad).

50 Ejemplo 3: Cultivo de fibroblastos en el parche de reparación biocompatible y flexible

Con el fin de determinar la viabilidad celular durante el cultivo de fibroblastos en el parche de reparación de la presente invención, se usó la línea celular de fibroblastos dérmicos humanos WS 1. Esta línea celular se cultivó en condiciones estándar (37°C, 5% CO₂) en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) y 10% de suero ternero fetal (FCS).

5 Los fibroblastos se transfirieron al parche de reparación de la presente invención y un material de referencia, y se cultivaron a lo largo de un periodo de tiempo de hasta 5 semanas en condiciones estándar (37°C, 5% CO₂) en DMEM. Para determinar la velocidad de proliferación celular se usaron ensayos de WST 1. Este ensayo es un ensayo colorimétrico para medir la actividad de enzimas celulares que reducen un colorante de tetrazolio, WST 1, a su formazán insoluble, dando un color púrpura. Además, las muestras de medio se analizaron por ELISA para determinar sus concentraciones de procolágeno de tipo I. La viabilidad celular se analizó una vez por semana por tinción de células vivas/muertas con un microscopio de fluorescencia.

10 Para el ensayo in vitro del parche de reparación de la presente invención, se sembraron fibroblastos sobre su superficie. Las células se incubaron en condiciones de cultivo estándar durante 14 días en un medio exento de suero. Después de 3, 7 y 14 días se determinaron la viabilidad celular y la tasa de síntesis nueva del colágeno de tipo 1. Un segundo parche de colágeno así como un cultivo de monocapa en placas de cultivo celular sirvieron como controles.

15 Los resultados pusieron de manifiesto que el parche de reparación de la presente invención estaba cualificado para el asentamiento de células. Durante el tiempo de incubación los fibroblastos eran capaces de sobrevivir en los parches y sintetizar procolágeno de tipo 1. La tinción de fibroblastos vivos/muertos dio como resultado una proporción mayoritaria de células vivas en los parches. Además, se pudo determinar un sobrecrecimiento de la superficie específicamente para el parche de reparación de la presente invención. Comparado con la monocapa de referencia, el crecimiento de fibroblastos en el parche de reparación de la presente invención mostró un aumento de la actividad metabólica así como mayores niveles de concentración de procolágeno de tipo 1 después de 14 días de incubación.

20

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende colágeno y ácido hialurónico para usar en un método para la reparación de un ligamento o tendón en un sujeto, comprendiendo el método:
- aplicar dicha composición en forma de un parche flexible y biocompatible que comprende:
- 5 - una capa soporte que comprende colágeno, en donde la capa soporte es porosa para células, y
- una capa matriz que comprende colágeno y ácido hialurónico
- a dicho ligamento o tendón,
- en donde
- a) la capa soporte comprende una capa de piel dividida porcina seca; y/o
 - 10 b) la capa matriz comprende además uno o más compuestos seleccionados de analgésicos, agentes antiinflamatorios, antibióticos y agentes que promueven la regeneración de ligamentos y/o tendones, en donde los agentes que promueven la regeneración de ligamentos y/o tendones se seleccionan del grupo que consiste en: factores de crecimiento, diacereína, reína, plasma rico en plaquetas (PRP), poli(ácido láctico) y quitosano, hidrocloreto de quitosano, carboximetil-quitosano, lactato de quitosano, acetato de quitosano, glutamato de
 - 15 quitosano, succinato de quitosano, cloruro de N-(2-hidroxi)propil-3-trimetilamonio-quitosano, cloruro de N-trimetil-quitosano, y sus sales farmacéuticamente aceptables; y/o
 - c) la composición comprende además una tercera capa que se dispone sobre la capa matriz de modo que la capa matriz está interpuesta entre la capa soporte y la tercera capa.
2. La composición para usar de la reivindicación 1, en donde la capa soporte es una capa de lámina de colágeno.
- 20 3. La composición para usar de la reivindicación 1 o 2, en donde la capa soporte comprende membrana de pericardio porcino, bovino o equino o piel dividida porcina.
4. La composición para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la capa matriz es una capa de colágeno porosa.
- 25 5. La composición para usar de la reivindicación 4, en donde la capa matriz comprende una matriz de fibras de colágeno.
6. La composición para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el colágeno de la capa matriz comprende colágeno de origen porcino, equino, bovino o vegetal.
7. La composición para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el ácido hialurónico de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano.
- 30 8. La composición para usar de la reivindicación 7, en donde el ácido hialurónico natural de la capa matriz comprende ácido hialurónico natural, no humano, de una fuente de fermentación bacteriana.
9. La composición para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la matriz comprende ácido hialurónico en forma de fibras, polvo, gel o suspensión en crema.
- 35 10. La composición para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la capa matriz es una almohadilla de compuesto de colágeno porosa entremezclado con fibras de colágeno y ácido hialurónico natural disperso en los espacios vacantes de las fibras de colágeno.

