

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 211**

51 Int. Cl.:

**C12N 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2012 E 12773050 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015 EP 2758521**

54 Título: **Dispositivo de guía para la migración celular y método de guía para la migración celular que usa tal dispositivo**

30 Prioridad:

**19.09.2011 FR 1158317**

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

**02.10.2015**

73 Titular/es:

**INSTITUT CURIE (33.3%)  
26, rue d'Ulm  
75005 Paris, FR;  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE (CNRS) (33.3%) y  
SOCIÉTÉ DE DEVELOPPEMENT ET DE  
RECHERCHE INDUSTRIELLE (33.3%)**

72 Inventor/es:

**LE BERRE, MAËL;  
PIEL, MATTHIEU y  
LIU, YANJUN**

74 Agente/Representante:

**VEIGA SERRANO, Mikel**

**ES 2 547 211 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

Dispositivo de guía para la migración celular y método de guía para la migración celular que usa tal dispositivo

5 **Sector de la técnica**

La invención se refiere a un dispositivo de guía para la migración celular y a un método de guía para la migración celular que usa al dispositivo.

10 En particular, la invención se refiere a un dispositivo de guía para la migración celular que comprende una superficie de soporte provista de células y un sustrato, presentando dicho sustrato una superficie texturizada colocada enfrente de la superficie de soporte y puesta en contacto con las células colocadas en la superficie de soporte.

15 **Estado de la técnica**

La migración celular es esencial para numerosos procesos fisiológicos tales como la organogénesis o la cicatrización de heridas. En su entorno natural, la dirección y la velocidad de la migración celular se guían por una serie de señales que pueden ser químicas (quimioquinas) o físicas (microentorno).

20 *In vitro*, estos fenómenos se pueden reproducir o desviar para imponer una dirección de migración a las células usando, por ejemplo, agentes quimioattractores, campos eléctricos, o incluso mediante la modulación del entorno mecánico de la célula.

25 El documento EP-A-1199354 describe, por ejemplo, la formación de un motivo de células en una superficie mediante un control químico de la migración celular. De hecho, en el documento EP-A-1199354, la superficie se trata con el fin de presente un motivo previo que consiste en compuestos que favorecen el desarrollo de las células y otros compuestos que no favorecen el desarrollo de las células. A continuación, el cultivo celular se inicia sobre este motivo previo. Sin embargo, la eficacia del control de la migración celular con un sistema de este tipo depende principalmente de la elección de los compuestos químicos que favorecen o impiden el desarrollo celular en función de la naturaleza de las células cultivadas.

30 El documento US 2007/0009572 describe, a este respecto, un método de preparación de una película biodegradable micro- o nanotexturizada que comprende canales cuya longitud puede variar de 10  $\mu\text{m}$  a 160  $\mu\text{m}$ , sobre la que se depositan células musculares. Los ensayos realizados muestran que las células musculares se alinean las unas con respecto a las otras a lo largo de los canales, y que su morfología se modifica para adquirir una forma alargada. Este método no tiene como objetivo hacer migrar las células en una dirección preferente sino simplemente favorecer su alineación las unas con respecto a las otras para obtener un apilamiento celular regular.

35 El documento US 2009/02481445 también describe un método para guiar la orientación de las células que siguen una estructura tridimensional usando una superficie que comprende un microcanal o una serie de microcanales paralelos los unos con respecto a los otros, cuya longitud es superior a la de las células con el fin de que las células puedan introducirse en los mismos y cuya sección es arbitraria. Al igual que para el documento precedente, este método no tiene como objetivo hacer migrar las células en una dirección preferente, sino simplemente favorecer su alineación las unas con respecto a las otras.

40 Mahmud *et al.* (Nature Physics 2009, 4, pp. 606) proponen motivos adhesivos en forme de trinquetes (« ratchet ») para guiar la migración celular. El efecto observado se basa en un contraste de adhesión entre las partes adhesivas de los canales y las partes no adhesivas de un sustrato de modo que, cuando la calidad del contraste entre las partes adhesivas y no adhesivas se degrada con el tiempo, la guía de la migración celular ya no se observa. Además, la adhesión sobre los canales, lineales o que presentan una forma de trinquetes (« ratchet »), no permite mantener a las células sobre estos motivos adhesivos, es decir, sobre una sola dimensión en el espacio, y no permite, por ejemplo, la organización de un tejido sobre una superficie de dos dimensiones. Por último, los motivos descritos en Mahmud *et al.* siempre son proyecciones perpendiculares al plano formado por la superficie que transporta las células.

45 Estos métodos que permiten desviar los fenómenos naturales de migración celular también se pueden encontrar en aplicaciones *in vivo*.

50 El documento US 2009/0093879 propone en particular un implante que presenta en su superficie motivos tridimensionales micro- o nanométricos. Estos motivos permiten en particular controlar la adhesión de microorganismos o de fibroblastos a la superficie del implante cuando él mismo se coloca en un ser vivo, mejorando de este modo la cicatrización de las heridas. Este documento US 2009/0093879 sugiere que las micro- o nanoestructuras superficiales pueden guiar las células hacia el origen de la cicatrización, lo que las permite organizarse de forma ordenada en la superficie del plan.

55 Sin embargo, un control de la migración celular de este tipo de acuerdo con una dirección dada también podría

presentar aplicaciones en el campo médico distintas de la organización forzada de las células alrededor de un implante, tales como la migración dirigida de las células a la superficie de una herida o la realización de órganos artificiales con ingeniería tisular.

- 5 Por lo tanto, existe una necesidad de nuevos dispositivos que permitan guiar las células en su migración de acuerdo con una dirección elegida, cuya eficacia no dependa del tipo de célula móvil considerada, que sean sencillos de realizar, poco invasivos para los tejidos y resistentes en el tiempo.

10 Por guiar la migración celular se entiende, en el sentido de la presente solicitud, que a las células se les impone migrar preferentemente en una dirección mejor que en todas las demás. En otros términos, la guía de la migración rompe la simetría de migración siguiendo la dirección considerada. La « guía » de la migración difiere de « la orientación » de la migración celular en que las células migran preferentemente en dos direcciones opuestas sin que una de estas direcciones no se vea favorecida con respecto a la otra.

