



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 267 198**

⑤1 Int. Cl.:
A61L 27/00 (2006.01)
A61F 2/26 (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧6 Número de solicitud europea: **98956324 .2**
⑧6 Fecha de presentación : **30.10.1998**
⑧7 Número de publicación de la solicitud: **1042019**
⑧7 Fecha de publicación de la solicitud: **11.10.2000**

⑤4 Título: **Reconstrucción peneana.**

③0 Prioridad: **31.10.1997 US 63839**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

⑦3 Titular/es:
CHILDREN'S MEDICAL CENTER CORPORATION
300 Longwood Avenue
Boston, Massachusetts 02115, US

⑦2 Inventor/es: **Atala, Anthony y**
Yoo, James, J.

⑦4 Agente: **Izquierdo Faces, José**

ES 2 267 198 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

Reconstrucción peneana.

La invención se dirige a materiales útiles en tratar defectos anatómicos mediante el empleo de miembros de soporte estructural de ingeniería tisular y en particular a materiales útiles en reconstrucción peneana.

Condiciones tales como genitales insuficientes o ambiguos causados por afalia, penes rudimentarios, hipospadias severas, lesión traumática o pseudohermafroditismo precisan de intervención quirúrgica. En estos pacientes la asignación de sexo se lleva a cabo tras una rigurosa evaluación de diagnóstico y una cuidadosa consulta con los familiares. La decisión se toma basándose en la morfología genital externa, sexo hormonal y el papel de género establecido. En numerosos casos, se toma la decisión de criar al bebé como a una niña, a pesar del cariotipo, debido a dificultades quirúrgicas y a los pobres resultados de reconstrucción fálica.

El pene consiste en dos cuerpos paralelos cilíndricos, el corpora cavernosa y debajo *corpus spongiosum*, a través del cual pasa la uretra. La uretra recorre la parte inferior del pene y después asciende para abrirse en la punta expandida y con forma de cono, el glande, que se ajusta como un tapón alrededor del extremo del pene. Piel flexible envuelve el pene y también forma el prepucio replegable. La raíz del pene está unida a las partes descendentes del hueso púbico por medio de crura, que son las extremidades de la corpora cavernosa.

Existen varios tipos de impotencia. La impotencia orgánica es la pérdida de habilidad para obtener o mantener una erección funcional debido a la interrupción de ciertos procesos fisiológicos. Entre las causas de impotencia orgánica se incluye traumatismo tales como lesión de médula espinal o fractura pélvica; complicaciones post-operatorias tales como prostatectomía, cistectomía, esfinterectomía externa y resección perineal abdominal; enfermedades vasculares tales como arteriosclerosis o priapismo; enfermedades neurológicas tales como neuropatía periférica y esclerosis múltiple; enfermedades endocrinológicas o metabólicas tales como diabetes, hipogonadismo y fallo renal; y medicamentos tales como estrógenos, parasimpáticos, morfina y heroína. Los reflejos complejos que conlleva el mecanismo de erección también se ven afectados por factores fisiológicos.

La construcción fálica se intentó por primera vez a finales de los años 30 empleando tejido autógeno (Ver p. ej., Goodwin, W.E. *et al.*, Phalloplasty. J. Urol., 68: 903, 1952). Se empleó cartílago de costilla como apresto en pacientes con pérdida traumática de pene. Este método implicaba múltiples fases quirúrgicas que no obtuvieron un resultado cosméticamente satisfactorio (Frumppkin, A. P.: Am. Rev. Sov. Med., 2: 14, 1944). Posteriormente, en los años 70, se popularizaron las prótesis de silicona (Bretan, P.N.Jr.: Genitourinary Prostheses. Montague, D. K (ed), Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1989; Small, M. P. *et al.*, Urology, 5: 479, 1975). A pesar de que las prótesis de pene de silicona son una modalidad aceptada de tratamiento para adultos, pueden surgir complicaciones como deterioro e infección (Nukui, F. *et al.*, Int. J. Urol., 4:52, 1997; Kardar, A. *et al.*, Scan. J. Urol & Nephrol., 29: 355, 1995). Otros problemas que surgieron debido a las prótesis sintéticas fueron: extrusión por medio de la uretra o cavidad del eje dorsal del pe-

ne; edema linfático; irritación de la corona del glande; deslizamiento del glande sobre la prótesis; infección de la corpora cavernosa; perforación crural; perforación septal del eje medio; y dolor de pene (Small, M. P. *et al.*, Urology, 5: 479, 1975).

A pesar de que las prótesis de pene de silicona son una modalidad aceptada de tratamiento para adultos que precisen de reconstrucción del pene, su uso no se ha aplicado a la población pediátrica principalmente debido a los problemas a largo plazo que surgen en asociación con estos recursos artificiales. Por lo tanto, existe la necesidad de implantes de pene elásticos y biocompatibles que puedan usarse en niños que necesiten reconstrucción genital.

Resumen de la invención

La presente invención supera los problemas y desventajas asociadas con las actuales estrategias y diseños en tejido y reconstrucción de órganos mediante miembros de soporte de reforma estructural.

Una realización de la invención está dirigida a un miembro estructural implantable para uso en tratamientos de pacientes que tienen un defecto anatómico que no es causado por la presencia de cartílago ausente, dañado o afectado. El defecto se trata, al menos en parte, proporcionando un soporte estructural al tejido adyacente. El miembro estructural está hecho de una matriz polimérica con la forma del miembro de soporte deseado y reforzada con una capa de polímero licuado sobre algunas partes o sobre las 3 matrices de polímero preformadas y que tienen células que forman cartílagos disociados depositadas sobre y en la matriz de tal modo que cuando se implanta la matriz, se forma un miembro estructural cartilaginoso. El miembro estructural cartilaginoso tiene propiedades biomecánicas controladas para proporcionar el soporte estructural requerido en el área del defecto.

Otra realización de la invención está dirigida al uso de un miembro estructural implantable para la reconstrucción del pene en pacientes que necesiten tal tratamiento. Se proporciona una matriz sintética biocompatible o polimérica natural con la forma adecuada para un miembro estructural y reforzada con una capa de polímero licuado sobre algunas partes o sobre las 3 matrices de polímero preformadas adaptadas para encajar dentro de la corpora cavernosa o para sustituir la corpora cavernosa. El conjunto de células que forman el cartílago se deposita sobre o en la matriz polimérica para formar el constructo matriz/célula. El constructo matriz/célula se implanta en la corpora cavernosa del paciente para que se forme *in vivo* un miembro estructural cartilaginoso con propiedades biomecánicas controladas dando lugar al pene reconstruido con la suficiente dureza y fuerza de flexión como para servir como órgano funcional.

Descripción de los dibujos

El expediente de esta patente contiene al menos un dibujo realizado en color. Se proporcionarán copias de esta patente con dibujo(s) en color en la Oficina de Patentes y Marcas si se solicita y se paga la tasa necesaria.

Figura 1 representa un gráfico esquemático del estudio.

Figura 2 representa (A) cartílagos implantados *in vivo*; (B) cartílago recuperado mostrando barras bien formadas y blancas con la forma de la estructura de cartílago; y (C) sección transversal del cartílago recuperado.

Figura 3 representa propiedades biomecánicas de

los cartílagos técnicos en (A) estudios de compresión (n=3); (B) estudios de tensión-relajación (n=3); (C) estudios de relajación flexión-compresión (n=3); y (D) estudios de relajación flexión-compresión llevados a cabo a una velocidad de 20,000 $\mu\text{m}/\text{seg}$ durante 5 ciclos consecutivos (n=3).

Figura 4 representa especímenes de cartílago recuperado a los 2 meses que muestran (A) condrocitos que están en el interior de lacunae y la presencia de fibras de polímero bajo hematoxilina y eosina. (Reducido de x400 y (B) la presencia de mucopolisacáridos altamente sulfatados bajo coloración azul toluidine.

Figura 5 representa especímenes de cartílago recuperado a los 6 meses que muestran (A) fibras de polímero completamente degradadas sustituidas por cartílago bajo hematoxilina y eosina y (B) bajo coloración azul de aldehído fuschin-alcian. (Reducido de x400).

Figura 6 representa un gráfico esquemático del estudio donde condrocitos autólogos se aíslan de orejas de conejos, se expanden y se plantan en barras de polímero preformadas. Los armazones de polímero de célula se implantan intracorporalmente. Se recuperan especímenes para análisis al mes y a los 2, 3 y 6 meses después del implante.

Figura 7 Panel (A) representa genitales recuperados de un conejo de control después de un mes del implante y se muestra formación de cartílagos en una de las corpus cavernosa, mientras que el *corpus cavernosum* de control tiene una apariencia normal; panel (B) representa cartílago recuperado un mes después del implante.

Figura 8 representa especímenes de cartílago recuperado a los 3 meses. Panel (A) representa tejido de cartílago formado dentro de ambas corpora (C). H & E, reducido de x25. Panel (B) representa condrocitos maduros, en el interior de lacunae, que se encuentran adyacentes a la túnica albugínea (T). H & E, reducido de x250.

Figura 9 representa que se detectan mucopolisacáridos altamente sulfatados a los 6 meses tras el implante. Panel (A) representa coloración azul toluidine, reducida de x250. Panel (B) representa coloración azul de aldehído fuschin-alcian. (Reducido de x250).

Descripción de la invención

En el aspecto más amplio, la presente invención se relaciona con métodos y materiales para tratar pacientes que tienen defectos anatómicos que no son causados por la presencia de cartílago ausente, dañado o afectado. El defecto se trata, al menos en parte, proporcionando un soporte estructural al tejido adyacente o donde se encuentra el defecto. El soporte estructural necesario se puede proporcionar de acuerdo con la presente invención por medio de miembros estructurales cartilaginosos de ingeniería tisular con una forma predeterminada y con propiedades biomecánicas controladas. Mientras en primer lugar se ha llevado a cabo la descripción relacionada con miembros con forma de barra o varilla para la reconstrucción peneana, la presente invención contempla miembros estructurales con un tipo de configuración y sección transversal para uso en la parte del cuerpo donde el soporte estructural se corregirá o ayudará a la corrección de defectos estructurales no-cartilaginosos.