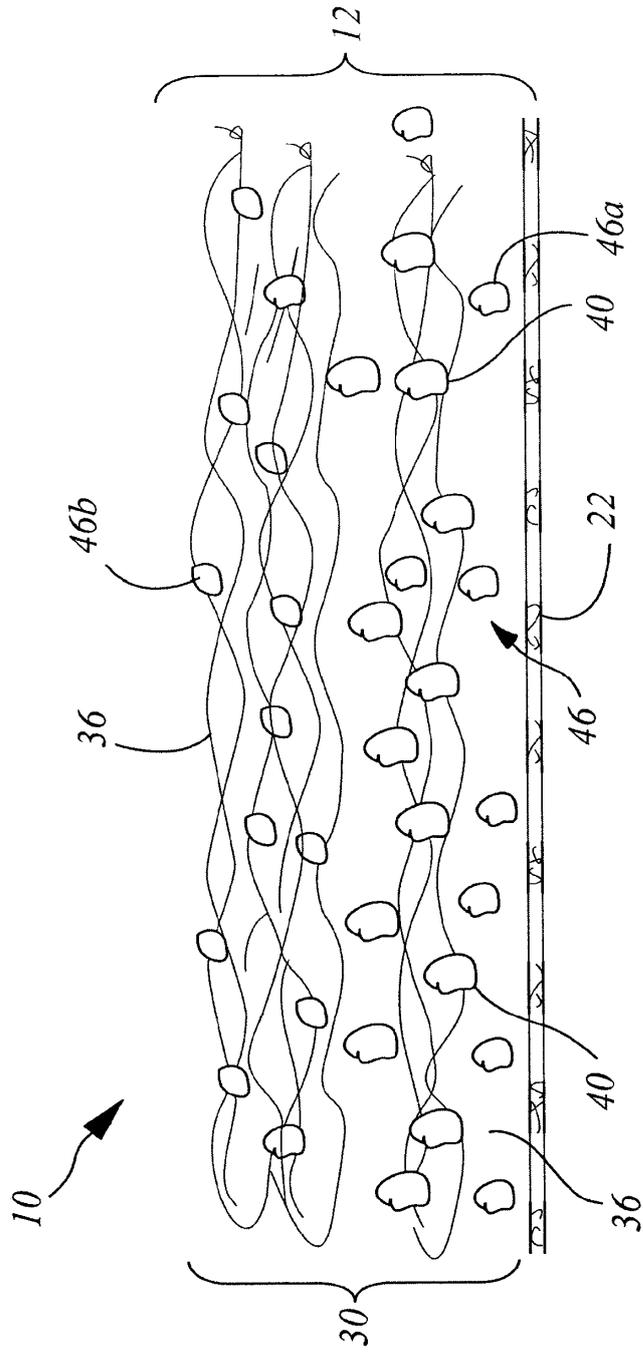


Fig. 1.A

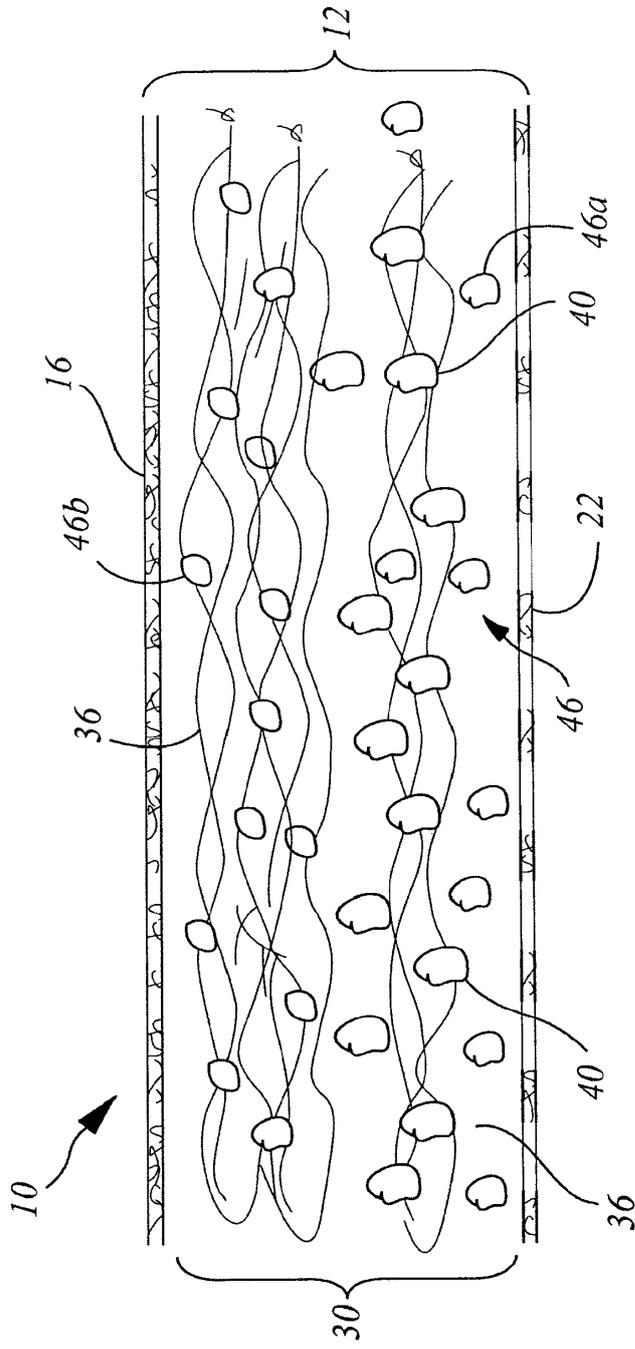


Fig. 2.A

