

MÉTODO DE RESTAURACIÓN DEL TEJIDO CONECTIVO

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

[0001] La presente solicitud proporciona métodos para restaurar el tejido conectivo en un paciente, utilizando una combinación de técnicas de formación de imágenes y remodelación y regeneración de tejido mínimamente invasivas, en combinación con proteínas regenerativas. Los métodos proporcionan un método para tratar el dolor, las limitaciones de movilidad y los problemas de rigidez en la capa intersticial (de la cabeza a los pies) y en varias articulaciones y otras áreas donde están presentes los tejidos conectivos. También se proporcionan kits para llevar a cabo los diversos métodos descritos en este documento.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] En 2018, se descubrió una red de espacios llenos de líquido rodeados de tejido conectivo en todo el cuerpo humano, denominada intersticio. (Ver, por ejemplo, Benias et al., "Structure and Distribution of an Unrecognized Interstitium in Human Tissues," Scientific Reports 8:4947 (2018)) Anteriormente se pensaba que era una pared densa de colágeno, el intersticio es una vía llena de líquido responsable de la difusión de iones y el transporte de proteínas celulares y la principal fuente de linfa. También se ha determinado que es una fuente potencial de áreas de tratamiento para el dolor, las limitaciones de movilidad y los problemas de rigidez. Lo que se necesita es un mecanismo para restablecer y remodelar el intersticio, incluido el tejido conectivo, para tratar y controlar el dolor y las limitaciones de movilidad del paciente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0003] La presente invención satisface estas necesidades, proporcionando métodos para tratar los tejidos conectivos, incluido el tejido cicatricial internamente, utilizando un tratamiento natural y no quirúrgico para liberar los nervios del atrapamiento, eliminar el tejido cicatricial obstinado y restaurar la anatomía a su estado anterior a la lesión.

[0004] En modalidades, en este documento se proporciona un método para tratar un tejido subepidérmico en un paciente, que comprende: visualizar el tejido debajo de la superficie de la piel del paciente; hacer vibrar el tejido debajo de la superficie de la piel; localizar uno o más nervios atrapados dentro del tejido subepidérmico; introducir una sonda en el tejido subepidérmico en el sitio del nervio atrapado; manipular el tejido subepidérmico y/o el nervio atrapado con la sonda; e inyectar una composición líquida en el tejido subepidérmico a través de la sonda en el sitio del nervio atrapado.

[0005] En modalidades adicionales, en este documento se proporciona un método para tratar un tejido derivado del mesoderma en un paciente, que comprende: visualizar el tejido derivado del mesoderma debajo de la superficie de la piel del paciente a través de imágenes de ultrasonido dinámico y análisis de imágenes en tiempo real; hacer vibrar el tejido conectivo debajo de la

superficie de la piel; localizar uno o más nervios atrapados dentro del tejido conectivo; introducir una sonda de aguja en el tejido conectivo en el sitio del nervio atrapado; manipular el tejido y/o el nervio atrapado con la sonda de aguja; e inyectar una composición líquida en el tejido conectivo a través de la sonda de aguja, la composición líquida comprende una o más proteínas regenerativas y una solución amortiguadora.

[0006] En aún otras modalidades, en este documento se proporciona un kit para llevar a cabo el tratamiento del tejido conectivo de un paciente, que comprende: una composición líquida que comprende dextrosa, plasma-lyte y una o más proteínas placentarias seleccionadas del grupo que consiste en: factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF); factor de crecimiento epidérmico (EGF); factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF); factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AA); factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB); factor de crecimiento placentario (PLGF); factor de crecimiento transformante alfa (TGF – alfa); factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1); interleucina 4 (IL-4); interleucina 6 (IL-6); interleucina 8 (IL-8); interleucina 10 (IL-10); inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-1); inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-2); inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-4); factor de diferenciación del crecimiento (GDF-15); factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF); Interferón gamma (IFN- β); interleucina 1 alfa (IL1-alfa); Interleucina 1 Beta (IL1- β); antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra); interleucina 5 (IL-5); interleucina 7 (IL-7); interleucina 12 p40 (IL-12p40); interleucina 12 p70 (IL-12p70); interleucina 15 (IL-15); interleucina 17 (IL-17); interleucina 16 (IL-16); factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF); osteoprotegerina (OPG); quimioatrayente de linfocitos B (CXCL13) (BLC); ligando de quimiocina 1 (CCL1) (I-309); eotaxina-2; proteína quimiotáctica de monocitos 1 (CCL2) (MCP-1); Monocina inducida por interferón gamma (CXCL9) (MIG); proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (CCL3) (MIP-1 α); proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (CCL4) (MIP-1 β); proteína inflamatoria de macrófagos 1D (MIP-5, CCL15) (MIP-1d); Regulado por activación, expresión y secreción de células T normales (CCL5) (RANTES); factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); proteína morfogenética ósea 5 (BMP-5); factor de crecimiento endotelial vascular derivado de glándulas endocrinas (EG-VEGF); factor de crecimiento de fibroblastos 4 (FGF-4); factor de crecimiento de queratinocitos (FGF-7); hormona del crecimiento (GH); factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I); proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 1 (IGFBP-1); proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 2 (IGFBP-2); proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 3 (IGFBP-3); proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 4 (IGFBP-4); y proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 6 (IGFBP-6); y una sonda de aguja para inyectar la composición líquida en el tejido conectivo y para manipular un nervio atrapado; e instrucciones para llevar a cabo el método de tratamiento del tejido conectivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0007] Figura 1A es una imagen de ultrasonido del tejido normal de un paciente.

[0008] Figura 1B es una imagen de ultrasonido de tejido que contiene secciones de fibrosis (tejido cicatrizado y dañado) y fusión de la dermis de la capa intersticial.

[0009] Figura 2A y Figura 2B muestran imágenes de ultrasonidos tomadas utilizando formación de imágenes doppler, de acuerdo con modalidades de este documento.

[0010] Figura 2C, Figura 2D, Figura 2E, Figura 2F, Figura 2G, Figura 2H muestran métodos basados en inteligencia artificial para localizar nervios atrapados y visualizar, cuantificar y determinar la salud, la densidad y la fluidez de las capas de tejido.

[0011] Figura 2I y Figura 2J muestran la restauración de un canal distinguible dentro del tejido intersticial.

[0012] Figura 2K, Figura 2L, Figura 2M, Figura 2N muestran la medida de la puntuación de flexibilidad de un tejido.

[0013] Figura 3A, Figura 3B, Figura 3C, Figura 3D muestran varias sondas para usar en las modalidades descritas en este documento.

[0014] Figura 3E, Figura 3F, Figura 3G, Figura 3H muestran consejos ejemplares de bioescultura que se pueden utilizar en los métodos y dispositivos descritos en este documento.

[0015] Figura 4A, Figura 4B, Figura 4C muestran imágenes de ultrasonido tomadas durante un procedimiento como se describe en este documento.

[0016] Figura 5A, Figura 5B, muestran imágenes de ultrasonido tomadas durante un procedimiento adicional como se describe en este documento.

[0017] Figura 6A, Figura 6B muestran el efecto de la remodelación del tejido cicatricial en la superficie de la piel.

[0018] Figura 7A, Figura 7B, Figura 7C, Figura 7D, Figura 7E, Figura 7F muestran efectos adicionales de la restauración del tejido mesenquimatoso en la superficie de la piel.

[0019] Figura 8A, Figura 8B, Figura 8C, Figura 8D, Figura 8F muestran resultados adicionales de los métodos de tratamiento descritos en este documento.

[0020] Figura 9 muestra la ubicación de los tejidos conectivos en todo el cuerpo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0021] Debe apreciarse que las implementaciones particulares mostradas y descritas en este documento son ejemplos y no pretenden limitar el alcance de la aplicación de ninguna manera.

[0022] Las patentes publicadas, las solicitudes de patentes, los sitios web, los nombres de empresas y la literatura científica a los que se hace referencia en este documento se incorporan por referencia en su totalidad en la misma medida que si cada uno se hubiera indicado específica e individualmente para incorporarse por referencia. Cualquier conflicto entre cualquier referencia citada en este documento y las enseñanzas específicas de esta especificación se resolverá a favor de este último. Asimismo, cualquier conflicto entre una definición de una palabra o frase entendida en el arte y una definición de la palabra o frase como se enseña específicamente en esta especificación se resolverá a favor de esta última.