### 15 **Objeto de la invención**

Con este fin, la invención propone un dispositivo de guía para la migración celular que comprende una superficie de soporte provista de células y un sustrato, presentando dicho sustrato una superficie texturizada colocada enfrente de la superficie de soporte y puesta en contacto con las células colocadas en la superficie de soporte de una forma tal que las células se confinen entre la superficie de soporte y la superficie texturizada, superficie texturizada que tiene una estructura tridimensional anisotrópica que presenta un motivo de repetición a lo largo de un eje de repetición, presentando dicho motivo de repetición una sucesión de espacios de guía adyacentes a lo largo del eje de repetición, estando cada uno de dichos espacios de guía adaptado para recibir al menos una parte de una de las células y orientado en una dirección de anisotropía para guiar un desplazamiento de las células en la dirección de la anisotropía.

Por lo tanto, el dispositivo de guía de acuerdo con la invención puede asegurar un control de la migración celular a través de una estructura específica en la que las células confinadas se reciben y se desplazan en una dirección (un sentido) privilegiado, independientemente del tipo de célula usada. Además, el dispositivo de guía es mínimamente invasivo, ya que se basa en la aplicación de una superficie texturizada sobre una superficie de apoyo. Por último, el dispositivo de guía se puede obtener de una manera sencilla, mediante una simple texturización que se puede realizar a gran escala mediante moldeado.

Además, a diferencia de los documentos de la técnica anterior que describen canales o microcanales que limitan su alineación con las células, la presente invención permite la guía de las células de acuerdo con una dirección de anisotropía formando de este modo una red en el plano compatible con la organización de un tejido de acuerdo con una superficie dada.

El dispositivo de guía de acuerdo con la invención, en particular, puede encontrar aplicaciones en los campos de la dermatología, implantología o ingeniería tisular.

Por « estructura anisotropa » o « estructura con geometría anisotropa », se entiende, en el sentido de la presente solicitud, una estructura cuya geometría posee una dirección de anisotropía determinada de acuerdo con un eje dado. La dirección de anisotropía de la estructura anisotropa es en particular, en el contexto de la presente edición, la dirección preferente de la migración celular.

La superficie texturizada puede comprender una superficie de la base y la estructura tridimensional anisotropa puede comprender una pluralidad de pares de superficies de guía, siendo dichos pares de superficie de guía adyacentes los unos con respecto a los otros de acuerdo con el eje de repetición y que definen el motivo de repetición, comprendiendo cada uno de los pares una primera y segunda superficies de guía que se extienden desde la superficie de la con respecto a la una a la otra y que delimitan entre ellas uno de los espacios de guía.

En particular, la estructura tridimensional anisotropa puede comprender una pluralidad de elementos de guía proyectados con respecto a la superficie de la base, siendo dichos elementos de guía adyacentes los unos con respecto a los otros de acuerdo con el eje de repetición importando cada uno una de las primeras superficies de guía y una de las segundas superficies de guía, siendo la primera superficie de guía de uno de los elementos de guía opuesta a la segunda superficie de guía del elemento de guía adyacente.

En un modo de realización, la primera y segunda superficies de guía de cada par se adaptan para que la dirección de anisotropía se extienda de acuerdo con el eje de repetición. En cada uno de los pares de superficie de guía, la primera superficie de guía se puede adaptar a continuación para bloquear el desplazamiento de las células en una dirección opuesta a la segunda superficie de guía y la segunda superficie de guía se puede adaptar para permitir el desplazamiento de las células en una dirección opuesta a la primera superficie de guía, de una manera tal que la dirección de anisotropía se oriente desde la primera superficie hacia la segunda superficie. Para conseguir esto, la primera superficie de guía puede ser perpendicular al eje de repetición y la segunda superficie de guía se puede desviar de la primera superficie de guía de acuerdo con el eje de repetición.

En particular, en una primera variante, la segunda superficie de guía puede ser perpendicular a la superficie de la base y puede presentar una concavidad girada hacia la primera superficie de guía. Por ejemplo, la estructura tridimensional anisótropa puede comprender una pluralidad de filas de proyecciones triangulares adyacentes de acuerdo con el eje de repetición, comprendiendo cada una de dichas filas al menos dos proyecciones alineadas de acuerdo con un eje transversal perpendicular al eje de repetición, comprendiendo cada uno de los espacios de guía una cavidad ligeramente triangular con una base formada sobre la primera superficie de guía de una de las filas de proyecciones triangulares y un vértice formado sobre la segunda superficie de guía de la fila de proyecciones triangulares adyacente.

En una segunda variante, la primera superficie de guía puede ser perpendicular al eje de repetición y la segunda superficie de guía puede estar inclinada con respecto a un plano perpendicular a la superficie de la base.

En otro modo de realización, la primera y segunda superficies de guía de cada par se adaptan para que la dirección de anisotropía se extienda de acuerdo con un eje transversal perpendicular al eje de repetición. En cada uno de los pares de superficie seguía, la primera y segunda superficies de guía entonces se pueden adaptar para bloquear el desplazamiento de las células en una u otra de las direcciones del eje de repetición. En particular, la estructura tridimensional anisótropa puede comprender una pluralidad de proyecciones alargadas adyacentes de acuerdo con el eje de repetición, extendiéndose cada una de dichas proyecciones alargadas de acuerdo con el eje transversal, comprendiendo cada uno de los espacios de guía una ranura entre la primera superficie de guía de una de las proyecciones alargadas y la segunda superficie de guía de la proyección alargada adyacente.

Además, el espacio de guía puede presentar una dimensión máxima, medida entre la primera y segunda superficies de guía, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ , en particular que corresponde ligeramente a un tamaño de las células, por ejemplo comprendido entre 5  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 15  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$ . El espacio de guía también puede presentar una profundidad inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ , en particular inferior a un tamaño de las células, por ejemplo inferior a 6  $\mu\text{m}$ .

El sustrato puede ser no adhesivo. En este caso, puede estar formado por un material no adhesivo tal como un polímero fluorado o un material que se hace en adhesivo por tratamiento químico tal como injerto de moléculas de polietilenglicol (PEG). La superficie texturizada no adhesiva, es decir, sobre la que no se pueden adherir las células, se puede retirar por lo tanto sin riesgo de deteriorar las células.

En una variante, el sustrato puede ser adhesivo.

Además, la superficie de soporte sobre la que se desplazan las células puede ser una superficie artificial tal como una superficie de cultivo celular (por ejemplo un gel), un portaobjetos de vidrio, el interior de un canal de microfluidos, o una superficie del entorno natural de dichas células tal como la superficie de un tejido vivo o la superficie de una herida.

