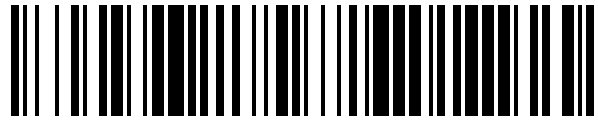


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 157 059**

21 Número de solicitud: 201630561

51 Int. Cl.:

C12M 3/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

04.05.2016

43 Fecha de publicación de la solicitud:

24.05.2016

71 Solicitantes:

**CRESPO SANTIAGO, Juan (100.0%)
Verdi, 236 2º 1ª
08024 Barcelona ES**

72 Inventor/es:

CRESPO SANTIAGO, Juan

74 Agente/Representante:

MARQUÉS MORALES, Juan Fernando

54 Título: **Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro.**

ES 1 157 059 U

DESCRIPCIÓN

Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro.

SECTOR DE LA TÉCNICA

5 La invención se refiere al campo de la ingeniería tisular. En concreto, la invención proporciona una plataforma novedosa y escalable para el cultivo de tejidos tridimensionales de células musculares o cualquier otro tipo de tejido susceptible de ser pulsátil, tal como cardiomiocitos, que permite su desarrollo en los tres ejes del espacio, aplicando estimulación pulsada mecánica y eléctrica a los constructos célula-andamio de manera que su maduración es más rápida y eficiente.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA

Dentro del ámbito de la investigación biomédica y la ingeniería tisular referente a tejidos en general, se distinguen dos tipologías, los cultivos de tejido monocapa, en los que el tejido constituye de una única capa de células que se desarrolla en dos ejes del espacio apoyada en una superficie plana, y los cultivos tridimensionales, en los que el tejido cultivado presenta 15 más de una capa de células superpuestas que no tienen por qué ser células apiladas, sino más bien una configuración 3D que se desarrolla en los tres ejes del espacio.

Para el cultivo de tejidos tridimensionales, es necesario una base de crecimiento de las células denominada andamio o matriz, (en los tejidos naturales se denomina matriz extracelular) que facilita que las células se organicen en tres dimensiones y que a su vez sirve de soporte 20 mecánico y en algunos casos, dependiendo de su composición, puede además resultar un activo bioquímicamente. Este conjunto célula-andamio es denominado comúnmente constructo.

El constructo, cuando se trata de células musculares, debe ser estimulado mecánica y/o eléctricamente para que las células del interior del andamio, puedan adquirir un fenotipo apto 25 (más maduro en el caso del muscular) para su posterior experimentación in-vitro, y para el desarrollo de posibles injertos en terapias de medicina regenerativa.

En la actualidad existen sistemas que permiten que el constructo (célula-andamio) sea estimulado en un solo eje (X), o biaxialmente (X e Y) como en los resortes Flexcell®, donde el tejido es estirado con la ayuda de uno o varios resortes que estiran el plano sobre el que 30 se deposita el constructo.

Para cultivos celulares monocapa existen sistemas que permiten su estimulación biaxial como el publicado por (Casares et al. 2015), en el que una monocapa de células asentada sobre una membrana elastomérica es estirada biaxialmente (X e Y).

5 Este sistema no es apropiado para cultivos tridimensionales, pues su mayor grosor hace que este se desprenda de su superficie de asiento.

La estimulación solo en dos ejes del espacio de un cultivo tridimensional de células musculares implica un desarrollo lento y poco homogéneo del mismo, ya que se produce solo en un plano, cuando la interacción de células se da a nivel tridimensional.

10 Por lo tanto, sería beneficioso el desarrollo de un dispositivo que permitiese la estimulación del tejido tridimensional en sus tres dimensiones sin que ello implicase el desprendimiento de su base de asiento.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN

15 El novedoso dispositivo soluciona el problema objetivo planteado al permitir la estimulación mecánica en los tres ejes del espacio de un tejido tridimensional cultivado in vitro y opcionalmente su electro estimulación.

Otra ventaja del nuevo dispositivo es su facilidad para integrarse en cualquier tipo de placas de laboratorio.

20 Concretamente, el novedoso dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos musculares tridimensionales cultivados in vitro consta de una base toroidal de sección cuadrada o rectangular, preferiblemente de silicona, que incorpora una fina membrana que cubre su espacio central y que forma una sola pieza con la base toroidal. Esta membrana delimita un espacio de cultivo en la zona superior de la base toroidal donde se deposita el constructo y una cámara neumática que ocupa la parte inferior de la base toroidal, con la que el dispositivo se asienta en los pocillos de una placa de laboratorio.

