(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 767 252**

(51) Int. Cl.:

A61L 27/38	(2006.01)
C12N 5/071	(2010.01)
A61L 27/54	(2006.01)
A61L 2/02	(2006.01)
C12N 7/00	(2006.01)
A61L 27/36	(2006.01)
A61L 31/00	(2006.01)
A61L 15/40	(2006.01)
A61K 35/44	(2015.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.08.2010 PCT/US2010/046675**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2011 WO11031489**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.08.2010 E 10815849 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 2470231**

(54) Título: **Productos de la membrana amniótica del cordón umbilical**

(30) Prioridad:

25.08.2009 US 236779 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.06.2020

(73) Titular/es:

TISSUE TECH, INC. (100.0%)
7000 S.W. 9th Avenue, Suite 211
Miami, FL 33173, US

(72) Inventor/es:

TSENG, SCHEFFER;
TAN, EK KIA y
TSENG, AMY

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

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

ES 2 767 252 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Productos de la membrana amniótica del cordón umbilical

Antecedentes de la invención

En los mamíferos placentarios, el cordón umbilical (es decir, el funiculus umbilicalis) conecta el feto en desarrollo con la placenta. El cordón umbilical está compuesto de membrana amniótica (UCAM) y Gelatina de Wharton. La UCAM funciona para regular la presión del fluido dentro del UC. La gelatina de Wharton es una sustancia gelatinosa dentro del cordón umbilical, compuesta principalmente por mucopolisacáridos (ácido hialurónico y sulfato de condroitina). También contiene algunos fibroblastos y macrófagos. El cordón umbilical comprende además dos arterias (las arterias umbilicales) y una vena (la vena umbilical), incrustadas dentro de la gelatina de Wharton. Para una vista en sección transversal de un cordón umbilical, véase la Figura 1.

El documento US2007/071828 A1 de TSENG et al., se refiere a preparaciones de membrana amniótica placentaria para tratar enfermedades tales como cicatrización de heridas, inflamación y enfermedades relacionadas con la angiogénesis. Las preparaciones de membrana amniótica placentaria incluyen la preparación de partes de membrana amniótica, extractos, gelatina, estroma y mezclas de estas composiciones con componentes adicionales. El procedimiento de extracción puede implicar la obtención de una placenta humana previamente congelada, descongelar la placenta y aislar el material amniótico humano de la placenta descongelada, homogeneizar el material amniótico humano en un tampón adecuado, liofilizar el homogeneizado hasta un polvo y mezclar el homogeneizado o el polvo con un portador farmacéuticamente aceptable para una forma de dosificación no sólida o una forma de dosificación sólida de liberación prolongada.

El documento US2004/059430 A1 de KIM et al., se refiere a un biomaterial para reparación de tejidos que comprende un tejido biológico a base de colágeno, por ejemplo, de fascia, amnios, placenta o piel. El biomaterial está en forma de polvo. El método para producir el biomaterial puede comprender entrecruzar el colágeno de un tejido a base de colágeno, eliminando las células del tejido; liofilizar el tejido; pulverizar el tejido liofilizado.

El documento US2004/057938 A1 de GHINELLI et al., se refiere a un método para preparar un extracto de membrana amniótica en el que el método incluye las etapas para obtener una membrana amniótica sana de un mamífero preñado, tal como un cerdo, vaca, caballo o humano, determinar si la membrana amniótica está libre de virus y de contaminación bacteriana, homogeneizar la membrana para obtener una solución de homogeneizado, congelar la solución del homogeneizado y liofilizar la solución del homogeneizado congelado hasta sequedad, preferiblemente pulverizado como un polvo. El homogeneizado liofilizado se reconstituye antes de su uso, por ejemplo, en un líquido, tal como una solución salina equilibrada o líquido amniótico fresco, o en otra sustancia, tal como un gel, una pomada, una crema o un jabón, según el uso previsto.

Sumario de la invención

Existe la necesidad de un producto derivado de una fuente natural (por ejemplo, primate humano, no humano, vacas o cerdos) que repare, reconstruya, reemplace o complemente el tejido (por ejemplo, tendones o nervios) que han sido dañado, comprometido, o incluso perdido. Para satisfacer las necesidades antes mencionadas, dicho producto debe ser regenerativo, antiinflamatorio, anticicatrizante, antiangiogénico, antiadhesivo, promotor de la cicatrización de heridas, duradero, fuerte, flexible y conformable. Tal producto también debería servir preferiblemente como un nicho para el crecimiento *in vivo* y la diferenciación de células madre. Aunque la AM aislada de la placenta humana posee la actividad biológica requerida (es decir, regenerativa, antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica y antiadhesiva), la AM derivada de la placenta es delgada y diáfana. Varios productos son duraderos y fuertes, pero no tienen la actividad biológica requerida (es decir, regenerativa, antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica y antiadhesiva).

Por consiguiente, la presente invención proporciona un producto pulverizado de membrana amniótica del cordón umbilical (UCAM) como se establece en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
Además, la invención proporciona una composición como se establece en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11.
Además, la invención proporciona un producto pulverizado de la UCAM de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una composición de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, para los usos establecidos en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15.

En este documento, en ciertas realizaciones, se describe un producto pulverizado de la UCAM. Los productos de la UCAM son regenerativos, antiinflamatorios, anticicatrizante, antiangiogénicos, antiadhesivos, duraderos, fuertes, flexibles y conformables. En algunas realizaciones, el producto de la UCAM se usa como un recubrimiento para heridas. En algunas realizaciones, el producto de la UCAM se usa como un parche sobre un dispositivo. En algunas realizaciones, el producto de la UCAM se usa como una barrera antiadhesiva. En algunas realizaciones, el producto de la UCAM se usa para la reparación de heridas (por ejemplo, envoltura de tendones o nervios).

En este documento, se describe una composición pulverizada que comprende: una UCAM aislada que no comprende

una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible activa humana o *treponema pallidum* activo, en los que la integridad estructural natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial.

La actividad biológica natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial. La composición es preferiblemente antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica, antiadhesiva o promueve la cicatrización de heridas cuando se pone en contacto con una célula viva exógena. Sustancialmente todos los glóbulos rojos pueden haberse eliminados de la UCAM. La composición puede ser crioconservada, liofilizada, esterilizada terminalmente o una combinación de las mismas.

En el presente documento se describe un método para producir un producto de la UCAM que comprende: obtener un cordón umbilical previamente congelado y separar la UCAM de la vena umbilical y de las arterias umbilicales y al menos una porción de la gelatina de Wharton, en la que la integridad estructural natural del producto de la UCAM se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la adquisición inicial. La actividad biológica natural de la UCAM aislada preferiblemente se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial. El cordón umbilical se puede obtener de un humano, humano no primate, vaca o cerdo. El producto de la UCAM es preferiblemente antiinflamatorio, anticicatrizante, antiangiogénico, antiadhesivo o promueve la cicatrización de heridas cuando se pone en contacto con una célula viva exógena.

La UCAM se separa preferiblemente de la vena umbilical y de las arterias umbilicales y al menos una porción de la gelatina de Wharton mediante el uso de un dermatoma quirúrgico. El método comprende además inhibir la actividad metabólica de sustancialmente todas las células encontradas en la UCAM congelando o secando el cordón umbilical. El método puede comprender además drenar la sangre del cordón umbilical antes de extraer la gelatina de Wharton, la vena umbilical y las arterias umbilicales. El método puede comprender además eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos de la UCAM. El método comprende además liofilizar, crioconservar, pulverizar o esterilizar terminalmente el producto de la UCAM.

En el presente documento se describe el uso de un producto de la UCAM divulgado en el presente documento para promover la cicatrización de heridas y reducir la inflamación, cicatrización, angiogénesis y adhesión en una pluralidad de células exógenas, en las que las células exógenas se ponen en contacto con un producto de la UCAM que comprende una UCAM aislada que no comprende una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo.

Se describe en el presente documento el uso de un producto de la UCAM divulgado en el presente documento como una cubierta de herida para un tejido lesionado, en el que el tejido lesionado se pone en contacto con un producto de la UCAM que comprende una UCAM aislada que no comprende una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo.

En el presente documento se describe el uso de un producto de la UCAM divulgado en este documento para reparar o complementar tejido dañado, en el que el tejido dañado se pone en contacto con un producto de la UCAM que comprende una UCAM aislada que no comprende una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica , HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo.

En el presente documento se describe el uso de un producto de la UCAM divulgado en el presente documento como una barrera antiadhesiva, en el que el tejido a proteger de la adhesión se pone en contacto con un producto de la UCAM que comprende un UCAM aislado que no comprende una vena o una arteria, un célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo.

Breve descripción de los dibujos

Las características novedosas de la invención se exponen en forma particular en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que establece realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

La Figura 1 es una sección transversal de un cordón umbilical (UC).
La Figura 2 ilustra el protocolo para generar injertos de tejido a partir de la UCAM.
La Figura 3a demuestra un método para aplanar el cordón umbilical. El cordón umbilical se corta longitudinalmente (líneas punteadas) usando un bisturí sin cortarlo en dos mitades. Se realizan cortes adicionales (líneas punteadas) en la gelatina de Wharton para aplanar el UC tubular. La Figura 3b muestra un método para asegurar el cordón umbilical

aplanado a un sustrato.
La Figura 4 ilustra el Día 0, t = 3 h (A-C: UCAM en solución de conservación (50% de DMEM + 50% de Glicerol), D-F: UCAM extendida en placa).
La Figura 5 ilustra la UCAM después de mantenerse en un medio de conservación durante t = 3 h, 24 h, 48 h, 72 h y 96 h. La imagen está en escala de grises. Cuanto más gris es la muestra de tejido, más sangre hay en la muestra de tejido. Por ejemplo, a las tres horas las muestras de tejido son de color gris oscuro ya que ninguno de los glóbulos rojos se ha difundido desde el tejido. Sin embargo, 96 horas de exposición al medio de conservación dan como resultado la difusión de sustancialmente todos los glóbulos rojos del tejido y muestras de tejido casi transparentes.
La Figura 6 ilustra la UCAM después de 5 días en medio de conservación. La imagen está en escala de grises. Cuanto más gris es la muestra de tejido, más sangre hay en la muestra de tejido. Por ejemplo, a las cero horas las muestras de tejido son de color gris oscuro ya que ninguno de los glóbulos rojos se ha difundido desde el tejido. Sin embargo, 120 horas de exposición al medio de conservación dan como resultado la difusión de sustancialmente todos los glóbulos rojos del tejido y muestras de tejido casi transparentes.
La Figura 7 ilustra la UCAM después de 24 h en PBS 1X (A-C), la UCAM después de liofilización (D-F) y la UCAM después de rehidratación en 50% de DMEM + 50% de Glicerol (G-I).
La Figura 8 ilustra la UCAM después de liofilización y rehidratación.
La Figura 9 compara la UCAM procesada a partir del cordón umbilical drenado de sangre (bUC) (CB09989) y el cordón umbilical no drenado de sangre (UC) (UB085017). La imagen está en escala de grises. La cantidad de sangre en el injerto de tejido está indicada por la cantidad de gris en el tejido. Por ejemplo, el bUC procesado tiene un color más claro que el UC procesado; esto indica que el bUC da como resultado un producto más claro que el UC.
La Figura 10 compara la eficiencia de eliminar la mancha de sangre con PBS 1X y 50% de DMEM + 50% de glicerol. La imagen está en escala de grises. Cuanto más gris es la muestra de tejido, más sangre hay en la muestra de tejido. Por ejemplo, a las cero horas, las muestras de tejido son de color gris más oscuro que las muestras de tejido después de 16 horas de difusión.
La Figura 11 ilustra la UCAM después de congelación, liofilización y rehidratación con PBS 1X.
La Figura 12 ilustra la concentración de proteína en cinco extractos hechos de material biológico que contiene UCAM (AM-UCAM; CH, membrana coriónica; AC, tanto AM como CH; UC, cordón umbilical; PL, placenta).
La Figura 13 ilustra la viabilidad celular de las células RAW264.7 cuando se tratan simultáneamente (A y B) o secuencialmente (C y D) con 200 µg/mL de proteína en cada extracto sin o con estimulación con 1 µg/mL de LPS.
La Figura 14A presenta los resultados de un análisis de transferencia Western para HC1 y HC3 para extracto de AM (Ext. A). La Figura 14B presenta los resultados de un análisis de transferencia Western para bikunina de |α| en AME, CHE, extracto de placenta y extracto de cordón umbilical. La Figura 14C presenta los resultados de un análisis de Western Blot para PTX3 en AME, CHE, extracto placentario y extracto de cordón umbilical.

Descripción detallada de la invención

Existe la necesidad de un producto derivado de una fuente natural (por ejemplo, primate humano, no humano, vacas o cerdos) que repare, reconstruya, reemplace o complemente el tejido (por ejemplo, tendones o nervios) que han sido dañados comprometidos, o incluso perdido. Para cumplir con las necesidades antes mencionadas, dicho producto debe ser regenerativo, antiinflamatorio, anticicatrizante, antiangiogénico, antiadhesivo, promotor de la cicatrización de heridas, duradero, fuerte, flexible y conformable. Tal producto también debería servir preferiblemente como un nicho para el crecimiento *in vivo* y la diferenciación de células madre. Aunque la AM aislada de la placenta humana posee la actividad biológica requerida (es decir, regenerativa, antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica y antiadhesiva), la AM derivada de la placenta es delgada y diáfana. Varios productos son duraderos y fuertes, pero no tienen la actividad biológica requerida (es decir, regenerativa, antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica y antiadhesiva).

En este documento se describe un producto de la UCAM. Los productos de la UCAM se derivan de una fuente natural (por ejemplo, primate humano, no humano, vacas o cerdos) regenerativa, antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica, antiadhesiva, duradera, fuerte, flexible y conformable. Un producto de la UCAM se puede usar como una cubierta para heridas, un parche sobre un dispositivo, una barrera antiadhesiva o para reparar heridas.

Ciertas definiciones

Como se usa en el presente documento, "células, tejidos humanos o productos a base de células o tejidos (HCT/P)" significa artículos que contienen o consisten en células o tejidos humanos destinados a implantación, trasplante, infusión o transferencia a un receptor humano

Como se usa en el presente documento, "tejido humano" significa cualquier tejido derivado de un cuerpo humano. En algunas realizaciones, el tejido humano es UCAM.

Como se usa en el presente documento, "injerto de tejido" significa una matriz de proteínas (por ejemplo, colágeno y elastina) y glicanos (por ejemplo, dermatano, hialuronano y condroitina) que se usa para reemplazar el tejido dañado, comprometido o faltante. En ciertos casos, la matriz se establece y las células huésped se integran gradualmente en la matriz.

Como se usa en el presente documento, "manipulación mínima" significa (1) para tejido estructural, procesamiento que no altera las características relevantes originales del tejido en relación con la utilidad del tejido para la reconstrucción, reparación o reemplazo; y (2) para células o tejidos no estructurales, procesamiento que no altera las características biológicas relevantes de las células o tejidos.

Como se usa en el presente documento, "uso homólogo" significa la reparación, reconstrucción, reemplazo o complementación de las células o tejidos de un receptor con un HCT/P que realiza la misma función o funciones básicas en el receptor que en el donante.

Como se usa en el presente documento, "procesamiento" significa cualquier actividad realizada en un HCT/P, que no sea recuperación, cribado de donantes, pruebas de donantes, almacenamiento, etiquetado, envasado o distribución, tales como pruebas de microorganismos, preparación, esterilización, etapas para inactivar o eliminar agentes adventicios, conservación para el almacenamiento y eliminación del almacenamiento.

Como se usa en el presente documento, un "cultivo" se refiere al cultivo o crecimiento de células, por ejemplo, células de tejido, en o sobre un medio nutriente. Como es bien sabido por los expertos en la técnica del cultivo de células o tejidos, un cultivo celular generalmente se inicia mediante la eliminación de células o tejidos de un humano u otro animal, disociando las células al tratarlas con una enzima y extendiendo una suspensión de las células resultantes sobre una superficie plana, tal como el fondo de una placa de Petri. Allí, las células generalmente forman una capa delgada de células llamada "monocapa" al producir un material similar a la glicoproteína que hace que las células se adhieran al plástico o al vidrio de la placa de Petri. Luego se coloca una capa de medio de cultivo, que contiene nutrientes adecuados para el crecimiento celular, encima de la monocapa, y el cultivo se incuba para promover el crecimiento de las células.

Como se usa en el presente documento, "lámina" significa cualquier extensión o superficie continua. En algunas realizaciones, una lámina de la UCAM es plana. En algunas realizaciones, una lámina de la UCAM es tubular. La lámina puede tener cualquier forma. En algunas realizaciones, la lámina es un cuadrado, círculo, triángulo o rectángulo.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se usa para referirse a cualquier animal, preferiblemente un mamífero, incluido un humano o no humano. Los términos paciente, sujeto e individuo se usan indistintamente. Ninguno de los términos debe interpretarse en el sentido de que requiere la supervisión de un profesional médico (por ejemplo, un médico, una enfermera, un asistente médico, un trabajador de cuidados paliativos o de un hospicio).

"Sustancialmente aislada" o "aislada" cuando se usa en el contexto de la UCAM significa que la UCAM está separada de la mayoría de los otros materiales diferentes a la UCAM (por ejemplo, glóbulos rojos, vasos sanguíneos y arterias) derivados del organismo fuente original.

Los términos "tratar", "que trata" o "tratamiento", como se usan en el presente documento, incluyen aliviar, mitigar o mejorar los síntomas de una enfermedad o condición, prevenir síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o condición, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o condición, aliviar la enfermedad o condición, provocar la regresión de la enfermedad o condición, aliviar una condición causada por la enfermedad o condición, o detener los síntomas de la enfermedad o condición, ya sea profilácticamente y/o terapéuticamente.

Como se usa en este documento, los términos "duradero" y "fuerte" significan que la UCAM es un material elástico con mayor resistencia elástica, mayor rigidez, mayor fuerza de tracción, mayor resistencia a la tensión y mayor resistencia a la extracción de sutura que la membrana amniótica placentaria (PAM).

Como se usa en el presente documento, la frase "en la que la integridad biológica y estructural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente" significa que, en comparación con la actividad biológica y la integridad estructural de la UCAM fresca, la actividad biológica y la integridad estructural de la UCAM aislada ha disminuido solamente en aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%.

El término "UCAM fresca" se refiere a la UCAM que tiene menos de 10 días de edad después del nacimiento, y que tiene sustancialmente la misma forma que tenía después del nacimiento.

Como se usa en el presente documento, "actividad biológica" significa la actividad de polipéptidos y polisacáridos. En algunas realizaciones, la actividad de polipéptidos y polisacáridos encontrados en la UCAM (y la UCAM aislada) es antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica o antiadhesiva. En algunas realizaciones, la actividad de polipéptidos y polisacáridos que se encuentra en la promoción de la cicatrización de heridas por UCAM (y la UCAM aislada).

Como se usa en este documento, "integridad estructural" significa la integridad del estroma y la membrana basal que conforman la UCAM. En algunas realizaciones, la integridad estructural de la UCAM da como resultado una resistencia

a la extracción de la sutura.

El cordón umbilical

En los mamíferos placentarios, el cordón umbilical (el CU; es decir, el *funiculus umbilicalis*) conecta el feto en desarrollo con la placenta. El cordón umbilical está compuesto de membrana amniótica (UCAM) y Gelatina de Wharton. La UCAM funciona para regular la presión del fluido dentro del UC. Para una vista en sección transversal de un cordón umbilical, véase la Figura 1.

Como se usa en el presente documento, "Gelatina de Wharton" significa una sustancia gelatinosa dentro del cordón umbilical, en gran parte constituida por mucopolisacáridos (ácido hialurónico y sulfato de condroitina).

El cordón umbilical comprende además dos arterias (las arterias umbilicales) y una vena (la vena umbilical), incrustadas dentro de la gelatina de Wharton. En ciertos casos, una vena umbilical suministra sangre oxigenada de la placenta a un feto en desarrollo. En ciertos casos, una arteria umbilical devuelve sangre desoxigenada a la placenta.

AM del cordón umbilical (UCAM)

La UCAM es una membrana translúcida. La UCAM tiene múltiples capas: una capa epitelial, una membrana basal; una capa compacta; una capa de fibroblastos; y una capa esponjosa. Carece de vasos sanguíneos o de un suministro directo de sangre. UCAM carece de los antígenos inmunogénicos HLA-A, B o DR, lo que reduce el riesgo de rechazo de trasplantes. Además, UCAM es rica en IL-6, IL-8, EGF, TGF-α, KGF, HGF, bFGF, TGF-β1, TGF-β2, endotelina-1, leucotrienos, CA-1 y CA-2.