La invención está dirigida al uso de un miembro estructural cartilaginoso para proporcionar refuerzo estructural en una región de un paciente. A menudo procesos quirúrgicos provocan lesiones en la estruc-

tura corporal debilitada de un paciente. Por ejemplo, la extracción de un órgano enfermo o lesionado como un pulmón o riñón da como resultado una gran cavidad en el paciente. Un miembro estructural cartilaginoso (MEC) puede provocar soporte estructural en la cavidad que deja la extracción de tales órganos. Una ventaja del MEC es que está hecho de un material que es adecuadamente blando para permitir que el cirujano le dé forma y lo moldee rápidamente durante la implantación. Además, debido a la habilidad para fabricar MEC *in vitro*, un conjunto de estructuras MEC pueden prefabricarse antes de una operación. Por lo tanto, el cirujano puede seleccionar la estructura MEC más adecuada en términos de tamaño y propiedades estructurales que pueden seleccionarse para incluir fuerza estructural, resistencia para doblarse, girar y similares.

Otra realización de la invención está dirigida a un MEC que puede fabricarse con fuerza estructural variable para permitir que la estructura esté específicamente confeccionada para aplicaciones individuales. El MEC es capaz de proporcionar un grado variable de soporte estructural dependiendo de la necesidad específica de la localización y del paciente. Por ejemplo, estructuras MEC pueden fabricarse en láminas, columnas, columnas estriadas, polígonos, esferas o cualquier forma compleja adecuada para proporcionar soporte estructural en una cavidad corporal. De modo alternativo, el MEC puede fabricarse en un bloque sólido y se le puede moldear antes o después de que se siembre con condorcitos. La forma del MEC puede determinarse, por ejemplo, por escáner TAC o imágenes IMR de un paciente antes de la operación. La fabricación puede realizarse manualmente o con sistemas de ayuda asistida por ordenador o con sistemas de ayuda asistida por diseño de ordenador (CAD-CAM).

Células

Las células que forman el cartílago pueden aislarse de acuerdo con el procedimiento descrito en la Patente US publicada No. 5,041,138 que aquí se incluye como referencia. Brevemente, se obtuvo el cartílago articulado de los lomos de terneros menores de 2 semanas de edad. Los lomos se lavaron en Povidone-Iodo 10% y los cartílagos de las superficies articuladas de la unión se aislaron y cortaron en piezas con dimensiones menores que 5 mm por lado. Después el cartílago se lavó dos veces en Fosfato Búfer Salina (PBS) con electrolitos y se ajustó a pH neutro y se incubó a 37°C. en una solución de 0.2% colágeno clostridial (Worthington CLS II, 140 U/mg) y se agitó durante toda la noche tal y como Klagsbrun describió, (Methods in Enzymology, 58: 560, 1979). Esta suspensión fue filtrada posteriormente empleando un tamiz de nylon de 153 mg (Tetko, Elmford, N. Y. 105203). Después, se retiraron las células de la suspensión mediante centrifugado, se lavaron dos veces con solución PBS y se contabilizaron con un hemocitómetro. La solución se centrifugó a 1800 rpm y el sobrenadante sobre la suspensión celular se retiró vía succión empleando una micropipeta hasta que el volumen de la solución dio una concentración de 50 millones de células por mililitro.

De acuerdo con la Patente US No. 5,041,138 condrocitos crecen en matrices poliméricas de fibra biodegradable y biocompatible.

Las células pueden aislarse de cualquier tejido que contenga condrocitos. Tejidos que pueden servir co-

mo una fuente para condrocitos incluyen, por ejemplo, cartílagos de costillas, nariz, oreja, articulaciones, diente afectado, cartílago vítreo, cartílago elástico y fibrocartílago. Debido a la habilidad para expandir una población inicial de condrocitos, sólo se requiere una pequeña muestra de tejido. El tejido puede recogerse fácil y rápidamente empleando una pistola de biopsia con anestesia local.

Condrocitos (tales como condrocitos autólogos) pueden cultivarse *in vitro*, si se desea, para aumentar el número de condrocitos disponibles para sembrar en la matriz polimérica "armazón o andamio". El empleo de células alogénicas, y más preferentemente condrocitos autólogos, es preferible prevenir el rechazo del tejido. Sin embargo, si no se da una respuesta inmunológica en el sujeto después de la implantación de MEC, el sujeto puede ser tratado con agentes inmunosupresivos tales como, por ejemplo, ciclosporina o FK506, para reducir la posibilidad de rechazo de MEC. En ciertas realizaciones, células quiméricas, o células de animales transgénicos, pueden sembrarse sobre la matriz polimérica.

Las células se pueden transfectar antes de la siembra con materiales genéticos. Materiales genéticos útiles pueden ser, por ejemplo, secuencias genéticas que son capaces de reducir o eliminar una respuesta inmune en el huésped. Por ejemplo, se puede suprimir la expresión de antígenos de superficie de célula como antígenos de histocompatibilidad de clase I y clase II. Esto podría permitir que las células transplantadas tengan una reducida posibilidad de rechazo por parte del huésped. Además, transfección también puede emplearse para envío de genes. Los condrocitos pueden transfectarse con genes específicos antes de sembrar los polímeros. El constructo célula-polímero puede transportar la información necesaria para la supervivencia a largo plazo del huésped o del nuevo órgano de tejido injertado. Por ejemplo, se pueden transfectar células para enviar insulina en tratamientos de diabetes.

Los cultivos de condrocitos pueden prepararse con o sin el paso de fraccionamiento de células. El fraccionamiento de células puede llevarse a cabo empleando técnicas tales como clasificación de células activas fluorescente, que es conocida por aquellos expertos en la materia. El fraccionamiento de células puede realizarse basándose en el tamaño de las células, el contenido de ADN, los antígenos de superficie celular, y la viabilidad. Por ejemplo, los condrocitos pueden enriquecerse y las células contaminantes tales como fibroblastos pueden reducirse. Aunque el fraccionamiento se puede realizar, no es necesario para la práctica de la invención.

El fraccionamiento de células puede desearse, por ejemplo, cuando el donante tiene enfermedades tales como cáncer o metástasis u otros tumores del cartílago. Se puede clasificar una población de condrocitos para separar células de tumores malignos de condrocitos no cancerígenos. Los condrocitos normales no cancerígenos, aislados por una o varias técnicas de clasificación, pueden emplearse para MEC. Después de que el paciente haya sido tratado para el cáncer, se puede usar el MEC para la reconstrucción del pene.

Otro procedimiento opcional en el método es la criopreservación. La preservación criogénica puede ser útil, por ejemplo, para reducir la necesidad de múltiples procedimientos de cirugía invasiva. Los condrocitos pueden desarrollarse y una porción de las células

desarrolladas puede usarse y otra porción puede preservarse de manera criogénica. La habilidad para desarrollar y preservar células permite considerable flexibilidad en la elección de células donantes. Por ejemplo, células de un donante histocompatible pueden desarrollarse y emplearse en más de un receptor.

Otro ejemplo de utilidad de preservación criogénica es en bancos de tejido. Las células donantes pueden criopreservarse junto con información de histocompatibilidad. Las células donantes pueden almacenarse, por ejemplo, en un banco de tejido donante. Como se necesita tejido para MEC, se pueden seleccionar células que son más histocompatibles con el paciente. Los pacientes que tienen una enfermedad o están bajo tratamiento que precisa MEC pueden preservar criogénicamente una población de condrocitos. Posteriormente, si es preciso, los condrocitos preservados criogénicamente pueden disolverse y usarse para el tratamiento. Por ejemplo, si el cáncer reaparece tras la reconstrucción del pene, las células preservadas criogénicamente pueden usarse para reconstrucción del pene sin necesidad de aislar más tejido del paciente para cultivo.

Material de Matriz Polimérica

Material biocompatible y especialmente biodegradable es el material predilecto para la construcción de la matriz polimérica. Biocompatible se refiere a materiales que no tengan efectos tóxicos o perjudiciales sobre funciones biológicas. Biodegradable se refiere a materiales que pueden ser absorbidos o degradados en el cuerpo del paciente. Ejemplos de materiales biodegradables incluyen, por ejemplo, suturas absorbibles. Materiales representativos para formar la estructura biodegradable incluyen polímeros naturales o sintéticos como, por ejemplo, colágeno, poli(alpha esteres) como poli(lactato ácido), poli(glicólico ácido), polioctoesteres y polianhídridos y sus copolímeros, que degradados por hidrólisis a una tasa controlada y que son reabsorbidos. Estos materiales proporcionan el máximo control de degradación, manejo, tamaño y configuración. Los materiales polímeros biodegradables preferibles incluyen ácido poliglicólico y poliglactino, desarrollado como material de sutura sintético absorbible. Ácido poliglicólico y fibras de poliglactino pueden emplearse tal y como las suministra el fabricante. Otros materiales biodegradables incluyen éter de celulosa, celulosa, éster celulósico, polietileno fluorado, fenólico, poli-4-metilpenteno, poliacrilonitrilo, poliamida, poliamideimida, poliacrilato, polibenzoxazol, policarbonato, policianoarileter, poliéster, poliester carbonato, poliéter, polieteretercetona, polieterimida, polietercetona, polietersulfona, polietileno, polifluoroolefina, poliamida, poliolefina, polioxadiazol, óxido polipenileno, sulfuro polipenileno, polipropileno, poliestireno, polisulfuro, polisulfona, politetrafluoroetileno, politioéter, politriazol, poliuretano, polivinilo, fluoruro polivinilideno, celulosa regenerada, silicona, urea-formaldehído o copolímeros o mezclas físicas de estos materiales. El material puede estar impregnado con agentes antimicrobiales adecuados o puede estar decolados por aditivos colorantes para mejorar la visibilidad y facilitar los procesos quirúrgicos.

En algunas realizaciones, la unión de las células al polímero se mejora cubriendo los polímeros con compuestos tales como componentes de membrana de base, agar, agarosa, gelatina, goma arábiga, colágenos, fibronectina, laminina, glicosaminoglicanos,

mezclas de los mismos, y otros materiales con propiedades similares a las moléculas de matriz biológica conocidos por aquellos expertos en la técnica del cultivo de células. Parámetros mecánicos y bioquímicos aseguran que el polímero proporcione un adecuado soporte a las células con el posterior crecimiento y proliferación. Factores, incluyendo nutrientes, factores de crecimiento, inductores de diferenciación o dediferenciación, productos de secreción, inmunomoduladores, inhibidores de inflamación, factores de regresión, compuestos biológicamente activos que mejoren o permitan el crecimiento interior de la red linfática o fibras nerviosas, y drogas, pueden incorporarse a la matriz o se pueden facilitar en combinación con la matriz. De manera similar, polímeros que contienen péptidos como la unión peptídica RGD (Arg-Gly-Asp) pueden sintetizarse para uso en la formación de matrices.