25 La cara de la membrana orientada al espacio de cultivo incorpora medios para la fijación mecánica del constructo. Estos medios de fijación mecánica del constructo están constituidos preferiblemente por elementos sobresalientes de la misma y distribuidos de forma homogénea tal como pequeños bastoncillos, cubos, surcos, mallados, esferas, membranas verticales, etc.

30 Cuando el constructo se deposita sobre la membrana, este queda asentado en el espacio obrante entre los medios de fijación, de manera que estos atraviesan el tejido tridimensional,

con lo que queda fijado mecánicamente a la membrana.

La cámara neumática incorpora un conducto de paso de gas a través del cual se inducen periodos de sobrepresión o depresión de la misma. El conducto de paso de gas va conectado a una electroválvula que es controlada por temporizador (analógico, digital o un software) que regula el tiempo de apertura y cierre de la misma, y por tanto del paso de gas. La electroválvula va conectada a una bomba de impulsión o de vacío en su caso, que introduce o extrae el aire o una mezcla de gases de la cámara neumática. El aire empuja o absorbe la membrana provocando su deformación, la cual se extiende y adquiere una configuración convexa o cóncava.

Al pasar la membrana de su estado de reposo plano a su posición extendida, tanto cóncava como convexa, los medios de fijación mecánica tensionan homogéneamente el constructo en los tres ejes del espacio.

Para que puedan ser inducidos periodos de sobrepresión o depresión en la cámara neumática, esta ha de ser hermética, por lo que la base del cuerpo toroidal está unida a la superficie base del pocillo o de la placa de cultivo mediante silicona, o incorpora elemento de cierre rígido.

Opcionalmente, la membrana dispone de una pluralidad de microelectrodos MEA a través de los cuales el constructo es estimulado con descargas eléctricas controladas.

Estos microelectrodos MEA se integran en el cuerpo de la membrana o pueden ubicarse en su superficie realizando una doble acción, la de estimulación y lectura a su vez de los pulsos eléctricos y la propia de los medios de fijación mecánica del constructo.

En versiones más elaboradas se incorporan una membrana semipermeable con un espacio interior apto para la perfusión de fluidos del interior hacia el exterior de la misma.

La posibilidad de incluir el dispositivo en placas de cultivo facilita la repetitividad del experimento en cuestión, ya que pueden tenerse varios clones en una placa de pocillos. El hecho de estar incluido en una placa de cultivo, también facilita la esterilización para su posterior uso, así como el manejo para poder estudiar el constructo en el microscopio. Si además se instalaran varias electroválvulas independientes, podrían aplicarse entonces varias frecuencias de estimulación a la vez, con varias deformaciones. Pudiendo así tener una gama de frecuencias y deformaciones distintas según el experimento en cuestión.

DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Con objeto de ilustrar cuanto hasta ahora se ha expuesto se acompaña un conjunto de cinco dibujos únicamente ilustrativos y no limitativos de las posibilidades prácticas de la invención.

En dichos dibujos:

5 La figura 1 corresponde a una vista en perspectiva de la invención.

Las figuras 2 y 3 corresponden respectivamente a las vistas de sección alzado y planta del dispositivo.

La figura 4 muestra el dispositivo instalado sobre la superficie de un pocillo de una placa de cultivo.

10 La figura 5 muestra una perspectiva del conjunto de los dispositivos instalados en una placa de cultivo de 6 pocillos con los correspondientes tubos entrando a cada dispositivo.

LISTADO DE REFERENCIAS

1 Base Toroidal

2 Membrana

15 3 Espacio de cultivo

4 Constructo

5 Cámara neumática

6 Pocillos

7 Placa laboratorio

20 8 Bastoncillos

9 Conducto paso de gas

10 Capa de silicona

11 Microelectrodos

DESCRIPCIÓN DEL EJEMPLO

Según los dibujos, el novedoso dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos musculares tridimensionales cultivados in vitro está configurado como un elemento monobloque que consta de una base toroidal (1) de sección cuadrada realizada en silicona, la cual incorpora en su zona superior una membrana (2) que cubre su espacio central. Esta
5 membrana delimita un espacio de cultivo (3) en la zona superior de la base toroidal donde se deposita el constructo (4) y una cámara neumática (5) que ocupa la parte inferior de la base toroidal, con la que el dispositivo se asienta en los pocillos (6) de una placa de laboratorio (7).