UCAM posee varias propiedades regenerativas. Reduce la inflamación, reduce la angiogénesis, reduce las cicatrices y reduce la adhesión. Además, la membrana basal de la UCAM sirve como un nicho natural para las células madre. Por lo tanto, las heridas cubiertas con productos de la UCAM a menudo muestran una mayor tasa de curación en comparación con las heridas cubiertas con un injerto de tejido hecho de materiales alternativos.

Como se muestra en la Figura 14, la UCAM contiene |α| (Inhibidor de inter-α-tripsina) y PTX-3. |α| es una proteína compuesta que contiene una cadena ligera (llamada inhibidor de tripsina urinaria [UTI] o bikunina) y dos cadenas pesadas que pueden unirse a HA. La Figura 14C también muestra que UCAM contiene una mayor concentración de PTX-3 que cualquier otro extracto que contenga UCAM. |α| y PTX-3 contribuyen a las propiedades antiinflamatorias, anticicatrizantes, antiangiogénicas y antiadhesivas de UCAM.

Como se muestra en la Figura 13, UCAM reduce la viabilidad de los macrófagos. En algunas realizaciones, UCAM reduce la viabilidad de los macrófagos al reducir los filamentos de actina, disminuir la secreción de TNF-α e IL-6, aumentar la secreción de IL-10, suprimir la activación de los macrófagos e inducir la apoptosis en los macrófagos. En algunas realizaciones, la reducción de la viabilidad de los macrófagos reduce la cicatrización y la inflamación.

La mayoría de la AM placentaria (PAM) es altamente elástica y delgada (por ejemplo, de aproximadamente 75 micras de espesor). La PAM que se encuentra adyacente al cordón umbilical es duradera y fuerte; desafortunadamente, esta área es extremadamente pequeña. La UCAM es más fuerte, más gruesa (aproximadamente 300 a aproximadamente 1500 micras de grosor), más flexible, más conformable y menos elástica que la AM que se encuentra en otros lugares (por ejemplo, PAM), lo que la hace más duradera y, por lo tanto, útil para complementar el tejido (por ejemplo, epidermis y tejido blando).

De manera problemática, UCAM es altamente inaccesible debido a su fuerte asociación con la Gelatina de Wharton y la curvatura del cordón umbilical. Además, UCAM contiene cantidades significativas de glóbulos rojos que resultan en injertos de tejido cosméticamente indeseables. Los inventores han resuelto los problemas antes mencionados asociados con la UCAM mediante la formulación de protocolos precisos que permiten hacer injertos de tejido útiles a partir de este material previamente inutilizable.

Generación de láminas planas de UCAM

En este documento se describe una lámina de la UCAM plana, que comprende: una UCAM aislada que no comprende una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo, en el que la integridad estructural natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial. En algunos casos, la integridad biológica y estructural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 20 días, o al menos 25 días, o al menos 30 días, o al menos 35 días, o al menos 40 días, o al menos 45 días, o al menos 50 días, o al menos 55 días, o al menos 60 días después de la adquisición inicial.

Además, se describe en el presente documento un método para producir una lámina de la UCAM plana, que comprende: obtener un cordón umbilical previamente congelado y separar la UCAM de la vena umbilical y las arterias

umbilicales y al menos una porción de la Gelatina de Wharton, en la que la integridad estructural del producto de la UCAM se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la adquisición inicial. En algunos casos, la integridad biológica y estructural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 20 días, o al menos 25 días, o al menos 30 días, o al menos 35 días, o al menos 40 días, o al menos 45 días, o al menos 50 días, o al menos 55 días, o al menos 60 días después de la adquisición inicial.

El cordón umbilical se recupera de cualquier fuente adecuada (por ejemplo, un hospital o banco de tejidos). El cordón umbilical se puede obtener de cualquier mamífero, tal como un primate humano, no humano, vacas o cerdos.

Se mantiene a -80 °C hasta que se determine la elegibilidad del donante y la muestra. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C puede matar sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical. En algunos casos, el almacenamiento del cordón umbilical a -80 °C mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical al tiempo que mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatorias, anticicatrizantes, antiantigénicas y antiadhesivas) en relación con UCAM fresca (es decir, no congelada). En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C resulta en la pérdida de actividad metabólica en sustancialmente todas las células encontradas en el cordón umbilical. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C da como resultado la pérdida de actividad metabólica en sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical mientras se mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatorias, anticicatrizantes , antiantigénicas y antiadhesivas) en relación con la UCAM fresca (es decir, no congelada). En algunos casos, el cordón umbilical se seca. En algunos casos, secar el cordón umbilical mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical.
El secado del cordón umbilical puede provocar la pérdida de actividad metabólica en prácticamente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical.

Procesamiento inicial del UC

Todo el procesamiento se realiza de acuerdo con las Buenas Prácticas de Tejidos (GTP) para asegurar que no se introduzcan contaminantes en los productos de la UCAM.

El cordón umbilical se prueba para HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y *treponema pallidum* usando la prueba de cribado con licencia de la FDA. Cualquier indicación de que el tejido está contaminado con HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental o citomegalovirus da como resultado una cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

Además, se examinan los registros médicos del donante en busca de factores de riesgo y evidencia clínica de hepatitis B, hepatitis C o infección por HIV. Cualquier indicación de que el donante tiene factores de riesgo y/o evidencia clínica de infección por HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y *treponema pallidum* da como resultado la cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

El cordón umbilical se congela.

En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del UC. En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del cordón umbilical antes de que el cordón umbilical se congele. En los casos en que será visible un injerto de tejido (por ejemplo, un injerto epidérmico deseable cosméticamente), se elimina sustancialmente toda la sangre del cordón umbilical (por ejemplo, de las arterias y venas que se encuentran en el UC). En algunos casos, no se extrae sangre del UC. En algunos casos, no se extrae sangre del cordón umbilical antes de que el cordón umbilical se congele. En algunos casos, en los que un injerto de tejido no será visible (por ejemplo, el injerto de tejido se aplica a un órgano interno), la sangre no se extrae del UC.

En algunos casos, el tejido del cordón umbilical se lava con tampón con agitación para eliminar el exceso de sangre y tejido. En algunos casos, lavar con agitación reduce el tiempo de lavado.

En algunos casos, el cordón umbilical se lava con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se lava con solución salina, PBS, PBS 1X, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, solución de Ringer, solución de Hartmann, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, DMEM, EMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, el cordón umbilical se corta en múltiples secciones (por ejemplo, usando un bisturí). El tamaño de las secciones depende del uso deseado del producto (por ejemplo, injerto de tejido) derivado del cordón umbilical.

Método de procesamiento 1 para aislar UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de la Gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio

de cultivo de tejidos.

El cordón umbilical puede ponerse en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.
En algunos casos, una sección del cordón umbilical se corta longitudinalmente (por ejemplo, usando un bisturí o unas tijeras). En algunos casos, la sección del cordón umbilical no se corta en mitades. En algunos casos, la sección del cordón umbilical se corta en dos mitades. Opcionalmente, se realizan cortes adicionales en gelatina de Wharton para ayudar a aplanar el UC.

En algunos casos, el tejido cortado del cordón umbilical se lava opcionalmente nuevamente con tampón para eliminar adicionalmente el exceso de sangre y tejido.

En algunos casos, el cordón umbilical se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un paño). En algunos casos, el cordón umbilical se orientado de manera que la cara interna del cordón umbilical (por ejemplo, la cara que comprende la gelatina de Wharton) esté mirando hacia arriba mientras la cara exterior (es decir, la cara que comprende la UCAM) está mirando hacia el sustrato. Opcionalmente, un extremo del cordón umbilical se deja libre (véase la Figura 3b). Alternativamente, ambos extremos del cordón umbilical pueden dejarse libres.

Si el cordón umbilical no queda plano contra el sustrato, se pueden hacer cortes adicionales en la gelatina de Wharton.

En algunos casos, parte o la totalidad de la gelatina de Wharton se elimina de la UCAM. El grosor deseado del injerto de tejido determina la cantidad de gelatina de Wharton que se elimina. En algunos casos, la gelatina de Wharton se desprende del cordón umbilical en capas (por ejemplo, usando un juego de pinzas, pinzas hemostáticas). En algunos casos, la gelatina de Wharton se corta (por ejemplo, se afeita) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, se utiliza un Rotoblator (es decir, un catéter conectado a un taladro con una fresa con recubrimiento de diamante) para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se aplica un líquido a alta presión para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un cepillo para eliminar la gelatina de Wharton (por ejemplo, un cepillo mecanizado que gira a alta velocidad). En algunos casos, la UCAM se recupera utilizando un dermatoma quirúrgico.

En algunos casos, ambos extremos del cordón umbilical están unidos al sustrato. En algunos casos, solo un extremo está unido al sustrato. Véase la Figura 3b. Si un extremo del cordón umbilical se deja libre, se sujeta el extremo libre del cordón umbilical (por ejemplo, con una pinza, pinzas hemostáticas o un juego de pinzas (por ejemplo, pinzas de punta ancha dentada)) mientras se elimina parte o la totalidad de la gelatina de Wharton.

El cordón umbilical comprende dos arterias (las arterias umbilicales) y una vena (la vena umbilical). En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan del cordón umbilical. En ciertos casos, la vena y las arterias están rodeadas (o suspendidas o incrustadas) dentro de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan simultáneamente con la eliminación de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se desprenden (o arrancan) del cordón umbilical (por ejemplo, usando un juego de pinzas). En algunos casos, la vena y las arterias se cortan (por ejemplo, se afeitan) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, un Rotoblator elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un removedor de venas para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un líquido a alta presión elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un cepillo elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un dermatoma quirúrgico elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Método de procesamiento 2 para aislar la UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de la gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, el cordón umbilical completo se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un

paño). En algunos casos, la UCAM se extrae directamente del cordón umbilical tubular. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical utilizando cualquier método adecuado. En algunos casos, la UCAM se rasura del cordón umbilical con una afeitadora o un dermatoma quirúrgico.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Procesamiento para generar láminas planas de UCAM

En algunos casos, la UCAM se usa para generar láminas planas de UCAM. En algunos casos, las láminas tienen cualquier forma adecuada (por ejemplo, un cuadrado, un círculo, un triángulo, un rectángulo).

El tamaño de la lámina de la UCAM depende del uso deseado de la lámina de UCAM. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1,0 cm x aproximadamente 0,25 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1,0 cm x aproximadamente 0,5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1,0 cm x aproximadamente 0,75 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 1 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 2 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 3 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 4 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 1 cm x aproximadamente 6 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 2 cm x aproximadamente 2 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 2 cm x aproximadamente 3 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 2 cm x aproximadamente 4 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 2 cm x aproximadamente 5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 2 cm x aproximadamente 6 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 3 cm x aproximadamente 3 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 3 cm x aproximadamente 4 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 3 cm x aproximadamente 5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 3 cm x aproximadamente 6 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 4 cm x aproximadamente 4 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 4 cm x aproximadamente 5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 4 cm x aproximadamente 6 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 5 cm x aproximadamente 5 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones que miden aproximadamente 5 cm x aproximadamente 6 cm. En algunos casos, la UCAM se divide en secciones de aproximadamente 6 cm x aproximadamente 6 cm.

En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón para eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos restantes. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón isotónico. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, DMEM, EMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón para eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos restantes. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con el tampón bajo agitación para eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos restantes. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón durante 10 minutos, durante 15 minutos, durante 20 minutos, durante 25 minutos, durante 30 minutos, durante 35 minutos, durante 40 minutos, durante 45 minutos, durante 50 minutos, durante 55 minutos, durante 60 minutos, durante 2 horas, durante 3 horas, durante 4 horas, durante 5 horas, durante 6 horas, durante 10 horas, durante 12 horas, durante 18 horas, durante 24 horas, durante 2 días, durante 3 días, durante 4 días, durante 5 días, durante 6 días o durante 7 días.

En algunos casos, el tampón se cambia opcionalmente durante el contacto (por ejemplo, cuando disminuye la velocidad a la que los glóbulos rojos se difunden desde las láminas de UCAM). En algunos casos, se agrega un agitador magnético durante el contacto. En algunos casos, agregar (y activar) un agitador magnético aumenta la velocidad a la que los glóbulos rojos se difunden desde las láminas de UCAM.

Generación de láminas tubulares de UCAM

En el presente documento se describe, en algunos casos, una lámina tubular de UCAM, que comprende: una UCAM aislada que no comprende una vena o una arteria, una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo, en el que la integridad estructural natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la adquisición inicial. En algunos casos, la integridad biológica y estructural de la UCAM aislada se conserva

sustancialmente durante al menos 20 días, durante al menos 25 días o durante al menos 30 días después de la adquisición inicial. En algunos casos, la integridad biológica y estructural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 35 días, durante al menos 40 días, durante al menos 50 días, durante al menos 55 días o durante al menos 60 días después de la adquisición inicial.

Se describe adicionalmente en el presente documento, un método para producir una lámina tubular de UCAM, que comprende: obtener un cordón umbilical previamente congelado y separar la UCAM de la vena umbilical y las arterias umbilicales y al menos una porción de la gelatina de Wharton, en la que la integridad estructural del producto de la UCAM se conserva sustancialmente durante al menos 15 días, durante al menos 20 días, durante al menos 25 días, durante al menos 30 días, durante al menos 35 días, durante al menos 40 días, durante al menos 45 días, durante al menos 50 días, durante al menos 55 días, durante al menos 60 días después de la adquisición inicial.

El cordón umbilical se recupera de cualquier fuente adecuada (por ejemplo, un hospital o banco de tejidos). El cordón umbilical se puede obtener de cualquier mamífero, tal como un primate humano, no humano, vacas o cerdos.

Se mantiene a -80 °C hasta que se determine la elegibilidad del donante y la muestra. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical. En algunos casos, el almacenamiento del cordón umbilical a -80 °C mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical al tiempo que mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatorias, anticicatrizantes, antigénicas y antiadhesivas) en relación con la UCAM fresca (es decir, no congelada) y la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatorias, anticicatrizantes, antiantigénicas y antiadhesivas). En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C resulta en la pérdida de actividad metabólica en sustancialmente todas las células encontradas en el cordón umbilical. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C resulta en la pérdida de la actividad metabólica en sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical mientras se mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva) en relación con la UCAM fresca (es decir, no congelada) y la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva). En algunos casos, el cordón umbilical se seca. En algunos casos, secar el cordón umbilical mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical. En algunos casos, el cordón umbilical se seca. En algunos casos, secar el cordón umbilical provoca la pérdida de actividad metabólica en prácticamente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical.

Procesamiento inicial del UC

Todo el procesamiento se realiza siguiendo las Buenas Prácticas de Tejido (GTP) para asegurar que no se introduzcan contaminantes en los injertos de tejido o UCAM.

El cordón umbilical se prueba para HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y *treponema pallidum* usando la prueba de cribado con licencia de la FDA. Cualquier indicación de que el tejido está contaminado con HIV-1, HIV-2, HTLV-1 y hepatitis B y C da como resultado la cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

Además, se examinan los registros médicos del donante en busca de factores de riesgo y evidencia clínica de hepatitis B, hepatitis C o infección por HIV. Cualquier indicación de que el donante tiene factores de riesgo y/o evidencia clínica de infección por HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y el *treponema pallidum* produce la cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

El cordón umbilical está congelado.

En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del UC. En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del cordón umbilical antes de que el cordón umbilical se congele. En algunos casos, la sangre no se elimina del UC. En algunos casos, no se elimina sangre del cordón umbilical antes de que el cordón umbilical se congele.

En algunos casos, el tejido del cordón umbilical se lava con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido. En algunos casos, el cordón umbilical se lava con un tampón isotónico. En algunos casos, el cordón umbilical se lava con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, DMEM, EMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, el cordón umbilical se lava con un tampón durante 15 segundos, durante 30 segundos, durante 45 segundos, durante menos de 1 minuto, o durante 1 minuto para eliminar el exceso de sangre y tejido. En algunos casos, el cordón umbilical se lava con un tampón durante 2 minutos, durante 3 minutos, durante 4 minutos o durante

5 minutos.

En algunos casos, el cordón umbilical se corta en múltiples secciones tubulares (por ejemplo, usando un bisturí). El tamaño de cada sección tubular depende del uso deseado del producto (por ejemplo, injerto de tejido) derivado del cordón umbilical.

Método de procesamiento 1 para aislar UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, una sección del cordón umbilical se corta luego longitudinalmente (por ejemplo, usando un bisturí o unas tijeras). En algunos casos, la sección del cordón umbilical no se corta en mitades. En algunos casos, la sección del cordón umbilical se corta en dos mitades. Opcionalmente, en algunos casos, se realizan cortes adicionales en la gelatina de Wharton para ayudar a aplanar el UC.

En algunos casos, el tejido cortado del cordón umbilical se lava opcionalmente nuevamente con tampón para eliminar adicionalmente el exceso de sangre y tejido.

En algunos casos, el cordón umbilical se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un paño). En algunos casos, el cordón umbilical está orientado de manera que la cara interna del cordón umbilical (por ejemplo, la cara que comprende la gelatina de Wharton) esta mirando hacia arriba mientras la cara exterior (es decir, la cara que comprende la UCAM) está mirando hacia el sustrato. Opcionalmente, en algunos casos, un extremo del cordón umbilical se deja libre (véase la Figura 3b). Alternativamente, en algunos casos, ambos extremos del cordón umbilical se dejan libres.

Si el cordón umbilical no queda plano contra el sustrato, en algunos casos, se realizan cortes adicionales en la gelatina de Wharton.

En algunos casos, parte o la totalidad de la gelatina de Wharton se elimina de la UCAM. El grosor deseado del injerto de tejido determina la cantidad de gelatina de Wharton que se elimina. En algunos casos, la gelatina de Wharton se desprende del cordón umbilical en capas (por ejemplo, usando un juego de pinzas, pinzas hemostáticas). En algunos casos, la gelatina de Wharton se corta (por ejemplo, se afeita) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, se utiliza un Rotoblator (es decir, un catéter conectado a un taladro con una fresa con recubrimiento de diamante) para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se aplica un líquido a alta presión para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un cepillo para eliminar la gelatina de Wharton (por ejemplo, un cepillo mecanizado que gira a alta velocidad). En algunos casos, la UCAM se recupera utilizando un dermatoma quirúrgico.

En algunos casos, ambos extremos del cordón umbilical están unidos al sustrato. En algunos casos, solo un extremo está unido al sustrato. Véase la Figura 3b. Si un extremo del cordón umbilical se deja libre, en algunos casos, se sujeta el extremo libre del cordón umbilical (por ejemplo, con una pinza, pinzas hemostáticas o un juego de pinzas (por ejemplo, pinzas de punta ancha y dentada)) mientras que se elimina parte o la totalidad de la gelatina de Wharton.

El cordón umbilical comprende dos arterias (las arterias umbilicales) y una vena (la vena umbilical). En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan del cordón umbilical. En ciertos casos, la vena y las arterias están rodeadas (o suspendidas o incrustadas) dentro de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan simultáneamente con la eliminación de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se desprenden (o arrancan) del cordón umbilical (por ejemplo, usando un juego de pinzas). En algunos casos, la vena y las arterias se cortan (por ejemplo, se afeitan) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, un Rotoblator elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un removedor de venas para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un líquido a alta presión elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un cepillo elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un dermatoma quirúrgico elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Método de procesamiento 2 para aislar UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de Gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.
En algunos casos, el cordón umbilical completo se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un paño). En algunos casos, la UCAM se elimina directamente de la UCAM tubular. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical utilizando cualquier método adecuado. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical usando una afeitadora (por ejemplo, una cortadora de queso) o un dermatoma quirúrgico.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Procesamiento para generar láminas tubulares de UCAM

El tamaño de las láminas depende del uso deseado del producto de la UCAM.

En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón para eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos restantes. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón isotónico. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, DMEM, EMEM, GMEM, RPMI o con EBSS.

