

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 353**

51 Int. Cl.:

D04H 1/56 (2006.01)

D01D 5/098 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2010 E 10701125 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2013 EP 2376692**

54 Título: **Banda de nanofibras biomiméticas y método y dispositivo para fabricar la misma**

30 Prioridad:

13.01.2009 EP 09305033

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.11.2013

73 Titular/es:

**INSERM - INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET
DE LA RECHERCHE MÉDICALE (50.0%)
101, rue de Tolbiac
75013 Paris, FR y
UNIVERSITE DE NANTES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SOHIER, JÉROME y
LAYROLLE, PIERRE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 430 353 T3

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

DESCRIPCIÓN

Banda de nanofibras biomiméticas y método y dispositivo para fabricar la misma

Campo de la invención

La invención se refiere al campo de una banda de nanofibras biomiméticas y al método y dispositivo para fabricarla.

5 Antecedentes de la invención

10 La matriz extracelular (ECM) es un entorno complejo y dinámico segregado por las células para proporcionar la estructura de un tejido. Aparte de los proteoglucanos, el principal componente de la ECM es colágeno fibrilar que sirve como marco mecánico, punto de anclaje de las células y proporciona señales reguladoras. En un organismo, se construyen tejidos con una estrategia de abajo arriba, donde las células sintetizan en primer lugar una matriz extracelular óptima que a su vez soporta la proliferación celular y la organización del tejido definido resultante.

Por lo tanto, será particularmente útil proporcionar a las células una matriz fibrilar artificial definida, de modo que ellas se organicen en consecuencia en un nuevo tejido, por ejemplo para la reconstrucción ósea o el reemplazamiento de arterias.

15 El uso de colágeno natural se ve obstaculizado por la baja disponibilidad de fuentes alogénicas y la posibilidad de transferir patógenos de fuentes xenogénicas. De forma óptima, el soporte mimético sintético debería proporcionar a las células una estructura similar a las redes de colágeno natural en su organización y propiedades.

20 Las estrategias actuales para fabricar fibras con tamaño comparable a las fibras de colágeno incluyen principalmente autoensamblaje, separación de fases y electrohilado. Notablemente, aunque las dos primeras técnicas pueden dar forma a nanofibras poliméricas, tienen un control limitado sobre el diámetro, orientaciones y continuidad de las fibras.

El electrohilado es el método más empleado ya que proporciona una formación continua de fibras en el intervalo de micrómetros a cientos de nanómetros que se revelaron prometedoras para diferentes aplicaciones de ingeniería de tejidos.

25 En resumen, el electrohilado consiste en aplicar alta tensión entre una solución polimérica viscosa y un colector. La solución polimérica se somete a extrusión a una velocidad de alimentación definida a través de una boquilla y se carga eléctricamente. Una vez que esta carga excede la fuerza viscoelástica y la tensión superficial del polímero, se expulsa un chorro de polímero desde la boquilla hacia el colector cargado con carga opuesta. En el tránsito, se evapora el disolvente y por tanto se recogen fibras sólidas. Variando los diferentes parámetros de preparación (concentración de polímero, caudal o tensión eléctrica) este método permite crear estructuras nanofibrosas de diámetros y orientación de fibra definidos que eran prometedoras para diferentes aplicaciones de ingeniería de tejidos. Murugan R. et al. "Design strategies of tissue engineering scaffolds with controlled fiber orientation", Tissue Eng., 2007.13 (8), pp. 1845-66 y el documento US 6 924 028 exponen meticulosamente el electrohilado. Sin embargo este método requiere una tensión eléctrica muy alta en el intervalo de decenas de kilovoltios para producir fibras. Aunque la corriente del campo eléctrico es usualmente baja, un voltaje tan alto puede ser peligroso para el manipulador. Además, el escalado de este procedimiento para aplicaciones industriales pondría de manifiesto que es problemático.

40 Otros métodos tales como, por ejemplo, los descritos en los documentos WO2006/113791, US 6.315.806, WO2007/121458 y US 6.382.526 utilizan material polimérico moldeado proyectado sobre una superficie o preparado por una abrupta reducción de la presión ("hilado rápido") como se describe en los documentos US 1.211.737, US 4.081.226, US 5.032.326. Sin embargo, el uso de polímero moldeado significa que se necesita una temperatura alta. Con esta restricción, el método se limita a la banda de nanofibras que comprende solamente un tipo de componente de nanofibras.

Compendio de la invención

45 Sería ventajoso conseguir un método que sea fácil de realizar, sin ninguna constricción indebida en términos de seguridad o parámetros con el fin de producir una banda de nanofibras de bajo coste y alta calidad.

Para tratar mejor uno o más problemas, en un primer aspecto de la invención, un método para formar bandas de nanofibras que comprende las etapas de:

- mezclar material polimérico con un disolvente para obtener una mezcla que tiene una viscosidad superior a un valor de viscosidad de cizallamiento predeterminado a temperatura ambiente;
- 50 • cargar una boquilla de pulverización con dicha mezcla;

- proyectar dicha mezcla a través de dicha boquilla con un chorro de gas, en donde el material polimérico proyectado se solidifica y forma nanofibras;

- depositar dichas nanofibras sobre una superficie colectoras para formar dicha banda de nanofibras.