En la actualidad, un polímero biocompatible preferente es Poliglactina y ácido poliglicólico. Poliglactina se desarrolló como material de sutura sintético absorbible, a 90:10 copolímero de glicolida y lactida, manufacturado como Vicrilo suturas absorbibles trenzadas (Ethicon Co., Somerville, N.J.) (Craig P.H., Williams J.A.I., Davis K. W., *et al.*: A Biological Comparison of Polyglactin 910 and Polyglycolic Acid Synthetic Absorbable Sutures. Surg. 141; 1010, (1975)). Fibras de ácido poliglactino y poliglicólico pueden usarse tal y como el fabricante las suministra. El polímero biocompatible puede moldearse empleando métodos tales como, por ejemplo, fundición disolvente, moldeo de compresión, trazado de filamentos, engranaje, lixiviación, tejedura y revestimiento. En fundición disolvente, una solución de uno o más polímeros en un disolvente apropiado, tal como cloruro de metileno, se funde como una estructura de alivio de patrón de ramificación. Después de la evaporación del disolvente, se obtiene una fina película. En moldeados de compresión, se presiona un polímero a presiones hasta 30,000 libras por pulgada cuadrada. El trazado de filamentos incluye trazados desde el polímero fundido y el engrane incluye formar una malla comprimiendo fibras en un material similar al fieltro. En lixiviación, una solución que contiene dos materiales se extiende en un recinto con forma de molde para la forma final de la matriz. Posteriormente, se emplea un disolvente para disolver uno de los componentes, resultando una formación de poros. (Ver Mikos, US 5,514,378, aquí incorporada como referencia). En la cristalización o nucleación, finas películas con la forma de una matriz se exponen a productos de fisión radioactiva que crean trazas de material dañado por radiación. Después, las láminas de policarbonato se graban con ácido o base, transformando las trazas de material dañado por radiación en poros. Finalmente, se puede emplear un láser para dar forma y quemar orificios individuales a través de muchos materiales para formar una estructura de matriz con tamaño uniforme de poros.

Revestimiento se refiere a cubrir o impregnar una estructura polimérica con un material tal como, por ejemplo, copolímeros licuados (poli-DL-lactida coglicolida 50:50 80 mg/ml cloruro de metileno) para alterar sus propiedades mecánicas. El revestimiento se puede realizar en una capa, o en múltiples capas hasta que se logran las propiedades mecánicas deseadas. Estas técnicas de moldeo se pueden emplear en combinación, por ejemplo, una matriz polimérica

puede tejerse, moldearse por compresión y pegarse. Además, diferentes materiales poliméricos moldeados por medio de diferentes procesos pueden añadirse para formar una forma compuesta. La forma compuesta puede ser una estructura laminar. Por ejemplo, una matriz polimérica puede estar unida a una o más matrices poliméricas para formar una estructura matriz polimérica multicapa. La unión puede llevarse a cabo con los medios adecuados como pegar con un polímero líquido, grapar, suturar o una combinación de estos métodos. Además, la matriz polimérica puede estar formada como un bloque sólido y se le da forma por medio de láser u otras técnicas estándar hasta conseguir la forma final deseada. El moldeo por láser se refiere al proceso de retirar materiales utilizando un láser.

Los polímeros pueden caracterizarse con respecto a las propiedades mecánicas como fuerza dúctil empleando un verificador Instron, para peso molecular de polímero por cromatografía por impregnación por gel (GPC), temperatura de transición de cristal por calorimetría de análisis diferencial (DSC) y estructura de enlace por espectroscopia de infrarrojo (IR); con respecto a la toxicología por tests de revisión inicial que incluyen ensayos Ames y ensayos *in vitro* de la capacidad para producir malformación fetal, y estudios de implantación en animales para inmunogenicidad, estudios de inflamación, interrupción y degeneración. La unión y viabilidad de células *in vitro* puede ser evaluada por el empleo de un microscopio de análisis de electrones, baño histológico, y evaluación cuantitativa con radioisótopos.

En una realización preferente, la matriz polimérica está formada por un ácido poliglicólico con una densidad media de alrededor de 58 miligramos por centímetro cúbico. La malla sin tejer puede estar compuesta por fibras con un diámetro de 15 μm y con más del 95% de superficie porosa antes de la siembra. En una realización preferente, los armazones de polímero se diseñan para degradar por medio de hidrólisis en un periodo de 6 a 8 semanas. La matriz polimérica puede esterilizarse en óxido de etileno y se puede mantener en condiciones estériles hasta su uso.

Las matrices poliméricas pueden tratarse con aditivos o drogas antes de la implantación (antes o después de que la matriz se siembre con células), por ejemplo para estimular la formación de nuevo tejido después de la implantación. Por lo tanto, por ejemplo, factores de crecimiento, citoquinas, componente de matriz extracelular, y otros materiales bioactivos pueden añadirse a la matriz polimérica para estimular la curación del injerto y la formación del nuevo tejido. Tales aditivos se seleccionarán generalmente de acuerdo con el tejido u órgano que se está reconstruyendo o aumentando, para asegurar que se forme el apropiado nuevo tejido en el órgano o tejido injertado (para ejemplos de tales aditivos a emplear en la estimulación de la cura ósea, ver, por ejemplo, Kirker-Head, C.A. Vet.Surg. 24 (5): 408-19 (1995)). Por ejemplo, cuando las matrices poliméricas (opcionalmente sembradas con células endoteliales) se emplean para aumentar el tejido vascular, se puede emplear el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, ver, p. ej., U.S. Patent No. 5,654,273 aquí incorporada como referencia) para estimular la formación de nuevo tejido vascular. Factores de crecimiento y otros aditivos (p. ej., factor de crecimiento de la epidermis (EGF), factor de crecimiento como

epidermis ligado con heparina (HBGF), factor de crecimiento fibroblast (FGF), citoquinas, genes, proteínas y similares) pueden añadirse en cantidades en exceso de cualquier cantidad de factores de crecimiento (si hay alguno) que puede producirse por la acción de las células sembradas en la matriz polimérica, si se emplean células añadidas. Tales aditivos son preferiblemente proporcionados en una cantidad suficiente para estimular la formación de nuevo tejido de un tipo apropiado para el tejido u órgano, que se necesita reparar o aumentar (p. ej., causando o acelerando la infiltración de células huéspedes en el injerto). Otros aditivos útiles incluyen agentes antibacterianos como antibióticos.

Una matriz de soporte preferente está compuesta por filamentos cruzados que permiten la supervivencia celular por medio de difusión de nutrientes a lo largo de cortas distancias una vez que la matriz de soporte celular se ha implantado.

Estructura de Matriz Polimérica

La matriz polimérica puede fabricarse con estructura de poro controlada como se ha descrito anteriormente. El tamaño de los poros puede usarse para determinar la distribución celular. Por ejemplo, los poros en la matriz polimérica pueden ser grandes para permitir que los condrocitos migren al interior de la estructura.

La matriz polimérica puede moldearse a un número de configuraciones deseables para construir un miembro estructural cartilaginoso (MEC) para satisfacer cualquier restricción del sistema global, geométrico o espacial. Por ejemplo, en el uso de la matriz polimérica para reconstrucción del pene, el MEC puede ser de forma cilíndrica alargada. Preferiblemente que la dimensión de la longitud sea 3 veces el diámetro. El MEC puede ser una barra sólida o una barra hueca. La barra hueca puede tener un espacio adaptado para la colocación de la uretra. La uretra puede ser natural, sintética o un neo-uretra injertada. Un MEC puede moldearse para reemplazar una o ambas corpora cavernosa. En el uso de MEC en reconstrucción de pene, el MEC debería parecerse lo más posible a la parte anatómica que va a sustituir. En los casos donde MEC se implanta para proporcionar soporte o para reemplazar a la corpora cavernosa, el MEC puede moldearse de manera similar a la corpora cavernosa. Esto es, el MEC puede moldearse para formar dos cilindros alargados. En el caso de reconstrucción más extensa del pene, el MEC puede moldearse para parecer una barra alargada. Cuando se diseña para sustituir ambas corpora cavernosa, el MEC puede tener la forma de un cilindro alargado con una sección transversal en forma de riñón.

Puede desearse tener un MEC con fuerza estructural variable. Por ejemplo, puede desearse que la fuerza estructural del implante de pene sea fuerte en un punto distal del cuerpo pero que sea relativamente débil en un punto más cercano al cuerpo. De este modo, el pene reconstruido podría tener suficiente fuerza estructural durante el acto sexual mientras que se mantendría flexible en otros momentos. En otra realización, el MEC puede ser relativamente fuerte en una posición próxima al cuerpo y relativamente débil en una posición dista del cuerpo. Además, el MEC podría ser relativamente fuerte en ambos extremos y débil y más sensible en el medio. La fuerza compresiva y resistencia a la flexión del MEC puede variar empleando técnicas comunes de fabricación. Por ejem-

plo, la resistencia a la flexión puede aumentar o disminuir espesando o rebajando (debilitando) un MEC sólido. De modo similar, espesar o rebajar las paredes de un MEC hueco tendrá efectos similares. También se pueden emplear salientes longitudinales, salientes laterales, salientes diagonales, estructuras de panal o celular para alterar la fuerza estructural. Métodos para alterar la fuerza estructural de materiales mediante el cambio de forma son conocidos por aquellos especializados en ingeniería mecánica y pueden incorporarse en la construcción del MEC. El método para la construcción de armazones de polímero flexibles es el endurecimiento mediante la cobertura de una parte o todo del armazón de polímero con un copolímero líquido adicional como, por ejemplo, poli-DL-lactido-co-glicolida 50:50 (es decir, 50%:50%).

Una característica importante de la prótesis de pene es la rigidez necesaria para mantener su configuración. En la población adulta, la prótesis debería poder resistir cierta presión para permitir el coito. Las barras de cartílago injertadas de la invención mostraron parámetros biomecánicos adecuados. Los estudios de compresión, tensión y flexión llevados a cabo demostraron que las barras de cartílago eran fácilmente elásticas y podían resistir altos grados de presión.

La matriz polimérica puede ser flexible o rígida, dependiendo de la forma, estructura y función finales deseadas. Una aparente ventaja de emplear matrices de fibra es la facilidad para remodelarlas y rehacer las estructuras al tiempo que se implanta.

La matriz polimérica puede esterilizarse antes del uso empleando cualquier método conocido. Los métodos usados dependen el material que se haya empleado en la matriz polimérica. Ejemplos de métodos de esterilización incluyen vapor, vapor presurizado, calor seco, radiación, gases como óxido de etileno, gas y ebullición.

