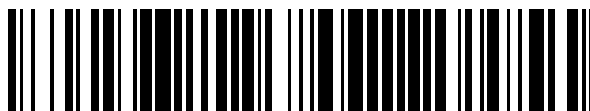


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 817**

51 Int. Cl.:  
**A61F 13/53**

(2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03756228 .7**  
96 Fecha de presentación: **28.05.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1517660**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.03.2005**

54 Título: **CULTIVO DE TEJIDO DIRIGIDO EMPLENADO PRESIÓN REDUCIDA.**

30 Prioridad:  
**03.06.2002 US 161076**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**23.12.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**23.12.2011**

73 Titular/es:  
**WAKE FOREST UNIVERSITY HEALTH SCIENCES  
MEDICAL CENTER BOULEVARD  
WINSTON-SALEM, NC 27157, US**

72 Inventor/es:  
**ARGENTA, Louis, C.;  
MORYKWAS, Michael, J. y  
WEBB, Lawrence, X.**

74 Agente: **Morales Durán, Carmen**

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).

ES 2 370 817 T3

**DESCRIPCIÓN**

Cultivo de tejido dirigido empleando presión reducida

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un aparato para promover el cultivo de tejido dirigido, y más particularmente a un aparato para proporcionar un cultivo de tejido dirigido dentro de una matriz de huésped a través de la aplicación de presión reducida al tejido a cultivar.

10

Antecedentes de la invención

Promover el cultivo de tejido, especialmente tejido dañado por traumatismo o enfermedad, ha sido durante mucho tiempo un área de interés en la práctica médica. Dicho daño o enfermedad, incluyendo complicaciones debidas a una infección, puede obstaculizar o impedir la cicatrización de una lesión debido a una ausencia de crecimiento de tejido sano. Muchas enfermedades y ciertas lesiones implican tejido afectado que no puede cicatrizar espontáneamente. Tal es el caso, por ejemplo, para una fractura abierta de pilón de tejido óseo. Históricamente, una fractura de pilón implica un alto índice de complicaciones. Dichas complicaciones incluyen infección, no unión, incapacidad de obtener o mantener una reducción de la superficie articular, y artritis temprana y tardía. En dichas condiciones, la incapacidad para conseguir una cicatrización suficiente de la fractura de pilón podría requerir una amputación.

15

20

25

30

En los años 70 y a principios de los 80 el tratamiento prescrito para la mayoría de lesiones de fractura de pilón era la reducción abierta y la fijación interna, habitualmente con un injerto de hueso metafisario. Los informes de altos índices de complicaciones con esta estrategia empujaron a muchos cirujanos a usar métodos indirectos tales como formar un puente de fijación externa y limitar la cirugía a lo que fuera necesario para la reducción de la articulación. La conciencia de las cuestiones acerca del momento oportuno ha empujado a algunos a usar un procedimiento por fases, con formación de un puente de fijación externa inicialmente, seguido de cirugía abierta pero limitada. Las incisiones vienen impuestas por los patrones de fractura, y el momento oportuno viene impuesto por la resolución de la envuelta de tejido blando.

35

40

Sin embargo, a pesar de estas estrategias, surgen casos en los que puede desarrollarse una complicación muy importante, por ejemplo, una infección profunda. Dependiendo del estado médico del paciente, tal como la afección de vasos sanguíneos locales, el tratamiento habitual por aplicación de un colgajo de músculo libre puede ser inapropiado. En tales casos, el tratamiento tradicional ofrece un mal pronóstico para salvar el tejido afectado. En tales casos, en los que existe una probabilidad de una no unión infectada y su dolor, deformación y escasa función asociados, la amputación es el tratamiento médico apropiado y preferido. Por lo tanto, podría ser un gran avance para la práctica médica proporcionar un aparato para promover el crecimiento de tejido óseo sano en tales circunstancias para evitar el tratamiento drástico de amputación.

45

Como ejemplo adicional, enfermedades tales como el cáncer dan como resultado con frecuencia daño tisular que no cicatriza espontáneamente, y el tratamiento de dicho daño tisular resultante se beneficiaría de un aparato y método para promover el crecimiento de tejido. Por ejemplo, muchos pacientes que sufren lesiones o padecen cáncer óseo requieren el reemplazo de un trozo de hueso ausente. Las técnicas actuales para el reemplazo de hueso incluyen: desplazar un trozo del hueso de un sitio no lesionado al sitio lesionado; uso de hueso de cadáver; o el uso de varillas o placas metálicas. Estas opciones no son siempre posibles debido al potencial de defectos del sitio donante de hueso, o a la ausencia de disponibilidad de hueso de cadáver. Por lo tanto, el cultivo de nuevo tejido óseo sano proporcionaría una opción de tratamiento valiosa en tales casos.

50

55

60

Además del crecimiento de tejido óseo, el crecimiento de otros tejidos corporales tales como cartílago, piel, tendón, nervios, tejido mamario y órganos tales como el hígado o el páncreas, proporcionaría un avance valioso en la práctica médica. Existen muchas enfermedades que dañan el tejido de un órgano más allá de la capacidad del cuerpo para reparar de forma natural dicho daño. Por ejemplo, una lesión crónica en el hígado por infección vírica u otras causas puede conducir en última instancia a cirrosis hepática. A medida que avanza la cirrosis, el tejido sano se sustituye con tejido fibroso. Los vasos sanguíneos se engrosan y sus canales pueden obliterarse, lo que reduce el flujo sanguíneo en el órgano. La estructura normal del tejido interno se pierde y sólo permanece tejido cicatricial no funcional. La ausencia de tejido sano conduce finalmente a la muerte. Sería un gran avance promover el crecimiento del tejido sano restante en el hígado en combinación con un tratamiento para la causa subyacente de la cirrosis.

65

Además, existen muchas otras enfermedades que están causadas por daños a los tejidos de un órgano, de las cuales la diabetes es una de urgente importancia. Actualmente, el número de individuos con diabetes se duplica cada 15 años. Aunque el tratamiento con insulina puede prevenir la muerte temprana por como diabético, dicho tratamiento no previene las complicaciones crónicas incapacitantes de la enfermedad. Actualmente, la diabetes mellitus está entre las 10 causas principales de muerte en los Estados Unidos, y es la causa principal de ceguera y uremia.