En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón para eliminar sustancialmente todos los glóbulos rojos restantes. En algunos casos, las láminas de la UCAM se ponen en contacto con un tampón durante 10 minutos, durante 15 minutos, durante 20 minutos, durante 25 minutos, durante 30 minutos, durante 35 minutos, durante 40 minutos, durante 45 minutos, durante 50 minutos, durante 55 minutos, durante 60 minutos, durante 2 horas, durante 3 horas, durante 4 horas, durante 5 horas, durante 6 horas, durante 10 horas, durante 12 horas, durante 18 horas, durante 24 horas, durante 2 días, durante 3 días, durante 4 días, durante 5 días, durante 6 días, durante 7 días. En algunos casos, el tampón se cambia opcionalmente durante el contacto (por ejemplo, cuando disminuye la velocidad a la que los glóbulos rojos se difunden desde las láminas de UCAM).

Generación de producto pulverizado de la UCAM

Se describe en este documento un producto pulverizado de la UCAM, que comprende: una UCAM aislada que no comprende una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, Virus activo del Nilo Occidental, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo, en el que la actividad biológica natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM no comprende las venas umbilicales o la arteria umbilical, o la gelatina de Wharton. En algunos casos, la integridad biológica de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 20 días, durante al menos 25 días, durante al menos 30 días, durante al menos 35 días, durante al menos 40 días, durante al menos 45 días, durante al menos 50 días, durante al menos 55 días o durante al menos 60 días después de la adquisición inicial.

Se describe adicionalmente en el presente documento un método para producir un producto pulverizado de la UCAM, que comprende: obtener un cordón umbilical previamente congelado, en el que la integridad biológica del producto de la UCAM se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial. En algunos casos, el método comprende además separar la UCAM de la vena umbilical y la arteria umbilical. En algunos casos, el método comprende además separar la UCAM de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la integridad biológica de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 20 días, durante al menos 25 días, durante al menos 30 días, durante al menos 35 días, durante al menos 40 días, durante al menos 45 días, durante al menos 50 días, durante al menos 55 días, o durante al menos 60 días después de la adquisición inicial.

El cordón umbilical se recupera de cualquier fuente adecuada (por ejemplo, un hospital o banco de tejidos). El cordón umbilical se puede obtener de cualquier mamífero, tal como un primate humano, no humano, vacas o cerdos.

Se mantiene a -80 °C hasta que se determina la elegibilidad del donante y la muestra. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical. En algunos casos, el almacenamiento del cordón umbilical a -80 °C mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical al tiempo que mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo,

sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva) en relación con la UCAM fresca (es decir, no congelada) y la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva). En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C resulta en la pérdida de actividad metabólica en sustancialmente todas las células encontradas en el cordón umbilical. En algunos casos, almacenar el cordón umbilical a -80 °C resulta en la pérdida de la actividad metabólica en sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical mientras se mantiene o aumenta la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva) en relación con la UCAM fresca (es decir, no congelada) y la actividad biológica de la UCAM (por ejemplo, sus propiedades antiinflamatoria, anticicatrizante, antiantigénica y antiadhesiva)) En algunos casos, el cordón umbilical se seca. En algunos casos, secar el cordón umbilical mata sustancialmente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical. En algunos casos, el cordón umbilical se seca. En algunos casos, secar el cordón umbilical provoca la pérdida de actividad metabólica en prácticamente todas las células que se encuentran en el cordón umbilical.

Procesamiento inicial del UC

Todo el procesamiento se realiza siguiendo las Buenas Prácticas de Tejidos (GTP) para asegurar que no se introduzcan contaminantes en los productos de la UCAM.

El cordón umbilical se prueba para HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y *treponema pallidum* usando la prueba de cribado con licencia de la FDA. Cualquier indicación de que el tejido está contaminado con HIV-1, HIV-2, HTLV-1 y hepatitis B y C da como resultado la cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

Además, se examinan los registros médicos del donante en busca de factores de riesgo y evidencia clínica de hepatitis B, hepatitis C o infección por HIV. Cualquier indicación de que el donante tiene factores de riesgo y/o evidencia clínica de infección por HIV-1, HIV-2, HTLV-1, hepatitis B y C, virus del Nilo Occidental, citomegalovirus, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos (por ejemplo, Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) y *treponema pallidum* produce la cuarentena inmediata y la posterior destrucción de la muestra de tejido.

El cordón umbilical se congela.

En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del UC. En algunos casos, se elimina sustancialmente toda la sangre del cordón umbilical antes de que el cordón umbilical se congele.

En algunos casos, el tejido del cordón umbilical se lava con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

En algunos casos, el cordón umbilical se lava con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunas realizaciones, el cordón umbilical se lava con solución salina. En algunas realizaciones, el cordón umbilical se lava con PBS, PBS 1X, una solución salina tamponada con TRIS, una solución salina tamponada con HEPES, solución de Ringer, solución de Hartmann, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución de sal equilibrada de Gey, DMEM, EMEM, GMEM, o con RPMI.

En algunos casos, el cordón umbilical se corta en múltiples secciones (por ejemplo, usando un bisturí). El tamaño de las secciones depende del uso deseado del producto (por ejemplo, un producto de la UCAM) derivado del cordón umbilical.

Método de procesamiento 1 para aislar UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, una sección del cordón umbilical se corta longitudinalmente (por ejemplo, usando un bisturí o unas tijeras). En algunos casos, la sección del cordón umbilical no se corta en mitades. En algunos casos, la sección del cordón umbilical se corta en dos mitades. Opcionalmente, en algunos casos, se realizan cortes adicionales en la gelatina de Wharton para ayudar a aplanar el UC.

En algunos casos, el tejido cortado del cordón umbilical se lava opcionalmente nuevamente con tampón para eliminar aún más el exceso de sangre y tejido.

En algunos casos, el cordón umbilical se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En

algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un paño). En algunos casos, el cordón umbilical está orientado de manera que la cara interna del cordón umbilical (por ejemplo, la cara que comprende la gelatina de Wharton) esta mirando hacia arriba mientras la cara exterior (es decir, la cara que comprende la UCAM) está mirando hacia el sustrato. Opcionalmente, en algunos casos, un extremo del cordón umbilical se deja libre (véase la Figura 3b). Alternativamente, en algunos casos, ambos extremos del cordón umbilical se dejan libres.

Si el cordón umbilical no queda plano contra el sustrato, en algunos casos, se hacen cortes adicionales en la gelatina de Wharton.

En algunos casos, parte o la totalidad de la gelatina de Wharton se elimina de la UCAM. El grosor deseado del injerto de tejido determina la cantidad de gelatina de Wharton que se elimina. En algunos casos, la gelatina de Wharton se desprende del cordón umbilical en capas (por ejemplo, usando un juego de pinzas, pinzas hemostáticas). En algunos casos, la gelatina de Wharton se corta (por ejemplo, se afeita) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, se utiliza un Rotoblator (es decir, un catéter conectado a un taladro con una fresa con recubrimiento de diamante) para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se aplica un líquido a alta presión para eliminar la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un cepillo para eliminar la gelatina de Wharton (por ejemplo, un cepillo mecanizado que gira a alta velocidad). En algunos casos, la UCAM se recupera utilizando un dermatoma quirúrgico.

En algunos casos, ambos extremos del cordón umbilical están unidos al sustrato. En algunos casos, solo un extremo está unido al sustrato. Véase la Figura 3b. Si un extremo del cordón umbilical se deja libre, en algunos casos, se sujeta el extremo libre del cordón umbilical (por ejemplo, con una pinza, pinzas hemostáticas o un juego de pinzas (por ejemplo, pinzas de punta ancha y dentada)) mientras se elimina parte o la totalidad de la gelatina de Wharton.

El cordón umbilical comprende dos arterias (las arterias umbilicales) y una vena (la vena umbilical). En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan del cordón umbilical. En ciertos casos, la vena y las arterias están rodeadas (o suspendidas o incrustadas) dentro de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se eliminan simultáneamente con la eliminación de la gelatina de Wharton. En algunos casos, la vena y las arterias se desprenden (o arrancan) del cordón umbilical (por ejemplo, usando un juego de pinzas). En algunos casos, la vena y las arterias se cortan (por ejemplo, se afeitan) del cordón umbilical en secciones. En algunos casos, un Rotoblator elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza una máquina de liposucción para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, se utiliza un removedor de venas para eliminar la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un líquido a alta presión elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un cepillo elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton. En algunos casos, un dermatoma quirúrgico elimina la vena y las arterias simultáneamente con la gelatina de Wharton.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Método de procesamiento 2 para aislar UCAM

En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón para facilitar la separación de la gelatina de Wharton y la UCAM. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con un tampón isotónico o medio de cultivo de tejidos. En algunos casos, el cordón umbilical se pone en contacto con solución salina, PBS, PBS 1X, solución de Ringer, solución de Hartmann, solución salina tamponada con TRIS, solución salina tamponada con HEPES, EBSS, HBSS, solución salina de Tyrode, solución salina equilibrada de Gey, EMEM, DMEM, GMEM o con RPMI.

En algunos casos, el cordón umbilical completo se sujeta a un sustrato (por ejemplo, una placa de espuma de poliestireno) usando cualquier método adecuado (por ejemplo, se sujeta con agujas o alfileres (por ejemplo, alfileres en T)). En algunos casos, el cordón umbilical se estabiliza con un sustrato (por ejemplo, una toalla absorbente, un paño). En algunos casos, la UCAM se elimina directamente de la UCAM tubular. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical utilizando cualquier método adecuado. En algunos casos, la UCAM se afeita del cordón umbilical usando una afeitadora (por ejemplo, una cortadora de queso) o un dermatoma quirúrgico.

Después de obtener la UCAM sustancialmente pura, la UCAM se lava opcionalmente con tampón para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Procesamiento para generar un producto pulverizado de la UCAM

La UCAM aislada se utiliza para generar un producto pulverizado de la UCAM. Como se usa en el presente documento, "producto pulverizado de la UCAM" significa un producto de la UCAM que comprende tejido que se ha roto (o disociado). En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM es un homogeneizado. En algunos casos, el

producto pulverizado de la UCAM es un polvo seco. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM es una solución, suspensión o emulsión formada al mezclar el polvo de la UCAM con un portador. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM se formula en una crema, loción, ungüento, pasta, gel, película o pintura. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM se pone en contacto con un parche o apósito para heridas.

En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza por cualquier método adecuado. En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza mediante el uso de un pulverizador (por ejemplo, un pulverizador de tejido Bessman o un Covaris CryoPrep). En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza mediante el uso de un molino de tejido (por ejemplo, un molino Potter-Elvehjem o un agitador Wheaton en la parte superior). En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza mediante el uso de un sonicador. En algunos casos, la UCAM aislado se pulveriza mediante el uso de un batidor con perlas. En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza mediante el uso de un congelador/molino (por ejemplo, un congelador/molino SPEX SamplePrep). En algunos casos, la UCAM aislado se pulveriza mediante el uso de un mortero con mano. En algunos casos, la UCAM aislada se pulveriza mediante el uso manual de un mortero con mano.

En algunos casos, la UCAM aislada se liofiliza opcionalmente antes de pulverizarse. En algunos casos, la UCAM aislada se liofiliza por cualquier método adecuado (por ejemplo, exposición a un gas líquido, colocación en un congelador). En algunos casos, la UCAM aislada se coloca en la cámara de vacío de un dispositivo de liofilización hasta que se haya eliminado todo o sustancialmente todo el fluido (por ejemplo, agua). En algunos casos, la UCAM aislada se liofiliza después de la congelación (por ejemplo, exposición a una temperatura por debajo de 0 °C, -20 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C, -75 °C, -80 °C, -90 °C, -100 °C).

Almacenamiento de la UCAM y/o de productos de la UCAM

En algunos casos, un producto de la UCAM o un producto de la UCAM divulgado en el presente documento se almacena para uso posterior. En algunos casos, almacenar un producto de la UCAM o un producto de la UCAM divulgado en el presente documento no destruye la integridad de la matriz extracelular de la UCAM. En algunos casos, el producto de la UCAM se pulveriza. En algunos casos, se liofiliza la UCAM o un producto de la UCAM. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se almacena en cualquier medio de almacenamiento adecuado. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se almacena en 50% de DMEM + 50% de Glicerol. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se almacena en 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de glicerol. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se almacena en 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de propilenglicol.

En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se pone en contacto opcionalmente con un sustrato (es decir, un respaldo de soporte). En algunos casos, la UCAM no se pone en contacto con un sustrato. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM está orientado de modo que la UCAM esta en contacto con el sustrato. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM está orientado de manera que el estroma esta en contacto con el sustrato. En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se orienta de modo que el lado epitelial esta en contacto con el sustrato.

En algunos casos, la UCAM aislada o un producto de la UCAM se une al sustrato. En algunos casos, el sustrato es papel de nitrocelulosa (NC). En algunos casos, el sustrato es una membrana de nailon (NM). En algunos casos, el sustrato es una membrana de polietersulfona (PES).

Crioconservación

En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se congela para la crioconservación. En algunos casos, la crioconservación de un producto de la UCAM o un producto de la UCAM divulgado en el presente documento no destruye la integridad de la matriz extracelular de la UCAM. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se expone a un gas líquido (por ejemplo, nitrógeno líquido o hidrógeno líquido). En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM está expuesto a nitrógeno líquido. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM no entra en contacto con el gas líquido. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM aislado se coloca en un recipiente y el recipiente se pone en contacto con gas líquido. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se expone al gas líquido hasta que el producto de la UCAM o la UCAM se congela.

Liofilización

En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se liofiliza. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se liofiliza después de la congelación. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se liofiliza después de la congelación por cualquier método adecuado (por ejemplo, exposición a un gas líquido, colocación en un congelador). En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se congela por exposición a una temperatura inferior a aproximadamente 0 °C. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se congela por exposición a una temperatura inferior a aproximadamente -20 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -40 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -50 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -60 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -70 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -75 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -80 °C, a una temperatura inferior a

aproximadamente -90 °C, a una temperatura inferior a aproximadamente -100 °C. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se congela por exposición a un gas líquido.

En algunos casos, la UCAM aislada crioconservada o el producto de la UCAM se liofiliza. En algunos casos, la UCAM aislada crioconservada o el producto de la UCAM se coloca en la cámara de vacío de un dispositivo de liofilización hasta que se haya eliminado todo o sustancialmente todo el fluido (por ejemplo, agua).

Esterilización

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento está sujeto a esterilización terminal por cualquier método adecuado (por ejemplo, médicamente aceptable). En algunos casos, la UCAM liofilizada o el producto de la UCAM se expone a radiación gamma durante un período de tiempo suficiente para esterilizar la UCAM aislada o el producto de la UCAM. En algunos casos, la UCAM liofilizada o el producto de la UCAM se expone a radiación gamma a 25 KGy durante un período de tiempo suficiente para esterilizar la UCAM aislada o el producto de la UCAM. En algunos casos, la UCAM liofilizada o el producto de la UCAM se expone a un haz de electrones durante un período de tiempo suficiente para esterilizar la UCAM o el producto de la UCAM. En algunos casos, la UCAM liofilizada o el producto de la UCAM se expone a la radiación de rayos X durante un período de tiempo suficiente para esterilizar la UCAM o el producto de la UCAM. En algunos casos, la membrana liofilizada aislada o el producto de la UCAM se expone a la radiación UV durante un período de tiempo suficiente para esterilizar la UCAM o el producto de la UCAM.

Rehidratación

En algunos casos, la UCAM o el producto de la UCAM se rehidrata parcial o totalmente. En algunos casos, la UCAM aislada o el producto de la UCAM se rehidrata poniendo en contacto la UCAM aislada o el producto de la UCAM con un tampón o con agua. En algunos casos, la UCAM se pone en contacto con un tampón isotónico. En algunos casos, la UCAM se pone en contacto con solución salina. En algunos casos, la UCAM se pone en contacto con PBS, la solución de Ringer, la solución de Hartmann, una solución salina tamponada con TRIS. En algunos casos, la UCAM se pone en contacto con una solución salina tamponada con HEPES; 50% de DMEM + 50% de glicerol; 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de glicerol; y/o 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de propilenglicol.

En algunos casos, la UCAM se pone en contacto con un tampón durante 10 minutos, durante 15 minutos, durante 20 minutos, durante 25 minutos, durante 30 minutos, durante 35 minutos, durante 40 minutos, durante 45 minutos, durante 50 minutos, por 55 minutos, por 60 minutos, durante 2 horas, durante 3 horas, durante 4 horas, durante 5 horas, durante 6 horas, durante 10 horas, durante 12 horas, durante 18 horas o durante 24 horas.

Formulaciones de productos de la UCAM

En algunos casos, la UCAM pulverizada es una solución, suspensión o emulsión formada mezclando UCAM pulverizada con un portador. En algunos casos, la UCAM pulverizada es un homogeneizado. En algunos casos, la UCAM pulverizada es un polvo. En algunos casos, la UCAM pulverizada es un polvo reconstituido. En algunos casos, el producto de la UCAM está formulado para administración tópica.

Las formulaciones tópicas farmacéuticas descritas en el presente documento se formulan de cualquier manera adecuada. Se contempla cualquier técnica, portador y/o excipiente adecuados para usar con los antagonistas del receptor de LPA descritos en este documento.

Cremas y lociones

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica está en forma de una crema. En ciertos casos, las cremas son formulaciones semisólidas (por ejemplo, sólido blando o líquido espeso) que incluyen un producto de la UCAM disperso en una emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite.

En el presente documento se describe una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica está en forma de una loción. En ciertos casos, las lociones son emulsiones fluidas (por ejemplo, emulsiones de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite). En algunos casos, el componente hidrofóbico de una loción y/o crema se deriva de un animal (por ejemplo, lanolina, aceite de hígado de bacalao y ámbar gris), planta (por ejemplo, aceite de cártamo, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de menhaden, aceite de almendra de palma, aceite de palma, aceite de maní, aceite de soja, aceite de colza, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de pino, aceite de sésamo o aceite de semilla de girasol), o petróleo (por ejemplo, aceite mineral o vaselina).

Ungüentos

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación

tópica está en forma de una pomada. En ciertos casos, los ungüentos son preparaciones semisólidas que se ablandan o funden a la temperatura corporal.

Pastas

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica está en forma de una pasta. En ciertos casos, las pastas contienen al menos 20% de sólidos. En ciertos casos, las pastas son ungüentos que no fluyen a la temperatura corporal.

Geles y películas

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica está en forma de un gel. En ciertos casos, los geles son sistemas semisólidos (o semirrígidos) que consisten en dispersiones de grandes moléculas orgánicas dispersas en un líquido. En ciertos casos, los geles son solubles en agua y se eliminan con agua tibia o solución salina.

En ciertos casos, en el tratamiento de lesiones dérmicas, el contacto de las lesiones con un vendaje a menudo puede alterar los tejidos lesionados. La extracción de muchos apósitos para heridas, tales como lesiones superficiales por quemaduras, que involucran un área significativa de la piel puede causar un dolor significativo y, a menudo, puede volver a abrir al menos partes de heridas parcialmente curadas. En algunos casos, las formulaciones tópicas descritas en este documento se aplican como un líquido al área afectada y el líquido se gelifica como una película sobre el área afectada. En algunos casos, la película es una película soluble en agua y puede eliminarse con agua o un detergente acuoso suave, evitando el dolor y las molestias asociadas con la eliminación de los apósitos para heridas. En ciertos casos, la formulación tópica descrita en el presente documento es una película dérmica que comprende una película flexible hecha de una polialquiloxazolina. En algunos casos, la película tiene una capa estructural hecha de polialquiloxazolina y una capa adhesiva sensible a la presión que mantiene la película en su lugar.

Barras

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica está en forma de una barra. En ciertos casos, las barras son formas de dosificación sólidas que se derriten a la temperatura corporal. En algunos casos, una barra comprende una cera, un polímero, una resina, sólidos secos fusionados en una masa firme y/o cristales fusionados. En algunos casos, una formulación tópica de un producto de la UCAM tiene la forma de un lápiz hemostático (es decir, una barra preparada por (1) calentamiento de cristales hasta que pierden su agua de cristalización y se funden, y (2) vertimiento de los cristales fundidos en moldes y permitiendo que se endurezcan). En algunos casos, una formulación tópica de un producto de la UCAM está en forma de barra en la que la barra comprende una cera (por ejemplo, la cera se funde y se vierte en moldes apropiados en los que se solidifica en forma de barra).

En algunos casos, una formulación tópica de un producto de la UCAM está en forma de barra en la que la barra comprende una base de fusión (es decir, una base que se ablanda a la temperatura corporal). Los ejemplos de bases de fusión incluyen, pero no se limitan a, ceras, aceites, polímeros y geles. En algunos casos, una formulación tópica de un producto de la UCAM está en forma de barra en la que la barra comprende una base humectante (es decir, una base que se activa mediante la adición de humedad).