Siembra

Filamentos trenzados de poliglactina 910, un 90-10 copolímero de glicolida y lactida, cubierto con poliglactina 370 y estearato de calcio (material de sutura vicrilo, Ethicon Co., Somerville, N.J.) se cortaron en piezas de aproximadamente 17 mm de longitud. Se destrenzó un extremo para exponer múltiples fibras, 14 micrones de diámetro. Se hizo un nudo en el otro extremo para ayudar a localizar el polímero en las posteriores biopsias. Se colocaron dos fibras de polímero en cada uno de los 26 platos de cultivo de tejido Falcon, de tamaño de 35 mm. Doscientos ml de la solución mencionada se colocó sobre las dos fibras en cada uno de los 15 pozos, exponiendo así 30 fibras a la solución que contiene condrocitos y manteniendo 22 polímeros libres de exposición a condrocitos para que sirvan como controles. Después, 2 ml de una solución que contiene medios de cultivo F-12 de Hamm y 10% de suero de ternero fetal con L-glutamina (292 mg/cc), penicilina (100 U/cc), estreptomycin (100 mg/cc) y ácido ascórbico (5 mg/cc) se añadieron a cada pozo. Después de haber incubado a 37°C durante 3, 6, 11, 18, 21 y 28 días, se examinaron cuidadosamente seis fibras de cada grupo para la presencia y apariencia morfológica de condrocitos utilizando un microscopio de contraste de fase y posteriormente se evaluó histológicamente utilizando coloración Hematoxilina y Eosina y tinte Aldehído-Alcina Fruschin para sulfato de condroitina, sulfato fuertemente ácido de mucopolisacáridos del cartílago.

La siembra de la matriz polimérica con células

puede llevarse a cabo mediante un número de métodos que se describen en la patente publicada US N° 5,041,138 que aquí se incorpora como referencia.

Reconstrucción Peneana

La implantación y reconstrucción puede llevarse a cabo empleando varias técnicas. En resumen, el paciente es colocado en posición de litotomía y se coloca un catéter en la uretra con fines de identificación. Se realiza una incisión media vertical desde la base del escroto hacia el ano y la incisión continúa hasta el músculo bulbocavernosus. El músculo cavernosus y la uretra se repliegan a un lado y se identifican el músculo *cavernosus ischial* y el músculo del pene. Una vez que se ha identificado el músculo, se abre en una longitud de aproximadamente 2 cm. Se emplean dilatadores Hegar para dilatar el músculo del pene hacia una parte próxima a la tuberosidad isquial y distalmente para la completa extensión de la corpora cavernosa. De manera alternativa, el cirujano puede rebajar el MEC para que se adecue al paciente. Después de que la prótesis se ha insertado, el mismo procedimiento puede llevarse a cabo en el lado contralateral. Después se cierran las incisiones en la corpora cavernosa con una sutura supurante de 3-0 catgut crómico. El resto de la herida se cierra de manera rutinaria. Durante el procedimiento, el MEC se pone en remojo en una solución de antibiótico como por ejemplo, polimixina-neomicina. Después de la inserción, la herida es irrigada con la misma solución. Se da antibiótico de espectro ensanchado y se continua con el post-operatorio.

El MEC puede también emplearse para reconstrucción total del pene. Son conocidas técnicas microquirúrgicas para reconstrucción del pene (ver p.ej. Jordan *et al.*, J. Urol. 152:410-414, 1994). Tales técnicas incluyen la creación de un *neophallus sensate* inicialmente por medio de la coaptación de los nervios de aleta a los nervios del genitofemoral o ilioinguinal; coaptación de los nervios locales de las aletas de *fasciocutaneous* a los nervios dorsales del pene; reconstrucción empleando aletas de *gracilis musculocutaneous* y aletas de *ractus abdominis musculocutaneous* con aletas libres suplementarias para la cobertura de la piel sensate; reconstrucción de la aleta libre del antebrazo *faciocutaneous*. Se puede fabricar una nueva uretra junto con el *neophallus* para una completa reconstrucción. La neo-uretra puede fabricarse de manera separada o unida al *neophallus* antes de la implantación. De manera alternativa, la neo-uretra puede ser parte de la estructura original del MEC que está poblada por dos tipos diferentes de células. Por lo tanto, se puede conseguir la total reconstrucción fállica. Se pueden obtener especímenes de pequeña biopsia a partir de la oreja y la vejiga del paciente. Los condrocitos y las células uroteliales pueden crecer y expandirse por separado. Las células pueden sembrarse en armazones de polímero biodegradables preformados separados seguido de una operación de fase sencilla para construir un falo con una neo-uretra adecuada.

MEC puede reemplazar los implantes intracorporales, eliminando así posibles complicaciones como desgaste e infección. Una técnica similar puede aplicarse a pacientes que presentan recurrentes priapismos seguidos de anemia depreanocítica. Actualmente, no se ha conseguido prevenir los recurrentes priapismos. Implantaciones de prótesis naturales injertadas compuestas de condrocitos autólogos podrían eliminar permanentemente los problemas de obstrucción

de sangre dentro de la corpora.

Otra utilidad del MEC es en el tratamiento de condiciones genitales dolorosas como las de la enfermedad de Peyronie. El enfoque terapéutico para estos casos puede incluir el uso de células transfectadas con material genérico. Los armazones de polímero celular transfectadas forman estructuras similares a órganos con expresión funcional de los genes enviados. Los genes que regulan la inflamación y fibrosis pueden enviarse en prótesis de pene injertado compuesto de condrocitos autólogos. Esta prótesis modificada de gene podría transportar toda la información genética necesaria para la expresión funcional con el fin de prevenir enfermedades recurrentes.

Los armazones de polímero celular injertados se implantaron perfectamente en el interior de la corpus cavernosa sin ninguna dificultad técnica. Los armazones de polímero empleados en este estudio se diseñaron para degradarse en 6 a 8 semanas. Las células sembradas fácilmente formaron tejido de cartílago maduro *in vivo*, sustituyendo las fibras de polímero degradante durante este periodo. El cartílago injertado permaneció en el lugar de la implantación inicial sin ninguna evidencia de infección, inflamación o desgaste. Histológicamente, las barras recuperadas mostraron una formación adecuada de cartílago maduro, como lo demostraron la presencia de condrocitos en lacunae y la presencia de mucopolisacáridos altamente sulfatados.

El uso de prótesis de cartílago injertado es clínicamente aplicable a pacientes que sufren reconstrucción de pene bien por condiciones congénitas o por condiciones adquiridas. Este método tecnológico también puede usarse en adultos con disfunción erectil. El tejido de cartílago autólogo, hecho de las propias células de los pacientes, puede colocarse intracorporalmente.

Ejemplos

Ejemplo 1

Construcción de Matriz Polimérica

Lámina destejada de fieltro de ácido poliglicólico con una densidad de aproximadamente 58 miligramos por centímetro cúbico se configuró en barras cilíndricas de aproximadamente 1 cm de diámetro de aproximadamente 15 μ m, distancia de interfibra entre 0-200 micrones y con más del 95% poroso antes de la siembra. El armazón se diseñó para degradar vía hidrólisis durante un periodo de 6 a 8 semanas. Opcionalmente, el armazón flexible se cubrió con un copolímero licuado (poli-DL-lactida-co-glicolida 50:50, 80 mg/ml cloruro de metileno) con el fin de lograr las características mecánicas adecuadas. Los armazones de polímero se esterilizaron en óxido de etileno y se mantuvieron bajo condiciones estériles hasta la siembra de células.

Ejemplo 2

Cultivo y Siembra de Células

Se obtuvo cartílago vítreo de la superficie articular del lomo del ternero. Los condrocitos se cosecharon bajo condiciones estériles empleando una técnica previamente descrita (Atala, A. *et al.*, J Urol, 150: 745-747, 1993; Atala, A., *et al.*, J Urol, 152: 641-643, 1994; Klagsbrun, M. Methods Enzymol., 58:560, 1979). En resumen, se obtuvo cartílago articulado de los lomos de terneros menores de dos semanas de edad y sacrificados a primera hora de la mañana. Los lomos se lavaron en Providone-lodo en una concentración de aproximadamente 10% (Betadine, Purdue Frederick Col, Norwalk, Conn.) de so-

lución. Después, bajo condiciones estériles, las uniones de los músculos fueron claramente diseccionadas del hueso subyacente para exponer las superficies de unión. El cartílago de las superficies articuladas de la unión se diseccionaron claramente del hueso subyacente empleando un bisturí #10 (Bard-Parker, Rutherford, New Jersey). El cartílago se cortó en piezas con dimensiones menores a 5 mm por lado y se lavaron dos veces en Fosfato Búfer Salina (PBS) con electrolitos y se ajustó a pH neutro. El cartílago fue posteriormente incubado a aproximadamente 37°C en una solución de aproximadamente 0.2% de colágeno clots-tridial (Worthington CLS II, aproximadamente 140 unidades por miligramo) y se agitó durante la noche como fue descrito por Klagsbrun, (Methods in Enzymology, Vol. VIII). Esta suspensión se filtró posteriormente utilizando un tamiz de nylon de 153 mg (Tetko, Elmford, N.Y. 10523). Se retiraron después las células de suspensión mediante centrifugación, se lavaron dos veces con solución PBS y se contabilizaron con un hemocitómetro. La solución se centrifugó a aproximadamente 1800 rpm y se retiró el sobrenadante sobre la suspensión celular vía succión usando una micropipeta hasta que el volumen de la solución resultó en una concentración de condrocitos de aproximadamente 5 millones de células por centímetro cúbico. Las células aisladas crecieron y se expandieron en cultivo en Hamms F-12 media (Gibco, Grand Island, N.Y) conteniendo 10% de suero de ternero fetal (Biowhitaker), 5 microgramos/ml de ácido ascórbico, 100 microgramos/ml de estreptomycin y 100 unidades/ml de penicilina y crecieron bajo 5% de dióxido de carbono. Los condrocitos se tripsinizaron de 5 a 8 semanas aproximadamente después de la cosecha inicial y se contaron empleando un hemocitómetro. Las células se sembraron en barras cilíndricas de polímero de ácido poliglicólico preformadas en una concentración de aproximadamente 50 millones de condrocitos por centímetro cúbico.

Ejemplo 3

Implantación y Análisis

Se muestra un esquema de este estudio en la Figura 1. Se implantaron un total de 4 armazones de polímero en el espacio subcutáneo de 20 ratones atímicos. Cada ratón tenía 2 zonas de implantación que consisten en un control (un polímero solo), y armazones de polímero sembrados con condrocitos. Los ratones se sacrificaron después de 1, 2, 4 y 6 meses de la implantación.