La superficie de soporte y la superficie texturizada pueden estar separadas por una distancia comprendida entre 0  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ .

Al menos una de las superficies elegidas entre la superficie de soporte y la superficie texturizada puede comprender al menos al menos un saliente complementario que permite controlar la distancia entre la superficie de soporte y la superficie texturizada. En particular, el saliente complementario se puede presentar en forma de un pilar de diámetro comprendido entre 100  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$ , y con una altura inferior a 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ .

De acuerdo con aplicaciones en particular, el dispositivo de guía se puede presentar en forma de un apósito para heridas, un implante, una prótesis, un soporte para tejidos artificiales, un canal de microfluidos, un laboratorio en un chip que integra canales, y preferentemente, dicho dispositivo de guía es un vendaje.

De acuerdo con otro aspecto, la invención propone un método de guía para la migración celular que usa un dispositivo de guía tal como se ha definido anteriormente, método de guía que considera poner en contacto las células colocadas sobre la superficie de soporte con la superficie texturizada del sustrato de una manera tal que las células se confinan entre la superficie de soporte y la superficie texturizada, desplazándose las células en la dirección de anisotropía.

### Descripción de las figuras

Otros objetos y ventajas de la invención aparecerán con la lectura de la descripción que sigue a los modos de realización de la invención en particular proporcionados a modo de ejemplo no limitante, realizándose la descripción por referencia a las figuras adjuntas en las que :

- la figura 1 es una representación en perspectiva de un primer modo de realización de un sustrato de un dispositivo de guía de migración celular, presentando el sustrato una superficie texturizada provista de una

pluralidad de filas de proyecciones triangulares que definen una sucesión de cavidades de guía triangulares adyacentes de acuerdo con un eje de repetición, cavidades de guía que se adaptan para guiar un desplazamiento de las células transportadas por una superficie de soporte en una de las direcciones del eje de repetición,

- 5
- la figura 2 es una representación en vista superior del sustrato de la figura 1 cuya superficie texturizada se coloca enfrentada a una superficie de soporte en un dispositivo de guía, ilustrando la figura 2 el desplazamiento de una célula entre una superficie de soporte y la superficie texturizada del sustrato,
- 10
- la figura 3 es una representación en perspectiva del detalle con referencia III sobre la figura 2, en la dirección de desplazamiento de la célula,
  - la figura 4A es una imagen en contraste de fase de células confinadas en las proyecciones triangulares, y la figura 4B es un histograma que proporciona un sesgo inducido en la dirección de migración celular,
- 15
- la figura 5 es una representación en sección del dispositivo de guía que comprende un sustrato de acuerdo con una variante del primer modo de realización de la figura 1, presentando el sustrato una superficie texturizada provista de una pluralidad de proyecciones alargadas que definen una sucesión de ranuras de guía adyacentes de acuerdo con el eje de repetición, ranuras de guía que guían el desplazamiento de las células transportadas por la superficie de soporte en una de las direcciones del eje de repetición,
- 20
- la figura 6 es una representación en perspectiva de un segundo modo de realización de un sustrato de un dispositivo de guía de migración celular, presentando el sustrato una superficie texturizada provista con una pluralidad de proyecciones alargadas que definen una sucesión de ranuras de guía adyacentes de acuerdo con un eje de repetición, ranuras de guía que se adaptan para guiar un desplazamiento de las células transportadas por una superficie de soporte en una de las direcciones de un eje perpendicular al eje de repetición,
- 25
- la figura 7 es una representación en vista superior del sustrato de la figura 1 cuya superficie texturizada se coloca enfrentada a una superficie de soporte en un dispositivo de guía, figura 5 que ilustra el desplazamiento de una célula entre una superficie de soporte y la superficie texturizada del sustrato.
- 30

### Descripción detallada de la invención

En las figuras, las mismas referencias designan elementos idénticos o análogos.

Las figuras representan un dispositivo de guía 1 de migración celular que comprende una superficie de soporte 2 provista de las células 3 y un sustrato 5 adaptado para guiar el desplazamiento de las células de acuerdo con un eje y en una de las dos direcciones preferentes del eje.

De acuerdo con un modo preferente de realización, el sustrato 5 no es adhesivo, es decir, que las células no se pueden adherir sobre el sustrato 5, con el fin de que, como aparecerá siguiendo la descripción, se pueda retirar el sustrato 5 de la superficie de soporte 2 sin deteriorar las células. Un sustrato de este tipo 5 no adhesivo también se denomina sustrato antiadherente (o « anti-fouling » de acuerdo con la terminología anglosajona).

El carácter no adhesivo del sustrato 5 corresponde una capacidad de adsorción proteica débil del sustrato 5 así como una capacidad de adhesión celular débil, lo que permite generalmente limitar las reacciones inflamatorias.

Los materiales no adhesivos que pueden ser convenientes para el sustrato 5 no adhesivo pueden ser en particular superhidrófobos – tal como es el caso de los polímeros fluorados (por ejemplo, el politetrafluoroetileno (PTFE))

- o geles tales como la poli(acrilamida) (PAM) o el diacrilato de polietilenglicol (PEGDA).

Como alternativa, el sustrato 5 no adhesivo puede estar formado por un material que se hace no adhesivo por tratamiento químico.

Los tratamientos químicos que permiten hacer que el sustrato 5 sea no adhesivo pueden ser en particular el injerto sobre el sustrato de una capa de gel mono-molecular, por ejemplo de tipo polietilenglicol (PEG), por ejemplo un PEG silanizado sobre los óxidos o tiolado sobre los metales o conjugado con un polielectrolito para transmitirle la capacidad de adsorberse de forma duradera por interacción electrostática sobre el sustrato 5, tal como es el caso para el injerto de Polilisina-PEG (PLL-PEG).

Preferentemente, el material no adhesivo es un polímero fluorado o un material que se hace no adhesivo por tratamiento químico tal como injerto de moléculas, por ejemplo de polietilenglicol (PEG).

Sin embargo, el sustrato 5, en particular en función de la aplicación en la que se usa el dispositivo de guía 1 es adhesivo.