5 El uso de una mezcla de polímero/disolvente permite de forma ventajosa la fabricación de una banda de nanofibras a temperatura ambiente y sin un campo eléctrico potencialmente peligroso. Además, el método consigue un buen control de la geometría de las nanofibras.

En realizaciones particulares:

- el mencionado valor de viscosidad de cizallamiento predeterminado es igual a 0,068 Pa.s para una tasa de cizallamiento que aumenta de 0,05 a 9000 s⁻¹ en 60 s;

10 • la viscosidad de cizallamiento de dicha mezcla es superior a 0,1 Pa.s. para una tasa de cizallamiento que aumenta de 0,05 a 9000 s⁻¹ en 60 s;

- la mezcla comprende moléculas biológicas activas;

15 • la boquilla de pulverización comprende un canal para dirigir dicha mezcla hacia el exterior, estando dicho canal parcialmente obstruido por una aguja interior paralela al flujo de la mezcla, difractando dicha aguja el flujo de la mezcla saliente.

- la boquilla de pulverización es de tipo mezcla interna o externa;

- el chorro de gas aspira la mezcla al exterior de la boquilla de pulverización;

- la mezcla está a temperatura ambiente;

- el material polimérico comprende cualquier polímero soluble en disolvente, particularmente un poliéster.

20 En un segundo aspecto de la invención, un dispositivo para formar una banda de nanofibras que comprende:

- un recipiente de una mezcla de un material polimérico y un disolvente a temperatura ambiente, teniendo dicha mezcla una viscosidad de cizallamiento superior a un valor de viscosidad predeterminado, estando conectado el recipiente a

- una boquilla de pulverización alimentada con dicha mezcla;

25 • una entrada de chorro de gas, conectada a la boquilla de pulverización de modo que el chorro de gas proyecta dicha mezcla a través de dicha boquilla y el material polimérico proyectado se solidifica y forma nanofibras;

- una superficie colectoras sobre la que se depositan dichas nanofibras para formar dicha banda de nanofibras.

En una realización particular, la superficie colectoras está formada por la superficie de un líquido en el que las nanofibras no son solubles.

30 En un tercer aspecto de la invención, la banda de nanofibras biomiméticas se produce por el método precedente y el tamaño de malla medio de las nanofibras poliméricas entrelazadas es superior a 10 μm y el diámetro medio de las nanofibras es inferior a 800 nm.

35 En realizaciones particulares, la banda de nanofibras biomiméticas comprende además moléculas biológicas activas entrelazadas entre las nanofibras poliméricas, y las moléculas biológicas activas pueden estar hechas de fosfato de calcio.

Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes y aclarados con referencia a la realización descrita de aquí en adelante, donde:

- la Figura 1 es una vista esquemática de un dispositivo para preparar una banda de nanofibras según una realización de la invención;

40 - la Figura 2 es una vista esquemática de un método según una realización de la invención;

- la Figura 3 es un diagrama de distribución del diámetro de nanofibras cuando se usa el dispositivo de la Figura 1 con dos conjuntos diferentes de parámetros;

- la Figura 4 es un diagrama de la señal fluorescente en función del tiempo para un plástico tratado en cultivo celular de la técnica anterior y una banda de nanofibras producida por el dispositivo de la Figura 1; y

- la Figura 5 es una vista esquemática de un dispositivo según una segunda realización de la invención.

5 Con respecto a la Figura 1, un recipiente 1 contiene una mezcla 3 de material polimérico y disolvente. La proporción de material polimérico y disolvente es tal que la mezcla 3 tiene una viscosidad superior a un valor de viscosidad predeterminado.

Un tubo 5 conecta el recipiente 1 a una boquilla 7 de manera que la mezcla 3 alimenta la boquilla 7.

10 La boquilla 7 comprende un tubo 9 cónico exterior que tiene un orificio de salida 11. Una aguja 13 cónica central se puede mover longitudinalmente a lo largo de su eje. Un canal 15 está definido entre el tubo 9 exterior y la aguja 13. La mezcla 3 se transfiere hacia el orificio de salida 11 a través del canal 15. El aspecto cónico del tubo 9 exterior y de la aguja 13 es de tal modo que la aguja 13, al moverse longitudinalmente, se ajusta al tamaño del orificio de salida 11.

El tamaño del orificio de salida puede estar definido por la distancia d entre la punta de la aguja y el extremo del tubo exterior, donde d es positivo, por convención, cuando la cima de la aguja está en el interior del tubo 9 exterior.

15 Un tubo 17 conduce un chorro de gas hacia el exterior del orificio de salida 11.

Una superficie colectora 19 está dispuesta a una distancia D del orificio de salida 11.

Como se ilustra, el tubo 17 y la boquilla 7 forman un ángulo agudo de tal modo que el chorro de gas crea una depresión en el orificio de salida 11.