Todos los animales sobrevivieron hasta el sacrificio sin ningún efecto adverso notable. En la recuperación, todos los armazones de polímero sembrados con células formaron estructuras cartilaginosas, mientras que los armazones de control no lo hicieron. Un exhausto examen de los especímenes recuperados mostró la presencia de estructuras bien formadas de cartílago sólidas, con forma de barra y de color blanco que eran idénticas en tamaño (alrededor de 1 cm de diámetro x alrededor de 3 cm de longitud) al implante inicial (Figura 2).

Para determinar si las barra de cartílago injertadas poseen las propiedades mecánicas requeridas para mantener la rigidez del pene, se llevaron a cabo una serie de pruebas de tensión y relajación. Los estudios de compresión, tensión y flexión demostraron que las estructuras de cartílago eran fácilmente elásticas y podían soportar altos grados de presión. Los estudios de compresión demostraron que las barras de cartílago

recuperadas eran capaces de soportar altos grados de presión (Figura 3A). Una velocidad de compresión de rampa de aproximadamente 200 $\mu\text{m}/\text{seg}$, aplicada a cada barra de cartílago hasta 3000 μm en distancia, resultó 3.7 kg de resistencia. Los estudios de tensión y relajación demostraron que las barras de cartílago recuperado eran capaces de soportar tensión y eran capaces de volver a su estado inicial mientras se mantenían las propiedades biomecánicas (Figura 3B). Una velocidad de tensión de rampa de alrededor de 200 $\mu\text{m}/\text{segundo}$ aplicada a cada cartílago creó una resistencia a la tensión de 2.2 kg, que físicamente alargó la barra hasta aproximadamente 4800 μm . La relajación de la tensión a la misma velocidad resultó en la retracción del cartílago a su estado inicial. Los estudios de flexión llevados a cabo a dos velocidades distintas demostraron que las barras de cartílago injertado son durables, maleables y capaces de mantener sus propiedades mecánicas (Figura 3C, D). Compresión cíclica, llevada a cabo en rangos de aproximadamente 500 $\mu\text{m}/\text{seg}$ y 20,000 $\mu\text{m}/\text{seg}$, demostraron que las barras de cartílago injertado pueden soportar hasta 3.5 kg de presión a una distancia predeterminada de 5000 μm . Los estudios de la fase de relajación de la compresión cíclica demostraron que las barras de cartílago injertado podían mantener su resistencia a la tensión. Ninguna de las barras de cartílago se desgarró durante los estudios biomecánicos de tensión-relajación.

Análisis histoquímicos con hematoxilina y eosina, aldehído fuschin-alcian azul y coloración azul toluidine demostraron la presencia de condrocitos maduros y bien formados en todos los implantes. El examen histológico con hematoxilina y eosina demostró la presencia de cartílagos maduros y bien formados en todos los implantes crondocito-polímero. Las fibras de polímero fueron progresivamente sustituidas por cartílago con progresión en el tiempo (1, 2, 4 y 6 meses). Fibras de polímero no degradadas se observaron después de 1 y 2 meses de la implantación (Figura 4). Sin embargo, restos de armazones de polímero no estaban presentes en las barras de cartílago a los 6 meses aproximadamente (Figura 5). Aldehído fuschin-alcian azul y coloración azul toluidine demostraron la presencia de mucopolisacáridos altamente sulfatados que son productos diferenciados de condrocitos (Figuras 4, 5). No hubo evidencia de formación de cartílagos en los controles.

Ejemplo 4

Cultivo y Siembra de Células usando Condrocitos de Conejo

Un diagrama esquemático de este Ejemplo se muestra en la Figura 6. Condrocitos autólogos cosechados a partir de oreja de conejo se diseccionaron en pequeños fragmentos (2 x 2 mm). Los condrocitos se cultivaron bajo condiciones estériles empleando una técnica previamente descrita (Atala, A., *et al.*, J Urol, 150: 745-747, 1993; Atala, A., *et al.*, J Urol, 152:641-643, 1994). En resumen, los fragmentos de cartílago diseccionados se digirieron en 3% de colágeno tipo II solución (Worthington Biochemical Corp., Lakewood, NI) durante 6-8 horas. Las células recuperadas se lavaron en fosfato búfer salina y se recubrieron en platos de cultivo. Las células aisladas crecieron en cultivo en Hamms F-12 media (Gibco, Grand Island, NY) conteniendo 10% de suero de ternero fetal (Biowhitaker, Walkersville, MD), 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de ácido ascórbico, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de estreptomycin y 100 U/ml de penicilina. Las células se incubaron a 37°C en la

presencia de 5% CO₂. Los condrocitos se expandieron hasta que se dispuso de suficientes cantidades de células. Las células fueron tripsinizadas, recogidas, lavadas y contadas para la siembra. Los condrocitos se sembraron en barras preformadas de polímero de ácido poliglicólico cubiertas de ácido poli-L-láctico en una concentración de 50 x 10⁶ condrocitos/cm³. La barras de célula-polímero fueron implantadas inmediatamente después de la siembra.

Un total de 10 armazones de condrocito-polímero se implantaron en los espacios corporales de 10 conejos. Implantaciones bilaterales intracorporales de armazones de célula-polímero se llevaron a cabo en 8 conejos, mientras que los 2 animales restantes recibieron implantación unilateral, dejando los otros *corpus cavernosum* intactos como controles. Los animales fueron sacrificados al de 1 y 2 meses (3 cada vez), y a los 3 y 6 meses (2 cada vez) después de la implantación. Los dos animales de control fueron sacrificados al de 1 y 6 meses. Los implantes se recuperaron, y se analizaron exhaustiva e histológicamente. Cinco microsecciones de formalina fijada a tejidos incrustados a parafina se cortaron y coloraron con hematoxilina y eosina (H&E), aldehído fuschin-alcian azul y toluidine azul.

Todos los animales toleraron los implantes durante el estudio, sin ninguna complicación aparente. Un examen detallado en la recuperación demostró la presencia de estructuras de cartílago blancas y bien formadas dentro de la corpora después de 1 mes (Figura 7).

Las estructuras de barra de cartílago recuperadas mantuvieron aproximadamente los mismos tamaños que los implantes iniciales dentro de los cuerpos. La corpora sin la implantación mostró tejido cavernoso normal. No hubo evidencia de desgaste, inflamación o infección en ninguno de las barras de cartílago implantados.

Análisis histológicos con hematoxilina y eosina demostraron la presencia de cartílagos bien formados en todos los implantes de condrocito-polímero (Figura 8). Las fibras de polímero fueron progresivamente sustituidas por cartílago sin aumentar el tiempo (1, 2, 4 y 6 meses). Todos los polímeros fueron completamente degradados a los 2 meses. Aldehído fuschin-alcian azul y toluidine azul demostraron la presencia de mucopolisacáridos altamente sulfatados que eran productos diferenciados de los condrocitos (Figura 9).

Todos los polímeros fueron completamente degradados a los 2 meses. No hubo evidencia de desgaste o infección en ninguna de las zonas de implante. Análisis histológicos con aldehído fuschin-alcian azul y toluidine azul demostraron la presencia de condrocitos maduros y bien formados en los implantes recuperados.

Condrocitos autólogos sembrados en estructuras preformadas de polímero biodegradables pueden formar estructuras de cartílago en el interior del *corpus cavernosum* de un conejo. Por lo tanto, esta tecnología ha sido útil para la creación de prótesis de pene autólogas.

REIVINDICACIONES

1. Un miembro estructural implantable para uso en tratamientos de pacientes que tienen un defecto anatómico que no es causado por la presencia de cartílago ausente, dañado o afectado y que se trata, al menos en parte, proporcionando un soporte estructural al tejido adyacente; dicho miembro estructural está hecho de una matriz polimérica con la forma del miembro de soporte deseado y reforzada con una capa de polímero licuado sobre algunas partes o sobre toda la matriz de polímero preformada y que tienen células que forman cartílagos disociados depositadas sobre o en el interior de dicha matriz de tal modo que cuando se implanta la matriz, se forma un miembro estructural cartilaginoso que tiene propiedades biomecánicas controladas y una resistencia a la tensión de al menos 2.2 kg, proporcionando el soporte estructural requerido en el área de dicho defecto.

2. El miembro estructural de la reivindicación 1 donde la matriz polimérica consta de un material biocompatible seleccionado del grupo consistente en éter de celulosa, celulosa, éster celulósico, polietileno fluorado, fenólico, poli-4-metilpenteno, poliacrilonitrilo, poliamida, poliamideimida, poliacrilato, polibenzoxazol, policarbonato, policianoarileter, poliéster, poliestercarbonato, poliéter, polietertercetona, polieterimida, polietercetona, polietersulfona, polietileno, polifluoroolefina, poliamida, poliolefina, polioxadiazol, óxido polipenileno, sulfuro polipenileno, polipropileno, poliestireno, polisulfuro, polisulfona, politetrafluoroetileno, politioéter, politriazol, poliuretano, polivinilo, fluoruro polivinilideno, celulosa regenerada, silicona, urea-formaldehído o copolímeros o mezclas físicas de estos materiales.

3. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde la matriz polimérica consta de un material biodegradable.

4. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde el material biodegradable se selecciona del grupo consistente en un polímero de ácido poliglicólico, un polímero poliglactino, y mezclas y compuestos de los mismos.

5. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes que es reforzado cubriendo al menos parte del miembro estructural con polímero licuado.

6. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dicho polímero licuado es un copolímero de 50:50 poli-DL-lactida co-glicolida.

7. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dichas células que forman el cartílago son condrocitos.

8. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dicho miembro de soporte es un cilindro alargado que además consta de medios adaptados para recibir una uretra.

9. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dichos miembros adaptados para recibir una uretra es una ranura longitudinal a lo largo de su longitud.

10. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde en dicho miembro de soporte existe un tubo cilíndrico hueco con un grosor de pared y un agujero a lo largo de su longitud.

11. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde el tubo cilíndrico hueco está adaptado para recibir una uretra.

12. El miembro estructural de las reivindicaciones

precedentes donde el grosor de pared es longitudinalmente variable.

13. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dicho cilindro tiene una fuerza estructural variable a lo largo de su extensión longitudinal.

14. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes que además consta de medios de sujeción en un extremo de acoplamiento de dicho implante a la pelvis descendente.

15. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dicho miembro estructural tiene una resistencia a la tensión de al menos 3.7 kg.

16. El miembro estructural de las reivindicaciones precedentes donde dicho miembro estructural puede soportar compresión cíclica llevada a cabo en rangos de 500 μm por segundo a 20,000 μm por segundo.