El primer tipo de diabetes, el Tipo I, está causado por la incapacidad del páncreas para secretar insulina. Normalmente, la insulina se sintetiza en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Los individuos afectados con diabetes de Tipo I tienen una deficiencia de insulina debido a la pérdida de células de los islotes. Estudios médicos recientes han demostrado que el trasplante de células beta de cadáver a un paciente diabético puede proporcionar al páncreas la capacidad para producir insulina. Sin embargo, dicha estrategia está limitada debido a la ausencia de disponibilidad de células donantes de cadáver, a la necesidad de trasplantes posteriores, así como a las complicaciones y efectos secundarios que se encuentran normalmente en el trasplante, tales como la necesidad de un uso continuado de fármacos antirrechazo. La capacidad para proporcionar el cultivo de tejido dirigido de células beta dentro del páncreas, o externamente al páncreas para su trasplante en el páncreas, sería por lo tanto un avance significativo para el tratamiento de enfermedades tales como la diabetes.

El documento US2001/0043943 propone un vendaje de cuidado de heridas que incluye una estructura para proporcionar un espacio al vacío. El documento WO99/51164 propone un método de reconstrucción tisular en el que se coloca un medio de inyección por debajo de un defecto de tejido blando y se inyecta material biocompatible en una localización subcutánea para tratar el defecto. El documento WO94/20041 propone un método de tratamiento del daño tisular que comprende aplicar una presión negativa a una herida.

#### Sumario de la invención

La presente invención proporciona un aparato para cultivar un tejido de acuerdo con la reivindicación 1.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un aparato de cultivo de tejido dirigido para cultivar tejido por aplicación de un medio de cultivo de tejido (incluyendo un material sustituto de hueso poroso) al tejido y aplicación de una presión reducida subatmosférica al medio de cultivo y al tejido de una forma controlada durante un periodo de tiempo seleccionado. La aplicación de presión reducida al medio de cultivo y al tejido promueve el crecimiento del tejido dentro del medio de cultivo de tejido, lo que proporciona beneficios tales como velocidades de cicatrización aceleradas y reemplazo de tejido ausente, enfermo o dañado. Los tejidos que pueden presentar una respuesta positiva al tratamiento por aplicación de presión reducida incluyen hueso, cartílago, tendón, nervios, piel, tejido mamario y órganos tales como el hígado o el páncreas, por ejemplo.

El aparato de cultivo de tejido dirigido de acuerdo con la presente invención incluye una herramienta de aplicación de presión reducida que se aplica a un sitio de tratamiento en el que se va a cultivar tejido. Dicho sitio de tratamiento puede estar localizado *in vivo* o *in vitro*. La herramienta de aplicación de presión reducida incluye un medio de cultivo de tejido (incluyendo un material sustituto de hueso poroso) para su colocación en contacto con el tejido que se va a cultivar para proporcionar un medio en el que puedan cultivarse las células. La forma del medio de cultivo de tejido se selecciona con respecto al tipo de tejido que se va a cultivar. Por ejemplo, el medio de cultivo de tejido puede comprender una capa de material adecuado para su uso como piel artificial para reemplazar piel dañada o ausente. En un caso de este tipo, el medio de cultivo de tejido puede comprender convenientemente un material bioabsorbible. Un material bioabsorbible es un material que se puede disolver en el tejido o que puede incorporarse en el tejido como un componente sustancialmente indistinguible. El medio de cultivo de tejido también puede comprender un armazón o matriz porosa, que puede incluir uno o más de un material proteico fibroso o fibroso de origen natural, tal como colágeno, o un material reabsorbible sintético. Por ejemplo, el armazón puede comprender el material sustituto de hueso, tal como un biovidrio o cerámico. Los materiales porosos permiten el crecimiento de células dentro de los poros del material y permiten el flujo de gas hacia el tejido durante los tiempos de no aplicación de la presión reducida. Además, durante los tiempos en los que se aplica una presión subatmosférica a dichos materiales porosos, los materiales porosos facilitan la distribución de la presión subatmosférica y el flujo de fluido.

Opcionalmente, una sección de espuma de célula abierta, para la conexión con una fuente de presión reducida, puede proporcionarse en contacto con un medio de cultivo de tejido seleccionado para aplicar una presión reducida al medio de cultivo de tejido. Por ejemplo, la sección de espuma de célula abierta puede usarse de forma deseable con un medio de cultivo de tejido particular tal como piel artificial, para aplicar y distribuir mejor la presión subatmosférica a través de la superficie de la piel.

La herramienta también incluye una cubierta para recubrir y delimitar el tejido y el medio de cultivo de tejido. La cubierta también funciona recubriendo y delimitando la sección de espuma de célula abierta, cuando se usa. En aplicaciones en las que la cubierta no es autosellante por succión, la herramienta también puede incluir medios de sellado para sellar la cubierta a la región que rodea al tejido que se va a cultivar para mantener la presión reducida en las proximidades del tejido durante el cultivo de tejido. Cuando la cubierta se sella en su posición sobre el sitio de tejido, se forma un recinto sellado generalmente hermético a fluido o hermético a gas sobre o alrededor del sitio de tejido. Los medios de sellado pueden estar en forma de un adhesivo aplicado en la parte inferior de la cubierta o al menos en la periferia de la parte inferior de la cubierta para sellar la cubierta a la región que rodea al tejido. Los medios de sellado también pueden incluir un elemento de sellado separado, tal como una tira adhesiva, un anillo de sellado, una almohadilla tubular o un manguito inflable, para su uso con la cubierta para la su colocación alrededor de la región que rodea al tejido que se va a cultivar. En realizaciones seleccionadas, la presión reducida dentro del recinto sellado por debajo de la cubierta puede servir para autoadherir y sellar la cubierta en su posición en el sitio de cultivo de tejido. La herramienta de presión reducida también puede incluir un orificio de succión para permitir que

se suministre una presión reducida dentro del volumen sellado delimitado por debajo de la cubierta. El orificio de succión puede ser en forma de una boquilla en la cubierta. Como alternativa, el orificio de succión puede ser en forma de un tubo unido a la cubierta. Como otra alternativa más, el orificio puede proporcionarse en la boca de un tubo de succión que se inserta por debajo de la cubierta.