El chorro de gas es típicamente aire comprimido a una presión de 3 a 6 bares.

20 Al crear la depresión, el chorro de gas dirige la mezcla polimérica desde el recipiente 1 a la boquilla 3 donde es difractada por la aguja 13 y proyectada a la superficie colectora 19.

Después de la proyección, el disolvente del polímero se evapora rápidamente y el polímero se recoge como fibras sin entrelazar sobre la superficie colectora 19.

25 En el tránsito, la cohesión de la fase de polímero y la evaporación de disolvente permite la formación de fibras lisas, sin entrelazar que se recogen como capas homogéneas de formas diversas y complejas. Las fibras, de superficie lisa y que varían desde cientos de nm hasta unos μm , se interconectan mediante entrelazamientos físicos y adhesión por contacto y forman una red o banda abierta.

La superficie colectora 19 o es una rejilla metálica estática para crear capas nanofibras o es un huso rotatorio para formar una estructura tubular sin entrelazar.

30 Además, la capacidad para mover el dispositivo de pulverización en cualquier dirección y en cualquier ángulo permitió cubrir objetivos de formas complejas con redes nanofibras.

La superficie colectora 19 puede ser también un líquido en el que el polímero no es soluble tal como agua, etanol, etc. Las fibras nanométricas se depositan por tanto sobre la superficie del líquido y se hunden. Las estructuras resultantes son mallas abiertas o espumas hechas de fibras de polímero nanométricas.

35 Una película polimérica densa se puede depositar sobre la superficie colectora por recubrimiento por inmersión antes o después de aplicar las nanofibras. La membrana resultante está por tanto compuesta de una película densa en sándwich por una malla abierta de nanofibras.

Por tanto, el método de formar una banda de nanofibras comprende, Figura 2, las etapas de

40 • Mezclar, etapa 21, el material polimérico con un disolvente para obtener una mezcla que tiene una viscosidad superior a un valor de viscosidad predeterminado;

• Cargar, etapa, 23, una boquilla de pulverización con la mezcla;

• Proyectar, etapa 25, la mezcla a través de la boquilla con un chorro de gas de tal modo que el material polimérico proyectado se solidifica y forma nanofibras;

• Depositar, etapa 27, las nanofibras sobre una superficie colectora para formar la banda de nanofibras.