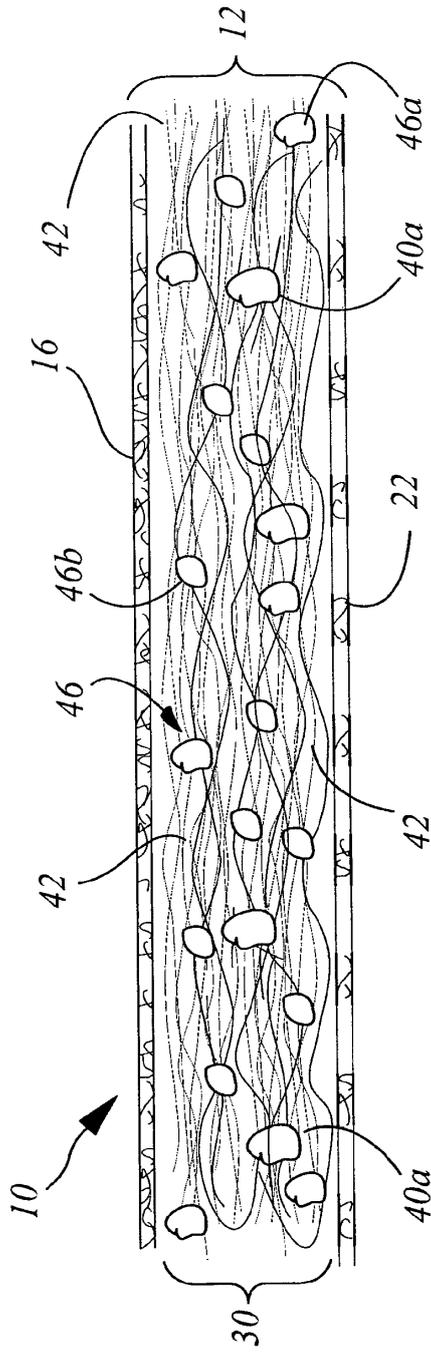


Fig. 2.B

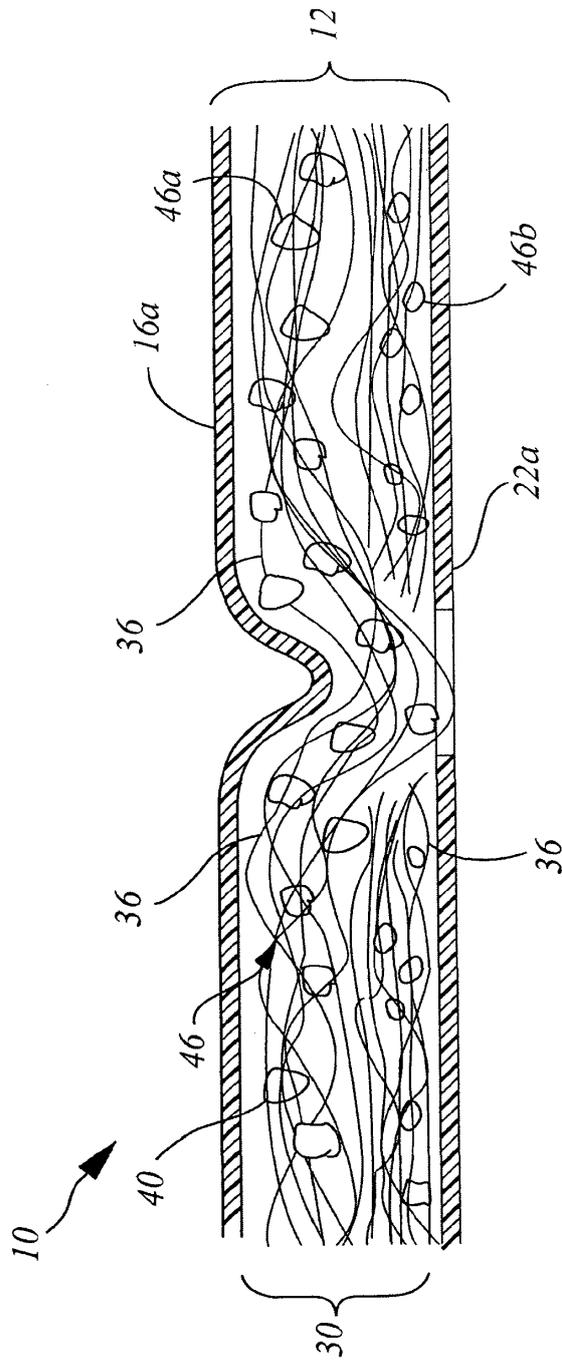


Fig. 2.C