Los materiales adhesivos que pueden ser convenientes para el sustrato adhesivo 5 pueden ser en particular hidrófilos o hidrófobos, siendo tratados si fuera el caso con un promotor de la adhesión celular, y en particular se eligen entre:

- 5 - plásticos biocompatibles : por ejemplo, poliestireno (PS), usado normalmente en cultivo celular, polímeros de silicona como el polidimetilsiloxano (PDMS) usados en particular en los laboratorios en chips, geles de copolímeros en bloque tales como estireno-etileno/butileno-estireno (SEBS) usados para la fabricación de vendajes o poliácidos lácticos y glicólicos (PLGA, PLA : hidrófilo) que son biodegradables y se pueden usar para implantes o como soporte de tejidos artificiales ; algunos de estos plásticos se pueden activar de forma ventajosa por el oxígeno en plasma para aumentar su hidrofilia y estimular la adhesión celular,
- 10 - cerámicas, generalmente hidrófilas, tales como los óxidos metálicos o los nitruros, como por ejemplo vidrio ( $\text{SiO}_2$ ), nitruro de silicio ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ), óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) u otros; estos materiales se usan en cultivo celular, en laboratorios en chips o en implantología; estos materiales se pueden activar de forma ventajosa por el oxígeno en plasma para aumentar hidrofilia y estimular la adhesión celular,
- 15 - metales inertes como oro, platino, paladio o metales cuya superficie oxidada o nitrurada es estable como el cromo o el titanio que se usan para los implantes; de forma ventajosa, los metales se pueden tratar con moléculas de la familia de los tioles para aumentar o disminuir su capacidad de adhesión celular.

Además, es posible estimular la adhesión celular, por tratamiento químico de un material de soporte. Por lo tanto, se pueden usar:

- polímeros cargados (polielectrolitos) que se adsorben fuertemente por interacción electrostática sobre las superficies oxidadas (de forma natural como para los óxidos o de forma artificial activando las superficies con la ayuda de un oxígeno en la suma) : por ejemplo Poli-L-lisina (PLL) o Poliornitina (PORN) ; o
- 25 - proteínas de adhesión celular (Integrinas) o de la matriz extracelular (Fibronectina, laminina, colágeno) o péptidos que imitan a estas proteínas, como el motivo RGD (ácido arginil glicil aspártico).

En el contexto de la presente invención, también es posible modular la adhesión del sustrato 5 para optimizar la motilidad de las células. De hecho, el nivel de adhesión de las células sobre un sustrato 5 se puede modular tratando este sustrato con una mezcla ratiométrica de moléculas adhesivas y de moléculas no adhesivas. Por ejemplo, se puede usar una mezcla de pLL-PEG y de pLL-PEG-RGD o una mezcla de pLL-PEG y de Fibronectina.

El sustrato 5 presenta una superficie texturizada 6 que tiene una superficie de la base 7 y una estructura tridimensional anisótropa 8, visible en la figura 1 y representada en transparencia de la superficie de la base 7 en las figuras 2 y 3. La estructura tridimensional anisótropa 8 comprende una pluralidad de elementos de guía salientes con respecto a la superficie de la base 7 de acuerdo con un eje vertical Z perpendicular a la superficie de la base 7. Los elementos de guía se colocan sobre la superficie de la base 7 de forma adyacente de los unos con respecto a los otros de acuerdo con un eje de repetición X, perpendicular al eje vertical Z. En las figuras, el sustrato 5 se representa de forma plana con una descripción correspondiente de los ejes Para aclarar la orientación y la colocación relativa de los elementos del sustrato 5. Como se desprende de lo mencionado anteriormente y como se observará den la siguiente descripción, y en particular en aplicaciones del dispositivo de guía 1, el sustrato 5, sin embargo, se puede deformar y presentar cualquier otra configuración distinta de la configuración plana representada.

En el primer modo de realización representado en las figuras 1 a 3, cada elemento de guía se presenta en forma de una fila 10 de proyecciones triangulares. Cada fila 10 comprende cinco proyecciones triangulares 11 alineadas de acuerdo con un eje transversal Y perpendicular al eje de repetición X y al eje vertical Z. En otros modos de realización, cada fila 10 puede comprender dos, tres, cuatro o más de cinco proyecciones triangulares 11.

Cada proyección triangular 11 presenta una base 12 y un vértice 13. En cada fila 10, las bases 12 forman una primera superficie de guía 14, perpendicular a la superficie de la base 7 y al eje de repetición X, y los vértices 13 forman una segunda superficie de guía 16, perpendicular a la superficie de la base 7 y presentan una sucesión de concavidades que forman una parte dentada.

La primera superficie de guía 14 de una de las filas de proyecciones triangulares 10 se coloca con respecto a la segunda de superficie de guía 16 de la fila de proyecciones triangulares 10 adyacente. Las proyecciones triangulares 11 de dos filas 10 adyacentes tienen, además, sus bases 12 y sus vértices 13 alineados. Las filas de proyecciones triangulares 10 forman de este modo, entre ellas, una pluralidad de pares de superficies de guía adyacentes las unas con respecto a las otras de acuerdo con el eje de repetición X y definen un motivo de repetición de acuerdo con este eje de repetición X.

Cada uno de los pares de superficies de guía comprende una de las primeras superficies de guía 14 y la segunda superficie de guía 16 enfrentada, delimitando entre ellas un espacio de guía. En el primer modo de realización, el espacio de guía comprende una pluralidad de cavidades 15 ligeramente triangulares con cada una base 17 formada sobre la primera superficie de guía 14 de una de las filas de proyecciones triangulares 10 y un vértice 18 formado sobre la segunda superficie de guía 16 de la fila de proyecciones triangulares 10 adyacente. En particular, para cada cavidad 15, la base 17 está formada por partes de las bases 12 de dos proyecciones triangulares 11 de una de las

filas 10 y el vértice 18 está formado por dos paredes laterales que convergen la una hacia la otra de dos proyecciones triangulares 11 de la fila 10 adyacente. El motivo de repetición presenta entonces una sucesión de cavidades 15 de acuerdo con el eje de repetición X.

5 Cada una de las cavidades 15 está adaptada para recibir al menos una parte de una de las células 3. La cavidad 15 presenta una dimensión máxima, medida en que la primera 14 y segunda 16 superficies de guía, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la dimensión máxima de la cavidad 15 corresponde ligeramente a un tamaño de las células 3 y está comprendido, por ejemplo entre 5  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 15  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$ . La cavidad 15 presenta, además, una profundidad, medida perpendicularmente a la superficie  
10 de la base 7, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la profundidad de la cavidad 15 es inferior a un tamaño de las células 3, por ejemplo inferior a 20  $\mu\text{m}$ , o incluso inferior a 6  $\mu\text{m}$ . Por ejemplo, cada una de las cavidades 15 tiene una profundidad de 2  $\mu\text{m}$  y se realiza con la forma de un triángulo equilátero cuyo lado B mide 32  $\mu\text{m}$ , es decir una distancia máxima entre la primera 14 y la segunda 16 superficies de guía de 27,71  $\mu\text{m}$ .