45 Como ejemplo, se describe a continuación un experimento detallado.

- Se seleccionó poli(ϵ -copolactona) (PCL, 80000 g/mol) por su biocompatibilidad y propiedades mecánicas, lenta velocidad de degradación y capacidad de sostener una amplia variedad de tipos de células. Se crea la mezcla de polímero añadiendo, como disolvente, cloroformo partiendo de una concentración de 0,06 g de polímero por ml de disolvente, dando una viscosidad de cizallamiento de alrededor de 0,068 Pa.s. La viscosidad se mide a temperatura ambiente (25 °C) mediante un viscosímetro plano-cono utilizando una tasa de cizallamiento dinámico que aumenta de 0,05 a 9000 1/s en 60 segundos.
- Después de la pulverización, la tensión del polímero combinada con la evaporación de disolvente dio como resultado fibras sólidas y lisas que varían desde cientos de nanómetros hasta unos micrómetros. Estas fibras fueron interconectadas en una red abierta mediante entrelazamientos físicos y adhesión por contacto.
- Se obtienen resultados similares con respecto a la formación de nanofibras con diferentes polímeros tales como ácido poli láctico-co-glicólico y ácido poliláctico. El diámetro de las fibras, Figura 3, siguió una distribución logarítmica normal caracterizada por una forma simétrica y colas en el extremo de mayor diámetro. La anchura de la distribución y el diámetro medio no están correlacionados.
- En la Figura 3, el diagrama A ilustra la distribución del diámetro de las fibras obtenidas con una concentración de polímero de 1 g/15 ml, una boquilla abierta ($d = 1$ mm), una presión de aire de $6 \cdot 10^5$ N/m² (bares) y una distancia D de 25 cm. El diagrama B ilustra la distribución del diámetro de las fibras obtenidas con una concentración de polímero de 1 g/10 ml, una boquilla casi cerrada ($d = -1$ mm), una presión de aire de $3 \cdot 10^5$ N/m² (bares) y una distancia D de 35 cm.
- Para investigar el efecto de los parámetros del proceso sobre la distribución de fibras, se realizó un diseño factorial completo de 2 niveles (24 experimentos aleatorios con 4 puntos centrales al azar). Se consideraron como variables en el diseño factorial cuatro parámetros fácilmente ajustables: concentración de polímero (0,06 -0,1 g/ml), abertura de la boquilla (distancia de la punta de la aguja-boquilla -1 - 1 mm), presión de aire (3 - 6 bares) y distancia de pulverización (25 - 35 cm). Se midieron varios centenares de diámetros para cada muestra y se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza. El diámetro medio de las fibras (ajustado entre 300 y 600 nm) se controla por la concentración de polímero ($p=0,0004$) y la abertura de la boquilla ($p=0,01$). En general, el aumento de las concentraciones de polímero lleva a fibras más grandes mientras que el aumento de la abertura de la boquilla produce fibras más pequeñas. La homogeneidad de la población, dada por el espacio de distribución (intercetil 1 - 99 %), se puede adaptar desde 600 nm (100-700 nm) hasta 1900 nm (100-2000 nm) principalmente aumentando la distancia de pulverización ($p=0,04$). El efecto de la distancia se puede relacionar con el batido de las fibras de polímero dentro del flujo de aire que produce una fuerza de extensión y alarga las fibras. Las distancias más largas de pulverización proporcionan más tiempo para mayores alargamientos y por lo tanto distribuciones más homogéneas. Inversamente, el efecto de la concentración de polímero sobre el diámetro de las fibras se puede ligar fácilmente a la viscosidad de la solución. De hecho, las soluciones viscosas oponen más resistencia a las fuerzas de elongación. En términos generales, dentro de los límites fijados en el diseño factorial, la pulverización de polímero permitió construir nanofibras de diámetros medios controlados que varían de 300 a 600 nm. Vale la pena observar que aunque el electrohilado teóricamente puede producir nanofibras de diámetros comparables, raras veces se han publicado en las publicaciones científicas. Las fibras electrohiladas parece que están en su mayoría por encima de la escala de micrómetros. La técnica de pulverización descrita podría producir también fibras con un diámetro medio de 800 nm y 1,1 μ m aumentando la concentración de las soluciones de polímero respectivamente a 0,12 y 0,15 g/ml.
- Para investigar la respuesta celular a las fibras que imitan estrechamente al colágeno (aproximadamente 500 nm), las células estromales mesenquimales humanas (hMSC, 5.105) aisladas del aspirado medular de una mujer joven se extendieron en placas sobre la parte superior de capas nanofibrosas y se cultivaron estáticamente. Como una indicación de que las estructuras nanofibrosas han sido reconocidas, las células unidas, adquirieron un fenotipo fibroblástico en unas horas y se extendieron para cubrir la superficie. Las fibras entrelazadas dentro de los soportes no obstruyeron la invasión celular, que alcanzó 500 a 600 μ m después de 21 días de cultivo. La penetración celular es un parámetro esencial para obtener un tejido funcional. A diferencia de las estructuras electrohiladas que muy a menudo dan como resultado una monocapa de células sobre su superficie cuando se cultivan, las nanofibras extendidas estáticamente se infiltraron de modo eficiente.
- Se examinó la proliferación celular dentro de las estructuras y se comparó, Figura 3, con el plástico tratado en cultivo. La línea sencilla muestra la intensidad de la señal fluorescente de una banda de nanofibras y la línea de puntos muestra lo mismo para el plástico en función del tiempo. La red nanofibrilar sintética sostuvo la proliferación de hMSCs, lo que da a entender que las células penetraron en el interior de las estructuras nanofibrosas parcialmente por división celular. En adición a la proliferación y migración dentro de las estructuras producidas por pulverización, las hBMCs remodelaron su entorno local produciendo colágeno 1, como se prueba por tinción inmunohistoquímica. Las nanofibras producidas por pulverización proporcionaron por tanto un modelo apropiado para la formación de tejido como la banda de microfibras formada por estas nanofibras entrelazadas con un tamaño medio de malla superior a 10 μ m. Con este tamaño, las células mesenquimales humanas, tales como los

fibroblastos, que tienen un tamaño seccional comprendido entre 5 y 10 μm pueden migrar hacia el interior de la banda.

La capacidad de las matrices nanofibrilares para sostener la diferenciación osteogénica de las hMSCs se investigó en un medio osteogénico (beta-glicerofosfato 10 mM (milimoles / litro), ácido ascórbico-2-fosfato 0,2 mM y dexametasona 10⁻⁸ M). Las células expresaron actividad de fosfatasa alcalina después de 11 días y se observó una calcificación significativa de la matriz después de 21 días, demostrando diferenciación osteoblástica de las células estromales dentro de las matrices nanofibrilares. La tinción inmunohistoquímica reveló la producción de marcadores osteoblásticos (sialo-proteína ósea y osteopontina). Aún más interesante para la regeneración e ingeniería ósea, la matriz nanofibrilar sostuvo la formación de micro-cristales que se parecen a la apatita, tanto entre las nanofibras como sobre ellas. Los cristales estaban efectivamente compuestos de calcio y fósforo, como apatita ósea. Estos hallazgos sugieren que las células reconocieron las estructuras producidas por pulverización como un modelo de tres dimensiones adecuado para producir sus propias ECM colagenosas que ellas mineralizaron *in vitro*.

La Figura 5 ilustra otra realización del dispositivo de pulverización. Características similares están identificadas con los mismos números. La principal diferencia está en la construcción de la boquilla en la que el chorro de gas se introduce por una entrada de gas 31 en el canal 15 de la boquilla de forma que la mezcla polimérica y el gas se mezclan allí antes de ser expulsados a través del orificio de salida 11.