17. Uso de un miembro estructural implantable para la reconstrucción de un pene de un paciente que necesite tal tratamiento y que consta de los siguientes pasos:

a) proporcionar una matriz polimérica natural o sintética moldeada para formar un miembro estructural y reforzada con una capa de polímero licuado sobre algunas partes o sobre toda la matriz de polímero preformada, adaptada para encajar en el interior de la corpora cavernosa de dicho pene;

b) depositar células que forman los cartílagos sobre o en el interior de dicha matriz para formar un constructo matriz / célula donde dicho constructo matriz / célula puede ser enviado a la corpora cavernosa de dicho paciente, y puede formar un miembro estructural cartilaginoso que tiene propiedades biomecánicas controladas, para así proporcionar un pene reconstruido con suficiente dureza y fuerza de flexión como para servir como órgano funcional.

18. El uso de acuerdo a la reivindicación 17 donde la matriz polimérica consta de un material biocompatible seleccionado del grupo consistente en éter de celulosa, celulosa, éster celulósico, polietileno fluorado, fenólico, poli-4-metilpenteno, poliacrilonitrilo, poliamida, poliamideimida, poliacrilato, polibenzoxazol, policarbonato, policianoarileter, poliéster, poliestercarbonato, poliéter, polietertercetona, polieterimida, polietercetona, polietersulfona, polietileno, polifluoroolefina, poliamida, poliolefina, polioxadiazol, óxido polipenileno, sulfuro polipenileno, polipropileno, poliestireno, polisulfuro, polisulfona, politetrafluoroetileno, politioéter, politriazol, poliuretano, polivinilo, fluoruro polivinilideno, celulosa regenerada, silicona, urea-formaldehído o copolímeros o mezclas físicas de estos materiales.

19. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde la matriz polimérica consta de un material biodegradable.

20. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde el material biodegradable se selecciona del grupo consistente en un polímero de ácido poliglicólico, un polímero poliglactino, y mezclas y compuestos de los mismos.

21. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde dichas células que forman el cartílago son condrocitos.

22. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde dicho miembro de soporte es un cilindro alargado que además consta de medios adaptados para recibir una uretra.

23. El uso de acuerdo con las reivindicaciones pre-

cedentes donde dichos miembros adaptados para recibir una uretra es una ranura longitudinal a lo largo de su longitud.

24. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde dicho miembro de soporte es un tubo cilíndrico hueco con un grosor de pared y un agujero a lo largo de su longitud.

25. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde el tubo cilíndrico hueco está adaptado para recibir una uretra.

26. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde el grosor de pared es longitudinalmente variable.

27. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes donde dicho cilindro tiene una fuerza estructural variable a lo largo de su extensión longitudinal.

28. El uso de acuerdo con las reivindicaciones pre-

cedentes que además consta de medios de sujeción para el acoplamiento de dicho miembro estructural implantable a la pelvis descendente.

29. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, donde dicho miembro estructural implantable tiene una resistencia a la tensión de al menos 2.2 kg.

30. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, donde dicho miembro estructural implantable tiene una resistencia a la tensión de al menos 3.7 kg.

31. El uso de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, donde dicho miembro estructural implantable tiene soportar compresión cíclica llevada a cabo en rangos de 500 μm por segundo a 20,000 μm por segundo.