15 En el modo de realización representado, las proyecciones triangulares 11 se representan adyacentes las unas con respecto a las otras en el seno de una misma fila 10 y entre dos filas 10 adyacentes. Sin embargo, se podrían proporcionar distancias entre las proyecciones triangulares 11, en particular para adaptar la dimensión de la cavidad 15. Además, cada fila 10 se ha representado con una pluralidad de cavidades 15, entendiéndose que cada fila 10 no podría comprender más que una sola cavidad 15.

20 Una estructura tridimensional de este tipo se puede realizar, por ejemplo, mediante fotolitografía, seguido opcionalmente por una etapa de grabado, o por cualquier método de microfabricación.

25 En relación con las figuras 2 y 3, se describe un método de guía de migración celular que usa el sustrato 5 que se ha descrito anteriormente.

30 La superficie texturizada 6 del sustrato 5 se coloca enfrente de la superficie de soporte 2 y se pone en contacto con las células 3 colocadas en la superficie de soporte 2 de un modo tal que las células 3 se confinen entre la superficie de soporte 2 y la superficie texturizada 6. El confinamiento de las células 3 permita reforzar su guía, en particular cuando el sustrato 5 sobre el que se desplazan las células 3 no es adhesivo.

35 La superficie de soporte 2 y la superficie texturizada 6 se separan con una distancia comprendida entre 0  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$  de modo que el espesor de la célula 3 después del confinamiento éste al menos comprendido entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$  para permitir su migración. La superficie de la base 7 del sustrato 5 se colocará a una distancia D de la superficie de soporte 2, por ejemplo de 5  $\mu\text{m}$ , y las proyecciones triangulares 11 se colocan a una distancia d de la superficie de soporte 2, inferior a la distancia D entre la superficie de la base 7 y la superficie de soporte 2, por ejemplo de 3  $\mu\text{m}$ .

40 La superficie de soporte 2 sobre la que se apoyan las células 3 puede ser una superficie artificial tal como una superficie de cultivo celular (por ejemplo un gel), un portaobjetos de vidrio, el interior de un canal de microfluidos, o una superficie del entorno natural de dichas células tal como la superficie de un tejido vivo o la superficie de una herida.

45 Cuando las células se desplazan sobre un soporte que tiene la superficie de soporte 2 y que presenta una rigidez superior a aproximadamente 20 kPa, es deseable, en el contexto de la presente invención, que al menos una de las superficies elegidas entre la superficie de soporte 2 y la superficie texturizada 6 comprenda al menos un saliente complementario, no representado, que permita controlar una distancia entre la superficie de soporte 2 y la superficie texturizada 6 y de este modo evitar la alteración de las células 3. La altura de estos salientes se mide con respecto a la superficie sobre la que se colocan las mismas. El saliente complementario se puede presentar en forma de uno o varios pilares de diámetro comprendido entre 100  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$ , y con una altura inferior a 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ , y en cualquier caso, una altura tal que el espesor de la célula 3 después del confinamiento esté comprendido al menos entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ .

50 Por el contrario, cuando las células se desplazan sobre un soporte que tiene la superficie de soporte 2 es « blando », es decir, que presenta una rigidez inferior a aproximadamente 20 kPa, en particular comprendida entre 100 Pa y 20 kPa, preferentemente entre 500 Pa y 10 kPa, no es necesario que posea salientes complementarios en la medida en la que la superficie de soporte 2 es lo suficientemente « blanda » para permitir que las células 3 no se vean comprimidas por el sustrato, definiendo las células 3 su espacio de confinamiento deformando la superficie de soporte 2. Estos soportes « blandos » son de tipo gel de rigidez débil o tapiz celular. Los geles usados pueden ser  
55 geles de origen artificial tales como poliacrilamida (PAM) o diacrilato de polietilenglicol (PEGDA) o incluso geles de origen natural tales como colágeno, matrigel o ácido hialurónico (HA). La rigidez de estos geles se puede ajustar por su composición y por las condiciones de su reticulación.

60 Cada cavidad 15 cuya segunda superficie de guía 16 se separa de la primera superficie de guía 14 de acuerdo con el eje de repetición X está orientada de acuerdo con una dirección de anisotropía A1 paralela al eje de repetición X y dirigida desde la primera superficie de guía 14 hacia la segunda superficie 16.

En cada cavidad 15, la primera superficie de guía 14 se adapta para bloquear el desplazamiento de las células 3 en una dirección opuesta a la segunda superficie de guía 16 y la segunda superficie de guía 16 se adapta para autorizar el desplazamiento de las células 3 en una dirección opuesta a la primera superficie de guía 14.

5 Las cavidades 15 entonces pueden guiar un desplazamiento de las células 3 transportadas por la superficie de soporte 2 en la dirección de anisotropía A1, es decir, en la dirección del eje de repetición X que va de la base 17 hacia el vértice 18 de la cavidad 15.

10 La figura 4A es una imagen en contraste de fases de células confinadas bajo las proyecciones triangulares 10. Los triángulos claros sobre la figura 4A representan las cavidades 15, las proyecciones triangulares 10 estando representadas por los triángulos oscuros. La figura 4B es un histograma que proporciona un sesgo inducido en la dirección de la migración de 167 células confinadas bajo la estructura que se ha descrito anteriormente, después de 24 horas de migración. En las figuras 4A y 4B, una flecha a la dirección de los puntos de las cavidades 15 triangulares.

15 El histograma muestra entonces una dirección privilegiada de migración que corresponde a la dirección de acuerdo con la que se orientan las cavidades 15.