Un sistema de vacío se conecta con la herramienta de presión reducida para proporcionar succión o presión reducida a la herramienta. Con este fin, el sistema de vacío incluye una bomba de succión o dispositivo de succión para la conexión con el orificio de succión de la herramienta para producir la presión reducida sobre el sitio de tejido. El sistema de vacío puede incluir una sección de manguera o tubo, tal como una manguera de vacío, que interconecte el dispositivo de succión con el orificio de succión de la herramienta para proporcionar la presión reducida en el sitio de tejido. Un tubo de la herramienta puede servir como manguera de vacío para la conexión con el dispositivo de succión. Además, una boca de la manguera de succión puede servir como el orificio de succión en aplicaciones en las que la manguera de succión no está conectada a un orificio separado.

Puede proporcionarse un dispositivo de recogida en forma de una trampa de fluido intermedia a la manguera de vacío del dispositivo de succión y al orificio de succión de la herramienta para atrapar cualquier exudado que pueda aspirarse del tejido por la herramienta de presión reducida. También puede proporcionarse un mecanismo de parada para el sistema de vacío para detener la aplicación de la presión reducida en el sitio de tejido en el caso de que se haya recogido una cantidad predeterminada de exudado. El aparato también puede incluir un dispositivo de control para controlar la bomba y para proporcionar una producción cíclica o intermitente de presión reducida.

En una realización particular de la invención, la cubierta para la herramienta de presión reducida puede ser en forma de una lámina de recubrimiento impermeable a gas de material polimérico flexible, tal como poliuretano, que tenga un refuerzo adhesivo que proporcione el sellado para fijar la lámina sobre el sitio de tejido para proporcionar un recinto sellado hermético a gas o hermético a fluido sobre el sitio de tejido. También puede usarse una cubierta semipermeable en aplicaciones seleccionadas. El sistema de vacío del aparato de tratamiento de tejido puede incluir una bomba de succión que tenga una manguera de vacío que esté conectada con, o como alternativa integrada con un revestimiento de tubo de succión como un orificio de succión para la herramienta. El tubo de succión para la herramienta discurre por debajo de la lámina de recubrimiento cuando se sella en su posición sobre el sitio de tejido y hacia el recinto hermético a fluido proporcionado en el sitio de tejido por debajo de la lámina de recubrimiento. Se usa un refuerzo adhesivo en la lámina de recubrimiento para proporcionar un sellado hermético a fluido alrededor de la conexión interfacial para el tubo de succión en el sitio de tejido. Dentro del recinto, el tubo de succión se conecta a una sección de espuma de célula abierta en comunicación con el medio de cultivo de tejido en el que puede cultivarse el tejido. La espuma de célula abierta funciona aplicando más uniformemente la presión reducida o la succión sobre el medio de cultivo de tejido. Asimismo, la sección de espuma de célula abierta comunica la presión reducida con el sitio de tejido bajo la lámina de recubrimiento al tiempo que mantiene la lámina de recubrimiento sustancialmente fuera de contacto con el tejido durante la aplicación de presión reducida en el sitio de tejido delimitado. El medio de cultivo de tejido comprende un material sustituto de hueso poroso. En un caso de este tipo, el tubo de succión puede conectarse directamente con el medio de cultivo de tejido y la sección de espuma de célula abierta puede omitirse.

#### Breve descripción de los dibujos

El sumario anterior, así como la descripción detallada siguiente de las realizaciones preferidas de la presente invención, se entenderán mejor al leerlo junto con los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 es una vista transversal esquemática de una herramienta de presión reducida que comprende un medio de cultivo de tejido poroso, una manguera flexible para conectar el medio de cultivo de tejido con un sistema de vacío, y una lámina de polímero flexible con refuerzo adhesivo que cubre el medio de cultivo para proporcionar un sellado sobre un tejido que se va a cultivar; y

la Figura 2 es una vista transversal esquemática de una herramienta de presión reducida que comprende una sección de espuma en comunicación con un medio de cultivo de tejido, una manguera flexible para conectar la sección de espuma con un sistema de vacío, y una lámina de polímero flexible con refuerzo adhesivo que cubre el ensamblaje de la sección de espuma con medio de cultivo para proporcionar un sellado sobre un tejido que se va a cultivar.

#### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un aparato de cultivo de tejido dirigido para promover el crecimiento en un tejido por aplicación de presión reducida (es decir, por debajo de la presión atmosférica) de modo que pueda aplicarse succión a un sitio de tejido de una forma controlada durante un periodo de tiempo seleccionado.

En referencia a la Fig. 1, se representa un aparato de cultivo de tejido dirigido, generalmente denominado 25, que tiene una herramienta de presión reducida 29 para delimitar un sitio de tejido para proporcionar un recinto hermético a fluido o hermético a gas sobre el sitio de tejido para cultivar tejido 24 en un medio de cultivo de tejido 10 a través

de la aplicación de presión subatmosférica. El aparato de cultivo de tejido dirigido 25 incluye una herramienta de presión reducida, generalmente denominada 29, que se aplica a y se sella sobre un sitio de tejido para delimitar el sitio de tejido para formar una cámara de presión reducida alrededor del sitio de tejido para el tratamiento con succión o presión reducida dentro de un recinto sellado generalmente hermético a fluido o hermético a gas. Con el fin de crear succión dentro de la herramienta 29, la herramienta 29 se conecta con un sistema de vacío, generalmente denominado 30, para proporcionar una fuente de succión o presión reducida para la herramienta 29 sellada en el sitio de tejido. El sistema de vacío 30 puede incluir un dispositivo de succión 31 y un dispositivo de recogido de fluido opcional 32 intermedio a la manguera 12 y al dispositivo de succión 31. El dispositivo de recogida de fluido 32 funciona recogiendo cualquier exudado que pueda aspirarse del tejido. Puede proporcionarse un mecanismo de parada 33 para detener la aplicación del dispositivo de succión 31 tras la recogida de una cantidad predeterminada de fluido en el dispositivo de recogida de fluido 32. La herramienta 29 incluye una cubierta de tejido impermeable a fluido 18 en forma de una lámina de polímero flexible adhesiva impermeable a fluido para cubrir y delimitar el tejido 24 en el sitio de tejido. La cubierta de tejido 18 incluye un refuerzo adhesivo 20 que funciona sellando la cubierta de tejido alrededor de la periferia del tejido 24 para proporcionar un recinto generalmente hermético a gas o hermético a fluido sobre el tejido 24. La lámina de recubrimiento adhesiva 18 debe tener una adhesión suficiente para formar un sellado hermético a fluido o hermético a gas 19 alrededor del tejido 24 y para mantener la lámina 18 en contacto sellado en el sitio de unión durante la aplicación de succión o presión reducida. Como alternativa, la cubierta 18 puede proporcionarse en forma de una cubierta rígida o semirrígida adaptada para formar un sellado hermético a fluido o hermético a gas alrededor del tejido. Pueden realizarse en la herramienta modificaciones adecuadas para proporcionar una cámara de presión reducida para tratar el tejido seleccionado.