20

25

30

35

40

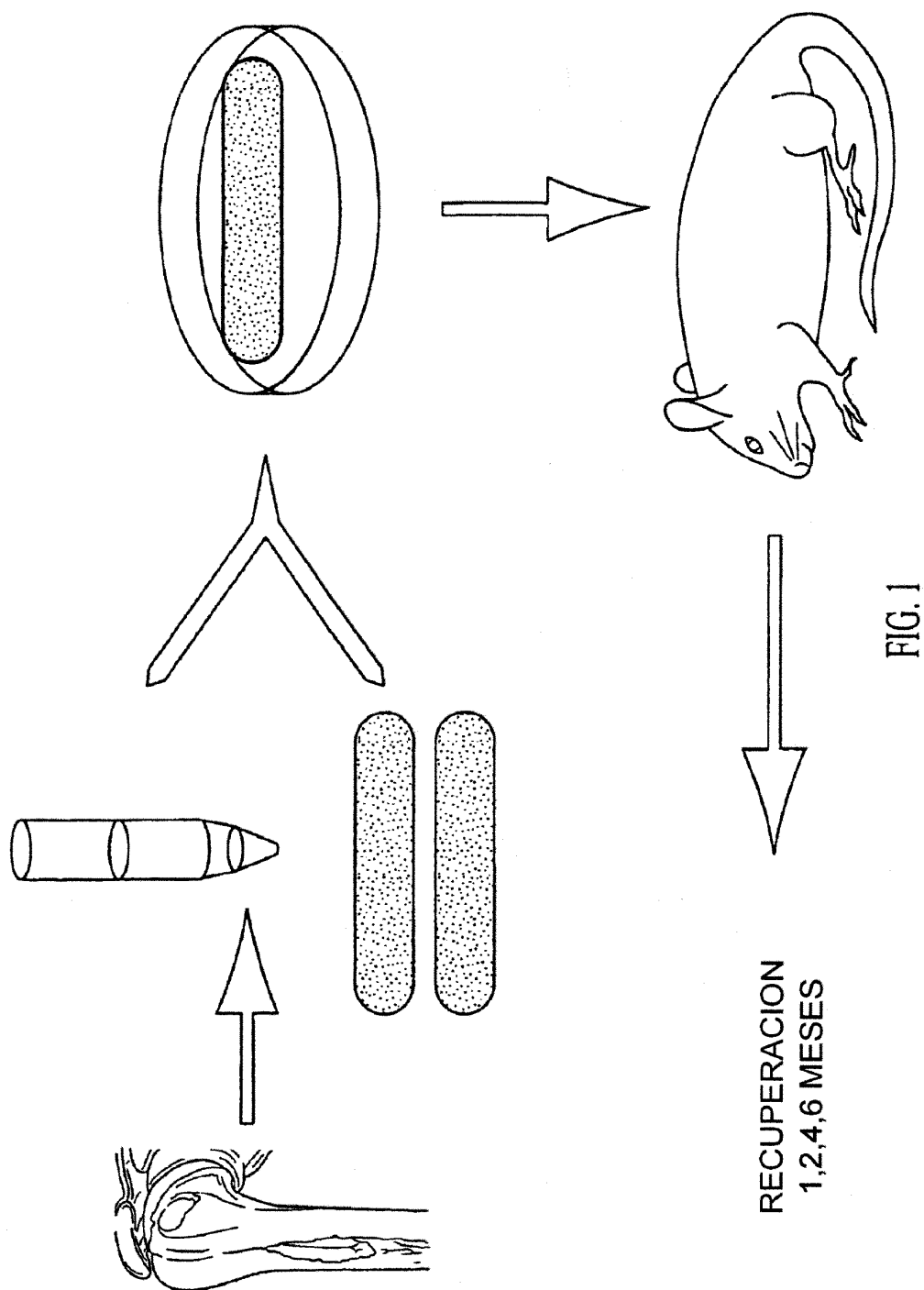
45

50

55

60

65



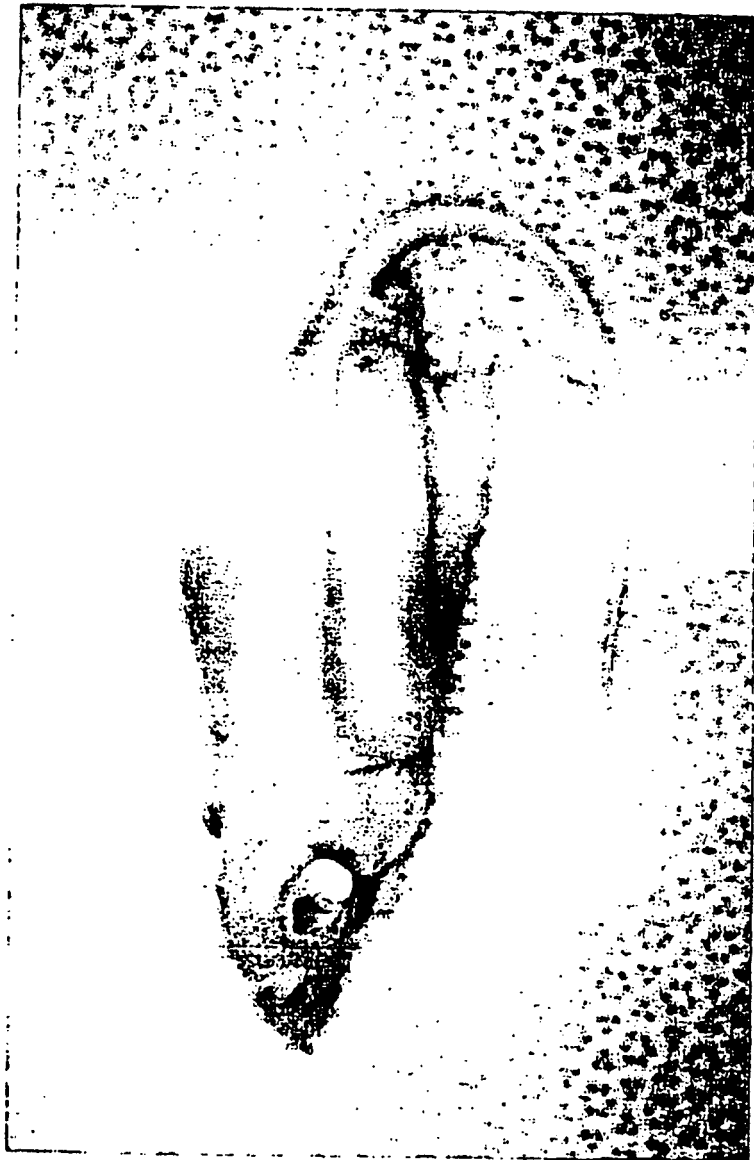


FIG. 2A

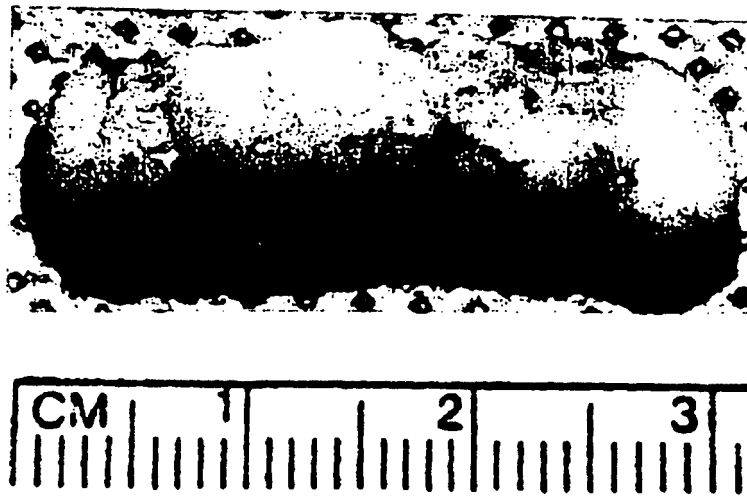
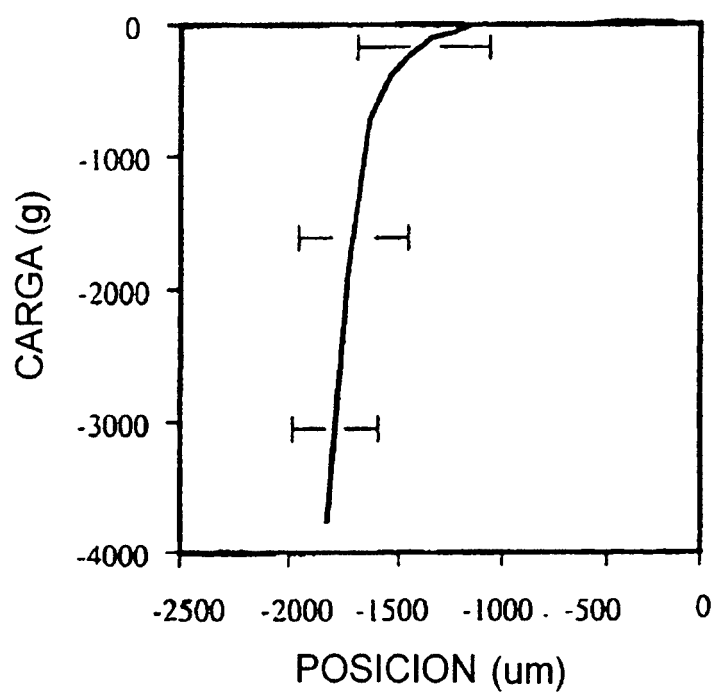


FIG. 2B

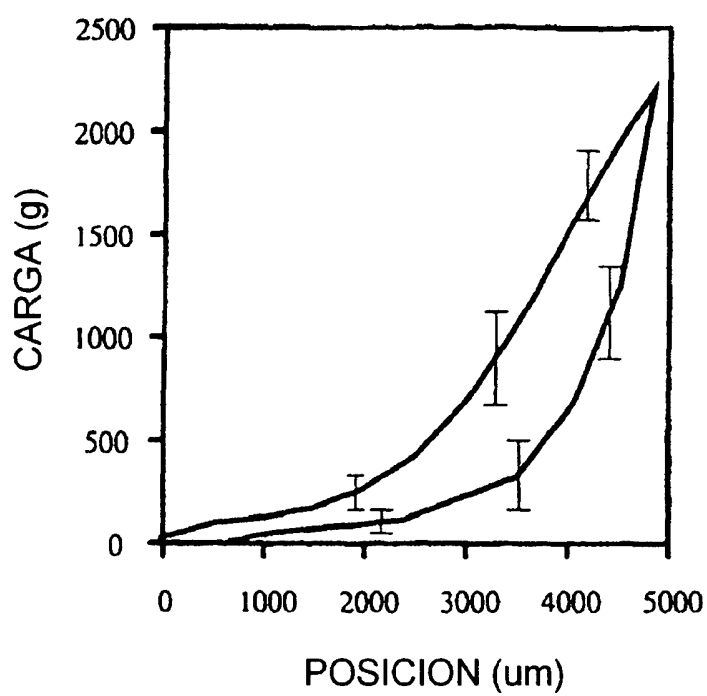


FIG. 2C



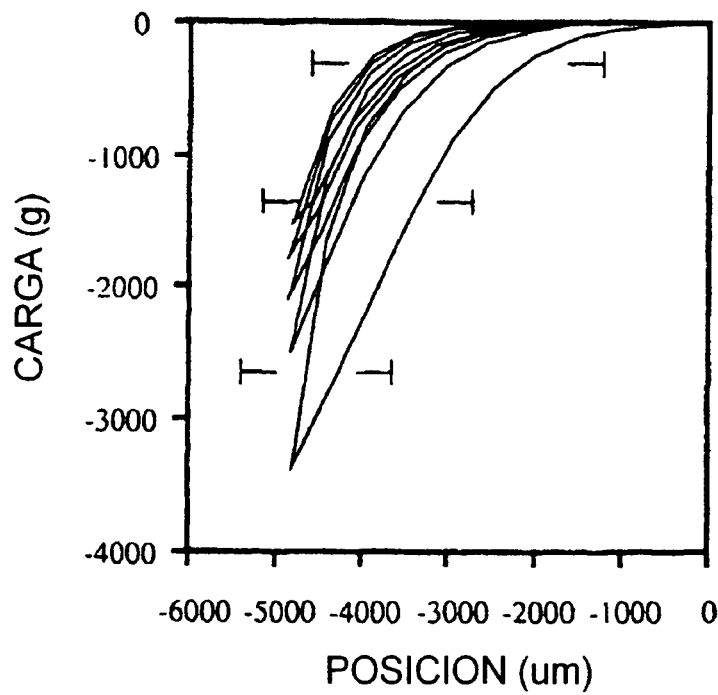
Velocidad de compresión
de rampa: 200 $\mu\text{m/s}$

FIG. 3A



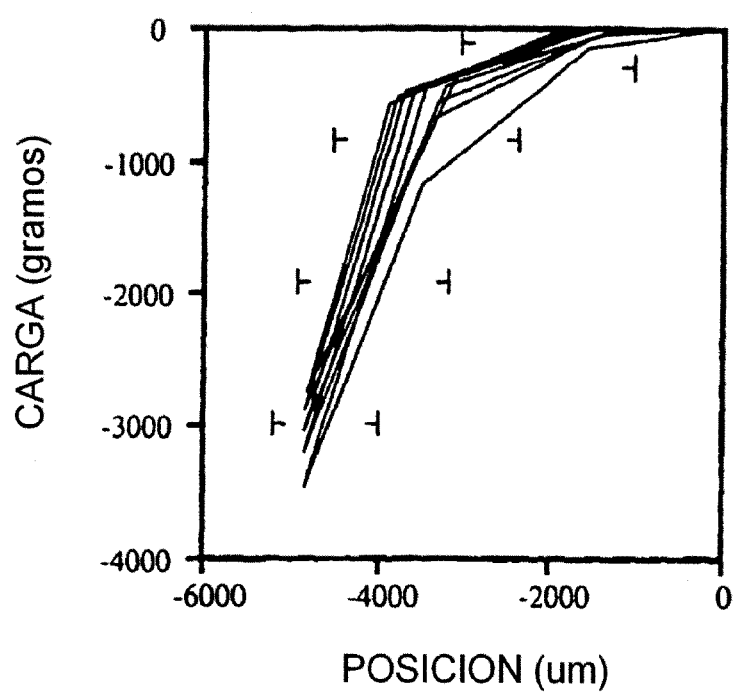
Velocidad de tensión de
rampa con liberación:
200 μm/s

FIG. 3B



Velocidad de compresión
ciclica: 500 um/s
Ciclo de datos: 5

FIG. 3C



Velocidad de compresión
cíclica: 20000/s
Distancia: 5000 um
Ciclo de información: 5