20 El método de guía que se acaba de describir usa una superficie texturizada 6 cuya estructura tridimensional 8 o textura está sesgada en una dirección, dicha dirección de anisotropía A1, de modo que las células 3 puedan aplicar una presión más fácilmente en una dirección (aquí, hacia la segunda superficie de guía 16) que en otra (aquí, hacia la primera superficie de guía 14), o puedan sujetarse más fácilmente en una dirección (aquí, hacia la primera superficie de guía 14) que en otra (aquí, hacia la segunda superficie de guía 16), o se puedan deformar más fácilmente en una de (aquí, hacia la segunda superficie de guía 16) que en otra (aquí, hacia la primera superficie de guía 14). Una anisotropía de interacción de este tipo entra en la cédula 3 y el sustrato 5 induce la dirección de migración preferente, en la imagen de la estructura denominada trinquete Browniano (« Brownian ratchet ») que se ha descrito anteriormente.

30 En el modo de realización que se ha descrito anteriormente, la dirección de anisotropía A1 se define por una concavidad girada hacia la primera superficie de guía 14 y formada por dos paredes laterales rectilíneas que convergen la una hacia la otra. Sin embargo, se pueden proporcionar otras formas para el espacio de guía con el fin de realizar una concavidad girada hacia la primera superficie de guía 14 y, desde allí, una dirección de anisotropía A1 paralela al eje de repetición X, que va de la primera superficie de guía 14 a la segunda superficie de guía 16. Por ejemplo, la concavidad podría ser redondeada, estando formada en particular por dos paredes laterales curvadas que convergen la una hacia la otra o por una sola pared lateral curvada.

35 Sin embargo, la invención no se limita a la realización de una concavidad para orientar la dirección de anisotropía A1 de forma paralela al eje de repetición X, desde la primera superficie de guía 14 hacia la segunda superficie de guía 16.

40 Por ejemplo, en una variante representará sobre la figura 5, los elementos de guía se realizan en forma de proyecciones alargadas 20 extendiéndose cada una de acuerdo con el eje transversal Y, perpendicular al eje de repetición X. Cada proyección alargada 20 lleva una primera superficie de guía 24, perpendicular al eje de repetición X, y una segunda superficie de guía 26, inclinada con respecto a un plano perpendicular a la superficie de la base 7.

45 En esta variante, solamente la superficie texturizada 6' del sustrato 5 difiere de la que se ha descrito anteriormente. Por lo tanto, la descripción detallada del sustrato 5 y de otros elementos idénticos no se volverá a repetir y se hará referencia a la descripción que ya se ha realizado para más detalles.

50 Como se ha descrito anteriormente, la primera superficie de guía 24 de una de las proyecciones alargadas 20 se coloca con respecto a la segunda de superficie de guía 26 de la proyección alargada 20 adyacente. De este modo, las proyecciones alargadas 20 forman, entre ellas, una pluralidad de pares de superficies de guía adyacentes las unas con respecto a las otras de acuerdo con el eje de repetición X y definen un motivo de repetición de acuerdo con este eje de repetición X.

55 Cada uno de los pares de las superficies de guía comprende una de las primeras superficies de guía 24 y la segunda superficie de guía 26 enfrentada, delimitando entre ellas un espacio de guía.

60 En esta variante del primer modo de realización, el espacio de guía comprende una ranura 25 que se extiende de acuerdo con el eje transversal Y. El motivo de repetición presenta entonces una sucesión de ranuras 25 de acuerdo con el eje de repetición X. Cada una de las ranuras 25 está adaptada para recibir al menos una parte de una de las células 3. La ranura 25 presenta una dimensión máxima, medida en el fondo de la ranura 25 entre la primera 24 y segunda superficies 26 de guía, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la dimensión máxima de la ranura 25 corresponde ligeramente un tamaño de las células 3 y está comprendido, por ejemplo, entre 5  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 15  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$ . La ranura 25 presenta, además, una profundidad, medida de forma perpendicular a la superficie de la base 7, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior

a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la profundidad de la ranura 25 es inferior a un tamaño de las células 3, por ejemplo inferior a 20  $\mu\text{m}$ , o incluso inferior a 6  $\mu\text{m}$ .

5 Una estructura tridimensional de este tipo se puede realizar, por ejemplo, por fotolitografía, seguirá opcionalmente por una etapa de grabado anisótropo de tipo RIE, ICP o DRIE inclinando la muestra durante la fotolitografía o grabado para obtener las caras inclinadas, o incluso por fotolitografía en niveles en colores grises (« litografía en tonos Grises »).

10 Como se representa sobre la figura 5, cada ranura 25 cuya segunda superficie de guía 26 se separa de la primera superficie de guía 24 de acuerdo con el eje de repetición X está orientada de acuerdo con una dirección de anisotropía A2 paralela al eje de repetición X y se dirige desde la primera superficie de guía 24 hacia la segunda superficie de guía 26. En cada ranura 25, la primera superficie de guía 24 bloquea el desplazamiento de las células 3 en una dirección opuesta a la segunda superficie de guía 26 y la segunda superficie de guía 26 autoriza el desplazamiento de las células 3 en una dirección opuesta a la primera superficie de guía 24. Entonces, las ranuras 15 25 pueden guiar un desplazamiento de las células 3 transportadas por la superficie de soporte 2 en la dirección de anisotropía A2, es decir, en la dirección del eje de repetición X que va de la primera superficie de guía 24 hacia la segunda superficie de guía 26.

20 Las figuras 6 y 7 representan un segundo modo de realización de la invención en el que los espacios de guía 35 se orientan en una dirección de anisotropía A3a, A3b que se extiende de acuerdo con el eje transversal Y, perpendicular al eje de repetición X, con el fin de guiar el destacamento de las células 3 de acuerdo con el eje transversal Y.

25 En este segundo modo de realización, solamente la superficie texturizada 6" del sustrato 5 se diferencia de la del primer modo de realización que se ha descrito anteriormente. La descripción detallada del sustrato 5 y de otros elementos idénticos por lo tanto no se volverá a repetir y se hará referenciada distinción que ya se ha realizado con respecto al primer modo de realización para más detalles.

30 Les elementos de guía se realizan en forma de proyecciones alargadas 30 cada una de las cuales se extiende de acuerdo con el eje transversal Y. Cada proyección alargada 30 lleva una primera 34 y segunda 36 superficies de guía, perpendiculares al eje de repetición X.

35 Como se ha descrito anteriormente, la primera superficie de guía 34 de una de las proyecciones alargadas 30 se coloca con respecto a la segunda de superficie de guía 36 de la proyección alargada 30 adyacente. Las proyecciones alargadas 30 forman de este modo, entre ellas, una pluralidad de pares de superficies de guía adyacentes las unas con respecto a las otras de acuerdo con el eje de repetición X y definen un motivo de repetición de acuerdo con este eje de repetición X.