[0023] Como se usa en esta especificación, las formas singulares “un”, “uno/una” y “el/la” específicamente también abarcan las formas plurales de los términos a los que se refieren, a menos que el contenido indique claramente lo contrario. El término “alrededor de” se usa en este documento para significar aproximadamente, en la región de, aproximadamente o alrededor. Cuando el término “aproximadamente” se usa junto con un intervalo numérico, modifica ese intervalo extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término “aproximadamente” se usa en el presente documento para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado en una variación del 20%.

[0024] Los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece la presente solicitud, a menos que se defina de otro modo. Se hace referencia en este documento a varias metodologías y materiales conocidos por los expertos en la técnica.

[0025] |En modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar un tejido subepidérmico en un paciente. Los métodos descritos en este documento se han denominado RELIEF® (tiempo real, eco, localizado, intervencionista, epineural, fibrólisis).

[0026] Como se usa en este documento, un “tejido subepidérmico” se refiere a un tejido de un paciente que se encuentra debajo de la superficie externa de la piel (la epidermis), se asienta adecuadamente dentro del intersticio y es parte de la submucosa y un espacio intersticial lleno de líquido, que drena a los ganglios linfáticos y apoyado por una red compleja de gruesos haces de colágeno. El “tejido subepidérmico” también incluye tejido dentro del músculo que está cicatrizado o dañado. Los métodos y procedimientos descritos en este documento se llevan a cabo adecuadamente en pacientes mamíferos, incluidos gatos, perros, primates, vacas, cabras, cerdos, etc., y en modalidades más adecuadas, se llevan a cabo en pacientes humanos. Los pacientes humanos incluyen tanto hombres como mujeres, e incluyen todos los grupos de edad, desde niños hasta adultos.

[0027] Los métodos descritos en este documento incluyen adecuadamente la visualización del tejido debajo de la superficie de la piel del paciente. Como se usa en este documento, “visualizar” el tejido se refiere al uso de uno o más instrumentos de imagen o métodos de imagen para proporcionar una imagen virtual del tejido debajo de la superficie de la piel, en lugar de cortar directamente la superficie de la piel para revelar la estructura del tejido. Esta visualización puede utilizar varias formas de métodos para obtener imágenes debajo de la superficie de la piel, incluidos rayos X, ultrasonido, resonancia magnética, tomografía computarizada, etc.

[0028] En modalidades de ejemplo, la visualización comprende formación de imágenes por ultrasonidos, que incluye imágenes por ultrasonidos tanto bidimensionales como tridimensionales. La formación de imágenes por ultrasonido es bien conocida en la técnica y utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes visuales dinámicas de órganos, tejidos o flujo sanguíneo dentro del cuerpo. En general, la instrumentación de formación de imágenes por ultrasonido que se

utiliza en los métodos descritos en este documento incluirá el uso de una sonda de ultrasonido que se coloca en contacto con la superficie de la piel para proporcionar y recibir las ondas sonoras. Un ejemplo de instrumentación de ultrasonido incluye un escáner de ultrasonido de mano lineal, como el de CLARIUS, Burnaby, Canadá. En otras modalidades, también se puede usar una sonda de ultrasonido que se coloca en el interior de un paciente, por ejemplo, en una cavidad o abertura de un paciente. En modalidades adecuadas, la formación de imágenes por ultrasonido utilizada en los métodos proporcionados en el presente documento funciona a una frecuencia de aproximadamente 50 kHz hasta alrededor de unos pocos GHz. Más adecuadamente, la formación de imágenes por ultrasonido opera a una frecuencia de alrededor de 1 MHz-200 MHz, alrededor de 4-100 MHz, alrededor de 4-50 MHz, alrededor de 4-20 MHz, alrededor de 20-50 MHz, alrededor de 4-15 MHz o alrededor de 5 MHz, alrededor de 10 MHz, alrededor de 15 MHz, alrededor de 20 MHz, alrededor de 25 MHz, alrededor de 30 MHz, etc.

[0029] Adecuadamente, el tejido subepidérmico que se visualiza en los métodos descritos en este documento se encuentra a unos 20 cm de la superficie de la piel. La posición del tejido subepidérmico debajo de la superficie de la piel variará mucho según el tipo de tejido, así como la ubicación en el paciente y la masa corporal del paciente. Convenientemente, el tejido subepidérmico estará ubicado dentro de alrededor de 15 cm desde la superficie de la piel del paciente, más adecuadamente dentro de alrededor de 10 cm, dentro de alrededor de 9 cm, alrededor de 8 cm, alrededor de 7 cm, alrededor de 6 cm, alrededor de 5 cm, alrededor de 4 cm, alrededor de 3 cm, alrededor de 2 cm o dentro de alrededor de 1 cm desde la superficie de la piel.

[0030] La Figura 1A muestra una imagen de ultrasonido 100 tomada de una rodilla normal de un paciente humano. La imagen de ultrasonido 100 muestra una vista bidimensional de la rodilla del paciente, representando la parte superior de la imagen la superficie de la piel y representando la parte inferior aproximadamente 3.2 cm dentro de la rodilla del paciente, por debajo de la superficie. También se representan los lados medial y lateral de la rodilla. La imagen de ultrasonido 100 ilustra el tejido subepidérmico 102 sustancialmente normal, con membranas basales características de cada plano de tejido deslizándose limpiamente una sobre otra en una naturaleza laminar.

[0031] En contraste, la Figura 1B muestra una imagen de ultrasonido 110 tomada de una rodilla comprometida físicamente, que ilustra áreas de fibrosis 104, representadas como tejido blanco denso en la imagen 110. La parte superior de la imagen muestra una fusión de la dermis con la capa intersticial. Estas áreas de fibrosis 104 representan áreas del tejido subepidérmico que se han bloqueado, alterado, cicatrizado, dañado o lesionado de otro modo, y sugieren un compromiso neurológico. Como se describe en este documento, es en estas áreas donde una perturbación física de un nervio cutáneo o cantidades inapropiadas de tensión pueden causar hipertrofia y el dolor resultante en el tejido subcutáneo.

[0032] Los métodos descritos en este documento incluyen adecuadamente además hacer vibrar el tejido debajo de la superficie de la piel para producir una mayor claridad de formación de imágenes

de los tejidos comprometidos. Como se muestra en la Figura 2A y Figura 2B, se han tomado imágenes de ultrasonido doppler de un trapecio físicamente comprometido (Figura 2A) y un tratamiento posterior de trapecio remodelado de acuerdo con los métodos descritos en este documento (Figura 2B). Como se muestra en la imagen doppler 200, las áreas de fibrosis 104 pueden verse cerca de la superficie de la piel (parte superior de la imagen) y aparecen como secciones oscuras de tejido. El tejido sano aparece brillante en respuesta a la vibración según lo reflejado por ultrasonido doppler. La imagen 210 mostrada en la Figura 2B, en contraste, muestra tejido sano remodelado 102 con muy poca fibrosis, ya que la mayor parte de la imagen aparece brillante, con solo pequeñas áreas de tejido oscuro, rígido y denso.

[0033] Los métodos para hacer vibrar el tejido debajo de la superficie de la piel incluyen un impulso de fuerza de radiación acústica o una palpitación. Como se usa en este documento un "impulso de fuerza de radiación acústica" incluye cualquier generación de onda de sonido que proporcione una fuerza lo suficientemente fuerte como para hacer vibrar el tejido subepidérmico. Los impulsos de fuerza de radiación acústica pueden ser generados, por ejemplo, por el mismo equipo de ultrasonido y sonda que se usan para visualizar el tejido, o pueden ser de un instrumento separado diseñado para producir una fuerza de radiación acústica. Los ejemplos de radiación acústica incluyen elastografía de ondas de corte y, en modalidades, se proporcionan a continuación características ejemplares para un impulso de fuerza de radiación acústica:

Tabla 1: Características del impulso de fuerza de radiación acústica

Frecuencia	2–7 MHz (se puede aumentar por encima de 10 MHz, incluso a 20 MHz o más)
Número F	F-2
Intensidad ($I_{sppa.5}$)	1200-1600 W/cm ² (adecuadamente 1400 W/cm ²)
Intensidad ($I_{spta.3}$)	0.7 W/cm ²
Índice mecánico	1.5–3.0
Duración del pulso	0.1–0.5 ms
Aumento de la temperatura	0.02–0.2°C
Desplazamiento (pico)	10–20 μm

[0034] Las palpitaciones incluyen palpitaciones manuales (por ejemplo, aplicar un golpecito con la mano o los dedos), así como el uso de varios masajeadores o máquinas vibratorias para proporcionar la palpitación.