La cara de la membrana orientada al espacio de cultivo (3) incorpora medios para la fijación mecánica del constructo constituidos en este ejemplo por un conjunto de bastoncillos (8)
10 distribuidos en cuadrícula.

El constructo (4) se deposita sobre la membrana (2) asentado en el espacio obrante entre los bastoncillos (8), de manera que estos se insertan y atraviesan el tejido tridimensional.

La cámara neumática (5) incorpora un conducto de paso de gas (9) a través del cual se inducen periodos de sobrepresión o depresión de la misma.

15 La base del cuerpo toroidal (1) está unida a la superficie base del pocillo (6) mediante una capa de silicona (10).

En el cuerpo de la membrana se integran de una pluralidad de microelectrodos MEA (11) a través de los cuales el constructo (4) es estimulado con descargas eléctricas controladas.

REIVINDICACIONES

1ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro caracterizado esencialmente comporta un elemento monobloque preferiblemente de silicona, en el que se aprecia una base toroidal de sección cuadrada o rectangular y una fina membrana que cubre su espacio central, delimitando un espacio de cultivo en la zona superior de la base toroidal donde se deposita el constructo y una cámara neumática que ocupa la parte inferior, siendo que la cara de la membrana orientada al espacio de cultivo comporta medios para la fijación mecánica del constructo constituidos por elementos sobresalientes de la misma y distribuidos de forma homogénea por su superficie tal como pequeños bastoncillos, cubos, esferas, membranas verticales, o elementos análogos a distintas escalas. El constructo depositado sobre la membrana queda asentado en el espacio obrante entre los medios de fijación, de manera que estos atraviesan el tejido tridimensional con lo que queda fijado mecánicamente a la membrana. Esta superficie puede funcionalizarse o activarse bioquímicamente para incrementar la adherencia del constructo. La cámara neumática incorpora un conducto de paso de gas a través del cual se inducen periodos de sobrepresión o depresión de la misma que deforman extendiendo la membrana.

2ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro según reivindicación primera, caracterizado porque al pasar la membrana de su estado de reposo plano a su posición extendida los medios de fijación mecánica tensionan homogéneamente el constructo en los tres ejes del espacio.

3ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro según reivindicaciones anteriores, caracterizado esencialmente porque la base del cuerpo toroidal está unida a la superficie base de un pocillo o de la placa de cultivo mediante silicona.

4ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro según reivindicaciones 1 y 2, caracterizado esencialmente porque la base del cuerpo toroidal incorpora elemento de cierre rígido.

5ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro según cualquiera de las

5 reivindicaciones anteriores caracterizado porque la membrana incorpora de una pluralidad de microelectrodos MEA a través de los cuales el constructo es estimulado con descargas eléctricas controladas, que se integran en el cuerpo de la membrana o se ubican en su superficie realizando una doble acción de estimulación eléctrica y la propia de los medios de fijación mecánica del constructo.

10 6ª.- Dispositivo para estimulación electromecánica de tejidos tridimensionales musculares o susceptibles de ser estimulados mecánicamente y cultivados in vitro según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque incorpora una membrana semipermeable con un espacio interior apto para la perfusión de fluidos del interior hacia el exterior de la misma.