FIG. 3D

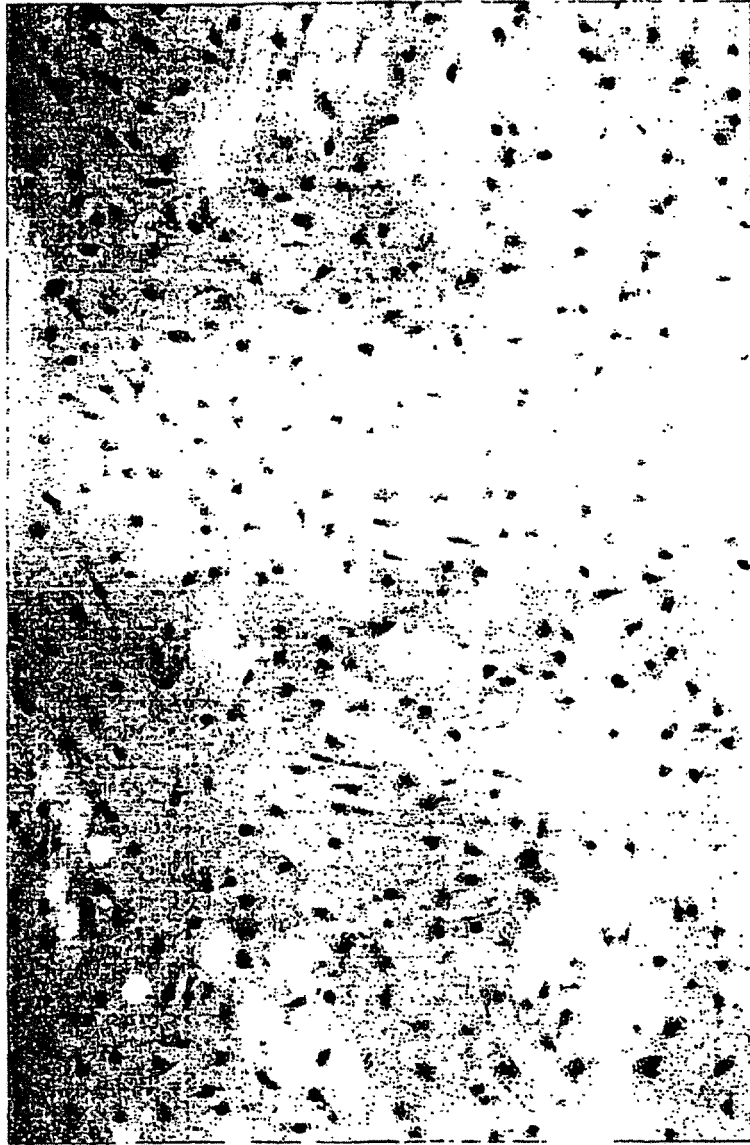


FIG. 4A



FIG. 4B

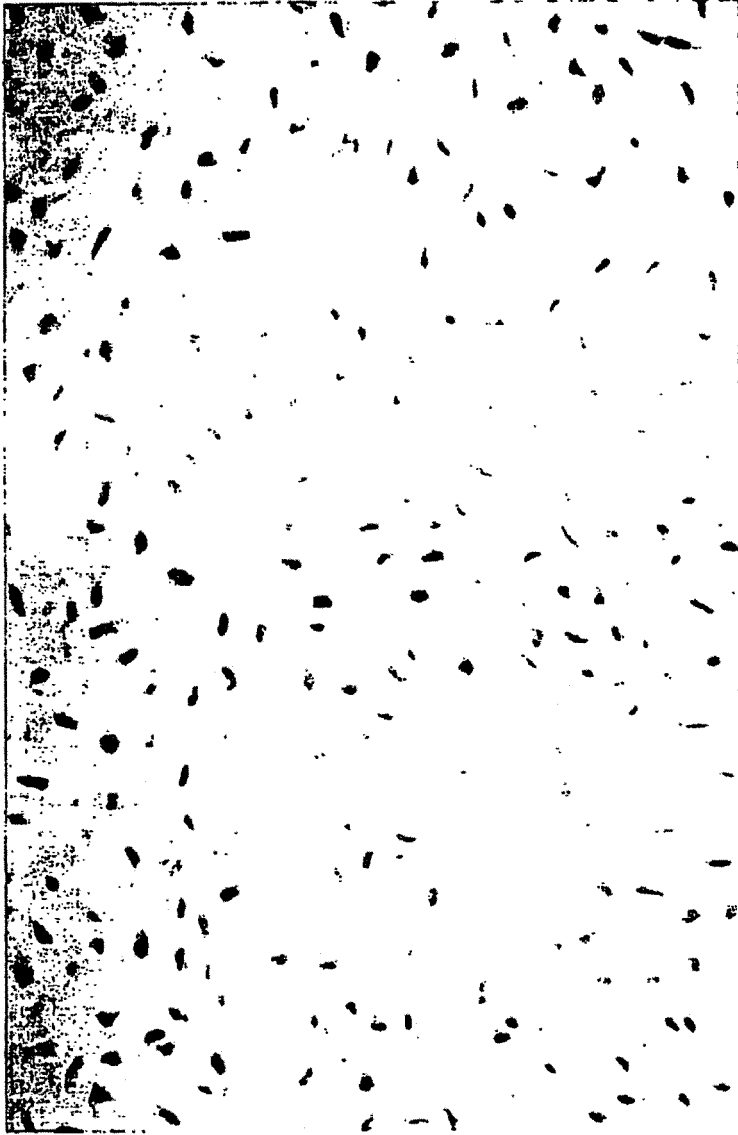


FIG. 5A



FIG. 5B

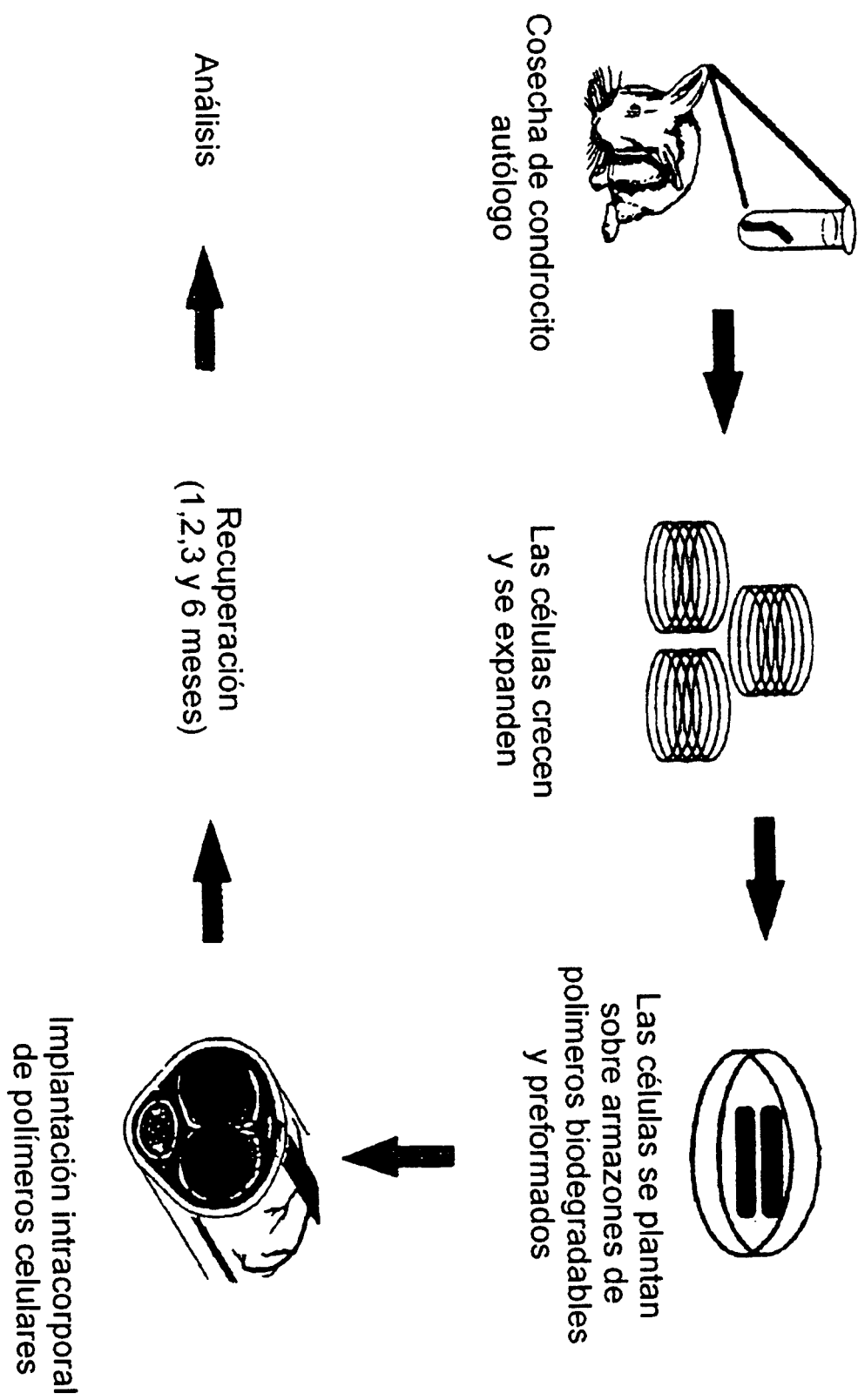


Fig.6



Fig.7A

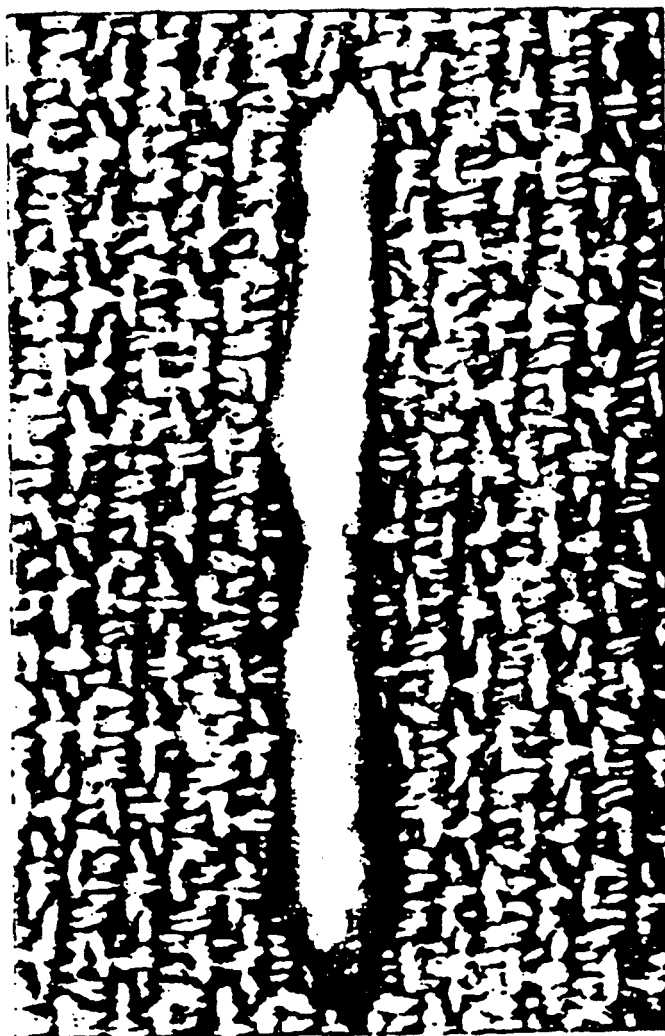


Fig.7B



Fig.8A



Fig.8B



Fig.9A

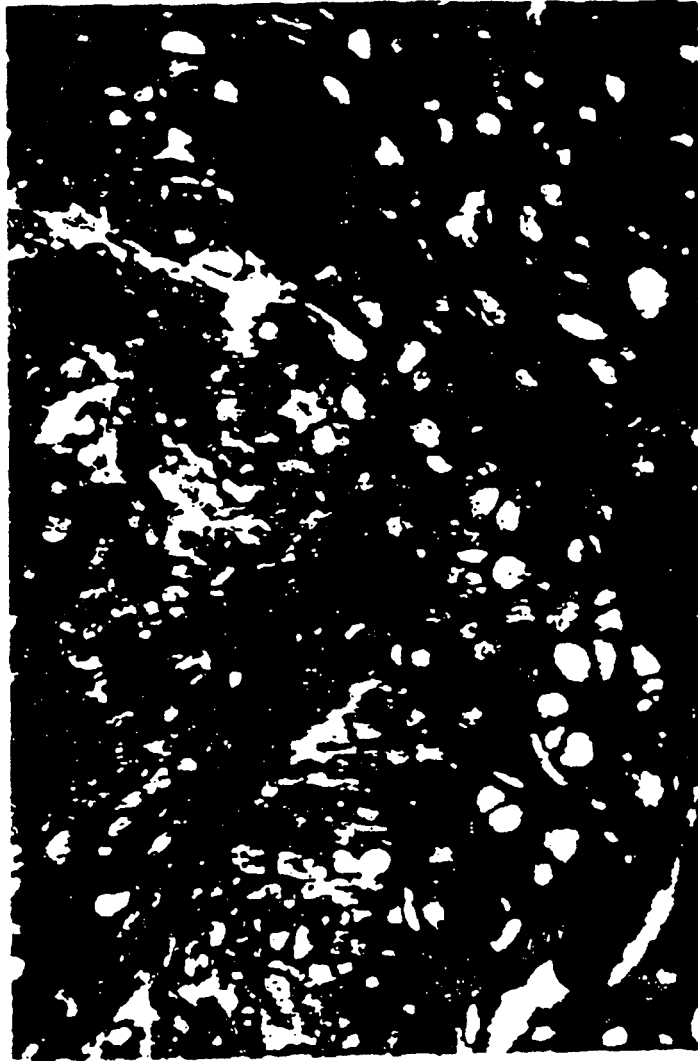


Fig.9B