En términos generales, se puede usar cualquier tipo de boquilla de pulverización ya sea de tipo de mezcla externa, esto es, el gas y la mezcla se mezclan en el exterior de la boquilla, o ya sea de tipo de mezcla interna, esto es, el gas y la mezcla se mezclan en el interior de la boquilla (véase el artículo "Spray Nozzle" en Wikipedia). Basándose en las enseñanzas descritas en este documento, los expertos en la técnica son capaces de definir los parámetros para obtener la banda de nanofibras con las características deseadas.

Una característica particularmente útil del dispositivo y método descritos es que la viscosidad de la solución polimérica se obtiene mezclándola en un disolvente y no por calentamiento de la solución. Por lo tanto, es posible añadir algunas moléculas biológicas activas, disueltas en solución acuosa formando una microemulsión, con la mezcla de polímero y disolvente, siendo de otra forma, destruidas algunas de ellas por la temperatura de fusión. Por ejemplo, se pueden incorporar a las estructuras nanofibrilares factores de crecimiento tales como proteínas morfogenéticas óseas, factor de crecimiento de fibroblastos básico, factor de crecimiento de transformación, hormona de crecimiento o glucocorticoides como dexametasona. Con el fin de evitar infecciones post-quirúrgicas, puede ser deseable incorporar antibióticos en las fibras poliméricas nanométricas.

El método y los dispositivos descritos producen películas o membranas hechas de fibras nanométricas de cualquier polímero. El disolvente orgánico es preferiblemente cloroformo, diclorometano, y metanol. Generalmente se elige un polímero que sea biodegradable en el cuerpo humano y está compuesto de poli(α -hidroxi ésteres), poli(ϵ -caprolactona), poli(dioxanona), poli(orto ésteres), poli(amida ésteres), poli(anhidridos) o ésteres de polivinilo. Sin embargo, para algunas aplicaciones médicas, el polímero también puede ser no degradable o mezclas con diversos grados de biodegradación, como poli(tetrafluoroetileno), poli(etileno), poli(etilenglicol), óxido de polipropileno.

Las películas o membranas producidas por el método descrito aquí están compuestas de fibras de polímeros nanométricas. El espesor de la membrana polimérica puede variar entre 0,05 a 100 μm . Dependiendo de la porosidad y/o de la interconexión de las fibras nanométricas, la malla resultante puede permitir la infiltración en fluidos corporales, la colonización de las células y tejidos en crecimiento así como la vascularización. Las membranas sintéticas producidas por el método y dispositivo descritos se utilizan en la regeneración guiada de tejido. En cirugía dental, se pueden preparar membranas de un compuesto de polímero-fosfato de calcio utilizando dos dispositivos operados simultáneamente. Un dispositivo de pulverización se utiliza para depositar fibras nanométricas de polímero biodegradable en una película mientras que otro dispositivo pulveriza un polvo de fosfato de calcio sobre la banda de nanofibras. Los dos compuestos se pueden pulverizar simultáneamente en el mismo dispositivo utilizando una emulsión de disolvente orgánico y agua. La solución acuosa puede contener sales de calcio y fosfato que podrían precipitar sobre la malla de fibras nanométricas. Los compuestos de fosfato de calcio son bioactivos y osteoconductores guiando de este modo la regeneración ósea a la vez que la membrana polimérica previene la fibrosis y el tejido gingival en crecimiento en el hueso alveolar. Tales membranas de compuesto sintético se pueden usar también para aumento del hueso, elevación de la cresta, elevación sinusal, etc. antes de los implantes dentales. En estas aplicaciones, las membranas son suturables y moldeables. Estas membranas sintéticas son superiores a las membranas de colágeno o a otras membranas animales o humanas derivadas utilizadas actualmente ya que no transfieren enfermedades ni reacciones adversas inmunológicas, y se controlan fácilmente sus propiedades mecánicas y su degradabilidad en el cuerpo.

Las membranas sintéticas también son utilizables para cirugía gastrointestinal. Tales membranas pueden prevenir o tratar adherencias postquirúrgicas, pueden ser usadas para cerrar la membrana peritoneal o para tratar una hernia inguinal. Como se ha indicado previamente, la degradabilidad en el cuerpo humano y las propiedades mecánicas de dichas membranas pueden ser ajustadas por la naturaleza química del polímero elegido y por el espesor de las

membranas. Es posible también depositar dos, o más, polímeros simultáneamente con diferentes propiedades mecánicas y velocidades de biodegradación utilizando simultáneamente un dispositivo de pulverización por polímero a mezclar o preparando una mezcla que contiene los diferentes polímeros en la proporción deseada para pulverización.