La herramienta 29 también incluye un medio de cultivo de tejido poroso 10 que se coloca bajo la cubierta 18 sobre o en el tejido 24. El medio de cultivo de tejido 10 se dispone sobre una extensión suficiente del tejido 24 para promover un crecimiento suficiente de nuevas células de tejido dentro del medio de cultivo de tejido 10. El medio de cultivo de tejido 10 debería ser suficientemente poroso para permitir que la conexión con un sistema de vacío 30 suministre una presión subatmosférica al tejido 24 y al medio de cultivo de tejido 10. El medio de cultivo de tejido 10 también puede perforarse para aumentar el flujo de gas y para reducir el peso de la herramienta. La configuración y composición del medio de cultivo de tejido 10 pueda ajustarse para adaptarse al tipo de tejido particular. Por ejemplo, para el cultivo en tejido óseo, el medio de cultivo de tejido 10 puede comprender un material poroso natural, sintético o híbrido natural-sintético. Dicho medio de cultivo de tejido 10 puede seleccionarse convenientemente para proporcionar un armazón para servir de soporte o dirigir la osteoconducción, es decir, la formación de hueso. Como alternativa, o además, dicho medio de cultivo de tejido 10 puede seleccionarse de materiales que inducen la diferenciación de células madre en células osteogénicas, es decir, agentes osteoinductores, o materiales que proporcionen células madre, por ejemplo, aspirado de médula ósea.

Por ejemplo, un medio de cultivo de tejido 10 para su uso en el cultivo de hueso puede ser un biovidrio, material cerámico u otro material poroso natural o sintético. En particular, los materiales que comprenden sulfato de calcio o fosfato de calcio son apropiados para su uso como un medio de cultivo de tejido óseo 10. Un sustituto de hueso de sulfato de calcio se absorbe completamente por los osteoclastos, y los osteoblastos se unirán al sustituto de hueso de sulfato de calcio y depositarán osteoide sobre el mismo. El proceso de absorción por los osteoclastos es completo y rápido. Por lo tanto, puede usarse con antibióticos en presencia de una infección. Una ventaja principal es que un sustituto de hueso de sulfato de calcio puede usarse en presencia de una infección, además de ser uno de los sustitutos de hueso más económicos. Los sustitutos de hueso de fosfato de calcio poseen principalmente propiedades osteoconductoras y no osteoinductivas, aunque un material de este tipo podría modificarse para proporcionar propiedades osteoinductivas. Un sustituto de hueso de sulfato de calcio adecuado es el sustituto de injerto de hueso OSTEOSET®, un producto de Wright Medical Technology, Inc. de Arlington TN.

Otra clase de materiales adecuados es una que comprende diversos derivados de fosfato de calcio, que pueden usarse para proporcionar una matriz estructural para la osteoconducción. Además, estos derivados no poseen ninguna propiedad osteoinductiva. Los derivados usados comúnmente son: hidroxiapatita (a base de coral o cerámico sintético obtenido químicamente), fluoroapatita, fosfato de tricalcio, cerámicos de biovidrio y combinaciones de los mismos. Un sustituto de hueso de fosfato de calcio adecuado es el sustituto de injerto de hueso OsteoGraft™, un producto de Millenium Biologix of Kingston, Ontario, Canadá.

La herramienta 29 también incluye un orificio de succión en forma de un tubo de succión hueco 12 que conecta directa o indirectamente con el sistema de vacío 30 para proporcionar succión dentro del recinto sellado. La salida del tubo de succión 12 sirve como orificio de succión para la herramienta 29. Un segmento terminal 12a del tubo 12 está embebido dentro del medio de cultivo de tejido 10 para proporcionar succión o presión reducida dentro de la cámara proporcionada bajo la cubierta de tejido 18. La estructura de célula abierta del medio de cultivo de tejido 10 también permite que el medio de cultivo de tejido 10 distribuya la presión reducida dentro de la cámara. El embebimiento del extremo abierto del segmento 12a del tubo 12 dentro del interior del medio de cultivo de tejido 10 permite que el medio de cultivo de tejido 10 funcione como una protección para contribuir a evitar que la cubierta de tejido 18 sea aspirada sin querer quedando encajada de forma oclusiva con el extremo abierto del tubo, taponando de este modo el tubo 12 y restringiendo el flujo de gas. La estructura de célula abierta del medio de cultivo de tejido 10 también permite que el medio de cultivo de tejido 10 distribuya la presión reducida dentro del recinto sellado.

El segmento de tubo 12a embebido dentro del medio de cultivo de tejido 10 tiene opcionalmente al menos un orificio lateral 14 para su colocación dentro del interior del medio de cultivo de tejido 10 para promover una aplicación sustancialmente uniforme de presión reducida por todo el recinto. La colocación del orificio lateral 14 del segmento de tubo 12a dentro del interior del medio de cultivo de tejido 10 permite que el medio de cultivo de tejido 10 funcione también como una protección para el orificio lateral para evitar de este modo que la cubierta de tejido 18 sea aspirada hacia el orificio lateral 14, y restringiendo por lo tanto el flujo de gas. Las células abiertas del medio de cultivo de tejido 10 facilitan el crecimiento de tejido en el mismo y facilitan el flujo de gas por todo el recinto. Además, el medio de cultivo de tejido 10 funciona manteniendo la cubierta de tejido 18 generalmente fuera de contacto con el tejido 24 durante la aplicación de succión dentro del recinto.