Parches

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica se administra a través de un parche. En algunos casos, una formulación tópica de la UCAM descrita en este documento se disuelve y/o dispersa en un polímero o un adhesivo. En algunos casos, una película, un parche divulgado en este documento está construido para la entrega continua, pulsátil o bajo demanda de un producto de la UCAM.

Apósitos para heridas

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica se administra con (o mediante) un apósito para heridas. Los apósitos para heridas incluyen, entre otros, gasas, apósitos de película transparente, hidrogeles, apósitos de espuma de poliuretano, hidrocoloides y alginatos. En ciertos casos, los apósitos para heridas promueven la cicatrización de heridas. En algunos casos, los apósitos para heridas reducen o inhiben la cicatrización aberrantes de heridas.

Formulaciones varias

En algunos casos, las formulaciones y composiciones descritas en el presente documento se administran como una pintura dérmica. Como se usa en el presente documento, las pinturas (también conocidas como formadores de película) son soluciones que comprenden un disolvente, un monómero o polímero, un agente activo y, opcionalmente,

uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Después de la aplicación a un tejido, el disolvente se evapora dejando un recubrimiento delgado compuesto por los monómeros o polímeros, y el agente activo. El recubrimiento protege a los agentes activos y los mantiene en un estado inmovilizado en el sitio de aplicación. Esto disminuye la cantidad de agente activo que puede perderse y, en consecuencia, aumenta la cantidad administrada al área afectada de la piel de un individuo. A modo de ejemplo no limitativo, las pinturas incluyen colodiones (por ejemplo, colodión flexible, USP) y soluciones que comprenden copolímeros de sacárido siloxano y un agente de entrecruzamiento. Los colodiones son soluciones de éter etílico/etanol que contienen piroxilina (una nitrocelulosa). Después de la aplicación, la solución de éter etílico/etanol se evapora dejando una película delgada de piroxilina. En soluciones que comprenden copolímeros de sacárido y siloxano, los copolímeros de sacárido y siloxano forman el revestimiento después de que la evaporación del disolvente inicia el entrecruzamiento de los copolímeros de sacárido y siloxano.
Las formulaciones tópicas descritas en el presente documento pueden comprender productos de la UCAM que se incorporan opcionalmente dentro de partículas de liberación controlada, complejos lipídicos, liposomas, nanopartículas, microesferas, micropartículas, nanocápsulas u otros agentes que mejoran o facilitan el suministro localizado a la piel. Un ejemplo de un proceso de microencapsulación convencional para preparaciones farmacéuticas se muestra en la patente de Estados Unidos No. 3.737.337.

En algunos casos, una formulación tópica descrita en el presente documento es una formulación liposomal. Los liposomas se preparan introduciendo un tampón acuoso en una mezcla de fosfolípidos y disolvente orgánico y el disolvente orgánico se elimina posteriormente por evaporación a presión reducida. Un ejemplo de una preparación liposomal se describe en Proc. Natl. Acad. Sci. 1978, 75, 4194-98.

Los liposomas se fraccionan de acuerdo con sus tamaños de partícula mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las subfracciones de los liposomas se clasifican adicionalmente por tamaño por espectroscopía de correlación de fotones (PCS) por sus tamaños de partículas. Los ensayos enzimáticos (por ejemplo, el análisis de fosfatidilcolina (PC)) se utilizan para analizar el contenido de lípidos de los liposomas.

Excipientes dermatológicos

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en el que la formulación tópica comprende un portador. Los portadores adecuados incluyen agua, hialuronano, colágeno, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, cremóforo y similares), aceites vegetales (tal como el aceite de oliva), ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo, oleato de etilo), aceites grasos (por ejemplo , aceite de sésamo) y ésteres sintéticos de ácidos grasos (por ejemplo, oleato de etilo o triglicéridos).

Potenciadores de penetración

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica comprende un potenciador de la penetración. Los potenciadores de penetración incluyen, pero no se limitan a, laurilsulfato de sodio, laurato de sodio, polioxietilen-20-cetiléter, laureth-9, dodecilsulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio, polioxietilen-9-lauriléter (PLE), Tween 80, nonilfenoxipolietileno (NP-POE), polisorbatos, glicocolato de sodio, desoxicolato de sodio, taurocolato de sodio, taurodihidrofusidato de sodio, glicodihidrofusidato de sodio, ácido oleico, ácido caprílico, mono y di-glicéridos, ácidos láuricos, acilcolinas, ácidos caprílicos, acilcarnitinas, capratos de sodio, EDTA, EDTA, ácido cítrico, salicilatos, DMSO, decilmetil sulfóxido, etanol, isopropanol, propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, propanodiol y dietilenglicol monoetil éter. Las formulaciones tópicas descritas en este documento pueden diseñarse para una exposición sistémica mínima e incluyen, por ejemplo, bajas cantidades de potenciadores de penetración.

Agentes gelificantes

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en la que la formulación tópica comprende un agente gelificante (o espesante). En algunos casos, una formulación tópica descrita en el presente documento comprende además de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5%, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 3%, o de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 2%, de un agente gelificante. En ciertos casos, la viscosidad de una formulación tópica descrita en este documento está en el intervalo de aproximadamente 100 a aproximadamente 500.000 cP, aproximadamente 100 cP a aproximadamente 1.000 cP, aproximadamente 500 cP a aproximadamente 1500 cP, aproximadamente 1.000 cP a aproximadamente 3.000 cP, aproximadamente 2.000 cP a aproximadamente 8.000 cP, aproximadamente 4.000 cP a aproximadamente 10.000 cP, aproximadamente 10.000 cP a aproximadamente 50.000 cP. Los agentes gelificantes adecuados para usar en la preparación de la formulación tópica en gel incluyen, pero no se limitan a, celulosas, derivados de celulosa, éteres de celulosa (por ejemplo, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropil celulosa, metilcelulosa), goma guar, goma de xantano, goma de algarrobo, alginatos (por ejemplo, ácido algínico), silicatos, almidón, tragacanto, polímeros de carboxivinilo, carragenano, parafina, vaselina, acacia (goma arábiga), agar, silicato de aluminio y magnesio, alginato de sodio, estearato de sodio, parche impregnado con extractos de algas, bentonita, carbómero, carragenano, carbopol, xantano, celulosa, celulosa microcristalina (MCC), ceratonia, condro, dextrosa, furcellarano, gelatina, goma Ghatti, goma guar, hectorita, lactosa, sacarosa, maltodextrina, manitol, sorbitol, miel, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata,

gelatina, goma de esterculia, polietilenglicol (por ejemplo PEG 200-4500), goma de tragacanto, etilcelulosa, etilhidroxietilcelulosa, etilmetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, poli(metacrilato de hidroxietilo), oxipoligelatina, pectina, poligelina, povidona, carbonato de propileno, copolímero de metilviniléter/anhídrido maleico (PVM/MA), poli(metacrilato de metoxietilo), poli(metacrilato de metoxietoxietilo), hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio (CMC), dióxido de silicio, polivinilpirrolidona (PVP: povidona) o combinaciones de los mismos.

Los geles incluyen un sistema monofásico o bifásico. Un gel monofásico consiste en macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente a través de un líquido de tal manera que no existen límites aparentes entre las macromoléculas dispersas y el líquido. Algunos geles monofásicos se preparan a partir de macromoléculas sintéticas (por ejemplo, carbómero) o de gomas naturales (por ejemplo, tragacanto). En algunos casos, los geles monofásicos son generalmente acuosos, pero también se fabrican con alcoholes y aceites. Los geles bifásicos consisten en una red de pequeñas partículas discretas.

Los geles también pueden clasificarse como hidrófobos o hidrófilos. En ciertos casos, la base de un gel hidrófobo consiste en una parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con sílice coloidal, o jabones de aluminio o zinc. Por el contrario, la base de geles hidrófobos generalmente consiste en agua, glicerol o propilenglicol gelificado con un agente gelificante adecuado (por ejemplo, tragacanto, almidón, derivados de celulosa, polímeros de carboxivinilo y silicatos de magnesio y aluminio).

Los agentes adecuados para usar en formulaciones que se aplican como líquidos y gel tras la aplicación sobre la piel en una película incluyen, pero no se limitan a, polímeros compuestos de polioxipropileno y polioxietileno que se sabe que forman geles termorreversibles cuando se incorporan a soluciones acuosas. Estos polímeros tienen la capacidad de cambiar del estado líquido al estado de gel a temperaturas cercanas a la temperatura corporal, lo que permite formulaciones útiles que se aplican como geles y/o películas en el área afectada. Los ejemplos de polímeros que gelifican a temperatura corporal y se usan en geles y/o películas descritos en el presente documento incluyen y no se limitan a poloxámeros (por ejemplo, PLURONICS F68®, F88®, F108® y F127®, que son copolímeros de bloques de óxido de etileno y óxido de propileno). La transición de fase de estado líquido a estado de gel depende de la concentración de polímero y los ingredientes en la solución.

Adhesivos

En algunos casos, las formulaciones tópicas descritas en el presente documento comprenden adhesivos sensibles a la presión (por ejemplo, polímeros de polialquiloxazolina) y permiten la aplicación de una película adhesiva en un área afectada de la piel.

Emolientes

Se describe en el presente documento una formulación tópica de un producto de la UCAM en el que la formulación tópica comprende un emoliente. Los emolientes incluyen, pero no se limitan a, ésteres de aceite de ricino, ésteres de manteca de cacao, ésteres de aceite de cártamo, ésteres de aceite de semilla de algodón, ésteres de aceite de maíz, ésteres de aceite de oliva, ésteres de aceite de hígado de bacalao, ésteres de aceite de almendras, ésteres de aceite de aguacate, ésteres de aceite de palma, ésteres de aceite de sésamo, ésteres de escualeno, ésteres de aceite de kikui, ésteres de aceite de soja, monoglicéridos acetilados, monoestearato de glicerilo etoxilado, laurato de hexilo, laurato de isohexilo, palmitato de isohexilo, palmitato de isopropilo, palmitato de metilo, oleato de decilo, oleato de isodecilo, estearato de hexadecilo, estearato de decilo, isoestearato de isopropilo, isoestearato de metilo, adipato de diisopropilo, adipato de diisohexilo, adipato de dihexildecilo, sebacato de diisopropilo, lactato de laurilo, lactato de miristilo y lactato de cetilo, miristato de oleilo, estearato de oleilo y oleato de oleilo, ácido pelargónico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido isoesteárico, ácido hidroxiesteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido ricinoleico, ácido araquídico, ácido behénico, ácido erúcico, alcohol laurílico, alcohol miristílico, alcohol cetílico, alcohol hexadecílico, alcohol estearílico, alcohol isoestearílico, alcohol hidroxiestearílico, alcohol oleílico, alcohol ricinoleico, alcohol behenílico, alcohol erucílico, alcohol 2-octil-dodecanílico, lanolina y derivados de lanolina, cera de abejas, esperma de ballena, miristato de miristilo, estearato de estearilo, cera de carnauba, cera de candelilla, lecitina y colesterol.

Excipientes misceláneos

En ciertos casos, una formulación tópica que comprende un producto de la UCAM comprende excipientes adicionales tales como, por ejemplo, abrasivos, absorbentes, agentes antiaglomerantes, astringentes, aceites esenciales, fragancias, agentes acondicionadores de la piel, agentes curativos de la piel, protectores de la piel (por ejemplo, protectores solares o absorbentes de luz ultravioleta o agentes dispersantes), agentes calmantes de la piel o combinaciones de los mismos.

Métodos de uso

Se describen en el presente documento métodos para usar un producto de la UCAM divulgado en el presente

documento.

Un producto de la UCAM divulgado en este documento puede usarse para inhibir al menos uno de los siguientes: cicatrización, inflamación, adhesión y angiogénesis. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para promover la cicatrización de heridas. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM se usa como recubrimiento (por ejemplo, un recubrimiento para heridas). En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM se usa para promover la reparación de heridas. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM se usa como una barrera para la adhesión. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células integradas en la estructura de la UCAM. En algunos casos, las células son células madre embrionarias, células madre mesenquimales o células madre adultas comprometidas con el linaje o células epidérmicas diferenciadas (por ejemplo, para tratar una quemadura o una incisión quirúrgica en la piel). En algunos casos, las células son células mesoteliales (por ejemplo, para tratar una herida (por ejemplo, incisión quirúrgica) en un órgano interno).

Reparación y suplementación de tejidos lesionados

En este documento se describe el uso de un producto de la UCAM para reparar, reconstruir, reemplazar o complementar el tejido dañado, comprometido o faltante de un receptor. En algunos casos, el producto de la UCAM se usa para cubrir heridas o para facilitar la reparación de heridas. En algunos casos, el uso es un uso homólogo (por ejemplo, un uso homólogo funcional o un uso homólogo estructural). En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el tejido fue dañado, comprometido o perdido debido a una lesión (por ejemplo, una quemadura; una incisión quirúrgica; un área de necrosis resultante de una infección, trauma o una toxina; una laceración). En algunos casos, el tejido fue dañado, comprometido o perdido debido a una quemadura. En algunos casos, el tejido fue dañado, comprometido o perdido debido a una herida (por ejemplo, una incisión, laceración, abrasión). En algunos casos, el tejido fue dañado, comprometido o perdido debido a la necrosis. En algunos casos, el tejido fue dañado, comprometido o perdido debido a la ulceración.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunas realizaciones, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células

integradas en la estructura de la UCAM. En algunos casos, las células son células epidérmicas (por ejemplo, para tratar una quemadura o una incisión quirúrgica en la piel). En algunos casos, las células son células mesoteliales (por ejemplo, para tratar una herida (por ejemplo, incisión quirúrgica) en un órgano interno).

Quemaduras

Un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento puede usarse como un injerto protector sobre una quemadura. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una quemadura de primer grado. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una quemadura de segundo grado. En algunas realizaciones, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una quemadura de tercer grado. En algunos casos, un injerto protector que comprende una UCAM o injerto de tejido como se describe en el presente documento se coloca sobre una quemadura.

En algunos casos, el injerto protector comprende una UCAM. En algunos casos, el injerto protector comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células epidérmicas integradas en la estructura de la UCAM.

Heridas

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una herida en la piel (por ejemplo, una incisión, laceración, abrasión, úlcera, punción, penetración).

En algunos casos, un injerto protector que comprende una UCAM o injerto de tejido como se describe en el presente documento se coloca sobre la herida. En algunos casos, el injerto protector comprende una UCAM. En algunos casos, el injerto protector comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células epiteliales (por ejemplo, células epidérmicas y/o mesoteliales) integradas en la estructura de la UCAM.

Un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento puede usarse como una cubierta sobre una incisión en un órgano (por ejemplo, la piel, el cerebro, el estómago, los riñones, el hígado, los intestinos, los pulmones, la vejiga, la tráquea, el esófago, la vagina, el uréter y paredes de los vasos sanguíneos). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se coloca en una incisión quirúrgica. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar o complementar tejido después de la resección de colon. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar o suplementar tejido después de una gastrectomía. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar o complementar tejido después de la cirugía de seno (por ejemplo, cirugía de reducción de seno, cirugía de aumento de seno y mastectomía). En algunos casos, el producto de la UCAM o el producto de la UCAM divulgado en el presente documento comprende la UCAM como una estructura, y una pluralidad de células epiteliales (por ejemplo, células epidérmicas y/o mesoteliales) integradas en la estructura de la UCAM.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como una cubierta sobre una incisión en la piel (por ejemplo, una incisión en la epidermis, dermis y/o hipodermis). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar o complementar la piel después de una cirugía de hemorroides.

Necrosis

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre un área de tejido necrótico (por ejemplo, de una infección). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre un área de piel necrótica. En algunos casos, un injerto protector que comprende una UCAM o injerto de tejido como se divulga en este documento se coloca en un área de tejido necrótico. En algunas realizaciones, el injerto protector comprende una UCAM. En algunos casos, el injerto protector comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células epidérmicas y/o mesoteliales integradas en la estructura de la UCAM.

Úlcera

Un producto de la UCAM o producto divulgado en este documento puede usarse como una cubierta protectora sobre una úlcera. En algunos casos, la cubierta protectora comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células epidérmicas y/o mesoteliales integradas en la estructura de la UCAM. En algunos casos, se coloca una cubierta protectora sobre una úlcera.

En algunos casos, la úlcera es una úlcera del pie (por ejemplo, una úlcera del pie diabético o una úlcera de insuficiencia arterial). En algunos casos, el tratamiento de una úlcera del pie comprende (a) preparar la herida (por ejemplo,

desbridar la herida); y (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida. En algunos casos, el tratamiento de una úlcera del pie comprende (a) preparar la herida (por ejemplo, desbridar la herida); (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida; y (c) cubrir el producto de la UCAM o el producto de la UCAM con una barrera protectora (por ejemplo, un apósito de células plateadas, metipel, gasa o una venda).

En algunos casos, la úlcera es una úlcera de estasis venosa (VS). En algunos casos, el tratamiento de una úlcera de VS comprende (a) preparar la herida (por ejemplo, desbridar la herida); y (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida. En algunos casos, el tratamiento de una úlcera de VS comprende (a) preparar la herida (por ejemplo, desbridar la herida); (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida; y (c) cubrir el producto de la UCAM o el producto de la UCAM con una barrera protectora (por ejemplo, un apósito de células plateadas, metipel, gasa o una venda).

En algunos casos, la úlcera es una úlcera corneal (es decir, queratitis ulcerosa). En algunos casos, el tratamiento de una úlcera corneal comprende (a) preparar la herida (por ejemplo, desbridar la herida); y (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida. En algunos casos, el tratamiento de una úlcera corneal comprende (a) preparar la herida (por ejemplo, desbridar la herida); (b) colocar un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la herida; y (c) cubrir el producto de la UCAM o el producto de la UCAM con una barrera protectora (por ejemplo, una lente de contacto o una venda).

Usos de tejidos blandos

En este documento se divulga el uso de un producto de la UCAM para reparar, reconstruir, reemplazar o complementar el tejido blando dañado, comprometido o faltante de un receptor (por ejemplo, tendones). En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células integradas en la estructura de la UCAM. En algunos casos, las células son células epidérmicas (por ejemplo, para tratar una quemadura o una incisión quirúrgica en la piel). En algunos casos, las células son células mesoteliales (por ejemplo, para tratar una herida (por ejemplo, incisión quirúrgica) en un órgano interno).

En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento se usa como una cubierta sobre una incisión en tejido blando (por ejemplo, los párpados forman el plano tisular entre diferentes capas de tejido blando).

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para tejido blando.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento evita la adhesión en reparaciones de articulaciones o tendones.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa en la reparación de un tendón o articulación (tal como reparaciones del manguito rotador, reparaciones del tendón de la mano). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un parche sobre un tendón (por ejemplo, un tendón que se ha roto o un tendón que se ha suturado) o articulación. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reconstruir un tendón. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para aumentar un tendón o una articulación. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reforzar un tendón o una articulación. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para evitar la adhesión de un tendón curativo al tejido, tendones o articulaciones circundantes. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para evitar la formación de tejido cicatricial en un tendón.

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para aumentar los tendones y ligamentos más pequeños del pie y el tobillo, incluyendo el tendón tibial posterior, los tendones personales, los

tendones flexores y extensores, y los ligamentos del complejo lateral del tobillo. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reforzar la reparación primaria de los cuádriceps y los tendones rotulianos que rodean la rodilla. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un parche perióstico para injerto óseo en reemplazo de articulaciones. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para aumentar el tejido capsular de cadera y rodilla deficiente después de una cirugía de revisión total de la articulación.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa en la reparación de un manguito rotador roto. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un parche sobre un músculo o tendón del manguito rotador (por ejemplo, el tendón supraespinoso). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reconstruir un músculo o tendón del manguito rotador (por ejemplo, el tendón supraespinoso). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para aumentar un músculo o tendón del manguito rotador (por ejemplo, el tendón supraespinoso). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reforzar un músculo o tendón del manguito rotador (por ejemplo, el tendón supraespinoso). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para evitar la adhesión de tejido blando a un músculo o tendón del manguito rotador (por ejemplo, el tendón supraespinoso).

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa en la reparación de encías. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa en la reparación de la recesión gingival. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un parche sobre la encía. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un parche sobre una superficie expuesta de la raíz del diente. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reconstruir la encía. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para aumentar la encía. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reforzar la encía. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para evitar la adhesión de tejido blando a la encía.