- 5 Otra aplicación médica importante de las bandas de polímeros nanométricos biomiméticos es la cirugía cardiovascular. De hecho, los injertos vasculares artificiales con diámetro inferior a 5 mm no están disponibles porque la mayoría de los tubos de polímero están expuestos a coagulación de la sangre y trombosis. Es posible utilizando la presente invención producir tubos de polímero de pequeño diámetro que pueden ser colonizados por las células del músculo liso y las células endoteliales asegurando de este modo un vaso sanguíneo artificial apropiado y funcional. Estos dispositivos implantables se suturan y se pueden usar para reemplazar las arterias coronarias en parte o totalmente. Los tubos producidos por el presente método pueden encontrar también aplicaciones en el campo de la cirugía neural y medular como guías para los nervios. Se pueden usar también para tratar la incontinencia como sustitutos de la uretra y conductos anales. También se pueden producir dispositivos para la reconstrucción de la laringe y el esófago después de cirugía oncológica o tratamientos de radioterapia utilizando el método y dispositivo descritos.

- 15 Una de las ventajas particulares de los dispositivos compuestos de fibras de polímero nanométricas es que las células se pegan, proliferan y se diferencian sobre estas estructuras biomiméticas. Las células producen una abundante matriz extracelular mientras que otras células tales como los macrófagos degradan el polímero nanofibrilar. El dispositivo sintético sirve como un soporte para reparación y regeneración del tejido y es a la larga reemplazado por un tejido biológico funcional y normal.

- 20 Aunque la invención ha sido ilustrada y descrita en detalle en los dibujos y en la descripción anterior, dicha ilustración y descripción se deben considerar como ilustrativas o a modo de ejemplo pero no restrictivas; la invención no se limita a la realización descrita.

- 25 Los expertos en la técnica que practiquen la invención reivindicada, pueden entender y llevar a cabo otras variaciones a las realizaciones descritas, a partir de un estudio de los dibujos, la descripción y las reivindicaciones adjuntas. En las reivindicaciones, la expresión "que comprende" no excluye otros elementos y el artículo indefinido "un" o "una" no excluye una pluralidad.

REIVINDICACIONES

1. Método para formar una banda de nanofibras que comprende las etapas de:
- mezclar (21) material polimérico con un disolvente para obtener una mezcla líquida que tiene una viscosidad superior a un valor de viscosidad de cizallamiento predeterminado a temperatura ambiente;
- 5
- cargar (23) una boquilla de pulverización con dicha mezcla;
 - proyectar (25) dicha mezcla a través de dicha boquilla con un chorro de gas, en donde el material polimérico proyectado se solidifica y forma nanofibras;
 - depositar (27) dichas nanofibras sobre una superficie colectora para formar dicha banda de nanofibras.
- 10
2. Método según la reivindicación 1, en donde dicho valor de viscosidad de cizallamiento predeterminado es igual a 0,068 Pa.s para una tasa de cizallamiento que aumenta de 0,05 a 9000 s⁻¹ en 60 s.
3. Método según la reivindicación 2, en donde la viscosidad de cizallamiento de dicha mezcla es superior a 0,1 Pa.s para una tasa de cizallamiento que aumenta de 0,05 a 9000 s⁻¹ en 60 s.
4. Método según la reivindicación 1, en donde dicha mezcla comprende moléculas biológicas activas.
- 15
5. Método según la reivindicación 1, en donde dicha boquilla de pulverización comprende un canal para dirigir dicha mezcla hacia el exterior, estando dicho canal parcialmente obstruido por una aguja interior paralela al flujo de la mezcla, difractando dicha aguja el flujo de la mezcla saliente.
6. Método según la reivindicación 5, en donde la boquilla de pulverización es de tipo mezcla interna.
7. Método según la reivindicación 5, en donde la boquilla de pulverización es de tipo mezcla externa.
- 20
8. Método según la reivindicación 7, en donde el chorro de gas aspira la mezcla al exterior de la boquilla de pulverización.
9. Método según la reivindicación 1, en donde el material polimérico comprende cualquier polímero soluble en disolvente, particularmente un poliéster.
10. Dispositivo para formar una banda de nanofibras que comprende:
- 25
- un recipiente (1) de una mezcla de un material polimérico y un disolvente a temperatura ambiente, teniendo dicha mezcla una viscosidad de cizallamiento superior a un valor de viscosidad predeterminado, estando conectado el recipiente a:
 - una boquilla de pulverización (7) alimentada con dicha mezcla;
 - una entrada de chorro de gas (17), conectada a la boquilla de pulverización de modo que el chorro de gas proyecta dicha mezcla a través de dicha boquilla y el material polimérico proyectado se solidifica y forma nanofibras;
- 30
- una superficie colectora (19) sobre la que se depositan dichas nanofibras para formar dicha banda de nanofibras.
11. Dispositivo según la reivindicación 10, en donde la superficie colectora (19) está formada por la superficie de un líquido en el que las nanofibras no son solubles.
- 35
12. Banda de nanofibras biomiméticas producida por el método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el tamaño medio de malla de las nanofibras poliméricas entrelazadas es superior a 10 μm y el diámetro medio de dichas nanofibras es inferior a 800 nm.
13. Banda de nanofibras biomiméticas según la reivindicación 12, que comprende además moléculas biológicas activas entrelazadas entre las nanofibras poliméricas.
14. Banda de nanofibras biomiméticas según la reivindicación 13, en donde las moléculas biológicas activas están hechas de fosfato de calcio.