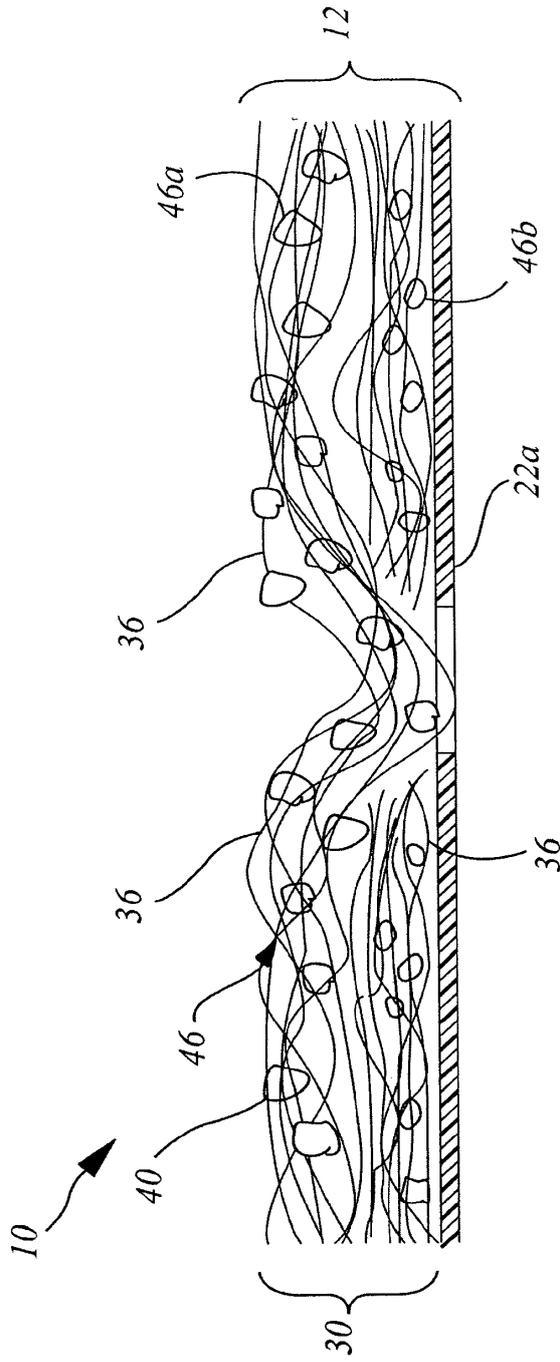


Fig. 2.D

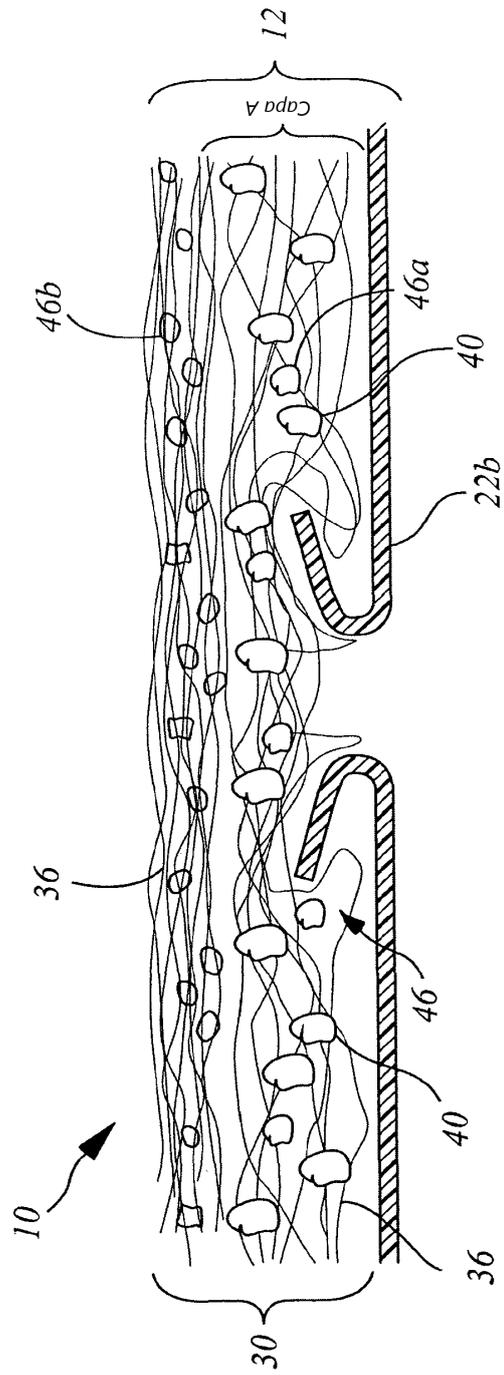


Fig. 2.E