40 Cada uno de los padres de superficies de guía comprende una de las primeras superficies de guía 34 y la segunda superficie de guía 36 enfrentada, delimitando entre ellas un espacio de guía.

45 En este segundo modo de realización, el espacio de guía comprende una ranura 35 que se extiende de acuerdo con el eje transversal Y. El motivo de repetición presenta entonces una sucesión de ranuras 35 de acuerdo con el eje de repetición X. Cada una de las ranuras 35 se adapta para recibir al menos una parte de una de las células 3. La ranura 35 presenta una dimensión máxima, mediante la primera 34 y segunda 36 superficies de guía, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la dimensión máxima de la ranura 35 corresponde ligeramente a un tamaño de las células 3 y por ejemplo, está comprendido entre 5  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 15  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$ . La ranura 35 presenta, además, una profundidad, medida perpendicularmente a la superficie de la base 7, inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ . De forma ventajosa, la profundidad de la ranura 50 35 es inferior a un tamaño de las células 3, por ejemplo inferior a 20  $\mu\text{m}$ , o incluso inferior a 6  $\mu\text{m}$ .

55 Cada ranura 35 cuya primera 34 y segunda 36 superficies de guía se extienden de acuerdo con el eje transversal Y se puede orientar de acuerdo con una de las direcciones de anisotropía A3a, A3b paralela al eje transversal Y mediante cualquier medio apropiado, por ejemplo muescas o trinquetes colocados sobre la primera 34 y segunda 36 superficies de guía o en el fondo de la ranura 35. En cada ranura 35, la primera 34 y segunda 36 superficies de guía bloquean el desplazamiento de las células 3 en una o la otra de las direcciones del eje de repetición X. Entonces, las ranuras 35 pueden guiar un destacamento de las células 3 transportadas por la superficie de soporte 2 en una de las direcciones de anisotropía A3a, A3b.

60 El dispositivo de guía 1 de acuerdo con la invención puede encontrar en particular numerosas aplicaciones de guía de la migración celular *in vivo* o *in vitro*.

65 Por guía *in vitro* se entiende la guía de la migración celular en cultivo en un medio totalmente artificial. Por ejemplo, las células se pueden cultivar sobre una superficie de soporte artificial tal como una placa de cultivo celular, aplicándose entonces la superficie texturizada sobre la superficie de soporte para confinar las células. En otro modo de realización, la superficie texturizada se puede integrar sobre una de las caras de un canal de microfluidos para

- guiar la migración celular en dicho canal de microfluidos. Las superficies texturizadas del dispositivo de acuerdo con la invención se pueden usar, ya sea para el estudio de los mecanismos biológicos y físicos de migración y de proliferación de las células en cultivo, ya sea para realizar una clasificación celular para separar las células siguiendo sus características de migración. Como alternativa, el dispositivo de acuerdo con la invención puede permitir guiar células sobre soportes bidimensionales o tridimensionales cubiertos al menos parcialmente por una superficie de guía texturizada para la realización de órganos artificiales (ingeniería tisular). El dispositivo de acuerdo con la invención puede encontrar una aplicación en cualquier campo y necesite guiar las células de forma artificial e independientemente de su comportamiento quimiotáctico.
- 5
- 10 Por guía *in vivo* se entiende la guía de la proliferación y de la migración celular en un ser vivo, por ejemplo en el ser humano. En estos casos, la superficie de soporte está formada por un soporte fisiológico natural de las células en las que se aplica la superficie texturizada. De acuerdo con un modo preferente de realización de guía *in vivo*, la superficie texturizada se puede usar para guiar las células presentes a la superficie de una herida con el fin de favorecer el reparto de las células sobre la herida. Entonces, el dispositivo es un vendaje que presenta microestructuras en su superficie. De acuerdo con otro modo de realización de guía *in vivo*, la superficie texturizada se puede usar para guiar las células alrededor de una prótesis d con el fin de favorecer el reparto de las células alrededor de la prótesis. De acuerdo incluso con otro modo de realización de guía *in vivo*, la superficie texturizada se puede usar para guiar las células alrededor de una película o de un vendaje interno colocado en el interior del cuerpo de un ser vivo con el fin de favorecer el reparto de las células en o alrededor de un órgano.
- 15
- 20 En una aplicación en particular, el dispositivo de guía se puede realizar de forma ventajosa *in vivo*, como vendaje, para favorecer la cicatrización de una herida. Además de la aplicación particularmente ventajosa como vendaje, el dispositivo de guía de acuerdo con la invención encuentra aplicaciones como implante, prótesis, soporte de tejidos artificiales, canal de microfluidos, o laboratorio en chips que integran canales.
- 25