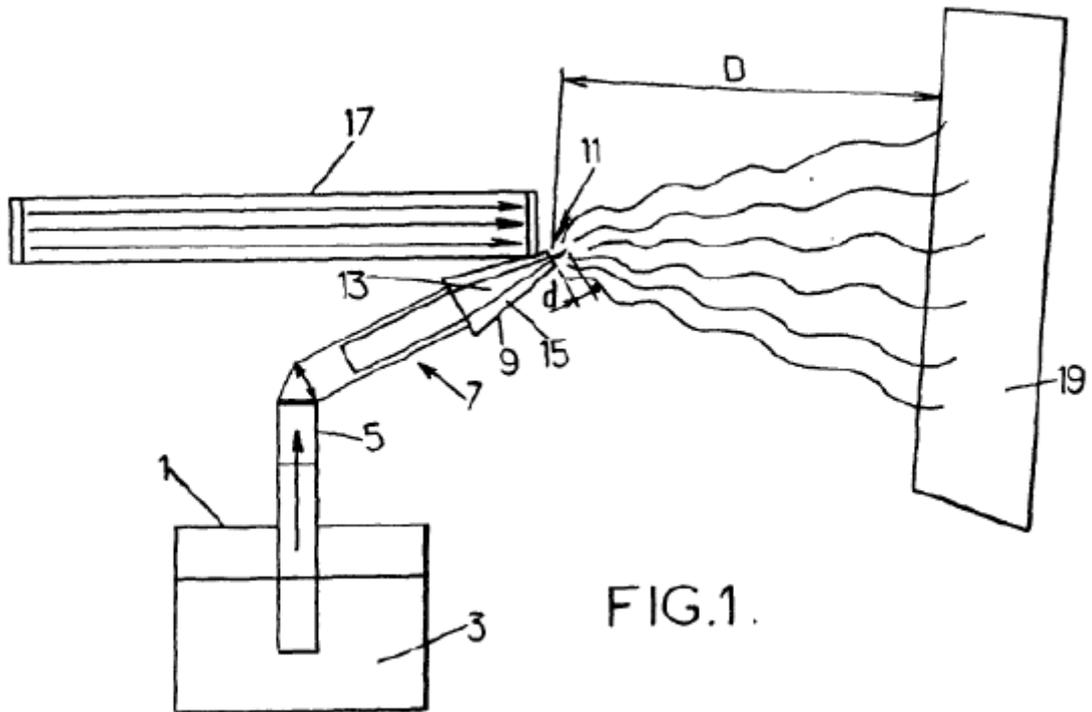


FIG.1.

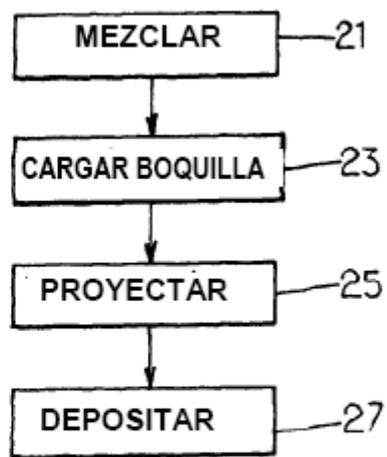


FIG.2.