[0035] Se pueden tratar varios tejidos diferentes usando los métodos descritos en este documento. Convenientemente, el tejido subepidérmico es un tejido derivado del mesodermo. Como se usa en este documento, “tejido derivado del mesodermo” se refiere a un tejido que proviene del mesodermo, una de las tres capas germinales presentes en el desarrollo embrionario. Los tejidos derivados del mesodermo incluyen uno o más de tejido conectivo, músculo, grasa, hueso, nervio, tendón y ligamento, etc. En modalidades adecuadas, el tejido subepidérmico tratado usando los métodos descritos en este documento es un tejido conectivo de un paciente. Como se usa en este documento, “tejido conectivo” se refiere al tejido que se une o se encuentra entre otros tejidos del cuerpo y, en general, sostiene y protege el cuerpo. El tejido conectivo incluye tejido conectivo propiamente dicho y tejido conectivo especial. El tejido conectivo propiamente dicho consta de tejido conectivo laxo y tejido conectivo denso. El tejido conectivo laxo y denso se distinguen por la proporción entre la sustancia fundamental y el tejido fibroso. El tejido conectivo laxo tiene mucha más sustancia fundamental y una relativa falta de tejido fibroso, mientras que el tejido conectivo denso es lo contrario. El tejido conectivo denso regular, que se encuentra en estructuras como tendones y ligamentos, se caracteriza por fibras de colágeno dispuestas de forma paralela ordenada, lo que le otorga resistencia a la tracción en una dirección. Por ejemplo, los métodos y técnicas descritos en este documento se pueden utilizar para reparar daños en los ligamentos, como los desgarros del ligamento cruzado anterior (LCA) y del ligamento colateral medial (MCL). El tejido conectivo irregular denso proporciona fuerza en múltiples direcciones por sus densos haces de fibras dispuestas en todas las direcciones. El tejido conectivo especial consiste en tejido conectivo reticular, tejido adiposo, cartílago, hueso y sangre. Otros tipos de tejidos conectivos incluyen tejidos conectivos fibrosos, elásticos y linfoides.

[0036] En modalidades adicionales, el tejido derivado del mesodermo que se trata da como resultado la remodelación del tejido superficial. Por ejemplo, el tejido cicatricial puede remodelarse debajo de la piel, dando como resultado cambios en la morfología de la piel que cubre el tejido cicatricial.

[0037] El tejido subepidérmico, y en modalidades el tejido conectivo, que se trata utilizando los métodos descritos en este documento se puede ubicar en cualquier lugar del cuerpo de un paciente, incluidos, por ejemplo, en el cuello, la espalda, las rodillas, las caderas, los hombros, los codos, los pies del paciente, tobillos, dedos de los pies, manos, muñecas y/o dedos, etc.

[0038] Los métodos de tratamiento descritos en este documento incluyen además localizar uno o más nervios atrapados dentro del tejido subepidérmico. Se pueden utilizar varios métodos de visualización, solos o combinados, para localizar un nervio atrapado. En general, los nervios

atrapados suelen estar ubicados en el espacio interplanar, donde los nervios cutáneos atraviesan el tejido conectivo. Situaciones en las que la vía de un nervio está bloqueada/perturbada/cicatrizada/etc., sugiere compromiso neurológico. El dolor generalmente se genera por una alteración física en un nervio cutáneo o un mecanorreceptor sometido a cantidades inapropiadas de tensión. Esto puede causar hipertrofia del tejido conectivo. Se presta atención a la morfología del plano del tejido conectivo. Idealmente, es permeable, laminar y bien hidratado (su apariencia es un plano horizontal negro en las imágenes de ultrasonido). Mayores cantidades de colágeno denso representan una disminución en la cantidad de sustancia fundamental (hidrogel bioactivo) presente en el área local.

[0039] Por ejemplo, en modalidades, la visualización por ultrasonidos del tejido subepidérmico se puede usar junto con información anatómica sobre el posicionamiento, la profundidad y otra información de ubicación, para proporcionar una representación real o virtual de la ubicación de uno o más nervios atrapados. En modalidades, se puede obtener una representación real combinando, ya sea manualmente (es decir, por el médico en tiempo real) o electrónicamente, la formación de imágenes por ultrasonido en combinación con una representación visual de la estructura anatómica del tejido subepidérmico en tiempo real. Este proceso da como resultado un método de análisis de imágenes en tiempo real para ayudar a localizar los nervios atrapados y/o el tejido anormal (por ejemplo, tejido cicatrizado o fibrótico), así como el tejido blando ubicado en el área donde se desea el tratamiento, incluidos ligamentos, tendones, grasa, músculo, piel y cartílago. En modalidades, se puede usar una representación visual anatómica tridimensional del cuerpo humano para proporcionar la ubicación y el posicionamiento de uno o más nervios atrapados, incluida, por ejemplo, una representación de anatomía tridimensional completa proporcionada por 3D4Medical (ver, 3d4medical.com)

[0040] En modalidades adicionales, la inteligencia artificial u otros métodos computarizados pueden utilizarse para representar una vista virtual del tejido subepidérmico, proporcionando un método de análisis de imagen y formación de imágenes en tiempo real. Por ejemplo, los métodos descritos en la solicitud de patente provisional de EE. UU. No. 62/787,414, presentada el 2 de enero de 2019, titulada "Métodos integrales de análisis de tejido conectivo: ecografía multimodal con evaluación/interpretación automatizada impulsada por IA e índice/puntuación de tejido blando (epidermis, dermis, hipodermis, tejido conectivo y músculo) para terapia ocupacional, compensación laboral y lesiones relacionadas con el deporte" (cuya divulgación se incorpora por referencia en este documento en su totalidad, incluidos los diversos métodos computarizados y algoritmos proporcionados en el mismo), puede ser utilizado en la representación virtual. Se describen métodos adicionales en US 62/958,430, "Métodos y sistema informático para procesar imágenes de ultrasonido para determinar la salud de la capa de tejido conectivo", presentado el 8 de enero de 2020, cuya divulgación se incorpora en este documento como referencia en su totalidad.

[0041] Por ejemplo, dichos métodos basados en inteligencia artificial incluyen la evaluación del

tejido por medio del procesamiento de imágenes y una forma apropiada de un flujo de trabajo de inteligencia artificial que proporciona un índice o puntaje que categoriza y clasifica el tejido. Esto se describe como un sistema de diseño asistido por computadora (CAD) de ultrasonido de aprendizaje profundo junto con la extracción de características por clasificación y una red neuronal convolucional de aprendizaje profundo. Brevemente, los pasos de detección y evaluación de imágenes de ultrasonido de tejido conectivo con inteligencia artificial (IA) incluyen: (i) las regiones candidatas se detectan primero por medio de técnicas de procesamiento de imágenes; (ii) las regiones candidatas están representadas por un conjunto de características tales como información morfológica o estadística; y (iii) las características se introducen en un clasificador, por ejemplo, una máquina de vectores de soporte (SVM), para dar salida a una probabilidad o tomar una decisión de estar enfermo, como se describe en la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. No. 62/787 y 414 62/958.430 de EE. UU. Los métodos utilizan adecuadamente redes neuronales de clasificación de esquinas (CC), que son un modelo de memoria a corto plazo. Las regiones se mantienen separadas mediante el uso de codificación unaria o sus generalizaciones, lo que hace que la generalización sea más coherente con la forma en que la realiza el sistema de visión humana. El motor inteligente descrito en la solicitud de patente provisional de los EE. UU. No. 62/787.414 y el documento de los EE. UU. 62/958.430 aplica redes CC a la formación de imágenes por ultrasonido.

[0042] La Figura 2C, Figura 2D, Figura 2E, Figura 2F, Figura 2G, Figura 2H muestran un uso ejemplar de los métodos de inteligencia artificial descritos en este documento y en la solicitud de patente provisional de EE. UU. No. 62/787,414 y 62/958,430 de EE. UU. para proporcionar una imagen virtual del tejido subepidérmico y ayudar a localizar nervios atrapados, así como a visualizar, cuantificar y determinar la salud, la densidad y la fluidez de las capas de tejido. Estos métodos de inteligencia artificial se han denominado SCARMAP®.