El tubo 12 y el segmento de tubo 12a pueden ser suficientemente flexibles para permitir el movimiento del tubo pero ser suficientemente rígidos para resistir a la constricción cuando se suministra una presión reducida a la herramienta 29 o cuando la localización del tejido es tal que el paciente debe sentarse o tumbarse tras la aplicación del tubo 12 o la herramienta de presión reducida 29. El ensamblaje que comprende el medio de cultivo de tejido 10 y el tubo 12 puede fabricarse por serpenteo del extremo del segmento de tubo 12a a través de un conducto interno en el medio de cultivo de tejido 10, tal como tirando del extremo del segmento de tubo 12a a través del conducto usando unas pinzas. El ensamblaje se prepara preferentemente antes del uso en condiciones estériles y después se almacena en un envase aséptico.

Para usar la herramienta de presión reducida 29 en el sitio del tejido 24, la lámina de recubrimiento de tejido adhesiva flexible impermeable a fluido 18 se fija en su posición en el sitio de tejido, cubriendo el medio de cultivo de tejido 10 dispuesto en contacto con el tejido 24. La lámina de recubrimiento de tejido 18 se fija y se sella en el sitio de unión 22 mediante una capa adhesiva 20 en la superficie inferior de la cubierta de tejido 18 para formar un sellado hermético a gas 19 alrededor del tejido 24. La cubierta de tejido 18 también proporciona un sellado hermético a gas alrededor del tubo 12 en la localización de la conexión interfacial 22a donde el tubo 12 surge desde debajo de la cubierta de tejido 18. La cubierta de tejido 18 está formada preferentemente por una lámina adhesiva flexible impermeable a fluido o impermeable a gas tal como loban, un producto de 3M Corporation of Minneapolis, MN.

Pueden producirse cantidades predeterminadas de succión o presión reducida mediante el sistema de vacío 30. El sistema de vacío 30 está preferentemente controlado por un dispositivo de control o circuito de control que incluye un interruptor o un temporizador que puede ajustarse para proporcionar un funcionamiento de encendido/apagado cíclico del sistema de vacío 30 de acuerdo con intervalos seleccionados por el usuario. Como alternativa, el sistema de vacío 30 puede hacerse funcionar de forma continua sin el uso de un temporizador cíclico. El control también puede incluir un selector de presión para permitir que se ajuste la cantidad de succión producida por el sistema de modo que pueda crearse una presión subatmosférica adecuada dentro de la cámara. El funcionamiento del sistema de vacío 30 puede controlarse para permitir aumentos graduados en la cantidad de vacío aplicada o disminuciones graduadas en la cantidad de vacío aplicada.

En referencia a la Fig. 2, se muestra una configuración alternativa de la herramienta de presión reducida 129 que es similar a la herramienta de presión reducida 29 de la Fig. 1. Los elementos de la herramienta 129 de la Fig. 2 que son similares a elementos semejantes representados en la Fig. 1 utilizan el mismo número de referencia que se usó en la Fig. 1 pero con una serie de 100 añadida a dichos números de referencia. Una diferencia principal entre la herramienta de presión reducida 129 de la Fig. 2 y la de la Fig. 1 es que se proporciona una sección de espuma porosa de célula abierta 111 para la comunicación con el sistema de vacío 130. La sección de espuma de célula abierta 111 a su vez comunica con el medio de cultivo de tejido 110, que es poroso.

El aparato de cultivo de tejido dirigido 125 incluye una herramienta de presión reducida, generalmente denominada 129, que se aplica a y se sella sobre un sitio de tejido para delimitar el sitio de tejido para el tratamiento con succión o presión reducida dentro de un recinto sellado generalmente hermético a fluido o hermético a gas. Con el fin de crear succión dentro de la herramienta 129, la herramienta 129 se conecta con un sistema de vacío, generalmente denominado 130, para proporcionar una fuente de succión o presión reducida para la herramienta 129 sellada en el sitio de tejido. La herramienta 129 incluye una cubierta de tejido impermeable a fluido 118 en forma de una lámina de polímero flexible impermeable a fluido para recubrir y delimitar el tejido 124 en el sitio de tejido. La cubierta de tejido 118 puede incluir un refuerzo adhesivo 120 al menos alrededor de la periferia de la cubierta, que funciona sellando la cubierta de tejido próxima al tejido 124 para proporcionar un recinto generalmente hermético a gas o hermético a fluido sobre el tejido 124. La lámina de recubrimiento adhesiva 118 debe tener una adhesión suficiente para formar un sellado hermético a fluido o hermético a gas 119 alrededor del tejido 124 y para mantener la lámina 118 en contacto sellado con el sitio de unión alrededor del tejido 124 durante la aplicación de succión o presión reducida. La cubierta 118 también puede proporcionarse en forma de una cubierta rígida o semirrígida que coopera con un sellado adecuado para formar un sellado hermético a fluido o hermético a gas alrededor del tejido.

La herramienta 129 también incluye una sección de espuma de célula abierta porosa 111 que se coloca bajo la cubierta 118 y en contacto directo o indirecto con un medio de cultivo de tejido 110. La sección de espuma de célula abierta 111 debería ser suficientemente porosa para permitir la conexión con el sistema de vacío 130 para transmitir una presión subatmosférica al tejido 124 y al medio de cultivo de tejido 110. El medio de cultivo de tejido 110 se

coloca bajo una extensión suficiente del tejido 124 para promover un crecimiento suficiente de nuevas células de tejido dentro del medio de cultivo de tejido 110. El medio de cultivo de tejido 110 y/o la sección de espuma 111 también pueden estar perforados o acanalados para aumentar el flujo de gas y reducir el peso de la herramienta. En una aplicación comparativa, la configuración representada en la Fig. 2 es particularmente adecuada para su uso con medios de cultivo no porosos o con un medio de cultivo relativamente fino, tal como un material sustituto de piel. Un material sustituto de piel puede comprender una estructura multicapa que tenga, por ejemplo, una capa de colágeno para el contacto con el tejido a cultivar y una capa de silicona dispuesta por encima de la capa de colágeno para el contacto con la sección de espuma 111. Un material sustituto de piel adecuado es el molde de regeneración dérmica INTEGRA®, un producto de Integra LifeSciences Corp. de Plainsboro, NJ. La capa de silicona proporciona un refuerzo separable para servir de soporte a la capa de colágeno durante el crecimiento hacia dentro de tejido. Después de que el crecimiento haya continuado hasta una fase deseada, la capa de silicona puede retirarse de la capa de colágeno, dejando la neodermis en su lugar, sobre la que puede colocarse un injerto de piel de un espesor fino dividido.