Fig.1

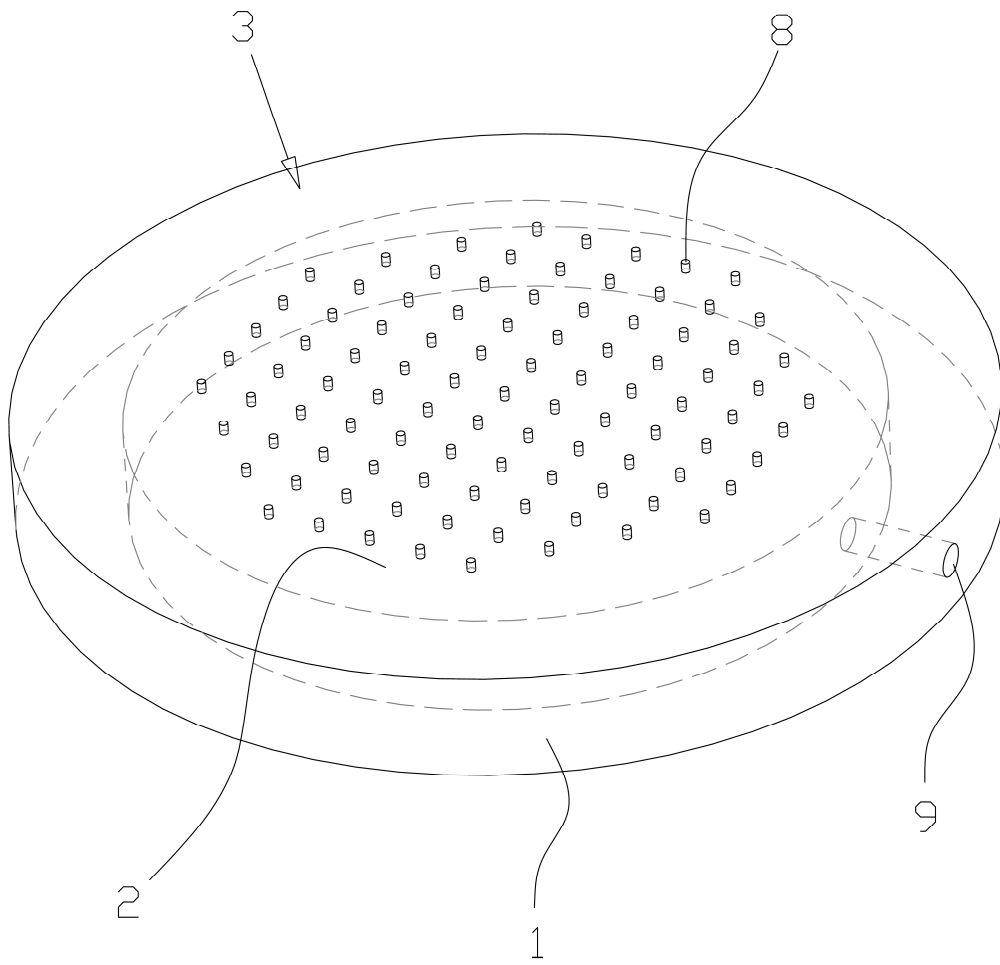


Fig.2

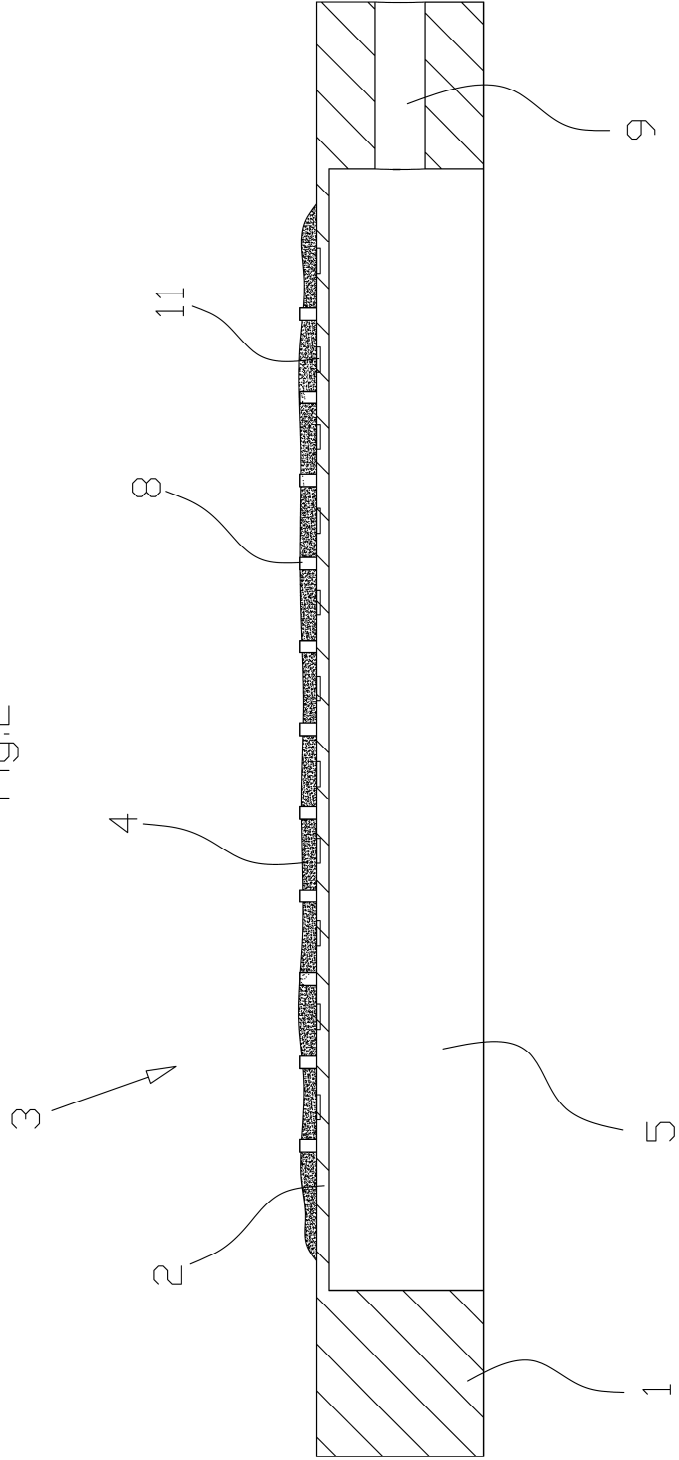