[0043] La Figura 2C muestra una imagen de ultrasonido 2-D de la parte superior del cuello de un paciente. La Figura 2D muestra áreas específicas en la imagen (círculos) que se van a evaluar utilizando las técnicas de imagen virtual basadas en inteligencia artificial descritas en este documento.

[0044] La Figura 2E y la Figura 2F ilustran las áreas de alta densidad ubicadas en la mitad superior del tejido conectivo escaneado en la Figura 2C, lo que ilustra una alta probabilidad de tejido cicatrizado. La Figura 2G y la Figura 2H ilustran la densidad del tejido en la mitad inferior de la ecografía de la Figura 2C, representando las zonas más musculares del tejido.

[0045] Usando los métodos de inteligencia artificial descritos en este documento, las imágenes en la Figura 2E y Figura 2G, alta densidad representa cicatrices y lesiones, áreas donde se encuentran rigidez y falta de movilidad. Las áreas de menor densidad representan niveles de líquido más altos. En la región inferior (Figura 2G), las áreas de alta densidad representan la probabilidad de lesiones pasadas. Los problemas en la región inferior pueden traducirse en fusiones en la región superior con el tiempo. Las imágenes basadas en inteligencia artificial también muestran la estructura del

tejido conectivo. El tejido sano típicamente muestra bordes horizontales con canales de fluidos fácilmente identificables. El tejido dañado muestra inflamación y fusiones, lo que da como resultado bordes rotos o ramificados.

[0046] Las texturas del tejido que se muestran en las imágenes virtuales basadas en inteligencia artificial en la Figura 2E y la Figura 2G muestran la presencia de alta densidad en la mitad superior (Figura 2E) con falta de canales de fluidos y capas de tejido fusionadas potencialmente completas. A medida que aumenta la densidad general, se observa una textura manchada, que representa la presencia de posibles fusiones.

[0047] La Figura 2I muestra una imagen de tejido intersticial, en la que el tejido conectivo se ha fusionado en una forma densa y rígida con la dermis. En contraste, la imagen en la Figura 2J muestra tejido que ha sido restaurado, ilustrando una capa epidérmica superior 240, un tejido conectivo laxo 250 (capa oscura entre dos capas claras/blancas) y una segunda capa de tejido conectivo denso 260 envuelto alrededor de un músculo interno. Los métodos descritos en este documento se usan adecuadamente para agregar los deseos o el volumen requerido de fluido nuevamente al tejido intersticial para restaurar estas capas y el "canal" de tejido conectivo laxo 250. Por lo tanto, los métodos descritos en este documento proporcionan un mecanismo para devolver el tejido cicatricial al músculo nativo y al tejido sano. La restauración del canal distinguible en la Figura 2I y la Figura 2J permite el libre flujo de nutrientes, iones, proteínas y linfa (el intersticio es donde reside el sistema linfático). Al restaurar este canal, las técnicas descritas en este documento están creando un entorno para la curación al permitir que la "carretera" del cuerpo funcione correctamente y que los tejidos se deslicen correctamente.

[0048] El uso de los métodos de inteligencia artificial (IA) descritos en este documento y en la solicitud de patente de EE. UU. No. 62/958,430 permite determinar el volumen de líquido que debe devolverse al tejido intersticial lesionado para devolverlo a un estado saludable. Por ejemplo, utilizando los métodos de IA descritos en este documento y en U.S. 62/958,430, el tejido intersticial se puede "puntuar", lo que proporciona una medida de la densidad del tejido y, a la inversa, la cantidad de volumen que debe agregarse al tejido para devolverlo a un estado saludable. Después y durante los métodos regenerativos de tratamiento descritos en este documento, el tejido se califica utilizando los métodos de IA para proporcionar una medida en tiempo real (o casi en tiempo real) de la flexibilidad del tejido (puntuación de flexibilidad), así como la deseada o volumen requerido de líquido para agregar al tejido para proporcionar la restauración adecuada de la función, la eliminación de la rigidez y el dolor, y el resultado deseado para el paciente. Convenientemente, el volumen que se vuelve a agregar a una ubicación particular de un paciente es del orden de alrededor de 1 ml a alrededor de 500 ml, más adecuadamente de alrededor de 5 ml a alrededor de 400 ml, de alrededor de 5 ml a alrededor de 300 ml, de alrededor de 5 ml a alrededor de 200 ml, alrededor de 5 ml a alrededor de 150 ml, o menos de alrededor de 200 ml, o alrededor de 150 ml, o menos de alrededor de 150 ml, etc. También se pueden utilizar volúmenes más grandes, o se puede

restaurar una sección separada del tejido usando un número combinado de inyecciones de volumen de líquido.

[0049] La Figura 2L muestra una exploración de un área de tejido blando con una puntuación de flexibilidad del 29.33 %, lo que indica la presencia de calcificaciones y/o tejido cicatrizado o dañado. La Figura 2K muestra el mismo tejido después de la restauración utilizando los métodos descritos en este documento, demostrando ahora una puntuación de flexibilidad del 45.70 %, lo que ilustra un tejido más organizado, con mayor volumen y una estructura más sana. Los resultados adicionales se muestran en la Figura 2M y la Figura 2N.

[0050] Los métodos descritos en este documento incluyen además la introducción de una sonda en el tejido subepidérmico en el sitio del nervio atrapado para comenzar el proceso de liberación del nervio atrapado y la reestructuración y restauración del tejido. La Figura 3A, Figura 3B, Figura 3C muestran ejemplos de sondas que pueden usarse en los métodos descritos en este documento. En tales métodos, una "sonda" se refiere a una estructura delgada, adecuadamente metálica, plástica o biológicamente inerte de otro modo, que puede insertarse debajo de la superficie de la piel y dirigirse al sitio del nervio atrapado. Los ejemplos de sondas incluyen varias sondas de aguja, como la sonda de aguja 300 en la Figura 3A, que incluye un cubo 304, adecuado para conectar la aguja a una jeringa, conexión luer-lock, tubería, etc. La sonda de aguja 300 también incluye un eje 302, que forma la longitud y el elemento estructural de la sonda, así como uno o más lúmenes 306 que permiten que el fluido salga de la aguja al tejido. Los lúmenes 306 pueden tomar la forma de un orificio en la punta de la aguja (adecuadamente en forma de una abertura biselada), o uno o más orificios fenestrados (hendiduras, aberturas, agujeros, grietas, etc.), para permitir la entrega de la composición líquida. Como se muestra en la Figura 3B, los orificios fenestrados 306 pueden adoptar la forma de hendiduras en los lados de la aguja, o pequeños orificios, como en la Figura 3C. Adecuadamente, la longitud de una sonda, incluida una sonda de aguja, es del orden de alrededor de 0.4 a 10 cm, más adecuadamente de alrededor de 1 a 5 cm de longitud o de alrededor de 2 a 4 cm de longitud. Ejemplos de sondas de aguja fenestrada se describen en la solicitud de patente de EE. UU. No. 62/787,431, presentada el 2 de enero de 2019 y titulada "Aguja fenestrada para uso subcutáneo", cuya descripción se incorpora en este documento como referencia en su totalidad. Adecuadamente, las sondas de aguja para uso en los métodos descritos en este documento incluyen fenestraciones desplazadas radialmente que comienzan en un mínimo de alrededor de 0.060 pulgadas desde la base de la punta hasta un máximo de alrededor de un máximo de 0.150 pulgadas desde la punta. Convenientemente, las sondas de aguja incluyen una tolerancia de tres decimales de 0.005 en el posicionamiento de orificios horizontales y verticales. Los orificios atraviesan adecuadamente completamente el material para permitir el flujo de fluido. Las posiciones de los orificios pueden ser radiales y también pueden tener ranuras para una máxima difusión del fluido. Adecuadamente, los lúmenes 306 se sitúan a unas 0.07-0.10 pulgadas de la punta 310 de la aguja 302, y están separados unas 0.10 pulgadas. Las posiciones ejemplares para los lúmenes 306

se muestran en la Figura 3D, aunque también se pueden utilizar otras configuraciones y espacios. Adecuadamente, los lúmenes 306 como se muestra en la Figura 3D tienen un diámetro de alrededor de 0.01 pulgadas a alrededor de 0.05 pulgadas, más adecuadamente alrededor de 0.02 pulgadas a alrededor de 0.04 pulgadas, o alrededor de 0.02 pulgadas, alrededor de 0.03 pulgadas o alrededor de 0.04 pulgadas.