Para otra aplicación comparativa, el medio de cultivo 110 puede formarse con el fin de cultivar un órgano, tal como el páncreas o el hígado. El medio de cultivo 110 puede adoptar la forma de un almacén/matriz de una molécula de origen natural (por ejemplo, colágeno) o de materiales reabsorbibles (por ejemplo, ácido poliglicólico o ácido poliláctico o una combinación de los mismos). El medio de cultivo 110 puede formarse a partir de filtros disponibles en el mercado que se estratifican en el espesor deseado.

La herramienta 129 también incluye un orificio de succión en forma de un tubo de succión hueco 112, similar al tubo 12 de la Fig. 1, que conecta con el sistema de vacío 130 para proporcionar succión dentro del recinto sellado. El tubo de succión 112 proporciona al menos un orificio de succión para la herramienta 129. A diferencia del dispositivo de la Fig. 1, un segmento terminal 112a del tubo 112 está embebido dentro de la sección de espuma 111, más que en el material de cultivo de tejido, para proporcionar succión o presión reducida dentro del recinto proporcionado bajo la cubierta de tejido 118. La estructura de célula abierta de la sección de espuma 111 permite que la sección de espuma 111 distribuya la presión reducida dentro del recinto. El embebimiento del extremo abierto del segmento 112a del tubo 112 dentro del interior de la sección de espuma 111 permite que la sección de espuma 111 funcione como una protección para contribuir a evitar que la cubierta de tejido 118 sea succionada sin querer hacia el extremo abierto del tubo, taponando de este modo el tubo 112 y restringiendo el flujo de gas. La estructura de célula abierta de la sección de espuma 111 también permite que la sección de espuma 111 distribuya la presión dentro del recinto sellado.

El segmento de tubo 112a embebido dentro de la sección de espuma 111 tiene preferentemente al menos un orificio lateral 114 para su colocación dentro del interior de la sección de espuma 111 para promover una aplicación sustancialmente uniforme de presión reducida por todo el recinto. La colocación del orificio lateral 114 del segmento de tubo 112a dentro del interior de la sección de espuma 111 permite que la sección de espuma 111 funcione como una protección para el orificio lateral para evitar de este modo que la cubierta de tejido 118 sea succionada hacia el orificio lateral 114 y restringiendo de este modo el flujo de gas. Las células abiertas de la sección de espuma 111 facilitan el flujo de gas por todo el recinto. Además, la sección de espuma 111 funciona manteniendo la cubierta de tejido 118 generalmente fuera de contacto con el tejido 124 durante la aplicación de succión dentro del recinto.

De forma similar a la herramienta 29 de la Fig. 1, la lámina de recubrimiento de tejido adhesiva flexible impermeable a fluido 118 de la herramienta 129 se fija, durante el uso, en su posición en el sitio de tejido, cubriendo la sección de espuma 111 y el medio de cultivo de tejido 110 que contacta con el tejido 124. La lámina de recubrimiento de tejido 118 se fija y se sella en el sitio de unión 122 mediante una capa adhesiva 120 en la superficie inferior de la cubierta de tejido 118 para formar un sellado hermético a gas 119 alrededor del tejido 124. La cubierta de tejido 118 también proporciona un sellado hermético a gas alrededor del tubo 112 en la localización de la conexión interfacial 122a en la que el tubo 112 surge desde debajo de la cubierta de tejido 118.

Las herramientas de presión reducida son útiles para cultivar una diversidad de tejidos. El cultivo dirigido de un tejido puede llevarse a cabo fijando una herramienta de presión reducida en el sitio de tratamiento como se ha mostrado y descrito previamente, y manteniendo después una presión reducida sustancialmente continua o cíclica dentro de la herramienta hasta que el tejido recién crecido haya alcanzado un grado deseado de desarrollo. Esto puede realizarse usando una presión subatmosférica que varía de aproximadamente 51 a aproximadamente 99 kPa (de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,98 atmósferas), y más específicamente de aproximadamente 74 kPa a aproximadamente 96 kPa (de aproximadamente 0,73 atmósferas a aproximadamente 0,95 atmósferas), y más preferentemente usando una presión subatmosférica que varía de entre aproximadamente 81 kPa y aproximadamente 91 kPa (de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 0,9 atmósferas). El periodo de tiempo para su uso en un tejido puede ser preferentemente de al menos 48 horas, pero puede ampliarse, por ejemplo, durante múltiples días. Se ha obtenido el cultivo satisfactorio de diversos tipos de tejidos mediante el uso de presiones reducidas equivalentes a de aproximadamente 3,3 a 27 kPa (1 a 8 pulgadas Hg) por debajo de la presión atmosférica.

El suministro de presión reducida a la herramienta de una forma cíclica o intermitente puede ser deseable para cultivar tejidos. El suministro cíclico o intermitente de presión reducida a una herramienta puede conseguirse por

control automático o manual del sistema de vacío. Una relación de ciclo, la relación del tiempo "encendido" respecto al tiempo "apagado", en un tratamiento de presión reducida intermitente de este tipo puede ser tan baja como de 1:10 o tan alta como de 10:1. La relación preferida es de aproximadamente 5 minutos encendido, que habitualmente se efectúa alternando intervalos de 5 minutos de suministro de presión reducida y 2 minutos sin suministro.