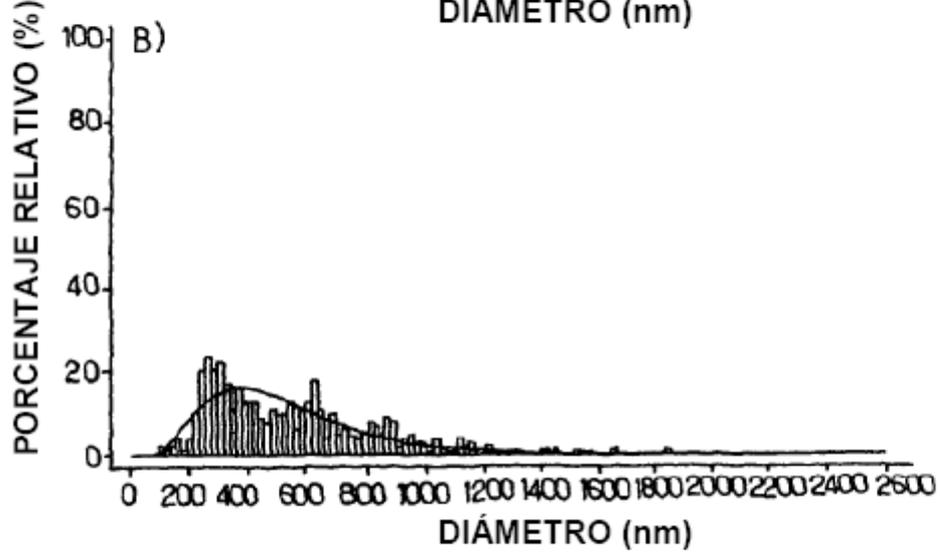
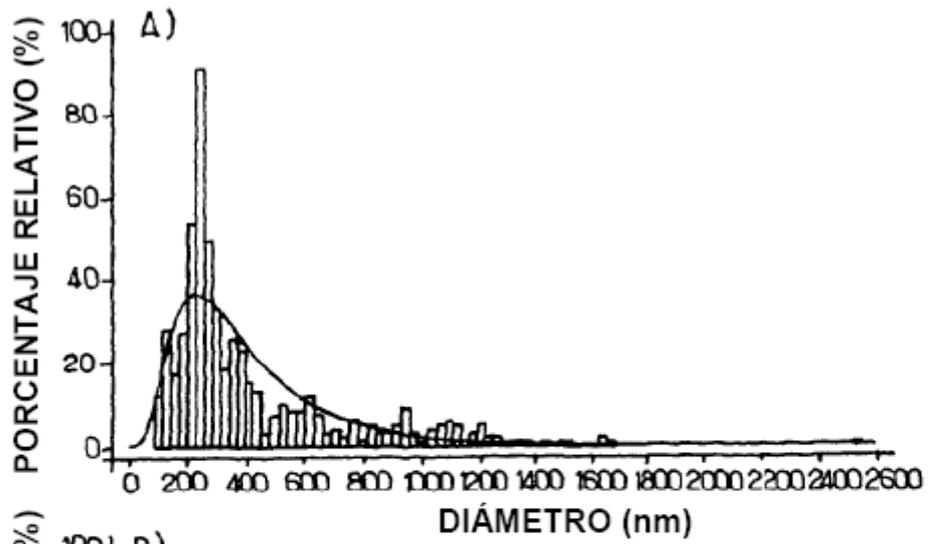
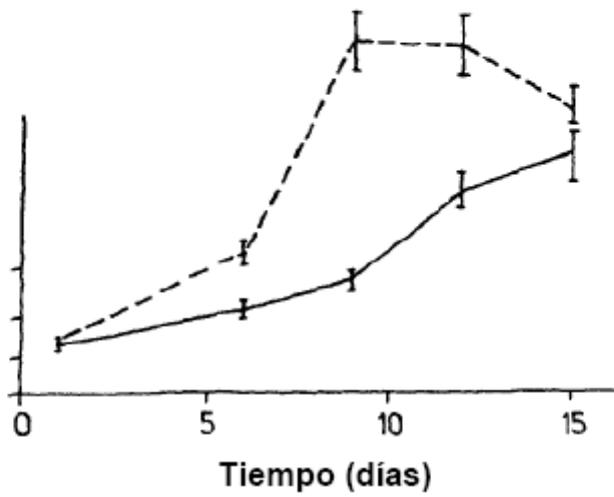


FIG.3.

FIG.4.



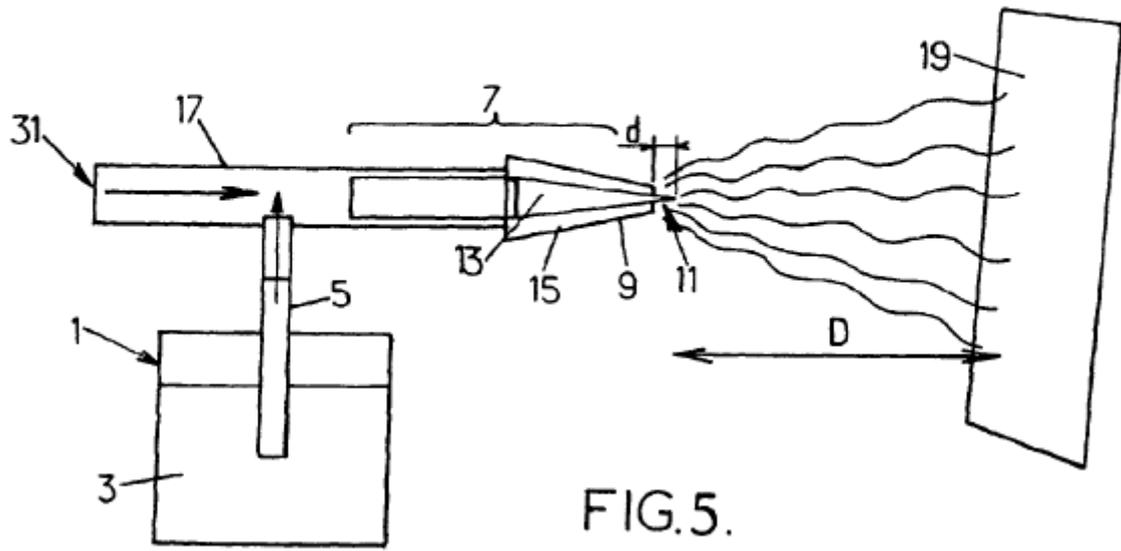


FIG.5.