[0051] Los materiales de sonda de aguja adecuados incluyen metales altamente conductores, como una aleación de metal altamente resonante (kansa) y un metal de campana (una forma de bronce con un mayor contenido de estaño, generalmente en una proporción de cobre a estaño de aproximadamente 4:1 (típicamente, 78% cobre, 22% estaño en masa)). Los metales adicionales para uso en las sondas de aguja incluyen, por ejemplo, acero inoxidable quirúrgico, acero inoxidable tratable térmicamente, acero al carbono, etc. Normalmente, el calibre de las sondas de aguja utilizadas en los métodos descritos en este documento es de calibre 7 a calibre 33, adecuadamente calibre 7-10, y en general son agujas calibre 8. Las agujas adicionales incluyen necesidades de calibre 22, que tienen una longitud de extremo a extremo de alrededor de 1.00 pulgadas, un radio interior de alrededor de 0.70 mm y un radio exterior de alrededor de 0.41 mm.

[0052] En modalidades adecuadas, se proporciona una sonda de aguja precargada, en la que se carga en una jeringa la cantidad deseada de líquido para un procedimiento (por ejemplo, alrededor de 10 ml a alrededor de 50 ml, o hasta alrededor de 100 ml), se carga en una jeringa y se conecta a una aguja fenestrada. Esta carga previa minimiza la necesidad de retirar la aguja y agregar fluido para el procedimiento, disminuyendo así el tiempo requerido para el procedimiento y también asegurando la deposición precisa de fluido y minimizando la incomodidad del paciente.

[0053] Las puntas de bioescultura también se pueden utilizar en los extremos de las agujas fenestradas para ayudar a manipular el tejido intersticial y moverlo a los planos de tejido apropiados Véanse, por ejemplo, la Figura 3E, Figura 3F, Figura 3G, Figura 3H.

[0054] La Figura 4A muestra la introducción de una sonda de aguja 300 en el tejido subepidérmico 400, en o cerca del sitio de una o más áreas de fibrosis 104, así como un nervio atrapado (no visible en esta imagen). Convenientemente, esta introducción se produce después de la aplicación de un agente adormecedor y/o un anestésico local en el área donde se va a insertar la aguja.

[0055] Los métodos de tratamiento descritos en este documento incluyen además manipular el tejido subepidérmico y/o el nervio atrapado con la sonda para ayudar a liberar o aliviar el nervio atrapado y reestructurar el área de fibrosis 104. La Figura 4B muestra el movimiento de la sonda de aguja 300 dentro del tejido subepidérmico 400 cerca de las áreas de fibrosis 104, lo que da como resultado la ruptura del tejido cicatricial 404, cuando el tejido conectivo denso se libera y comienza a reestructurarse. El movimiento de la sonda de aguja 300 dentro del tejido subepidérmico 400 durante este proceso puede incluir varios deslizamientos hacia adelante y hacia atrás, así como vibración y/o separación del tejido a través de la aguja para ayudar en la reestructuración y reorganización del tejido cicatrizado. Como se describe en este documento, la sonda de aguja 300

se guía de forma adecuada usando formación de imágenes por ultrasonido para proporcionar una imagen clara de dónde se encuentra la sonda de aguja 300 dentro del tejido.

[0056] Junto con la inserción, el movimiento y la vibración de la sonda, los métodos de tratamiento descritos en este documento incluyen adecuadamente la inyección de una composición líquida en el tejido subepidérmico a través de la sonda en el sitio del nervio atrapado. Como se describe en este documento, se ha determinado que la hidratación del tejido subepidérmico, incluido el tejido conectivo cicatrizado o fibrótico, puede restaurarse y reestructurarse con la adición de una composición líquida para hidratar el tejido. La Figura 4C muestra los resultados de dicho método, en el que un nervio 406 ahora se ha liberado del tejido fibrótico 104, y el tejido subepidérmico circundante vuelve a un estado más natural, predañado, en el que el tejido cutáneo tiene una estructura más estratificada, capaz de moverse en respuesta a los movimientos del paciente. Como se describe en este documento, la combinación de la inserción, el movimiento y la vibración de la sonda, y/o la inyección (presión) de una composición líquida en el tejido subepidérmico da como resultado un fracking biológico, en el que el tejido se libera y se devuelve a su estado normal, dañado, dañado previamente o previamente cicatrizado. Los nervios se devuelven al plano correcto mediante la remodelación y restauración de los planos de los tejidos. El tejido cicatricial denso se rompe y se devuelve a un estado laminar y esquelético nativo.

[0057] La Figura 5A y la Figura 5B muestran los resultados de un procedimiento de remodelación adicional como se describe en este documento. En la imagen de ultrasonido 500, se puede ver la sonda de aguja 300 insertada en el tejido fibrótico 104. En la Figura 5B, después de uno o más de la inserción, el movimiento y la vibración de la sonda, junto con la inyección de la composición líquida descrita en este documento, el tejido fibrótico 104 se puede ver en la imagen de ultrasonido 502 para romperse, rehidratarse y reestructurarse, ilustrado por una imagen menos densa y más imagen separada. La rehidratación del tejido es otro resultado inesperado y sorprendente de los métodos descritos en este documento, que permite revitalizar los tejidos.

[0058] La composición líquida que se inyecta en el tejido subepidérmico comprende adecuadamente una o más proteínas regenerativas, una o más proteínas celulares, una o más clases de células y una solución amortiguadora. Como se usa en este documento, una "proteína regenerativa" se refiere a una proteína o aminoácido que está involucrado en la proliferación y diferenciación de uno o más tipos de células. "Proteína celular" se refiere a cualquier proteína que se encuentra dentro de uno o más tipos de células, y puede incluir proteínas involucradas en la proliferación celular, la senescencia celular, la señalización celular, etc. Los ejemplos de células que se pueden incluir en las composiciones líquidas incluyen varias células madre, incluidas las células madre pluripotentes, etc. Los agentes curativos adicionales que se pueden agregar a las composiciones líquidas para usar en los métodos descritos en este documento incluyen, por ejemplo, exosomas, varios aminoácidos, péptidos y derivados de los mismos, varias vitaminas, factores de crecimiento, etc. Las soluciones amortiguadoras ejemplares que se pueden utilizar en

las composiciones líquidas incluyen, entre otros, soluciones amortiguadoras de solución salina, soluciones amortiguadoras de fosfato, soluciones amortiguadoras de acetato, soluciones amortiguadoras de citrato, etc., así como varias composiciones de electrolitos, incluidas las que imitan el plasma fisiológico humano, como Plasma -Lyte. Los componentes adicionales de las composiciones líquidas usadas en este documento pueden incluir varios azúcares, incluyendo glucosa, dextrosa, lactosa, etc., así como varias sales y otros componentes típicamente usados en soluciones fisiológicas. Las cantidades de los diversos azúcares, incluida la dextrosa, están adecuadamente en el intervalo de alrededor de 1-10% o alrededor de 5%. Las composiciones líquidas también pueden incluir un anestésico suave para ayudar a reducir el dolor en el sitio de inserción de la sonda.