Un sistema de vacío adecuado incluye cualquier bomba de succión capaz de proporcionar al menos 0,67 kPa (5 mm de Hg) de succión al tejido, y preferentemente hasta 17 kPa (125 mm de Hg) de succión, y más preferentemente hasta aproximadamente 27 kPa (200 mm de Hg) de succión o incluso mayor, según sea necesario para alcanzar presiones subatmosféricas de aproximadamente 51 kPa (0,5 atmósferas). La bomba puede ser cualquier bomba de succión ordinaria adecuada para fines médicos que sea capaz de proporcionar la succión necesaria. La dimensión del tubo que interconecta la bomba y la herramienta de presión reducida está controlada por la capacidad de la bomba para proporcionar el nivel de succión necesario para el funcionamiento. Por ejemplo, puede ser adecuado un tubo de diámetro de 6,4 mm (1/4 pulgadas).

Las características adicionales del aparato se harán evidentes en el ejemplo siguiente.

### **Ejemplo comparativo 1**

Este ejemplo se diseñó para demostrar la eficacia de la invención para acelerar la velocidad de crecimiento vascular hacia el interior de un material sustituto de piel.

Se sedaron varios cerdos de 25 kg y se prepararon para la cirugía. Se crearon una serie de defectos de 2 cm por 5 cm de espesor completo (hacia abajo hacia los músculos profundos del lomo) a cada lado del lomo del animal. Se aplicó un aparato de cultivo de tejido dirigido del tipo mostrado en la Fig. 2 que comprendía un molde de regeneración dérmica INTEGRA® en el sitio de la herida en un lado de cada animal. Se aplicó un molde de regeneración dérmica INTEGRA® en el sitio de la herida en el otro lado de cada animal. El molde de regeneración dérmica INTEGRA® se aplicó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se aplicó vacío (125 mm Hg, continuo) al aparato de cultivo de tejido dirigido colocado en los sitios de heridas seleccionados en un lado de los cerdos. Después de 72 horas, se retiró el aparato y los trozos de molde de regeneración dérmica INTEGRA® se desprendieron de los sitios de heridas tratados con vacío y no tratados con vacío a 10 cm/s. Se registró la fuerza necesaria para arrancar los trozos. Se usó una prueba T para datos relacionados para determinar la significación estadística de los datos de fuerza de tracción.

El molde de regeneración dérmica INTEGRA® en el sitio de herida no tratado con vacío requería una fuerza de 1,25 +/- 0,51 Newton para separar el molde del sitio de la herida. El molde de regeneración dérmica INTEGRA® en el sitio de herida tratado con vacío requería una fuerza mayor de 2,25 +/- 0,51 Newton para separar el molde tratado con vacío del sitio de la herida. La fuerza de tracción aumentada necesaria en el sitio de herida tratado con vacío indicaba un aumento del crecimiento de vasos sanguíneos hacia el interior del material sustituto de piel debido al tratamiento con vacío. El crecimiento vascular aumentado se confirmó por micrográficas de los trozos tratados con vacío y no tratados con vacío de molde de regeneración dérmica INTEGRA® retirados de los animales.

Los términos y expresiones que se han empleado se usan como términos descriptivos y no limitantes y no existe ninguna intención en el uso de dicho términos y expresiones de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas, o partes de las mismas, sino que se reconoce que son posibles diversas modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada.



## REIVINDICACIONES

1. Un aparato (25; 125) para cultivar un tejido, que comprende:
  - 5 medios de vacío (12, 30; 112, 130) para crear una presión subatmosférica en un tejido que se va a cultivar (24; 124); medios de sellado (29; 129) asociados operativamente con los medios de vacío para mantener la presión subatmosférica en el tejido por contacto con la región que rodea al tejido; y un material sustituto de hueso poroso (10; 110) para su colocación en el tejido dentro de los medios de sellado y adaptado para promover el crecimiento de tejido en el mismo.
  - 10 2. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material sustituto de hueso comprende un material bioabsorbible.
  3. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el material sustituto de hueso comprende al menos uno de sulfato de calcio, fosfato de calcio, un biovidrio o un cerámico.
  - 15 4. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material sustituto de hueso comprende un material de armazón bioabsorbible.
  - 20 5. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material sustituto de hueso comprende un tamaño de poro suficientemente grande para permitir el crecimiento de tejido en el mismo.
  6. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una sección de espuma de célula abierta (111) en comunicación con el material sustituto de hueso (110).
  - 25 7. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el medio de vacío incluye un segmento de tubo (112a) embebido dentro de la sección de espuma.
  8. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de vacío incluye un segmento de tubo (12a) embebido dentro del material sustituto de hueso.
  - 30 9. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un tubo flexible (12) que tiene un extremo de entrada insertado en el material sustituto de hueso y un extremo de salida para extenderse desde debajo del sellado para suministrar la presión subatmosférica.
  - 35 10. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de sellado comprende una cubierta (18; 118) adaptada para recubrir y delimitar un tejido que se va a cultivar y adaptada para mantener la presión reducida en el sitio del tejido.
  - 40 11. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la cubierta incluye un material adhesivo (20; 120) en la cubierta adaptado para fijar la cubierta al tejido que se va a cultivar.
  12. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, que comprende un elemento tubular (12) que tiene un primer extremo insertado dentro de una porción del material sustituto de hueso y que tiene un segundo extremo que se extiende desde debajo de la cubierta hasta una localización externa a la cubierta para suministrar una presión subatmosférica por debajo de la cubierta.
  - 45 13. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de sellado comprende una cubierta impermeable a fluido (18; 118).
  - 50 14. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de sellado incluye una lámina de polímero flexible (18; 118) que cubre el material sustituto de hueso, teniendo la lámina de polímero un adhesivo (20; 120) en al menos una superficie de cara al tejido para unir y sellar la lámina de polímero en la región que rodea al tejido.
  - 55 15. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de sellado incluye un borde de sellado en contacto sellado con la región que rodea al tejido.
  16. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de vacío suministra una presión subatmosférica de entre 0,5 y 0,98 atmósferas al tejido.
  - 60 17. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que el medio de vacío suministra una presión subatmosférica de entre 0,73 y 0,95 atmósferas al tejido.
  - 65 18. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que el medio de vacío suministra una presión subatmosférica de entre 0,8 y 0,9 atmósferas al tejido.

19. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el medio de vacío funciona de forma continua.
- 5 20. Un aparato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que el medio de vacío funciona de forma cíclica para proporcionar periodos de aplicación y de no aplicación de succión.
- 10 21. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 22, en el que el medio de vacío proporciona periodos de aplicación y de no aplicación de succión, con la relación de duración del periodo de aplicación respecto al periodo de no aplicación de entre 1:10 y 10:1.
22. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 21, en el que la duración del periodo de aplicación es de 5 minutos.
- 15 23. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 21, en el que la duración del periodo de no aplicación es de 2 minutos.

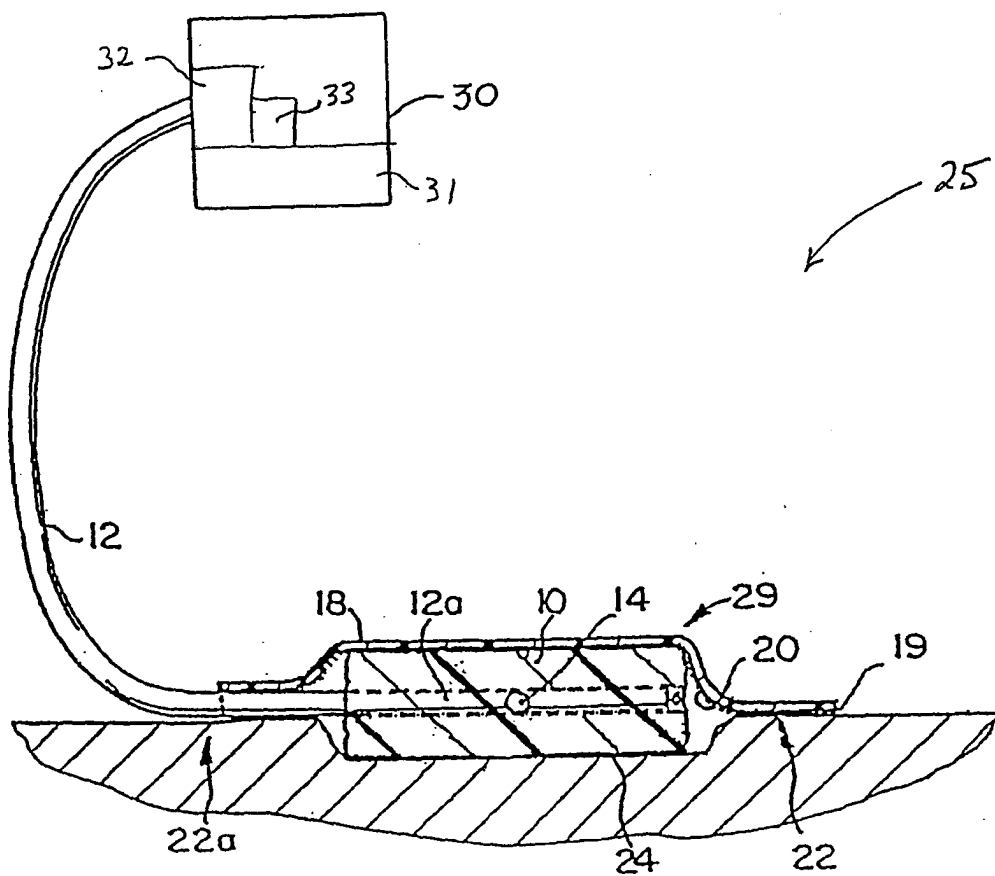


FIG. 1

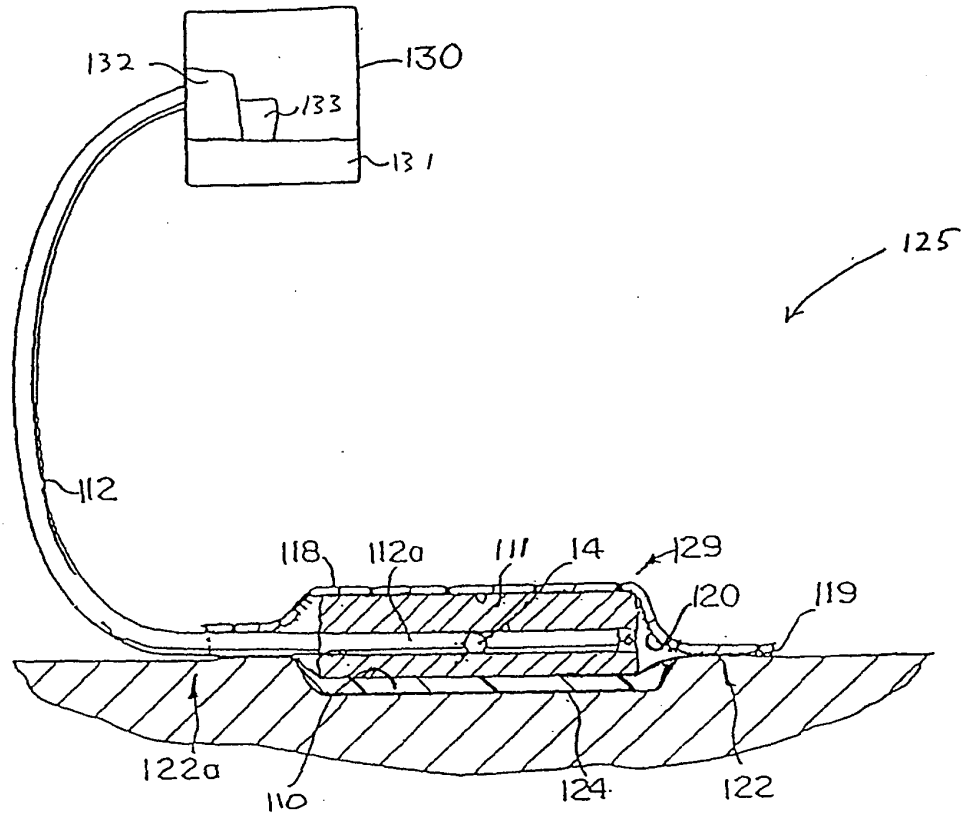


FIG. 2