Fig.3

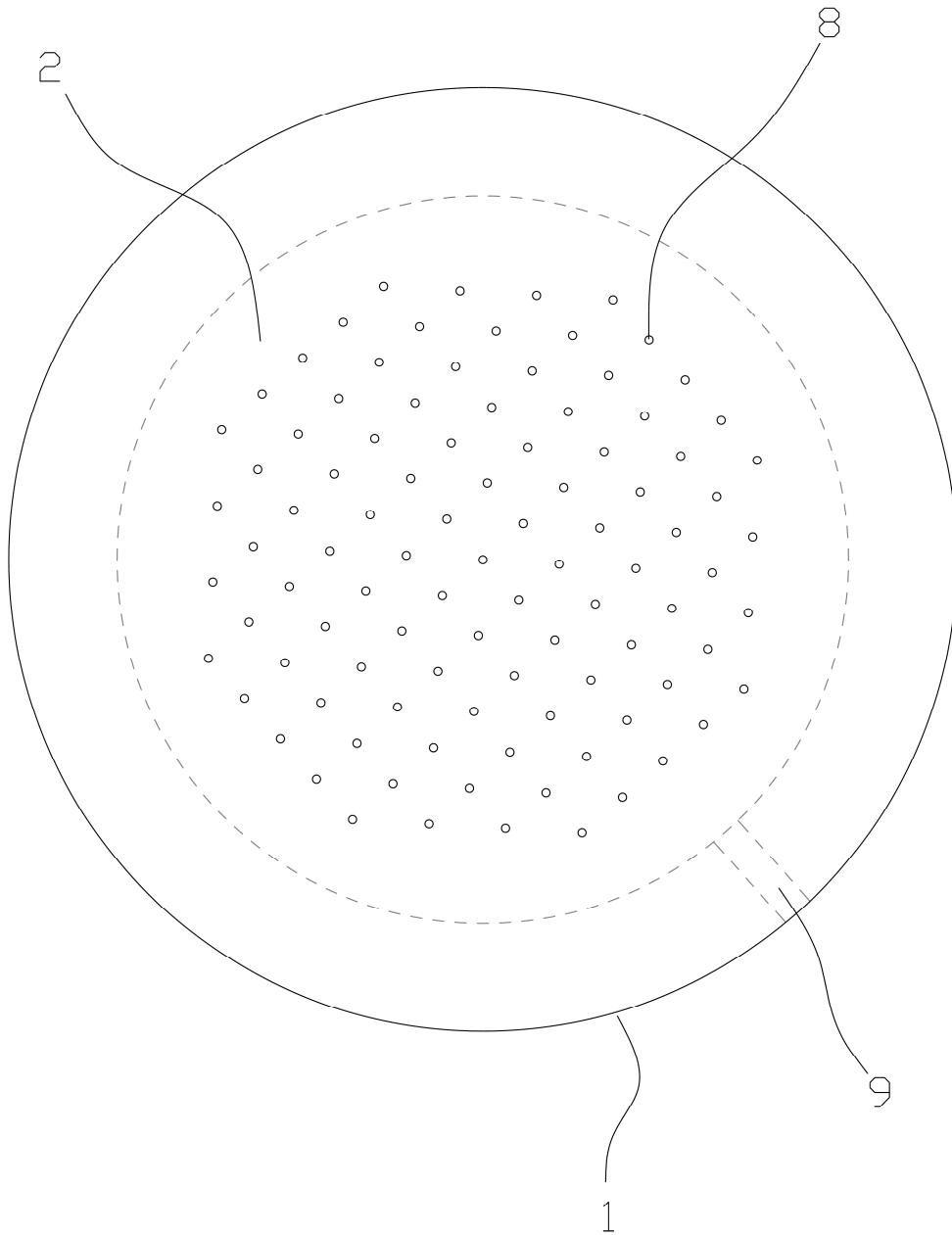


Fig.4