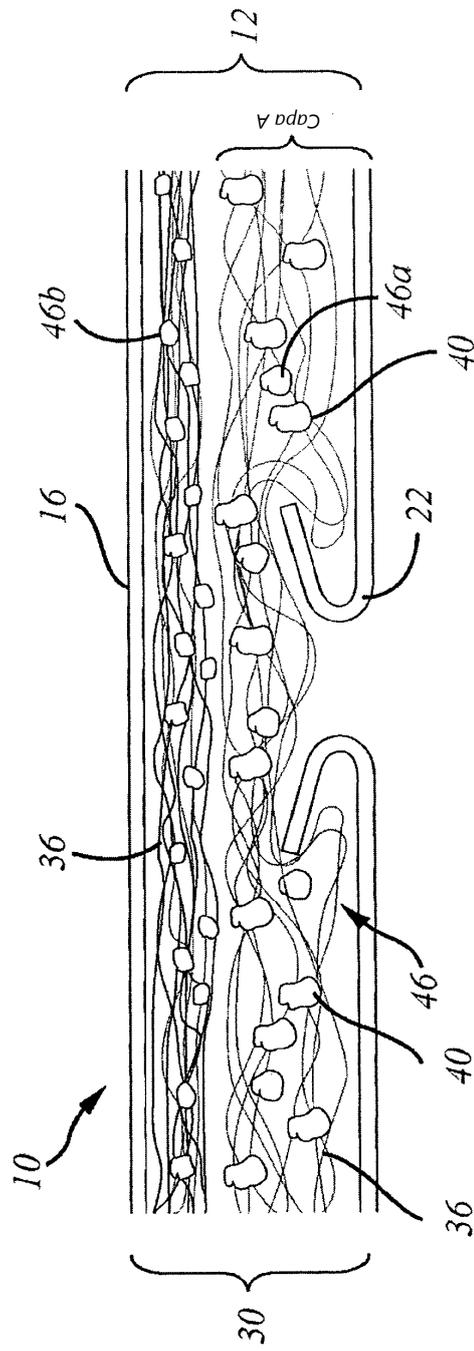


Fig. 3

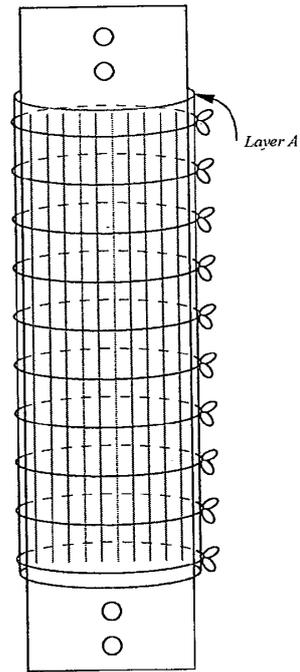


Fig. 4