En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión o desgarro en la fascia. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como soporte estructural (tectónico) de la fascia. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo o suplemento para la fascia. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar una hernia (por ejemplo, para reparar la fascia). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia inguinal. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia femoral. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia umbilical. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reparar una hernia incisional. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia diafragmática. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia de Cooper, una hernia epigástrica, una hernia hiatal, una hernia de Littre, una hernia lumbar, una hernia de Maydl, una hernia obturadora, una hernia en pantalón, una hernia paraesofágica, una hernia paraumbilical, una hernia perineal, una hernia adecuada, una hernia de Richter, una hernia deslizante, una hernia ciática, una hernia spigeliana, una hernia deportiva, una hernia de Velpeau o una hernia de Amyand.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia de disco espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión o desgarro en un disco espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en este documento se usa como un injerto protector sobre una incisión o desgarro en una fibrosis anular. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) de un disco espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como soporte estructural (tectónico) de un anillo de fibrosis. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo o suplemento para un disco espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) de un disco espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como reemplazo o suplemento para una fibrosis anular.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión en el cerebro, o en una (o todas) las meninges (es decir, la duramadre, la piamadre y/o la aracnoides). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para una (o todas) las meninges (es decir, la

duramadre, la piamadre y/o la aracnoides). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como reemplazo de una (o todas) las meninges (es decir, la duramadre, la piamadre y/o la aracnoides).

Un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento puede usarse como un injerto protector sobre una incisión en un pulmón o en la pleura. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como soporte estructural (tectónico) para la pleura. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como reemplazo de la pleura.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión en una membrana timpánica. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para una membrana timpánica. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como reemplazo de una membrana timpánica.
En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión en el corazón o el pericardio. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para el pericardio. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo para el pericardio.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión en el peritoneo. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para el peritoneo. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo para el peritoneo.

Usos oftálmicos

En el presente documento se divulga el uso de un producto de la UCAM para reparar, reconstruir, reemplazar o complementar el tejido ocular dañado, comprometido o faltante de un receptor. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células integradas en la estructura de la UCAM.

Tratamiento del glaucoma

Como se usa en el presente documento, "Glaucoma" significa un trastorno caracterizado por la pérdida de células ganglionares de la retina en el nervio óptico. En ciertos casos, el glaucoma es el resultado parcial o total de un aumento de la presión intraocular en la cámara anterior (AC). La presión intraocular varía según la producción de humor acuoso líquido por los procesos ciliares del ojo y el drenaje del humor acuoso a través de la malla trabecular.

Los dispositivos de drenaje de glaucoma (GDD) son dispositivos médicos que se implantan en un ojo para aliviar la presión intraocular proporcionando una vía alternativa para que drene el humor acuoso. Si se deja al descubierto, un tubo de GDD se erosionará y dejará el ojo susceptible a la infección intraocular. Por lo tanto, el tubo de GDD necesita ser cubierto. Actualmente, los parches utilizados para cubrir los tubos de GDD están hechos de pericardio, esclera y córnea. Estos parches tienen un grosor de aproximadamente 400-550 micras. La delgadez de estos parches da como resultado su fusión en un 25% en 2 años, lo que puede dejar el tubo de derivación expuesto nuevamente.

Se divulga en el presente documento, el uso de un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento como un parche para cubrir tubos de GDD. En algunos casos, el injerto de tejido comprende una UCAM. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento tiene un espesor de 300-600 micras. En algunos casos, un producto de la UCAM o un producto de la UCAM divulgado en este documento no se funde en un 25% en 2 años.

Tratamiento de úlceras oculares

Se divulga en el presente documento, el uso de un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento como un parche para cubrir defectos y/o úlceras epiteliales persistentes en los ojos.

En algunos casos, la base de la úlcera se desbrida con esponjas quirúrgicas y se elimina el epitelio poco adherente adyacente al borde de la úlcera (por ejemplo, a la sección del ojo donde el epitelio se vuelve bastante adherente). En algunos casos, el producto de la UCAM o producto de la UCAM se transfiere al ojo receptor, con la superficie del estroma hacia el ojo y se ajusta para cubrir el defecto recortando los bordes sobrantes del producto de la UCAM o producto de la UCAM. En algunos casos, el producto de la UCAM o el producto de la UCAM se asegura al ojo mediante suturas (por ejemplo, suturas de nailon 10-0 interrumpidas o realizando suturas de nailon 10-0) con los nudos de sutura incrustados. En algunos casos, el producto de la UCAM o el producto de la UCAM se asegura al ojo mediante el uso de pegamento de fibrina. En algunos casos, se aplica una capa protectora sobre el producto de la UCAM o el producto de la UCAM o el ojo completo (por ejemplo, un lente de contacto). En algunos casos, se aplica un antibiótico al producto de la UCAM o al producto de la UCAM o al ojo completo (por ejemplo, neomicina, sulfato de polimixina b y dexametasona).

Reconstrucción de la superficie del borde conjuntival, escleral, del párpado y orbital

Se describe en el presente documento el uso de un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento en la reconstrucción de la superficie conjuntival, escleral, del párpado y del borde orbital. En algunas realizaciones, el daño a la superficie conjuntival resulta de la lisis de simblefarón; extirpación quirúrgica de tumor, lesión y/o tejido cicatricial; queratectomía fotorrefractiva con láser excimer y queratectomía terapéutica; o combinaciones de los mismos.

Trasplante de células

Se describe en el presente documento el uso de un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento como una estructura para trasplantar una pluralidad de células retinianas a un huésped. En algunos casos, las células de la retina se trasplantan a una retina. En algunos casos, se forma al menos un agujero en la retina. En algunos casos, una retina está parcialmente separada. En algunos casos, la estructura y las células a trasplantar se colocan en el sitio objetivo.

Usos coronarios

En este documento se divulga el uso de un producto de la UCAM para reparar, reconstruir, reemplazar o complementar el tejido coronario dañado, comprometido o faltante de un receptor. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM como una estructura, y una pluralidad de células integradas en la estructura de la UCAM. En algunos casos, las células son células mesoteliales (por ejemplo, para tratar una herida (por ejemplo, incisión quirúrgica) en un órgano interno).

Derivación de la arteria coronaria

Se divulga en el presente documento, el uso de un producto de la UCAM descrito en el presente documento en cirugía de derivación de arteria coronaria. En algunos casos, un producto tubular de la UCAM aislado se injerta en una arteria coronaria para evitar una sección de la arteria que se caracteriza por aterosclerosis. En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En algunos casos, el producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se cultiva con una pluralidad de fibroblastos y células endoteliales.

Válvulas cardíacas

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una válvula cardíaca. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como soporte estructural (tectónico) para una válvula cardíaca. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como reemplazo de una válvula cardíaca.

Venas y arterias

Un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento puede usarse como una cubierta protectora sobre una vena o arteria. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como soporte estructural (tectónico) para una vena o arteria. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo para vena o arteria.

Usos en nervios

Se describe en el presente documento el uso de un producto de la UCAM para reparar, reconstruir, reemplazar o complementar el nervio dañado, comprometido o faltante de un receptor. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento se usa como una cubierta sobre un nervio (por ejemplo, un nervio periférico). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como una cobertura sobre un injerto de un nervio, transferencia de un nervio o un nervio reparado. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como una cubierta sobre una incisión en un nervio (por ejemplo, un nervio periférico). En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para un nervio (por ejemplo, un nervio periférico). En algunos casos, un producto de la UCAM o un producto de la UCAM divulgado en el presente documento evita la adhesión en la reparación de un nervio.

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un recubrimiento no restrictivo para nervios lesionados. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento evita o minimiza la formación de cicatrices, la encapsulación, la compresión crónica, el anclaje de un nervio y el atrapamiento del nervio. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento previene o minimiza la formación de neuromas. En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento evita o minimiza la migración de factores de crecimiento endógenos (es decir, factor de crecimiento nervioso) presentes durante la reparación de nervios.

Usos espinales

Se divulgan ejemplos en este documento, del uso de un producto de la UCAM divulgado en este documento durante una cirugía espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento durante una laminectomía. En algunos casos, el uso es un uso homólogo. En algunos casos, el producto de la UCAM se manipula mínimamente. En algunos casos, el producto de la UCAM no comprende otro artículo, excepto agua, cristaloides o un agente de esterilización, conservación o almacenamiento. En algunos casos, el producto de la UCAM no tiene un efecto sistémico y no depende de la actividad metabólica de las células vivas para su función principal.

En algunos casos, el producto de la UCAM comprende una UCAM. En ciertos casos, la UCAM comprende proteínas, glicanos, complejos de proteína-glicano (por ejemplo, un complejo de ácido hialurónico y una cadena pesada de |α| y PTX3) y enzimas que promueven la reparación de los tejidos. Por ejemplo, el estroma de la UCAM contiene factores de crecimiento, proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales de diversas proteasas. En algunos casos, las proteínas y enzimas que se encuentran en la UCAM se difunden desde la UCAM hacia el tejido circundante.

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir la fibrosis epidural y/o las adherencias de cicatrices después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se implanta entre la duramadre y el tejido suprayacente después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En ciertas ocasiones, el implante de un producto de la UCAM descrito en el presente documento entre la duramadre y el tejido suprayacente después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía) reduce o previene la migración de fibroblastos a la duramadre y la deposición de colágeno en la duramadre.

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo

de cicatrices proliferativas después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de una cicatriz epidural/peridural/perineural postoperatoria (por ejemplo, postlaminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de cicatrices proliferativas después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de una membrana postlaminectomía.

En algunos casos, un producto de la UCAM descrito en el presente documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de compresión extradural o mordedura dural después de cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de raíces nerviosas atadas después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía). En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento se usa para reducir o prevenir el desarrollo de aracnoiditis después de una cirugía espinal (por ejemplo, laminectomía).

En algunos casos, un producto de la UCAM divulgado en este documento comprende una UCAM como una estructura, y un tejido integrado en la estructura de la UCAM. En algunos casos, el tejido es tejido óseo morcelizado. En algunos casos, un producto de la UCAM que comprende una UCAM como una estructura y tejido integrado en la estructura de la UCAM (por ejemplo, tejido óseo morcelizado) se usa durante un procedimiento de fusión espinal. En algunos casos, un producto de la UCAM que comprende una UCAM como una estructura y tejido integrado en la estructura de la UCAM (por ejemplo, tejido óseo morcelizado) se implanta entre las vértebras adyacentes. En algunos casos, la implantación de un producto de la UCAM que comprende una UCAM como una estructura y tejido integrado en la estructura de la UCAM (por ejemplo, tejido óseo morcelizado) entre dos vértebras adyacentes promueve la fusión de las vértebras.

En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como un injerto protector sobre una incisión en la duramadre. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa como soporte estructural (tectónico) para la duramadre. En algunos casos, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en este documento se usa como un reemplazo para la duramadre.

Usos para un producto pulverizado de la UCAM

Se divulga en el presente documento un producto pulverizado de la UCAM que comprende una UCAM. En algunos casos, la UCAM pulverizada es un homogeneizado. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM es un polvo seco. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM es un polvo seco reconstituido. En algunos casos, el producto de la UCAM comprende además un portador. En algunos casos, el portador es agua. En algunos casos, el portador es solución salina. En algunas realizaciones, el portador es ácido hialurónico. En algunos casos, el portador es colágeno. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM se formula en una crema, loción, pomada, pasta, gel, película o pintura. En algunos casos, el producto pulverizado de la UCAM se aplica a un parche o apósito para heridas.

En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se usa como un relleno dérmica. En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se inyecta en tejidos faciales subdérmicos. En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se inyecta debajo de las arrugas y líneas de envejecimiento de la cara (por ejemplo, pliegues nasolabiales, pliegues melomentales, "patas de gallo" y arrugas en la frente). En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM divulgado en este documento se usa para el aumento de labios. En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se inyecta en los labios.

En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se usa para tratar artritis (por ejemplo, osteoartritis, artritis reumatoide, artritis séptica, espondilitis anquilosante, espondilosis). En algunos casos, un producto pulverizado de la UCAM descrito en el presente documento se inyecta en una articulación artrítica (por ejemplo, una rodilla).

Cultivo de células

Se divulga en el presente documento, en algunos casos, el uso de la UCAM como se describe en el presente documento como una estructura para cultivar una pluralidad de células (por ejemplo, células madre embrionarias, células madre mesenquimales, células madre pluripotentes inducidas). En algunos casos, una UCAM como se describe en el presente documento se usa como una estructura para cultivar una pluralidad de queratocitos. En algunos casos, una UCAM como se describe en el presente documento se usa como una estructura para cultivar una pluralidad de fibroblastos. En algunos casos, una UCAM como se divulga en este documento se usa como una estructura para cultivar una pluralidad de células epiteliales de pigmento retiniano (RPE). En algunos casos, una UCAM como se divulga en este documento se usa como una estructura para cultivar una pluralidad de células epiteliales. En algunos casos, una UCAM como se divulga en este documento se usa como una estructura para cultivar una pluralidad de células madre epiteliales. En algunos casos, una UCAM como se describe en el presente documento se usa como

una estructura para cultivar una pluralidad de células madre limbales.

En algunos casos, al menos una célula se pone en contacto con una UCAM aislada como se divulga en este documento. En algunos casos, la célula se cultiva en una UCAM aislada como se divulga en este documento en condiciones adecuadas para el crecimiento durante un período de tiempo suficiente para producir una pluralidad de células.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Aislamiento de la UCAM del UC

Se obtuvo un cordón umbilical. El cordón umbilical se lavó con PBS 1X para eliminar cualquier exceso de tejido o sangre.

Usando un bisturí, el cordón umbilical se cortó en secciones de 5 cm de largo y cada sección se cortó longitudinalmente sin seccionarlo por la mitad. A continuación, el cordón umbilical se lavó con PBS 1X y se suspendió en el tampón durante 30 minutos.

El cordón umbilical se fijó luego sobre una placa de espuma de poliestireno plana con puntas de aguja de jeringa. El cordón umbilical estaba orientado de tal manera que la cara cortada miraba hacia arriba mientras que la UCAM miraba hacia la mesa. Se utilizó un bisturí para hacer cortes en la gelatina de Wharton para aplanar el UC tubular. Se usó un fórceps de 0,12 para extraer arterias/venas del tejido estromal circundante de el UC. Luego se lavó el cordón umbilical con PBS 1X.

Ejemplo 2 - Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM

La UCAM se mantuvo en 50% de DMEM + 50% de glicerol en congelador a -80 ºC durante 2 semanas después del procesamiento. Tras la descongelación, la UCAM y la solución de conservación se inspeccionaron y mantuvieron en -4 °C durante 2 días. Después de eso, las UCAM se sometieron al tratamiento para tratar de eliminar los glóbulos rojos de acuerdo con las siguientes instrucciones:

Medio	Duración	Temperatura (°C)	Observación cosmética
50% de DMEM + 50% de glicerol	2 días	4°C	Claridad de la UCAM mejorada. Eliminación significativa de glóbulos rojos del tejido como evidencia por los medios de conservación que se vuelven rojos.
50% de DMEM + 50% de glicerol	4 días	4°C	Eliminación completa de glóbulos rojos. La UCAM es completamente clara. Los medios de conservación fueron cambiados en el día 2.
Ácido acético al 2%	15 minutos	Temperatura ambiente (22 °C)	El tejido de AM se volvió ligeramente marrón después de 15 minutos de inmersión. La UCAM se siente más rígida después del tratamiento.
Ácido clorhídrico al 1%	15 minutos	Temperatura ambiente (22 °C)	El tejido de AM se volvió marrón posiblemente debido a la hemolización de los glóbulos rojos. Cosméticamente, hizo que el tejido se viera peor.

Conclusión: la solución de conservación de 50% de DMEM + 50% de glicerol proporciona el mejor resultado cosmético para eliminar los glóbulos rojos de la UCAM

Ejemplo 3 - Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM

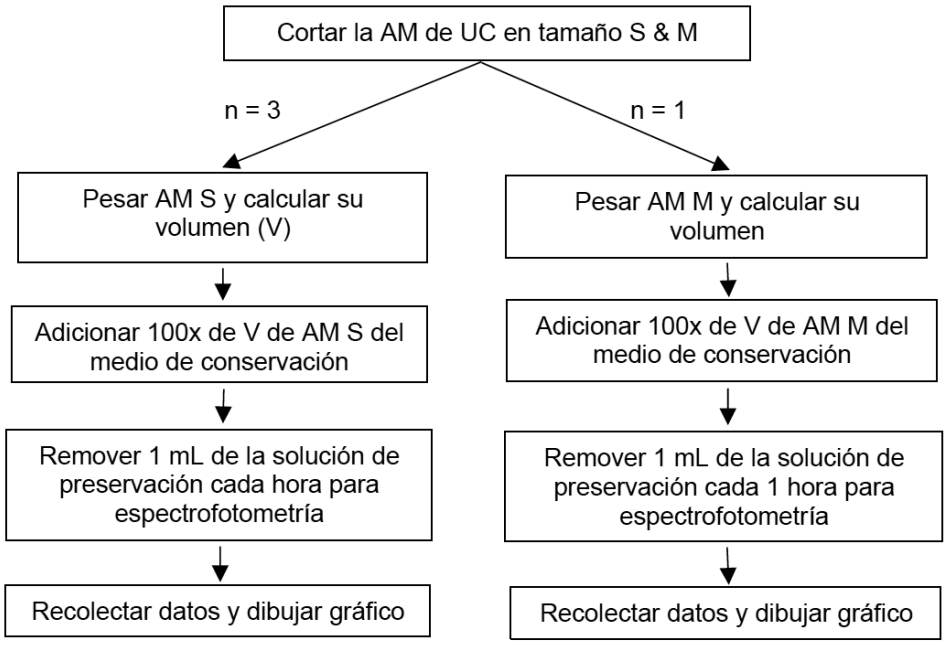
La temperatura se establece en 4 ºC ya que este estudio previo de validación muestra que la UCAM crioconservada tiene una vida útil de 3 meses a esta temperatura.

Se probaron tres tamaños de UCAM; pequeña (s) - 1 x 2 cm; mediana (m) - 5,3 x 4 cm; y grande (l) - 5,3 x 8 cm.

El medio de conservación se cambió en el día 1 (t = 24 h), el día 3 (t = 72 h) y el día 6 (t = 144 h). La UCAM se lavó con PBS 1X antes del cambio de medio.

A partir de la Figura 4, es evidente que la UCAM se aclaró significativamente después de mantenerse en 50% de DMEM + 50% de Glicerol a 4ºC durante 7 días. También se puede concluir que el tamaño del tejido afecta la cantidad de glóbulos rojos que se eliminan en un tiempo específico. Los tejidos que se cortaron en trozos más pequeños (1 cm x 2 cm) mostraron una mejora estética significativa, seguidos de los tejidos medianos (5,3 cm x 4 cm) y, finalmente, el tejido grande (5,3 cm x 8 cm) que mostró la menor mejora cosmética.

Ejemplo 4 - Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM



La velocidad de eliminación de RBC se determinó midiendo la absorbancia del medio de conservación.

Se cortó la UCAM en dos tamaños de UCAM: pequeña (S) -1,0 x 0,75 cm y mediana (M) - 3,5 x 3,5 cm.

Se determinó el peso de la UCAM y se calculó el volumen.

Se añadieron el medio de conservación hasta 100 veces el volumen de la UCAM.

Tamaño	Peso (g)		Volumen (mL)
S	0,187	Promedio = 0,200	60
	0,217		
	0,197		
M	1,55		155

Se removió 1 mL de medio de conservación cada hora para espectrofotometría.

Los datos de absorbancia recopilados no proporcionaron ninguna información, ya que eran demasiado pequeños incluso cuando se utilizó el método Micro-Bradley. La lectura obtenida varió de 0 a 0,050 A. Esto muestra que la dilución de volumen 100X es demasiado, ya que el fotómetro ni siquiera detectó la concentración de glóbulos rojos. Estos datos se confirman mediante inspección visual de los medios de conservación ya que no se observó coloración detectable. Sin embargo, la inspección visual de la UCAM mostró que se extrajeron los glóbulos rojos. La UCAM de tamaño S mostró una eliminación significativa de los glóbulos rojos en comparación con la UCAM de tamaño M, lo que demuestra que el tamaño de la UCAM desempeña un papel en la tasa de eliminación de glóbulos rojos.

La UCAM más pequeño mostró una reducción significativa de glóbulos rojos en comparación con la UCAM de tamaño medio. No se obtuvieron datos sobre la duración hasta que se alcanzó el equilibrio ya que la dilución 100X del volumen es demasiado grande para detectar las pequeñas cantidades de glóbulos rojos. Como tal, no se requirió cambio de medio y los glóbulos rojos para la UCAM S se eliminaron después de 5 días.