[0059] Convenientemente, las composiciones líquidas descritas en este documento incluyen una o más proteínas placentarias. Las "proteínas placentarias" incluyen proteínas que se encuentran adecuadamente en la placenta y/o el líquido amniótico de un mamífero hembra, y pueden ser de origen natural o sintético. Ejemplos de proteínas placentarias que se pueden utilizar en las composiciones líquidas descritas en este documento incluyen una o más de las siguientes proteínas:

- Factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF);
- Factor de crecimiento epidérmico (EGF);
- Factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF);
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AA);
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB);
- Factor de crecimiento placentario (PLGF);
- Factor de crecimiento transformante alfa (TGF – alfa);
- Factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-B1);
- Interleucina 4 (IL-4);
- Interleucina 6 (IL-6);
- Interleucina 8 (IL-8);
- Interleucina 10 (IL-10);
- Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-1);
- Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-2);
- Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-4);
- Factor de diferenciación del crecimiento (GDF-15);
- Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF);
- Interferón gamma (IFN- γ);
- Interleucina 1 alfa (IL1-alfa);
- Interleucina 1 Beta (IL1- β);
- Antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra);

Interleucina 5 (IL-5);
 Interleucina 7 (IL-7);
 Interleucina 12 p40 (IL-12p40);
 Interleucina 12 p70 (IL-12p70);
 Interleucina 15 (IL-15);
 Interleucina 17 (IL-17);
 Interleucina 16 (IL-16);
 Factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF);
 Osteoprotegerina (OPG);
 Quimioatrayente de linfocitos B (CXCL13) (BLC);
 Ligando de quimiocina 1 (CCL1) (I-309);
 Eotaxina-2;
 Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (CCL2) (MCP-1);
 Monocina inducida por interferón gamma (CXCL9) (MIG);
 Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (CCL3) (CCL3) (MIP-1 α);
 Proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (CCL4) (MIP-1 β);
 Proteína inflamatoria de macrófagos 1D (MIP-5, CCL15) (MIP-1d);
 Regulado por activación, expresión y secreción de células T normales (CCL5) (RANTES);
 Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF);
 Proteína morfogénica ósea 5 (BMP-5);
 Factor de crecimiento endotelial vascular derivado de glándulas endocrinas (EG-VEGF);
 Factor de crecimiento de fibroblastos 4 (FGF-4);
 Factor de crecimiento de queratinocitos (FGF-7);
 Hormona del crecimiento (GH);
 Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I);
 Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 1 (IGFBP-1);
 Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 2 (IGFBP-2);
 Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 3 (IGFBP-3);
 Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 4 (IGFBP-4); y
 Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 6 (IGFBP-6).

[0060] Las cantidades ejemplares de las proteínas placentarias para usar en las composiciones líquidas incluyen las descritas en la solicitud de patente publicada de EE. UU. No. 2019-0224277, titulada "Formulación biomimética", cuya descripción se incorpora en este documento como referencia en su totalidad, y en particular para las cantidades y proporciones de las proteínas placentarias allí descritas. Por ejemplo, las cantidades de proteínas placentarias para usar en las composiciones líquidas incluyen:

Factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) de alrededor de 4440 (pg/mL) a alrededor de

44400 (pg/mL);

Factor de crecimiento epidérmico (EGF) de alrededor de 16.4 (pg/mL) a alrededor de 164 (pg/mL);

Factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF) de alrededor de 144 (pg/mL) a alrededor de 1440 (pg/mL);

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AA) de alrededor de 34327 (pg/mL) a alrededor de 343270 (pg/mL);

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) de alrededor de 106 (pg/mL) a alrededor de 1060 (pg/mL);

Factor de crecimiento placentario (PLGF) de alrededor de 370 (pg/mL) a alrededor de 3700 (pg/mL);

Factor de crecimiento transformante alfa (TGF – alfa) de alrededor de 3,4 (pg/mL) a alrededor de 34 (pg/mL);

Factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-B1) a alrededor de 1180 (pg/mL) a alrededor de 11800 (pg/mL);

interleucina 4 (IL-4) de alrededor de 2.2 (pg/ml) a alrededor de 22 (pg/ml);

interleucina 6 (IL-6) de alrededor de 74 (pg/ml) a alrededor de 740 (pg/ml);

interleucina 8 (IL-8) de alrededor de 2875 (pg/ml) a alrededor de 28750 (pg/ml);

interleucina 10 (IL-10) de alrededor de 4.1 (pg/ml) a alrededor de 41 (pg/ml);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-1) a alrededor de 16630 (pg/mL) a alrededor de 166300 (pg/mL);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-2) a alrededor de 2960 (pg/mL) a alrededor de 29600 (pg/mL);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-4) a alrededor de 111 (pg/mL) a alrededor de 1110 (pg/mL);

Factor de diferenciación del crecimiento (GDF-15) de alrededor de 81.25 (pg/ml) a alrededor de 812.5 (pg/ml);

Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) de alrededor de 0.21 (pg/mL) a alrededor de 2.1 (pg/mL);

Interferón gamma (IFN γ) de alrededor de 2.75 (pg/mL) a alrededor de 27.5 (pg/mL);

Interleucina 1 alfa (IL1-alfa) de alrededor de 12.5 (pg/mL) a alrededor de 125 (pg/mL);

Interleucina 1 Beta (IFN- β) de alrededor de 27.8 (pg/mL) a alrededor de 278 (pg/mL);

Antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra) de alrededor de 78.5 (pg/mL) a alrededor de 785 (pg/mL);

Interleucina 5 (IL-5) de alrededor de 2.88 (pg/ml) a alrededor de 28.8 (pg/ml);

Interleucina 7 (IL-7) de alrededor de 1.37 (pg/ml) a alrededor de 13.7 (pg/ml);

Interleucina 12 p40 (IL-12p40) de alrededor de 9.55 (pg/ml) a alrededor de 95.5 (pg/ml);

Interleucina 12 p70 (IL-12p70) de alrededor de 0.79 (pg/ml) a alrededor de 7.9 (pg/ml);

Interleucina 15 (IL-15) de alrededor de 1.35 (pg/ml) a alrededor de 13.5 (pg/ml);

Interleucina 17 (IL-17) de alrededor de 1.1 (pg/ml) a alrededor de 11 (pg/ml);

Interleucina 16 (IL-16) de alrededor de 34.4 (pg/ml) a alrededor de 344 (pg/ml);

Factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF) de alrededor de 4.3 (pg/mL) a alrededor de 43 (pg/mL);

Osteoprotegerina (OPG) de alrededor de 319.69 (pg/mL) a alrededor de 3196.9 (pg/mL);

Quimioatrayente de linfocitos B (CXCL13) (BLC) de alrededor de 60 (pg/ml) a alrededor de 600 (pg/ml);

Ligando de quimioquina 1 (CCL1) (I-309) de alrededor de 4 (pg/mL) a alrededor de 40 (pg/mL);

Eotaxina-2 de alrededor de 0.13 (pg/ml) a alrededor de 1.3 (pg/ml);

Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (CCL2) (MCP-1) de alrededor de 76.95 (pg/ml) a alrededor de 769.5 (pg/ml);

Monocina inducida por interferón gamma (CXCL9) (MIG) de alrededor de 780 (pg/mL) a alrededor de 7800 (pg/mL);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (CCL3) (MIP-1 α) a alrededor de 13.08 (pg/mL) a alrededor de 130.8 (pg/mL);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (CCL4) (MIP-1 β) a alrededor 6.56 (pg/mL) a alrededor de 65.6 (pg/mL);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1D (MIP-5, CCL15) (MIP-1d) de alrededor de 4.3 (pg/mL) a alrededor de 43 (pg/mL);

Regulado en la activación, las células T normales expresadas y secretadas (CCL5) (RANTES) de alrededor de 203 (pg/mL) a alrededor de 2030 (pg/mL);

Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) de alrededor de 45.03 (pg/mL) a alrededor de 450.3 (pg/mL);

Proteína morfogenética ósea 5 (BMP-5) de alrededor de 90.55 (pg/ml) a alrededor de 905.5 (pg/ml);

Factor de crecimiento del endotelio vascular derivado de las glándulas endocrinas (EG-VEGF) entre alrededor de 496.68 (pg/ml) y alrededor de 4966.8 (pg/ml);

Factor de crecimiento de fibroblastos 4 (FGF-4) de alrededor de 353.37 (pg/ml) a alrededor de 3533.7 (pg/ml);

Factor de crecimiento de queratinocitos (FGF-7) de alrededor de 46.7 (pg/mL) a alrededor de 467 (pg/mL);

Hormona del crecimiento (GH) de alrededor de 114.23 (pg/mL) a alrededor de 1142.3 (pg/mL);

Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) de alrededor de 27.65 (pg/mL) a alrededor de 276.5 (pg/mL);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 1 (IGFBP-1) de alrededor de 353.51 (pg/mL) a alrededor de 3535.1 (pg/mL);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 2 (IGFBP-2) de alrededor de 1072.52 (pg/mL) a alrededor de 10725.2 (pg/mL);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 3 (IGFBP-3) de alrededor de 7701.19 (pg/mL) a alrededor de 77011.9 (pg/mL);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 4 (IGFBP-4) de alrededor de 2954.34 (pg/mL) a alrededor de 29543.4 (pg/mL); y

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 6 (IGFBP-6) de alrededor de 5162.16 (pg/mL) a alrededor de 51621.6 (pg/mL).