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de guía (1) para la migración celular que comprende una superficie de soporte (2) provista con células (3), y un sustrato (5), presentando dichos sustrato (5) una superficie texturizada (6 ; 6' ; 6'') colocada enfrente de la superficie de soporte (2) y puesta en contacto con las células (3) colocadas sobre la superficie de soporte (2) de un modo tal que las células (3) se confinen entre la superficie de soporte (2) y la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6''), teniendo dicha superficie texturizada (6 ; 6' ; 6'') una estructura tridimensional anisótropa (8 ; 8' ; 8'') que presenta un motivo de repetición de acuerdo con un eje de repetición (X), presentando dicho motivo de repetición una sucesión de espacios de guía (15 ; 25 ; 35) adyacentes de acuerdo con el eje de repetición (X), siendo adaptado cada uno de dichos espacios de guía (15 ; 25 ; 35) para recibir al menos una parte de una de las células (3) y orientado de acuerdo con una dirección de anisotropía (A1 ; A2 ; A3a, A3b) para guiar un desplazamiento de las células (3) en la dirección de anisotropía (A1 ; A2 ; A3a, A3b).
2. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6'') comprende una superficie de base (7) y la estructura tridimensional anisótropa (8 ; 8' ; 8'') comprende una pluralidad de pares de superficies de guía, siendo dichos pares de superficies de guía adyacentes los unos con respecto a los otros de acuerdo con el eje de repetición (X) y definiendo el motivo de repetición, comprendiendo cada uno de los pares primera (14 ; 24 ; 34) y segunda (16 ; 26 ; 36) superficies de guía que se extienden desde la superficie de la base (7) enfrenta a las la una con respecto a la otra y que delimitan entre ellas uno de los espacios de guía (15 ; 25 ; 35).
3. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la estructura tridimensional anisótropa (8 ; 8' ; 8'') comprende una pluralidad de elementos de guía (10 ; 20 ; 30) en saliente con respecto a la superficie de la base (7), siendo dichos elementos de guía (10 ; 20 ; 30) adyacentes los unos con respecto a los otros de acuerdo con el eje de repetición (X) y llevando cada uno una de las primeras superficies de guía (14 ; 24 ; 34) y una de las segundas superficies de guía (16 ; 26 ; 36), estando la primera superficie de guía (14 ; 24 ; 34) de uno de los elementos de guía (10 ; 20 ; 30) enfrente de la segunda de superficie de guía (16 ; 26 ; 36) del elemento de guía (10 ; 20 ; 30) adyacente.
4. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que la primera (14 ; 24) y segunda superficies de guía (16 ; 26) de cada par se adaptan para que la dirección de anisotropía (A1 ; A2) se extienda de acuerdo con el eje de repetición (X).
5. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 4, en el que, en cada uno de los pares de superficies de guía, la primera superficie de guía (14 ; 24) se adapta para bloquear el desplazamiento de las células (3) en una dirección opuesta a la segunda superficie de guía (16 ; 26) y la segunda superficie de guía (16 ; 26) se adapta para autorizar el desplazamiento de las células (3) en una dirección opuesta a la primera superficie de guía (14 ; 24), de un modo tal que la dirección de anisotropía (A1 ; A2) se oriente desde la primera superficie de guía (14 ; 24) hacia la segunda superficie de guía (16 ; 26).
6. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la primera superficie de guía (14 ; 24) es perpendicular al eje de repetición (X) y la segunda superficie de guía (16 ; 26) se separa de la primera superficie de guía (14 ; 24) de acuerdo con el eje de repetición (X).
7. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la segunda superficie de guía (16) es perpendicular a la superficie de la base (7) y presenta una concavidad girada hacia la primera superficie de guía (14).
8. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la estructura tridimensional anisótropa (8) comprende una pluralidad de filas de proyecciones triangulares (10) adyacentes de acuerdo con el eje de repetición (X), comprendiendo cada una de dichas filas (10) al menos dos proyecciones (11) alineadas de acuerdo con un eje transversal (Y) perpendicular al eje de repetición (X), comprendiendo cada uno de los espacios de guía una cavidad (15) ligeramente triangular con una base (17) formada sobre la primera superficie de guía (14) de una de las filas de proyecciones triangulares (10) y un vértice (18) formado sobre la segunda superficie de guía (16) de la fila de proyecciones triangulares (10) adyacente.
9. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la primera superficie de guía (24) es perpendicular al eje de repetición y la segunda superficie de guía (26) está inclinada con respecto a un plano perpendicular a la superficie de la base (7).
10. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que la primera (34) y segunda (36) superficies de guía de cada par se adaptan para que la dirección de anisotropía (A3a, A3b) se extienda de acuerdo con un eje transversal (Y) perpendicular al eje de repetición (X).
11. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 10, en el que, en cada uno de los pares de superficies de guía, la primera (34) y segunda (36) superficies de guía se adaptan para bloquear el desplazamiento de las células

(3) en una u otra de las direcciones del eje de repetición (X).

- 5 12. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la estructura tridimensional anisótropa (8") comprende una pluralidad de proyecciones alargadas (30) adyacentes de acuerdo con el eje de repetición (X), extendiéndose cada una de dichas proyecciones alargadas (30) de acuerdo con el eje transversal (Y), comprendiendo cada uno de los espacios de guía una ranura (35) entre la primera superficie de guía (34) de una de las proyecciones alargadas (30) y la segunda superficie de guía (36) de la proyección alargada (30) adyacente.
- 10 13. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12, en el que el espacio de guía (15 ; 25 ; 35) presenta una dimensión máxima, medida en que la primera (14 ; 24 ; 34) y segunda superficies de guía (16 ; 26 ; 36), inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ , correspondiendo en particular ligeramente un tamaño de las células (3), comprendido por ejemplo entre 5  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 15  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$ .
- 15 14. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 13, en el que el espacio de guía (15 ; 25 ; 35) presenta una profundidad inferior a 200  $\mu\text{m}$ , preferentemente inferior a 100  $\mu\text{m}$ , en particular inferior a un tamaño de las células (3), por ejemplo inferior a 6  $\mu\text{m}$ .
- 20 15. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el sustrato (5) no es adhesivo.
- 25 16. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el sustrato (5) no adhesivo está formado por un material no adhesivo tal como un polímero fluorado o un material que se hace no adhesivo por tratamiento químico tal como el injerto de moléculas de polietilenglicol (PEG).
- 30 17. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el sustrato (5) es adhesivo.
- 35 18. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que la superficie de soporte (2) sobre la que se desplazan las células (3) es una superficie artificial tal como una superficie de cultivo celular (por ejemplo un gel), un portaobjetos de vidrio, el interior de un canal de microfluidos, o una superficie del entorno natural de dichas células tal como la superficie de un tejido vivo o la superficie de una herida.
- 40 19. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que la superficie de soporte (2) y la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6") se separan con una distancia comprendida entre 0  $\mu\text{m}$  y 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ .
- 45 20. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 19, en el que al menos una de las superficies elegidas entre la superficie de soporte (2) y la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6") comprende al menos un saliente complementario que permite controlar la distancia entre la superficie de soporte (2) y la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6").
- 50 21. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con la reivindicación 20, en el que el saliente complementario se presenta en forma de un pilar de diámetro comprendido entre 100  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$ , y una altura inferior a 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente entre 3  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$ .
- 55 22. Dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, que se presenta en forma de un vendaje, un implante, una prótesis, un soporte para tejidos artificiales, un canal de microfluidos, un laboratorio en un chip que integra canales, y preferentemente, dicho dispositivo de guía (1) es un vendaje.
23. Método de guía para la migración celular que usa un dispositivo de guía (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, proporcionando dicho método de guía la puesta en contacto de las células (3) colocadas sobre la superficie de soporte (2) con la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6") del sustrato (5) de un modo tal que las células (3) se confine en entre la superficie de soporte (2) y la superficie texturizada (6 ; 6' ; 6"), desplazándose las células (3) en la dirección de anisotropía (A1 ; A2 ; A3a, A3b).