Ejemplo 5 - Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM

Seis secciones de UCAM se cortan en muestras de un tamaño de 1,0 X 0,75 mm.

La UCAM se coloca en una botella de 250 mL con medio de conservación (50% de DMEM + 50% de glicerol) y se incuba a 4 ºC.

El medio de conservación se cambian cada cuatro horas hasta que el medio permanece claro.

Ejemplo 6 - Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM

El protocolo para la UCAM pequeña de acuerdo con el Ejemplo 7 se usó con una modificación: se añadió un agitador magnético al medio de conservación.
Estos resultados iniciales indicaron que la duración de la extracción de glóbulos rojos se acorta a 3 días en lugar de los 5 días habituales si todo el sistema se agita con un agitador magnético.

Ejemplo 7 - Aislamiento de la UCAM del UC

Se obtuvo un cordón umbilical. Se extrajo la sangre del UC. El cordón umbilical se lavó con PBS 1X para eliminar cualquier exceso de tejido o sangre.

Usando un bisturí, se cortó el cordón umbilical en secciones de 5 cm. Cada una de las secciones del cordón umbilical se cortó longitudinalmente sin seccionarla por la mitad. Se hicieron cortes adicionales en la gelatina de Wharton para aplanar cada sección. A continuación, las secciones se lavaron con PBS 1X tres veces para eliminar el exceso de sangre y tejido.

A continuación, las secciones se suspendieron durante 30 minutos en PBS 1X para facilitar la separación de la gelatina de Wharton y la UCAM.

El cordón umbilical se fijó luego sobre una placa de espuma de poliestireno plana con puntas de aguja de jeringa. El cordón umbilical estaba orientado de tal manera que la cara cortada miraba hacia arriba mientras que la UCAM miraba hacia la mesa. Véase la Figura 3b.

Se usaron unas pinzas de punta ancha dentada para sostener la UCAM en el extremo libre del UC. Al mismo tiempo, se usó una pinza de punta dentada puntiaguda para despegar lentamente la gelatina de Wharton. Había varias capas de tejido, siendo el tejido transparente final la UCAM.

Una vez que se identificó la capa de UCAM, cualquier gelatina de Wharton restante se retiró lentamente usando pinzas de punta dentadas puntiagudas mientras se usaban las pinzas de punta ancha dentadas como pinza. La gelatina de Wharton era separable de la UCAM como una lámina, pero se requería algo de fuerza. Las arterias y la vena se separaron de la UCAM junto con la gelatina de Wharton.

La UCAM se triplicó en PBS 1X para eliminar el exceso de sangre y tejido.

Una vez que se obtuvo una UCAM satisfactoria, se cortó en secciones que median 1,0 x 0,75 cm y se lavó nuevamente con PBS 1X.

Ejemplo 8 - Liofilización de UCAM

Se usó UCAM aislada preparada de acuerdo con el Ejemplo 2.

La UCAM se adhirió con su lado adhesivo hacia arriba (con el epitelio hacia abajo) sobre una pieza de membrana de nailon (NM). La UCAM/NM se colocó en una placa de cultivo de 60 mm.

La UCAM se congeló sosteniendo la placa sobre la superficie de nitrógeno líquido. Se tomó precaución para asegurar que el nitrógeno líquido no se desbordara en la placa y entrara en contacto con la UCAM/NM.

La UCAM/NM congelado se liofilizó colocándola en una cámara de vacío de una máquina de liofilización durante 20 horas.

Una vez que se completó la liofilización, la UCAM se separó de la NM desprendiéndola lentamente. Luego se colocó en una bolsa para su almacenamiento y se expuso a radiación gamma a 25 KGy.

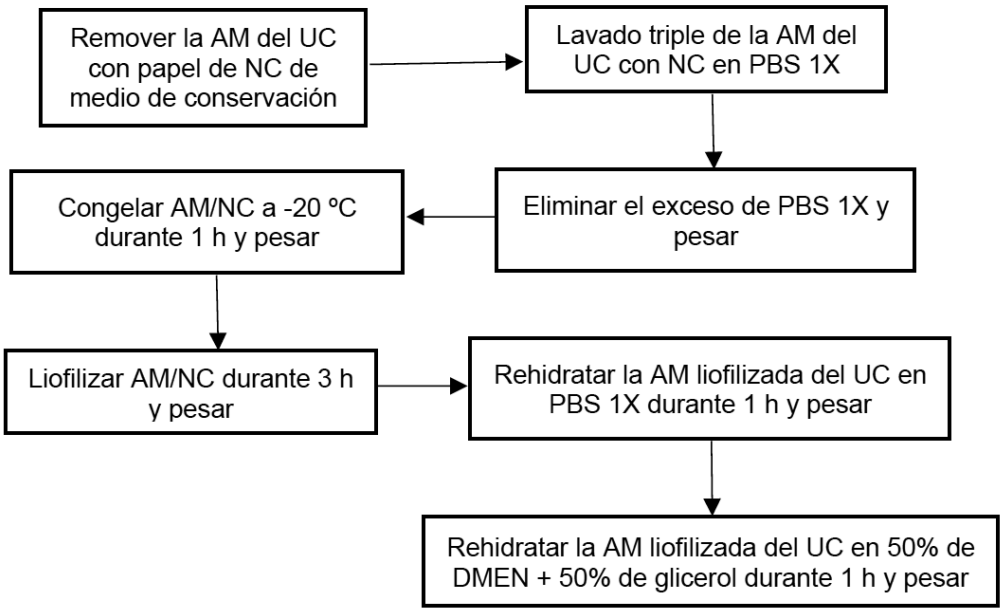
Ejemplo 9 - Optimización de la liofilización

La UCAM individual se midió antes de la liofilización (después de ser suspendida en PBS 1X durante 12 h), después de la liofilización y después de la rehidratación. También se determinó la claridad visual de cada tejido después de cada una de estas etapas.

La UCAM tuvo una pérdida promedio en peso del 93% después de la liofilización. La UCAM liofilizada recuperó un promedio del 32% de su peso original después de reconstituirse en 50% de DMEM + 50% de glicerol durante 1 hora. Véase la Figura 10.

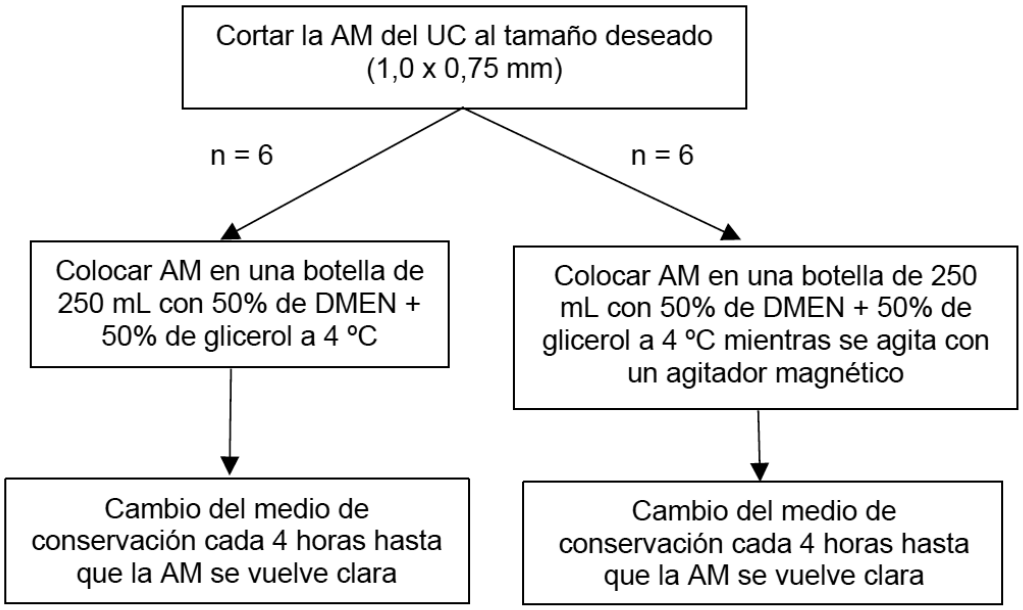
Tamaño	Peso			Manipulación		
	BL	AL	AR	BL	AL	AR
Medio	2,440	0,147	0,806	Opaco, elástico, ágil, fácil de plegar, grueso	Claro pero con regiones marrones (glóbulos rojos secos), pegajoso, fácilmente estrujable, extremadamente delgado	Recuperó algo de su opacidad y elasticidad, no tan pegajoso pero el tejido aún está plegado, más grueso que AL pero no tan grueso como BL
Pequeño 1	0,331	0,013	0,155			
Pequeño 2	0,729	0,058	0,214			
Pequeño 3	0,363	0,025	0,149			
Pequeño 4	0,445	0,032	0,206			
Pequeño 5	0,535	0,035	0,187			

Ejemplo 10 - Optimización de liofilización



La UCAM perdió el 75% de su peso después de la liofilización. Sin embargo, recuperó el 58% de su peso después de la rehidratación en PBS 1X durante una hora.

Tamaño	Peso con papel de NC				
	BL (GLY)	BL (PBS)	AL	AR (PBS)	AR (GLY)
S1	0,356	0,331	0,083	0,166	0,187
S2	0,324	0,317	0,065	0,137	0,184
S3	0,258	0,258	0,06	0,141	0,17
S4	0,304	0,339	0,079	0,163	0,17
M	1,78	2,04	0,553	1,293	0,942



Ejemplo 11- Optimización de la eliminación de RBC de la UCAM

Se obtuvo el cordón umbilical. La sangre fue drenada del cordón umbilical antes de la congelación para su almacenamiento.

Se usó el protocolo del Ejemplo 7, sin embargo, PBS 1X se sustituyó por 50% de DMEM + 50% de glicerol.

PBS 1X eliminó por completo todas las trazas de sangre de la UCAM procesada a partir de un cordón umbilical después de 16 horas. Véase la Figura 8. PBS 1X elimina los glóbulos rojos en 1/8 del tiempo de 50% de DMEM + 50% de glicerol y el costo reducido asociado con el uso de PBS 1X en comparación con el uso de 50% de DMEM + 50% de glicerol.

Ejemplo 12 - Optimización de la liofilización

Hubo 5 condiciones experimentales probadas para la etapa de liofilización; i) sin respaldo, ii) NM con el estroma hacia abajo, iii) NM con el estroma hacia arriba, iv) PTFE con el estroma hacia abajo y v) PTFE con el estroma hacia arriba.

La UCAM se congeló con nitrógeno líquido durante 1 minuto con una placa de Petri como barrera antes de la liofilización. Los datos iniciales han demostrado que la UCAM tiende a congelarse por completo y a adherirse fuertemente a la superficie cuando entra en contacto físico con nitrógeno líquido. Además, el exceso de líquido (es decir, PBS 1X) en la superficie también se congelaría con la UCAM haciendo que toda la UCAM/superficie esté inmóvil. Para resolver este problema, se colocó una placa de Petri de polietileno entre la UCAM y el nitrógeno líquido para evitar cualquier contacto físico entre el líquido y el tejido.

A continuación, la UCAM se liofilizó durante 20 horas y posteriormente se rehidrató con PBS 1X. El peso de la UCAM durante la rehidratación se registró a intervalos de 5, 10, 15, 30, 60 y 120 minutos.

La UCAM que se adhirió a NM con su lado adhesivo hacia arriba (lado del epitelio hacia arriba) produce los tejidos más planos y más bonitos después de la liofilización (véase la Figura 9). Las otras UCAM con diferentes condiciones experimentales (sin respaldo, en PTFE y en membrana de nailon con el estroma hacia abajo) estaban ligeramente arrugadas. También se observa que toda la UCAM podría desprenderse fácilmente de su sustrato después de la liofilización.

También se puede suponer que el PTFE no funcionaría como respaldo para la liofilización, ya que la membrana de PTFE se encoge durante el proceso.

La UCAM liofilizada recuperó 54% y 71% (promedio) de su peso después de 30 minutos y 60 minutos en PBS 1X respectivamente. El tejido también recuperó gran parte de su integridad estructural después de 30 minutos, ya que podría estirarse y manipularse fácilmente.

	Sin respaldo	Con respaldo			
		NM		PTFE	
		Estroma hacia abajo	Estroma hacia arriba	Estroma hacia abajo	Estroma hacia arriba
Peso inicial (g)	0,260	0,214	0,278	0,217	0,296
Con respaldo (g)	-------	0,210	0,287	0,208	0,292
Nitrógeno líquido (g)	0,246	0,198	0,297	0,210	0,288
Liofilizado (g)	0,015	0,035	0,030	0,033	0,028
5 min AR (g)	0,111	0,118	0,097	0,109	0,109
10 min AR (g)	0,138	0,142	0,134	0,134	0,151
15 min AR (g)	0,147	0,154	0,135	0,132	0,168
30 min AR (g)	0,131	0,180	0,155	0,148	0,172
1 hora AR (g)	0,147	0,216	0,172	0,146	0,204

Conclusiones

La separación de la UCAM y la gelatina de Wharton es más fácil cuando el cordón umbilical seccionado se suspende en PBS 1X durante un mínimo de 30 minutos. PBS 1X es el tampón de elección para eliminar los glóbulos rojos de la UCAM. La UCAM debe adherirse a la membrana de nailon con su lado adhesivo hacia arriba antes de la liofilización. La UCAM debe congelarse antes de la liofilización con la ayuda de una placa de Petri para evitar que el nitrógeno líquido entre en contacto con el tejido.

Ejemplo 13 - Rehidratación de la UCAM liofilizada

Se usó UCAM liofilizada preparada de acuerdo con el Ejemplo 3.

La UCAM liofilizada se colocó en PBS 1X durante 30 minutos.

Ejemplo 14 - Concentración de proteínas en la UCAM aislada

Se obtuvieron tejidos biológicos que contenían UCAM de tres donantes. Se hicieron extractos de los materiales suministrados por cada donante: AM - UCAM; CH - membrana coriónica; AC - tanto AM como CH; UC - cordón umbilical; PL - placenta.

Se determinaron las concentraciones de proteína en cada extracto. (Véase también, la Figura 12).

Extracto	Concentración proteína (mg/mL)	Media ± SD (mg/mL)	Valor P
AM1	4,9	3,9 ± 0,9	-
AM2	3,8		
AM3	3,1		
CH1	9,8	8,4 ± 1,2	0,008502 (vs. AM)
CH2	7,7		
CH3	7,7		
AC1	8,1	6,9 ± 1,0	0,019539 (vs. AM) 0,186368 (vs. CH)
AC2	6,5		
AC3	6,2		
UC1	10	10	-
PL1	10,8	10,8	-

En general, el mismo tejido (AM, CH y AC) generó concentraciones de proteínas similares de 3 donantes, pero AM generó una concentración de proteínas significativamente menor que en CH, AC, UC y PL.

Ejemplo 15 - Supresión de la viabilidad celular (ensayo MTT)

Se obtuvieron tejidos biológicos que contenían UCAM de tres donantes. Se hicieron extractos de los materiales suministrados por cada donante: AM - UCAM; CH - membrana coriónica; AC - tanto AM como CH; UC - cordón umbilical; PL - placenta.

Las células de macrófagos de ratón RAW264.7 se recolectaron mediante un tampón de disociación celular. Las células se contaron, se resuspendieron y se sembraron a razón de 1 x 10^5/mL (para tratamiento simultáneo mediante

extractos) o 5 x 10^4/mL (para tratamiento secuencial mediante extractos). Para el tratamiento simultáneo, la suspensión celular se mezcló con 200 µg/mL de proteínas de cada extracto y las células se sembraron durante 3 h antes de estimularse con o sin 1 µg/mL de LPS durante 24 h. Para el tratamiento secuencial, las células se sembraron durante 24 horas primero, seguido de un tratamiento con 200 µg/mL de proteínas de cada extracto durante 3 h, luego se estimularon con o sin 1 µg/mL de LPS durante 24 h. En ambos tratamientos, las células se sometieron al ensayo de viabilidad celular (MTT). Durante el período de tratamiento e incubación con MTT, la morfología celular también se registró mediante microscopía de contraste de fase.

A. Tratamiento simultáneo

Morfología

No hubo una diferencia morfológica evidente entre las células de control (PBS) y las células de macrófagos tratadas con 200 µg/mL de proteínas de extractos de la UCAM (AM), corion (CH), AM/AC [incluso cordón umbilical (UC) y tejidos placentarios restantes (PL)]. Sin embargo, después de la incubación de MTT durante 4 h y antes de agregar el tampón de solubilización, las células de control eran en su mayoría redondas con el púrpura oscuro dentro del cuerpo celular. Por el contrario, la mayoría de las células de macrófagos tratadas con extractos se convirtieron en células con forma de aguja. Este fenómeno sugirió que el tratamiento de las células de macrófagos de ratón RAW264.7 había cambiado el comportamiento celular (como la endocitosis y/o exocitosis) y condujo a una menor viabilidad celular (o actividad metabólica). Se desconoce el mecanismo exacto. Las células de control se diseminaron más y se hicieron más grandes después de la estimulación con LPS, pero las células con diferentes tratamientos del extracto inhibieron la propagación y agrandamiento de las células inducidas por LPS.

Viabilidad celular

Como se muestra en la Figura 13A, en comparación con el control y sin estimulación con LPS, la viabilidad celular fue significativamente suprimida por extractos de AM de 3 donantes (los valores de p fueron 0,016, 0,006 y 0,005). La supresión también fue significativa por los extractos de CH ($p < 0,01$), y fue significativamente mayor que los extractos de AM ($p < 0,01$). El extracto de AC también tuvo un efecto inhibitorio significativo ($p < 0,01$), que fue significativamente mayor que los extractos de AM pero no los extractos de CH. Con la estimulación con LPS, la supresión de la viabilidad celular tenía un patrón similar (Figura 13B).

B. Tratamiento secuencial (Fig. 13C y 13D)

Morfología

Similar al tratamiento simultáneo

Viabilidad celular

Similar al tratamiento simultáneo

C. Resumen

La morfología celular se cambió después del tratamiento con 200 µg/mL de proteínas de extractos de AM, CH y AC, particularmente después de la incubación con MTT y la estimulación con LPS.

Todos los extractos de tejidos placentarios (AM, CH, AC, UC y PL) mostraron una supresión significativa de la viabilidad celular. El extracto de CH exhibió la mayor potencia en dicha supresión entre todos los extractos basados en la cantidad equivalente de proteínas (200 µg/mL).

Ejemplo 16 - Caracterización de componentes de extractos de la UCAM (transferencia Western)

Se obtuvieron tejidos biológicos que contenían UCAM de tres donantes. Se hicieron extractos de los materiales suministrados por cada donante: AM - UCAM; CH - membrana coriónica; AC - tanto AM como CH; UC - cordón umbilical; PL - placenta.

Los resultados de la transferencia Western (Fig. 14) muestran que HC1, HC3 HC4, | α | y PTX3 estuvieron presentes en AM. |α| y PTX3 también están presentes en CH, PL y UC.

Tenga en cuenta que UC tiene más PTX3 y, curiosamente, CH no tiene tanto como PTX3 AM.

Ejemplo 17: uso de un producto pulverizado de la UCAM en el tratamiento de la artritis

Se identifica a un individuo con artritis en las articulaciones de su mano. Se preparó una composición que comprende una UCAM pulverizada y colágeno e inyectó en las articulaciones artríticas del individuo.

Ejemplo 18: Uso de un producto pulverizado de la UCAM como relleno dérmico

Se identifica un individuo con arrugas alrededor de los ojos (es decir, patas de gallo). Una composición que comprende una UCAM pulverizada y hialuronano se prepara e inyecta en los tejidos faciales subdérmicos que rodean los ojos.

Ejemplo 19: Uso de un producto de la UCAM durante una laminectomía

Se identifica un individuo que necesita una laminectomía. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se realiza la laminectomía. Después de la laminectomía, el injerto de tejido hecho de la UCAM se coloca sobre las vértebras restantes y se fija. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 20: Uso de un producto de la UCAM durante la fusión espinal

Se identifica a un individuo que necesita una fusión espinal.

Se prepara una composición que comprende una UCAM pulverizada y tejido óseo morcelado. Se exponen las vértebras a fusionar. La composición se inyecta entre las vértebras adyacentes. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 21- Uso de un producto de la UCAM para reparar tejido nervioso

Se identifica un individuo que necesita reparación de los nervios. Se prepara un injerto de tejido hecho de UCAM.