[0061] En modalidades de ejemplo, se puede utilizar un subgrupo de las proteínas placentarias, incluyendo, por ejemplo:

Angiogenina

Condroitina

Colágenos I, III, IV, V, VI, VII

b-defensinas

EGF

Elafina

Elastina

Fibronectina

Sulfato de heparina

Ácido hialurónico

FGF

HGF

IFN γ

IGF-1

IL-4

KGF

Laminina

MMP y TIMP

Nidogen

PDGF

PIGF

SLPI

TGF- α

TGF- β

TNF

VEGF

Vitronectina

[0062] En modalidades adicionales, las proteínas placentarias utilizadas en las composiciones líquidas incluyen lo siguiente en el intervalo de concentración proporcionado:

Tabla 2: Concentraciones ejemplares de proteínas placentarias en composición líquida

Factor bioactivo	Concentración (pg/mL)
PDGF-AA	71.4 ± 21.4
PDGF-BB	45.2 ± 14.5
bFGF	165.5 ± 53.2
EGF	298.8 ± 108.0
KGF	9.16 ± 3.00
PIGF	12.0 ± 2.81
IL-4	230,7 ± 77,6
TGF- α 1	897.7 ± 446.1
TGF- α 3	506.4 ± 95.8
VEGF	N.D.
TIMP-1	7663 ± 2869
TIMP-2	7188 ± 1342

[0063] El volumen de la composición líquida que se inyecta en el tejido subepidérmico está adecuadamente en el intervalo de alrededor de 20-200 ml, más adecuadamente alrededor de 50-150 ml, para cada sesión de tratamiento. Esta cantidad también se puede volver a administrar, como se describe en este documento, en las visitas de seguimiento con el paciente.

[0064] En modalidades ejemplares, los métodos de tratamiento descritos en este documento pueden incluir el movimiento del paciente que provoca el movimiento del tejido subepidérmico, durante o coincidiendo con uno o más de los pasos de visualización, vibración y/o localización descritos en este documento. Haciendo que el paciente mueva el tejido subepidérmico que se está tratando, se puede visualizar mejor el tejido cicatrizado subyacente y/o los nervios atrapados. La cinética de los planos tisulares se evalúa haciendo que el paciente mueva el tejido local (por ejemplo, flexionar el brazo, extender la pierna, etc.). El tejido se visualiza con ultrasonido y también mediante elastografía (el rojo es tejido sano, el blanco es tejido rígido y denso). Generalmente, este movimiento del paciente se relaciona directamente con movimientos que le causan molestias o dolor, incluyendo, por ejemplo, doblar una o más articulaciones (por ejemplo, doblar las rodillas o la espalda, movimientos del cuello, hombros, codos y brazos, mano y movimientos de los dedos, etc.)

Las áreas hipocinéticas son indicativas de una fisiología subóptima (rigidez, dolor, hinchazón debido a la obstrucción del flujo linfático). Este método dinámico se puede utilizar con la formación de imágenes por ultrasonido, lo que da como resultado una formación de imágenes dinámica que incluye una visualización o formación de imágenes por ultrasonido dinámico para dilucidar aún más los nervios atrapados y/o el tejido cicatrizado.

[0065] Como se describe en este documento, en modalidades adicionales el tejido derivado del mesoderma que se trata da como resultado la remodelación del tejido superficial. Por ejemplo, el tejido cicatricial puede remodelarse debajo de la piel, dando como resultado cambios en la morfología de la piel que cubre el tejido cicatricial. Como se muestra en la Figura 6A y Figura 6B, el tejido cicatricial debajo de una incisión (Figura 6A) puede remodelarse, dando como resultado cambios dramáticos en la tirantez y apariencia de la superficie de la piel (Figura 6B).

[0066] La Figura 7A muestra las arrugas superficiales de la piel después de una cirugía de estiramiento de cuello fallida, y la Figura 7B la eliminación de las arrugas del cuello después de una reestructuración de los tejidos subyacentes utilizando los métodos descritos en este documento.

[0067] La Figura 7C muestra imágenes previas y la Figura 7D muestra imágenes posteriores de la piel de un paciente después del tratamiento de los tejidos subyacentes utilizando los métodos descritos en este documento. La piel del paciente se rejuvenece, los pliegues nasolabiales se reducen y la nariz se adelgaza.

[0068] La Figura 7E y la Figura 7F muestran antes y después del tratamiento de los tejidos debajo de la piel, demostrando la eliminación de las arrugas de la frente del paciente.

[0069] Los resultados adicionales de los métodos de tratamiento descritos en este documento para rejuvenecer el tejido mesenquimato se proporcionan en la Figura 8A, Figura 8B, Figura 8C, Figura 8D, Figura 8E, Figura 8F.

[0070] Como se muestra en la Figura 8A, el tratamiento del tejido subyacente del cuero cabelludo de un hombre que experimentaba alopecia aguda demostró que el cabello volvió a crecer en 30 días (Figura 8B).

[0071] La Figura 8C y la Figura 8D muestran antes y después del tratamiento de la cicatriz de un paciente de la extirpación de un melanoma.

[0072] La Figura 8E y la Figura 8F muestran antes y después del tratamiento del brazo de un paciente, demostrando la eliminación de las arrugas del brazo, el rejuvenecimiento de la piel y el estiramiento.

[0073] Como se muestra en la Figura 9, el tejido conectivo se puede encontrar en todo el cuerpo, proporcionando áreas significativamente diversas donde se pueden utilizar los métodos y técnicas descritos en este documento. La Figura 9 muestra los seis (6) planos fasciales, que ilustran que el tejido conectivo cubre el cuerpo desde la cabeza hasta los pies, lo que permite los métodos y técnicas descritos en este documento en cualquier lugar donde se pueda encontrar tejido conectivo. Sorprendentemente, se ha descubierto que el tratamiento en estos 6 planos fasciales aumenta los

resultados de alivio/curación del dolor, ya que todo está conectado y, por lo tanto, el dolor de rodilla puede provenir de una cadera rotada anteriormente, por ejemplo.

[0074] Los métodos de tratamiento descritos en este documento incluyen adicionalmente técnicas posteriores a la inyección, que se utilizan para disipar la composición líquida dentro del tejido subepidérmico. Es decir, después de la inyección de la composición líquida en el tejido del paciente y la liberación de los nervios atrapados, para facilitar el movimiento de la composición líquida y mejorar la hidratación y, por lo tanto, la reestructuración y curación del tejido cicatrizado, se emplean adecuadamente varias técnicas. Estas técnicas pueden incluir la manipulación manual del área tratada a través de un masaje manual o mediante el uso de una percusión u otro dispositivo de masaje. Las técnicas adicionales incluyen la aplicación de una onda de sonido, por ejemplo, de un ultrasonido u otro dispositivo, incluso a una frecuencia de sonido de alrededor de 20-2000 MHz, más adecuadamente alrededor de 20-200 MHz, o alrededor de 50-200 MHz, etc. Otras técnicas incluyen el uso de un campo electromagnético pulsado, por ejemplo, de una transmisión de una señal configurada multidimensionalmente (forma de onda).

[0075] Estas técnicas adicionales posteriores al tratamiento para disipar la composición líquida dentro del tejido también brindan un mecanismo para activar los telocitos y la telomerasa para respaldar la regeneración del tejido sano y modular la cicatrización y la inflamación. Las combinaciones de entrada física con la restauración del tejido conectivo (por ejemplo, a través de un campo electromagnético) permiten maximizar la orientación celular correcta para instruir a la anatomía para reparar.

[0076] En modalidades adicionales, en este documento se proporciona un método para tratar un tejido derivado de mesodermo en un paciente. El método incluye adecuadamente la visualización del tejido derivado del mesodermo debajo de la superficie de la piel del paciente a través de imágenes de ultrasonido dinámicas y análisis de imágenes en tiempo real. El método incluye además hacer vibrar el tejido conectivo debajo de la superficie de la piel y localizar uno o más nervios atrapados dentro del tejido conectivo. Se introduce adecuadamente una sonda de aguja en el tejido conectivo en el sitio del nervio atrapado. El método incluye adecuadamente manipular el tejido y/o el nervio atrapado con la sonda de aguja. Adecuadamente, se inyecta una composición líquida en el tejido conectivo a través de la sonda de aguja, la composición líquida comprende una o más proteínas regenerativas y una solución amortiguadora.