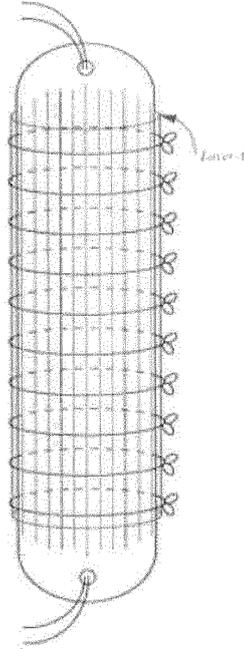


Fig. 5

Fig. 6A

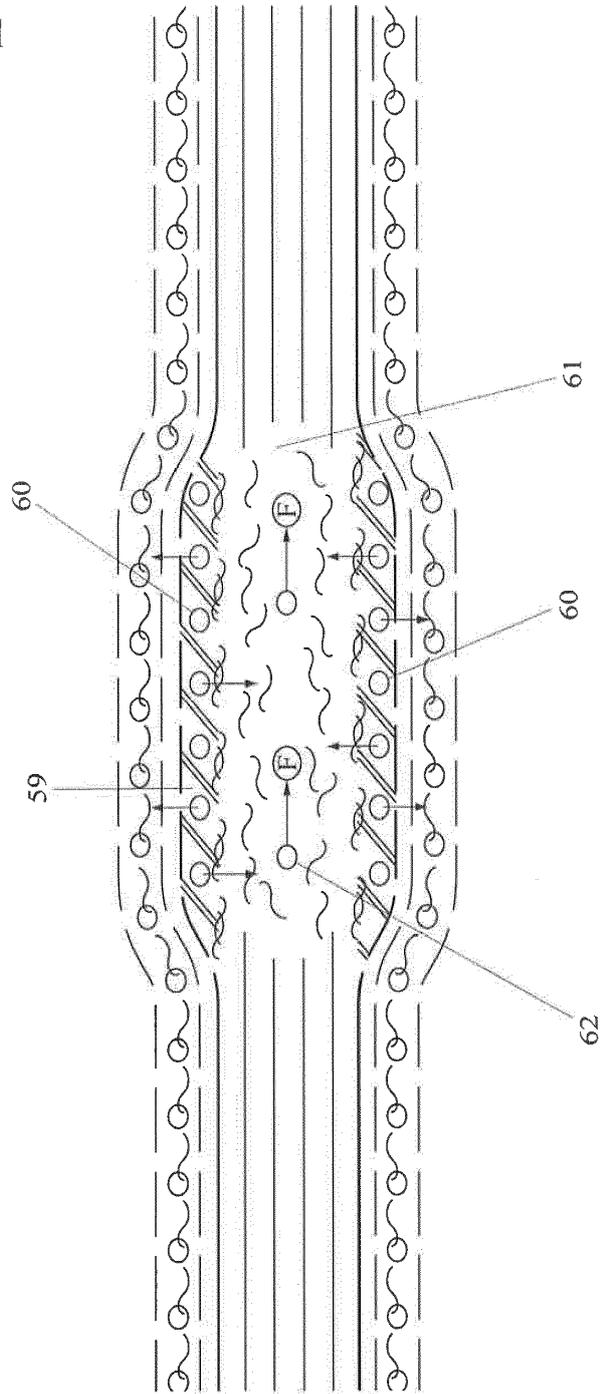


Fig. 6B