Se expone el nervio que se va a reparar. El injerto de tejido hecho de la UCAM se coloca sobre el daño al nervio y se sutura en su lugar. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 22: Uso de un producto de la UCAM para reparar una hernia

Se identifica a un individuo que necesita reparación de una hernia de disco vertebral. Se prepara un injerto de tejido hecho de UCAM.

Se expone el disco espinal herniado. En algunas realizaciones, un producto de la UCAM o producto de la UCAM divulgado en el presente documento se usa para reparar una hernia de disco espinal. El injerto de tejido hecho de la UCAM se coloca sobre el daño al anillo fibroso y se sutura en su lugar. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 23: Uso de un producto de la UCAM para reparar un manguito rotador roto

Se identifica un individuo que necesita reparación del manguito rotador. Se prepara un injerto de tejido hecho de UCAM.

Se expone el tendón supraespinoso desgarrado. El tendón se sutura. El injerto de tejido hecho de la UCAM se coloca sobre el sitio de sutura y se sutura en su lugar. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 23: Uso de un producto de la UCAM para reparar la recesión gingival

Se identifica un individuo que necesita reemplazo gingival. Se prepara un injerto de tejido hecho de UCAM.

Se coloca el injerto de tejido de la UCAM sobre el área de recesión gingival. El injerto se sutura en su lugar. Se coloca una cubierta protectora sobre el injerto.

Ejemplo 24- Uso de un producto de la UCAM en la derivación de la arteria coronaria

Se identifica un individuo que necesita derivación de la arteria coronaria. Se prepara un injerto de tejido tubular hecho de la UCAM cultivándolo con una pluralidad de fibroblastos y células endoteliales.

Se coloca una derivación al individuo. Se expone y elimina la sección aterosclerótica de la arteria. El injerto de tejido tubular hecho de la UCAM se sutura a los extremos abiertos de la arteria de modo que la arteria se vuelva a unir. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 25: uso de un producto de la UCAM en el tratamiento del glaucoma

Se identifica un individuo que necesita un dispositivo de drenaje de glaucoma. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se implanta el dispositivo de drenaje de glaucoma en un ojo. El injerto de tejido de la UCAM se coloca sobre el GDD

y se sutura en su lugar. Se coloca un lente de contacto protector sobre el injerto de tejido.

Ejemplo 26- Uso de un producto de la UCAM en el tratamiento de una úlcera del pie diabético

Se identifica un individuo con una úlcera del pie diabético. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se desbrida la úlcera del pie. El injerto de tejido se coloca sobre la úlcera. Se coloca una vendaje protector sobre el injerto de tejido.

Ejemplo 27- Uso de un producto de la UCAM en el caso de una quemadura

Se identifica un individuo con una quemadura de tercer grado. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se desbrida la quemadura. El injerto de tejido se coloca sobre la quemadura. Se coloca un vendaje protector sobre el injerto de tejido.

Ejemplo 28- Uso de un producto de la UCAM después de la extracción de un tumor de vejiga

Se identifica un individuo con un tumor de vejiga. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se expone la vejiga. El tumor se remueve de la vejiga. El injerto de tejido se coloca sobre el sitio de escisión. El sitio quirúrgico se cierra y se sutura.

Ejemplo 29- Uso de un producto de la UCAM para complementar la membrana timpánica

Se identifica un individuo con una membrana timpánica. Se prepara un injerto de tejido hecho de la UCAM.

Se visualiza la membrana timpánica. El injerto de tejido se coloca sobre la rotura de la membrana timpánica y se sutura en su lugar. Se coloca una cubierta protectora sobre el injerto de tejido.

REIVINDICACIONES

1. Un producto pulverizado de la membrana amniótica del cordón umbilical (UCAM) que no comprende una célula con actividad metabólica, HIV-1 activo, HIV-2 activo, HTLV-1 activo, hepatitis B activa, hepatitis C activa, virus del Nilo Occidental activo, citomegalovirus activo, encefalopatía espongiforme transmisible en humanos activa o *treponema pallidum* activo, en el que la actividad biológica natural de la UCAM aislada se conserva sustancialmente durante al menos 15 días después de la obtención inicial, caracterizada porque la UCAM es de cordón umbilical (UC), en el que dicho UC se procesa inicialmente i) congelándolo, o ii) eliminando sustancialmente toda la sangre antes de que dicho UC se congele.

2. El producto pulverizado de la UCAM de la reivindicación 1, en el que el producto no comprende venas umbilicales, arteria umbilical o gelatina de Wharton.

3. El producto pulverizado de la UCAM de la reivindicación 1, en el que sustancialmente todos los glóbulos rojos se han eliminado del producto de la UCAM.

4. El producto pulverizado de la UCAM de la reivindicación 1, en el que el producto de la UCAM está crioconservado, liofilizado, esterilizado terminalmente o una combinación de los mismos.

5. El producto pulverizado de la UCAM de la reivindicación 4, en el que el producto de la UCAM está crioconservado antes de liofilizarse.

6. El producto pulverizado de la UCAM de la reivindicación 1, en el que el producto pulverizado de la UCAM es un polvo seco.

7. El producto pulverizado de la UCAM de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 6, en el que el producto comprende gelatina de Wharton.

8. Una composición que comprende el producto pulverizado de la UCAM de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

9. Una composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la composición comprende además agua, solución salina, ácido hialurónico o colágeno.

10. La composición de la reivindicación 8, en la que la composición es una crema, loción, ungüento, pasta, gel, película o pintura.

11. La composición de la reivindicación 8, en la que la composición es antiinflamatoria, anticicatrizante, antiangiogénica, antiadhesiva o promueve la cicatrización de heridas.

12. Un producto o composición pulverizada de la UCAM de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso para promover la cicatrización de heridas y reducir la inflamación, cicatrización, angiogénesis y adhesión.

13. Un producto o composición pulverizada de la UCAM de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para usar como relleno dérmico.

14. Un producto o composición pulverizada de la UCAM de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso para tratar la artritis, que incluye osteoartritis, artritis reumatoide, artritis séptica, espondilitis anquilosante y/o espondilosis.

15. Un producto o composición pulverizada de la UCAM para uso de acuerdo con la reivindicación 14 por inyección en una articulación artrítica.

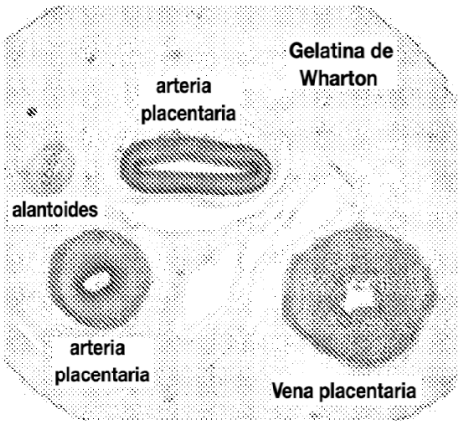

Gelatina de
Wharton
arteria
placentaria
alantoides
arteria
placentaria
Vena placentaria