[0077] Como se describe en este documento, en modalidades, el tejido derivado del mesodermo es un tejido conectivo, y está ubicado adecuadamente en el cuello, la espalda, las rodillas, las caderas, los hombros, los codos, los pies, los tobillos, los dedos de los pies, las manos, las muñecas y/o los dedos del paciente. Los componentes ejemplares de la composición líquida para usar en los métodos se describen en este documento, e incluyen adecuadamente dextrosa, plasma-lyte y una o más proteínas placentarias, incluidas las descritas en este documento.

[0078] Ejemplos de frecuencias de formación de imágenes por ultrasonidos se describen en este

documento, e incluyen frecuencias operativas de alrededor de 4-100 MHz. El tejido conectivo se ubica adecuadamente dentro de alrededor de 10 cm desde la superficie de la piel del paciente, pero como se describe en este documento, puede estar a mayor profundidad dependiendo de las características físicas del paciente (por ejemplo, el peso del paciente y la masa corporal).

[0079] Como se describe en este documento, la vibración para ayudar en la visualización es adecuadamente un impulso de fuerza de radiación acústica, que incluye una onda de corte o una palpación. En este documento se describen ejemplos de sondas de aguja para su uso en los métodos, incluidas las sondas de aguja fenestradas.

[0080] Los métodos para manipular el nervio atrapado incluyen vibración y/o separación del tejido a través de la sonda de aguja, como se describe en este documento.

[0081] Como se nota en este documento, convenientemente, los métodos de tratamiento incluyen además la disipación de la composición líquida dentro del tejido conectivo mediante una o más de manipulación manual, masaje por percusión, aplicación de una onda de sonido y aplicación de un campo electromagnético pulsado.

[0082] Los métodos de tratamiento descritos en este documento se utilizan para ayudar a reestructurar y rejuvenecer el tejido cicatrizado, incluido el tejido conectivo. También se ha determinado que el movimiento del tejido conectivo por parte del paciente después de los diversos procedimientos de tratamiento descritos en este documento puede ayudar a reestructurar el tejido conectivo. Este movimiento incluye ejercicio suave y, específicamente, estiramiento y expansión de las áreas donde se ha realizado el tratamiento, para ayudar a realinear los tejidos conectivos y acelerar la curación.

[0083] Si bien los métodos descritos en este documento se pueden realizar una sola vez en un solo sitio en un paciente, los procedimientos también se pueden repetir según sea necesario para ayudar aún más en la reestructuración. Además, los métodos descritos en este documento pueden incluir además la readministración de la composición líquida que comprende proteínas regenerativas al tejido conectivo en varios intervalos de tiempo. Adecuadamente, las composiciones líquidas se vuelven a administrar alrededor de los 7-120 días después de la administración inicial, más adecuadamente alrededor de los 14-90 días después de la administración inicial. En modalidades ejemplares, la readministración ocurre alrededor de cada 7 días, alrededor de cada 14 días, cada 21 días, etc., incluyendo cada 14-90 días. Convenientemente, la readministración se produce alrededor de cada 14 a 90 días, durante un período de 1 a 12 meses, que incluye alrededor de 1 a 6 meses. En modalidades, los pacientes son tratados cada 14 días, alrededor de 1 a 10 veces, o alrededor de 1 a 6 veces, durante un período de alrededor de 1 a 6 meses, más adecuadamente de alrededor de 3 a 4 meses.

[0084] Se ha demostrado que los métodos de tratamiento descritos en este documento restauran el movimiento, eliminan la rigidez y reducen o eliminan el dolor en las articulaciones y el tejido conectivo de varios pacientes, incluidos los atletas profesionales que han soportado numerosos

años de estrés y entrenamientos de alto impacto durante sus carreras.

[0085] En modalidades adicionales, en este documento se proporciona un kit para llevar a cabo el tratamiento del tejido conectivo de un paciente. Convenientemente, el kit incluye una composición líquida que comprende dextrosa, plasma-lyte y una o más proteínas placentarias seleccionadas del grupo que consiste en:

Factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF);

Factor de crecimiento epidérmico (EGF);

Factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF);

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-AA);

Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB);

Factor de crecimiento placentario (PLGF);

Factor de crecimiento transformante alfa (TGF – alfa);

Factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-B1);

Interleucina 4 (IL-4);

Interleucina 6 (IL-6);

Interleucina 8 (IL-8);

Interleucina 10 (IL-10);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-1);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-2);

Inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP-4);

Factor de diferenciación del crecimiento (GDF-15);

Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF);

Interferón gamma (IFN- γ);

Interleucina 1 alfa (IL1-alfa);

Interleucina 1 Beta (IL1- β);

antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1ra);

Interleucina 5 (IL-5);

Interleucina 7 (IL-7);

Interleucina 12 p40 (IL-12p40);

Interleucina 12 p70 (IL-12p70);

Interleucina 15 (IL-15);

Interleucina 17 (IL-17);

Interleucina 16 (IL-16);

Factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF);

Osteoprotegerina (OPG);

Quimioatrayente de linfocitos B (CXCL13) (BLC);

Ligando de quimiocina 1 (CCL1) (I-309);

Eotaxina-2;

Proteína quimiotáctica de monocitos 1 (CCL2) (MCP-1);

Monocina inducida por interferón gamma (CXCL9) (MIG);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (CCL3) (CCL3) (MIP-1 α);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (CCL4) (MIP-1 β);

Proteína inflamatoria de macrófagos 1D (MIP-5, CCL15) (MIP-1d);

Regulado por activación, expresión y secreción de células T normales (CCL5) (RANTES);

Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF);

Proteína morfogenética ósea 5 (BMP-5);

Factor de crecimiento endotelial vascular derivado de glándulas endocrinas (EG-VEGF);

Factor de crecimiento de fibroblastos 4 (FGF-4);

Factor de crecimiento de queratinocitos (FGF-7);

Hormona del crecimiento (GH);

Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 1 (IGFBP-1);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 2 (IGFBP-2);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 3 (IGFBP-3);

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 4 (IGFBP-4); y

Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina - 6 (IGFBP-6).

[0086] En este documento se describen cantidades ejemplares de estas proteínas placentarias y proteínas preferidas.

[0087] Convenientemente, el kit incluye además una sonda de aguja para inyectar la composición líquida en el tejido conectivo y para manipular un nervio atrapado, como se describe en este documento. En modalidades, el kit incluye además instrucciones para llevar a cabo el método de tratamiento del tejido conectivo, de acuerdo con las modalidades descritas en este documento.

[0088] En la técnica se conocen varios recipientes, etc., para contener los componentes del kit e incluyen, por ejemplo, varias jeringas, botellas, cajas, envoltorios, bolsas, etc.

[0089] Como se describe en este documento, en modalidades, la sonda de aguja incluye uno o más orificios fenestrados para permitir el suministro de la composición líquida.

[0090] Los kits descritos en este documento también pueden incluir uno o más instrumentos para la manipulación manual, el masaje por percusión, la aplicación de una onda de sonido o la aplicación de un campo electromagnético pulsado al tejido conectivo. Dichos instrumentos se usan adecuadamente después de terminar los métodos de tratamiento descritos en este documento para disipar la composición líquida dentro del tejido del paciente para ayudar en la curación y reducción de la hinchazón.

[0091] Debe entenderse que, si bien se han ilustrado y descrito ciertas modalidades en este documento, las reivindicaciones no deben limitarse a las formas o disposiciones específicas de las

piezas descritas y mostradas. En la memoria descriptiva, se han descrito modalidades ilustrativas y, aunque se emplean términos específicos, se utilizan únicamente en un sentido genérico y descriptivo y no con fines limitativos. Son posibles modificaciones y variaciones de las modalidades a la luz de las enseñanzas anteriores. Por lo tanto, debe entenderse que las modalidades pueden practicarse de forma diferente a como se describe específicamente.

[0092] Si bien anteriormente se han descrito varias modalidades, debe entenderse que se han presentado solo como ilustraciones y ejemplos de la presente tecnología, y no a modo de limitación. Será evidente para los expertos en la técnica pertinente que se pueden realizar varios cambios en forma y detalle sin apartarse del espíritu y alcance de la presente tecnología. Por lo tanto, la amplitud y el alcance de la presente tecnología no deberían estar limitados por ninguna de las modalidades descritas anteriormente, sino que deberían definirse únicamente de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes. También se entenderá que cada característica de cada modalidad discutida en este documento, y de cada referencia citada en este documento, puede usarse en combinación con las características de cualquier otra modalidad. Todas las patentes y publicaciones discutidas en este documento se incorporan en este documento como referencia en su totalidad.