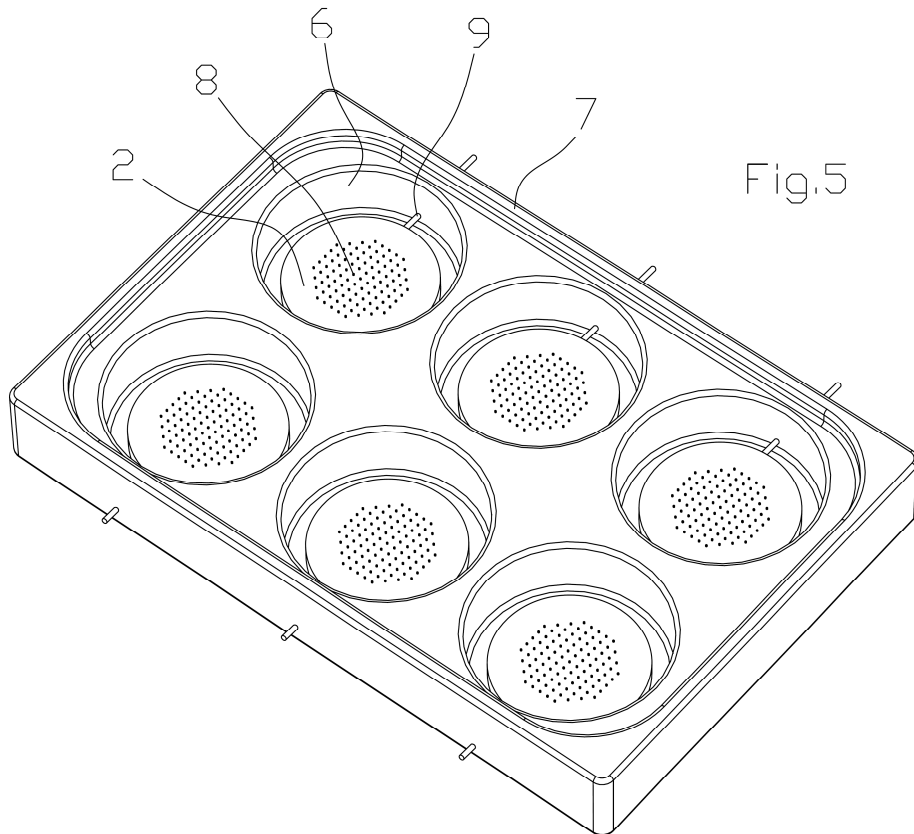
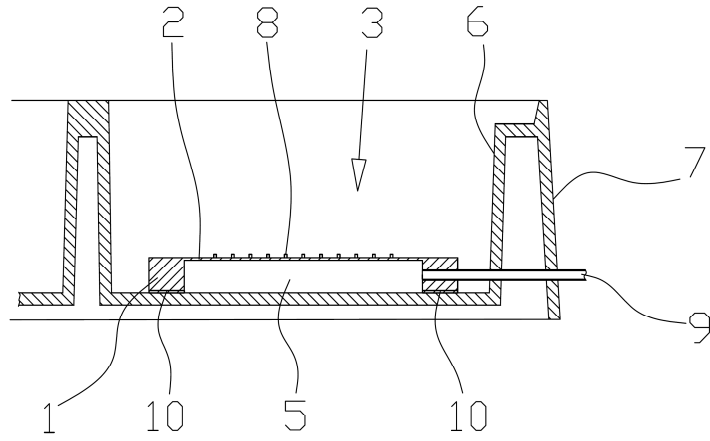


Fig.5