FIGURA 1

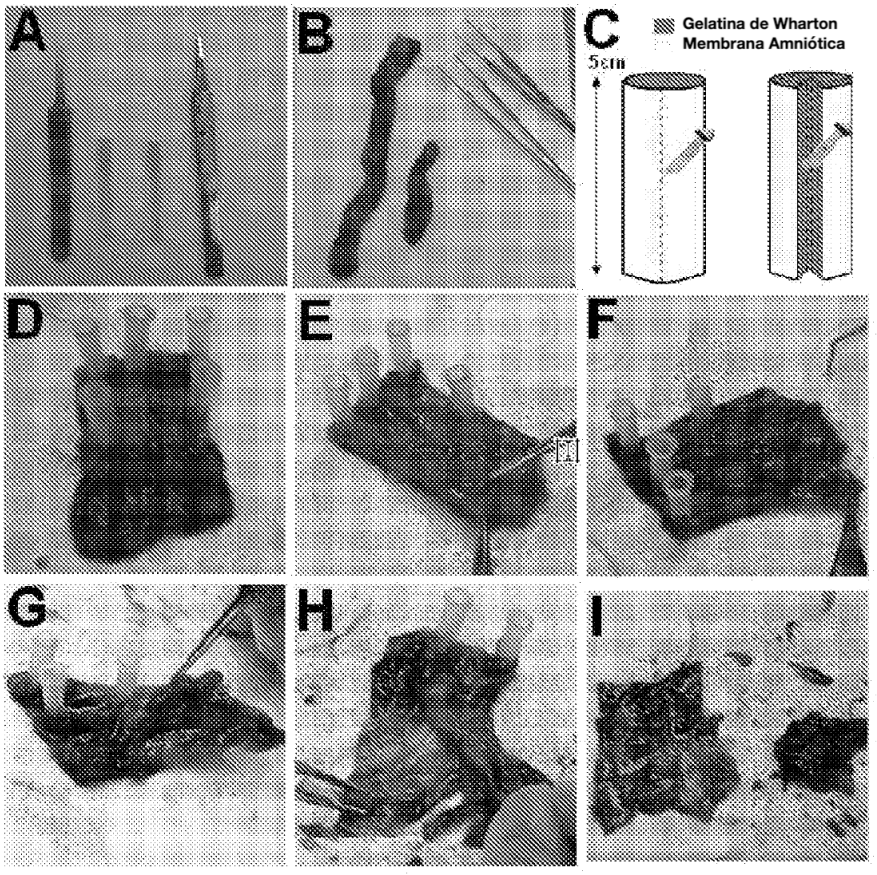


FIGURA 2

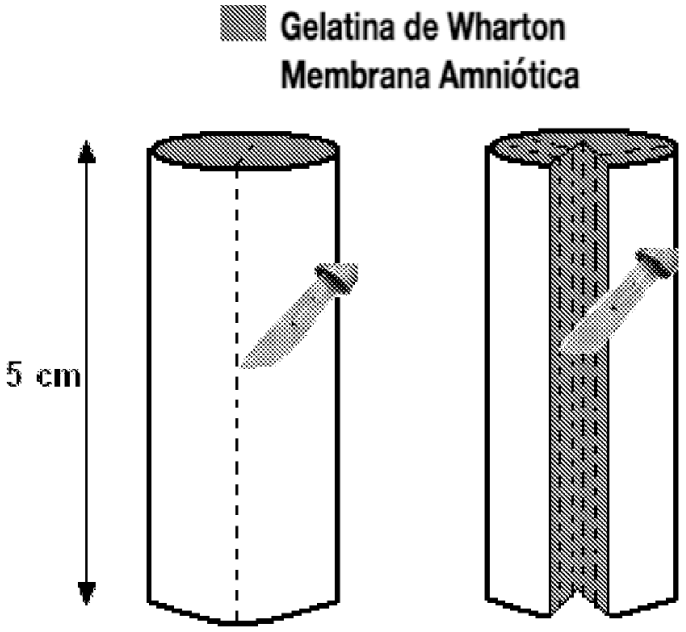


FIGURA 3a

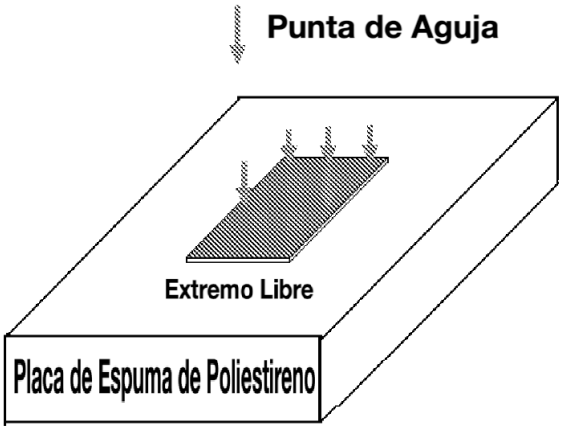

Punta de Aguja
Extremo Libre
Placa de Espuma de Poliestireno

FIGURA 3b

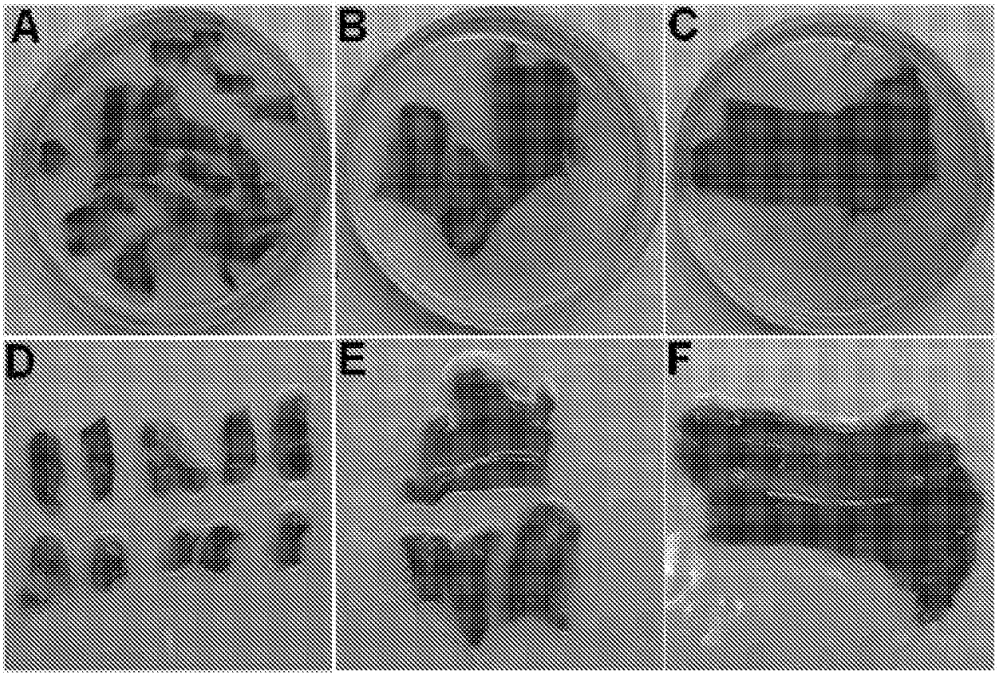


FIGURA 4

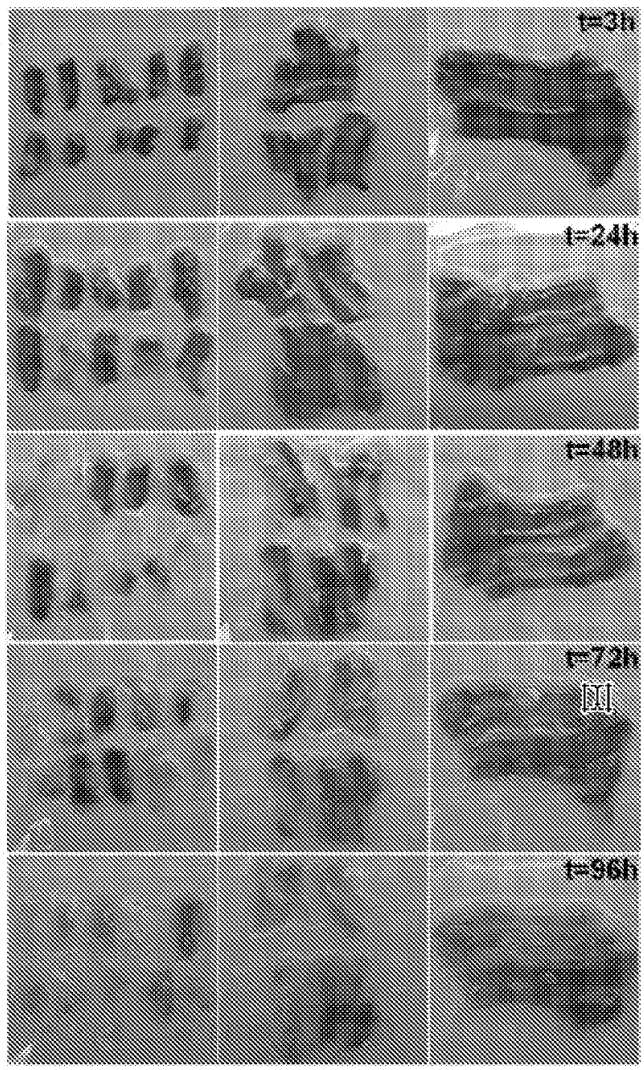


FIGURA 5

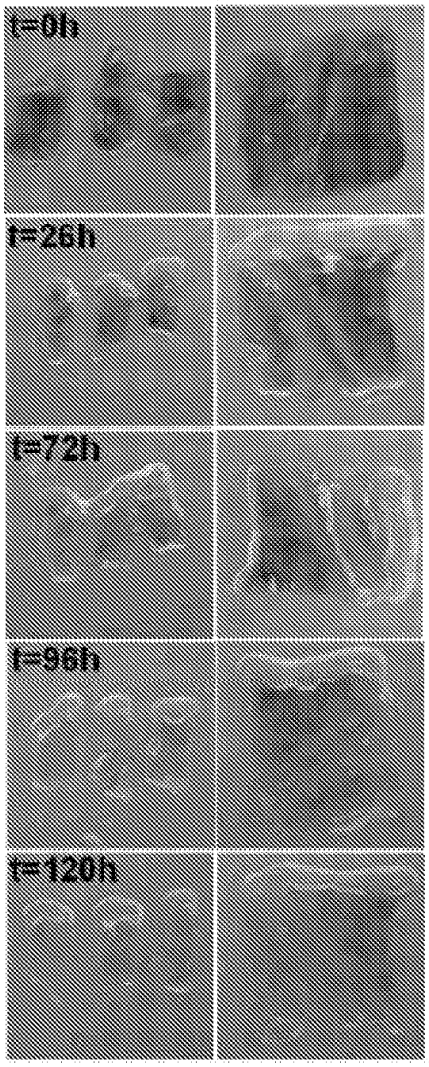


FIGURA 6

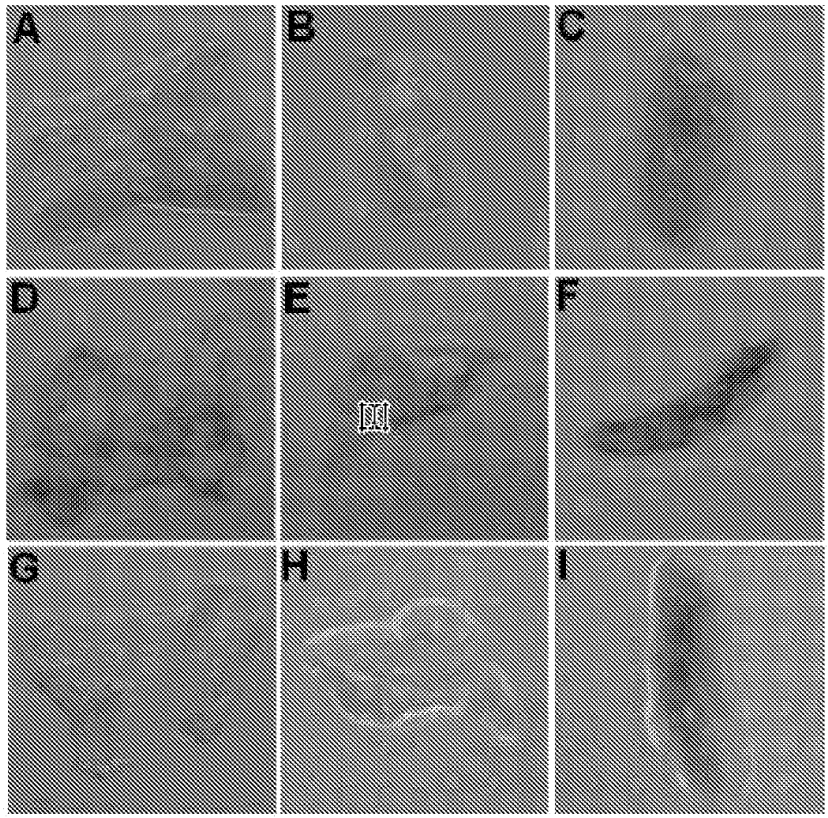


FIGURA 7

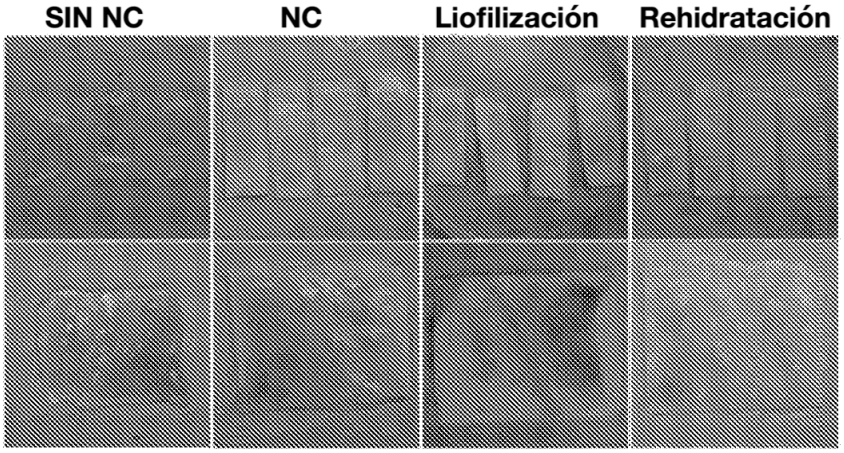


Figura 10. UCAM después de liofilización y rehidratación

FIGURA 8

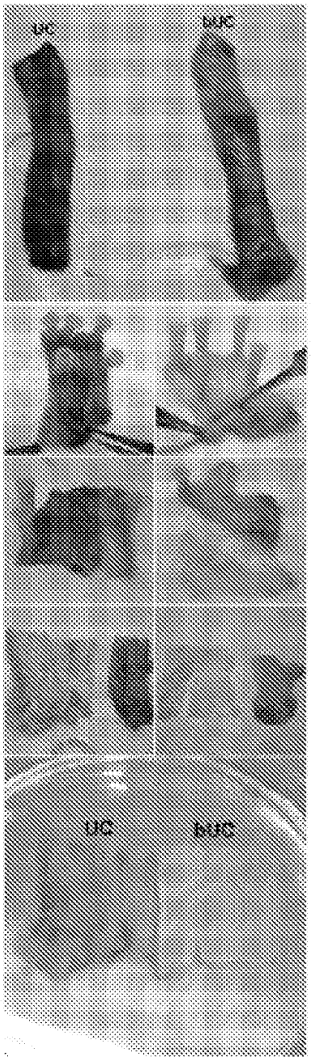


FIGURA 9

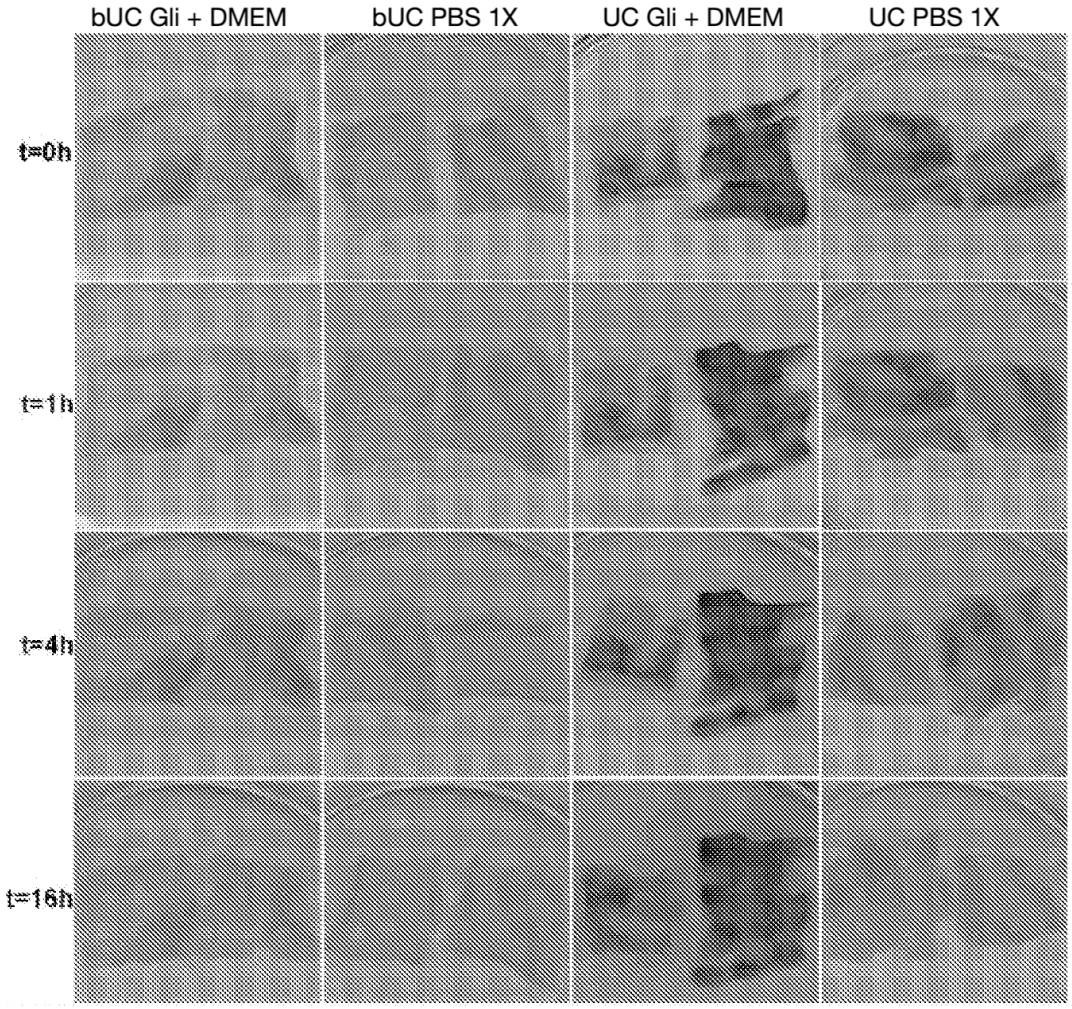


FIGURA 10

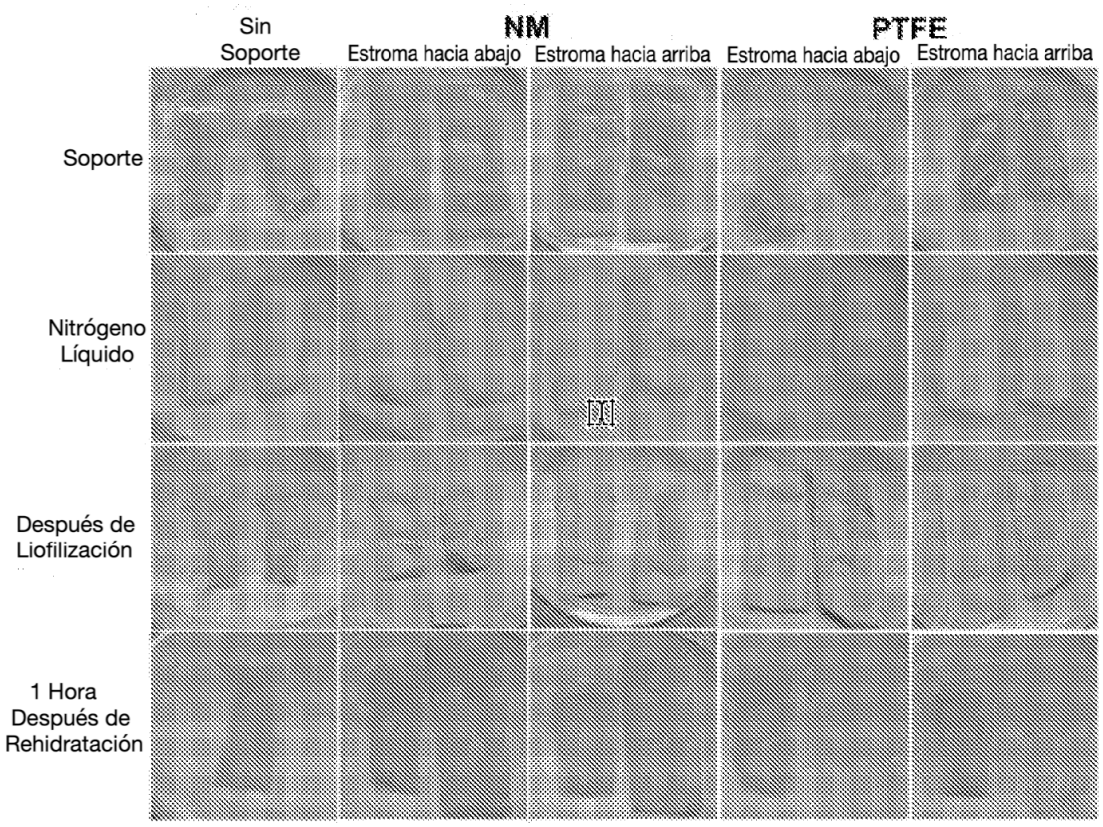

Sin Soporte
NM
PTFE
Estroma hacia abajo
Estroma hacia arriba
Estroma hacia abajo
Estroma hacia arriba
Soporte
Nitrógeno Líquido
Después de Liofilización
1 Hora Después de Rehidratación

FIGURA 11

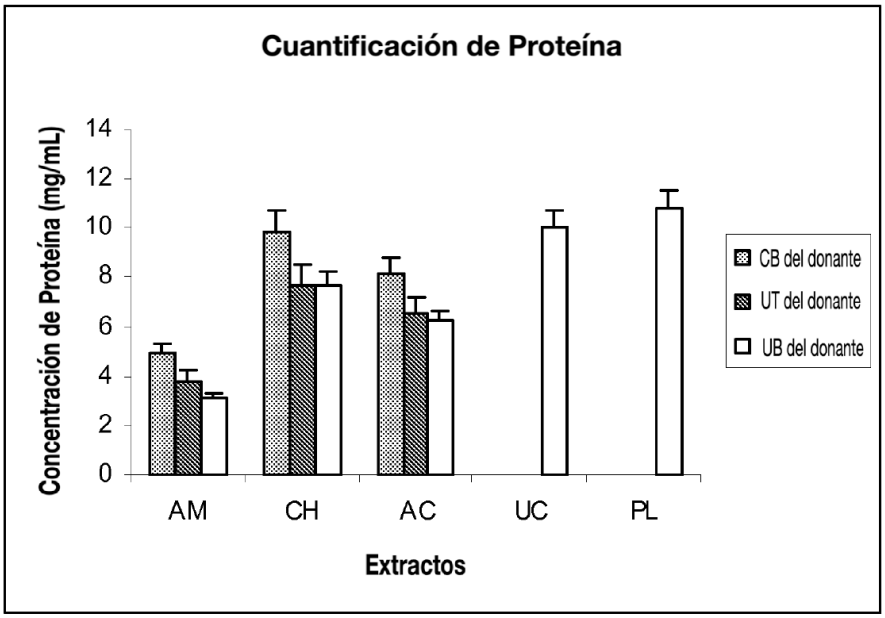

Cuantificación de Proteína
Concentración de Proteína (mg/mL)
14
12
10
8
6
4
2
0
AM
CH
AC
UC
PL
Extractos
CB del donante
UT del donante
UB del donante

FIGURA 12

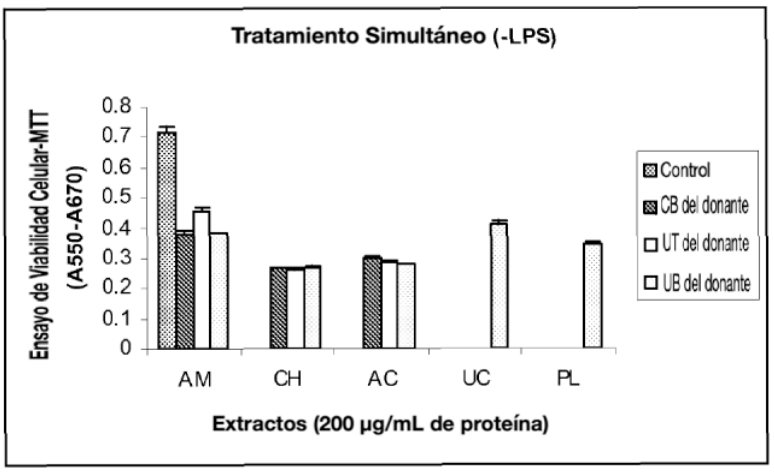


FIGURA 13A

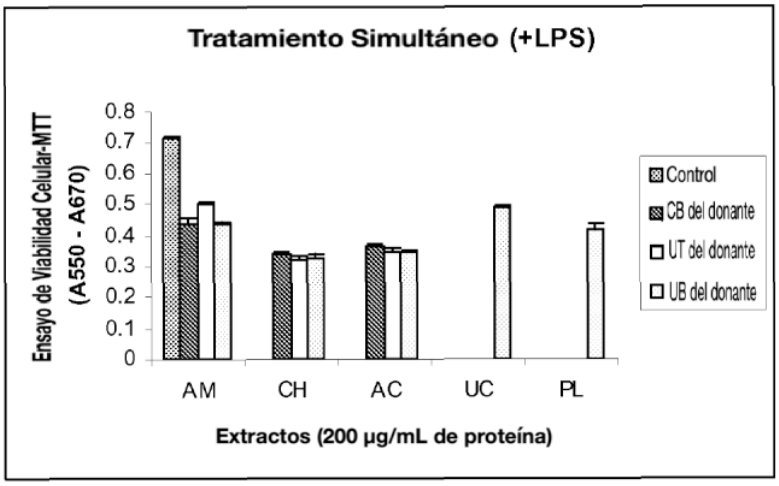


FIGURA 13B

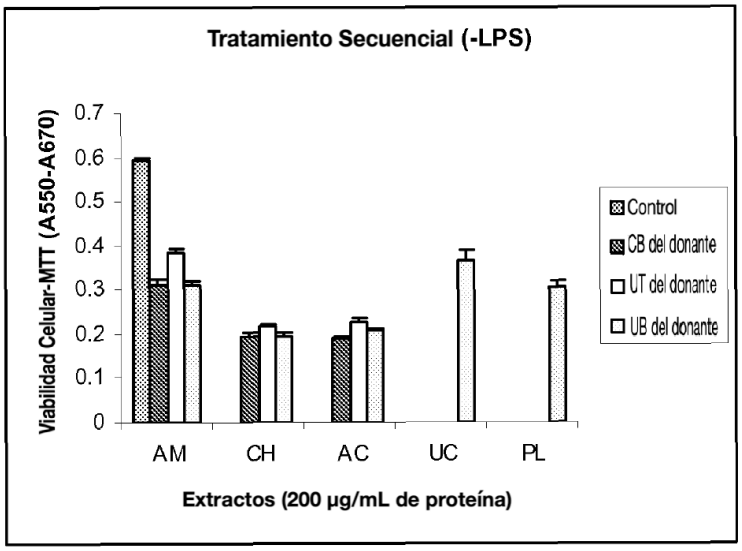

Tratamiento Secuencial (-LPS)
Viabilidad Celular-MTT (A550-A670)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
AM
CH
AC
UC
PL
Extractos (200 µg/mL de proteína)
Control
CB del donante
UT del donante
UB del donante

FIGURA 13C

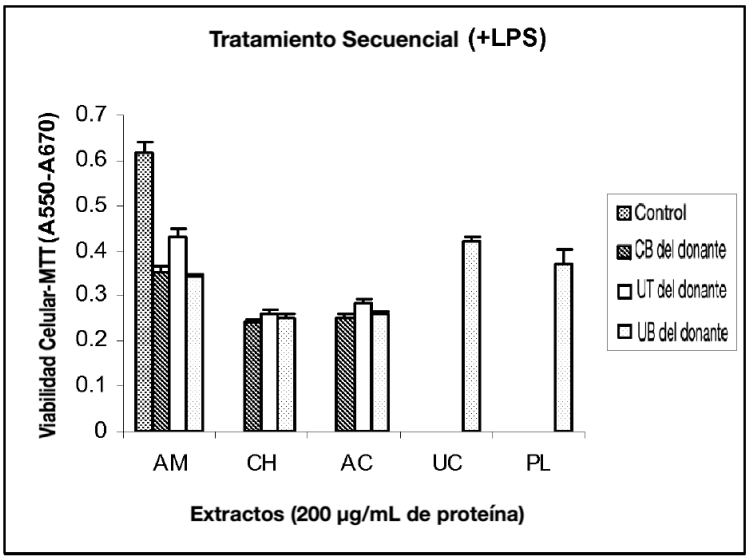

Tratamiento Secuencial (+LPS)
Viabilidad Celular-MTT (A550-A670)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
AM
CH
AC
UC
PL
Extractos (200 µg/mL de proteína)
Control
CB del donante
UT del donante
UB del donante

FIGURA 13D

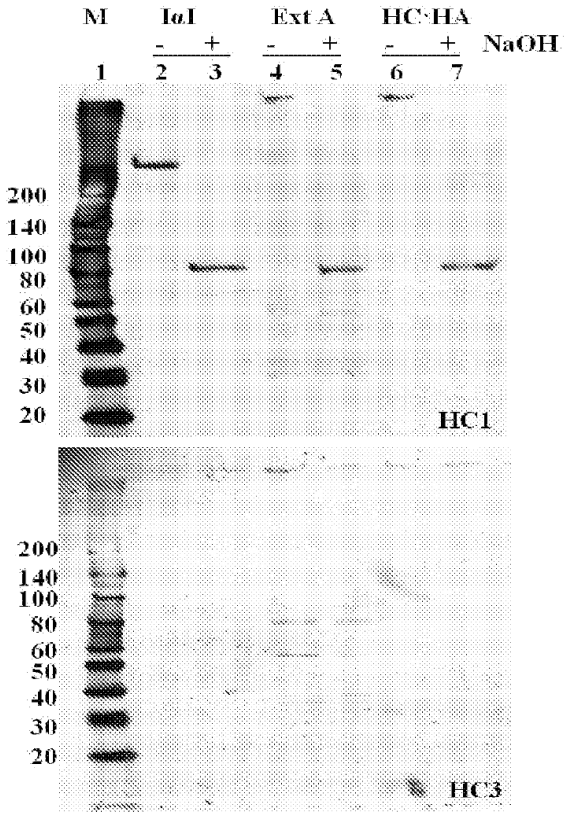

M
IαI
Ext A
HC-HA
NaOH
- +
- +
- +
1 2 3 4 5 6 7
200
140
100
80
60
50
40
30
20
HC1
200
140
100
80
60
50
40
30
20
HC3

FIGURA 14A

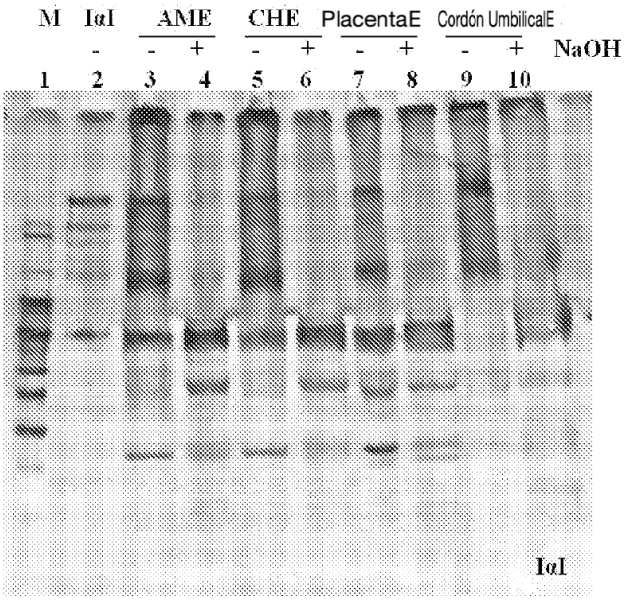


FIGURA 14B

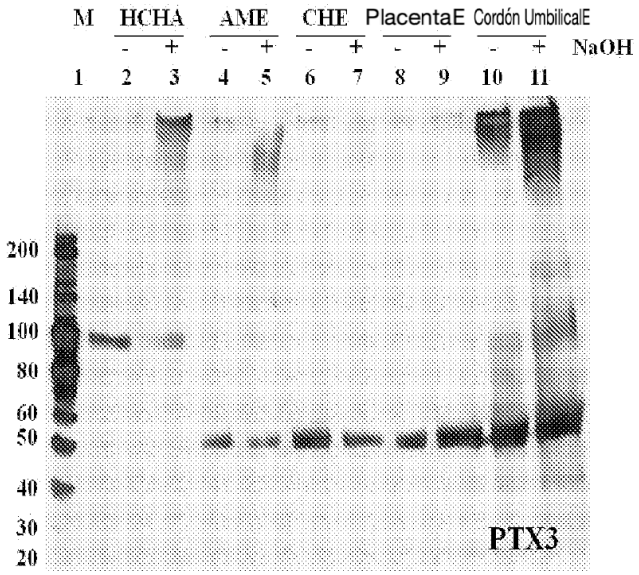


FIGURA 14C