

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 968**

51 Int. Cl.:

A61L 27/38 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

A61L 27/60 (2006.01)

A61F 2/10 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2014 PCT/EP2014/063786**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014 WO14207251**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2014 E 14733647 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 3013381**

54 Título: **Dispositivo y procedimiento para comprimir un hidrogel**

30 Prioridad:

28.06.2013 EP 13174441

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

06.02.2019

73 Titular/es:

**UNIVERSITÄT ZÜRICH (100.0%)
Prorektorat MNW Rämistrasse 71
8006 Zürich, CH**

72 Inventor/es:

REICHMANN, ERNST

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 698 968 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 y procedimiento para comprimir un hidrogel

La presente invención se refiere a un dispositivo para comprimir un hidrogel de acuerdo con la reivindicación 1, así como a un procedimiento para comprimir dicho hidrogel de acuerdo con la reivindicación 15, así como a sistemas de acuerdo con las reivindicaciones 13 y 14.

En el cuerpo humano, las células normalmente se encuentran en una red macromolecular tridimensional (3D), la llamada MEC. Para imitar el entorno 3D en un cultivo celular, se pueden usar hidrogeles.

A este respecto, un hidrogel es una red de cadenas de polímeros naturales o sintéticos, en particular insolubles en agua, capaces de absorber en particular más de un 99 % de agua. La hidrofilia de la red se origina a partir de la existencia de residuos químicos presentes dentro de la cadena principal o las cadenas laterales del polímero [1, 2].

Con su biocompatibilidad y flexibilidad, similares a las del tejido natural, los hidrogeles están predestinados para aplicaciones en el campo de la ingeniería de tejidos de córnea [3], piel [4], cartílago [5], tendón [6] o tejido vascular. Otra ventaja principal de los hidrogeles es la posibilidad de integrar fácilmente células vivas dentro de una matriz 3D. Para producir un sustituto dermoepidérmico de la piel, fibroblastos dérmicos se deben sumergir dentro del hidrogel de colágeno de tipo I, que "atrapa" estas células tras la gelificación en tres dimensiones. El colágeno de tipo I proporciona una matriz natural para estas células e idealmente sustenta su proliferación, migración y diferenciación. Es importante destacar que estos fibroblastos proporcionan los factores necesarios (en un plazo de seis días) y, por consiguiente, fue preparado el microentorno de sostén para la adición de los queratinocitos en la superficie superior plana del hidrogel, 6 días después de la preparación del gel (que contiene los fibroblastos).

Dado que el hidrogel tiene una consistencia blanda, es necesario comprimirlo plásticamente para mejorar sus propiedades biológicas, pero también para aumentar su robustez física, lo que permite a continuación al cirujano manipular de manera cómoda y segura el injerto de gel/piel final hecho del hidrogel comprimido.

El documento WO 2012/004564 A1 divulga procesos para la compresión plástica de geles de colágeno que permiten controlar con precisión la hidratación, densidad y/o morfología interna de los biomateriales producidos por la compresión.

Por lo tanto, en base a lo anterior, el problema subyacente a la presente invención es proporcionar un dispositivo, un sistema así como un procedimiento para comprimir dicho hidrogel.

Este problema se resuelve mediante un dispositivo que tiene las características de la reivindicación 1, así como un procedimiento que tiene las características de la reivindicación 15, así como mediante sistemas que tienen las características de las reivindicaciones 13 y 14.

De acuerdo con la reivindicación 1, el dispositivo de acuerdo con la invención comprende: una montura de injerto separada que comprende un miembro de montura circunferencial y un fondo de membrana permeable conectado a dicho miembro de montura, en el que la montura de injerto está diseñada para recibir dicho hidrogel de modo que se forme una capa de hidrogel (es decir, el hidrogel en la montura de injerto se extiende a lo largo del fondo de membrana, en el que sus dimensiones a lo largo del fondo de membrana son mayores que el espesor del hidrogel perpendicular al fondo de membrana) que cubra dicho fondo de membrana; una montura de guía que tiene una pluralidad de varillas de guía que se extienden a lo largo de una dirección de compresión; una placa de filtro; un primer componente (por ejemplo, inferior) que comprende una base que tiene una pluralidad de aberturas, en particular formadas en una región de borde externa de dicha base, en la que cada abertura está asociada a una de las varillas de guía, en el que el primer componente está diseñado para estar dispuesto sobre la montura de guía en un modo de funcionamiento del dispositivo de modo que cada varilla de guía se extienda a través de su abertura asociada, en el que el primer componente comprende además una pared circunferencial que sobresale de la base del primer componente, de modo que el primer componente forma un recipiente que está diseñado para recibir la placa de filtro y la montura de injerto en dicho modo de funcionamiento de modo que la placa de filtro esté dispuesta entre un fondo de dicho recipiente del primer componente y el fondo de membrana de la montura de injerto; un segundo componente (por ejemplo, superior) que comprende una base que tiene una pluralidad de aberturas, en particular formadas en una región de borde externa de dicha base del segundo componente, en la que cada abertura está asociada a una de las varillas de guía, en el que el segundo componente está diseñado para estar dispuesto sobre dicho primer componente en dicho modo de funcionamiento, de modo que cada varilla de guía que se extiende a través de su abertura asociada del primer componente también se inserta en su apertura asociada del segundo componente, de modo que el segundo componente sea guiado de modo deslizante por dichas varillas a lo largo de la dirección de compresión; un pistón separado que está diseñado para conectarse a dicho segundo componente de modo liberable en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en particular por medio de una conexión de retención, en el que en dicho modo de funcionamiento del dispositivo el segundo componente está diseñado para presionar el pistón a lo largo de la dirección de compresión contra dicha capa de hidrogel que se encuentra en el fondo de membrana de la montura de injerto para comprimir la capa de hidrogel entre el pistón y el fondo de membrana.

Preferentemente, dicha capa de hidrogel se usa para generar un injerto de piel artificial que se puede implantar en un paciente.

5 Preferentemente, el hidrogel consiste en colágeno bovino de tipo I de calidad médica. En particular, fibroblastos dérmicos autólogos humanos están contenidos en el hidrogel, y queratinocitos autólogos humanos se sitúan sobre el hidrogel, es decir, en una superficie superior de la capa de hidrogel orientada en sentido opuesto a dicho fondo de membrana, sobre el que se encuentra el hidrogel. Dicha membrana o fondo de membrana es permeable al agua que es extraída de la capa durante la compresión, así como al medio de cultivo celular, de modo que este último puede alcanzar el hidrogel tanto desde abajo como desde arriba.

10 Preferentemente, el fondo de membrana consiste preferentemente en PET, es preferentemente de 18 micrómetros de espesor y microporoso, con un diámetro de poro de preferentemente 3 micrómetros.

De acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, la montura de injerto y/o el pistón están diseñados como artículos de un solo uso (es decir, están diseñados para ser reemplazados después de un solo uso). Por tanto, no es necesario esterilizar en autoclave estos elementos cada vez antes de usarlos.

15 Además, de acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, el pistón comprende, por ejemplo, una base de pistón similar a una placa que tiene un primer lado que forma una superficie de contacto para presionar contra la capa de hidrogel. Preferentemente, el pistón está diseñado para insertarse en la montura de injerto con dicha superficie de contacto hacia delante cuando se presiona con su superficie de contacto contra la capa de hidrogel. Además, en particular, la base de pistón comprende una región de borde circunferencial que está diseñada para estar en contacto con el miembro de montura de la montura de injerto cuando se presiona contra la capa de hidrogel, para evitar que el hidrogel salga de la montura de injerto a través de un espacio entre el pistón y el miembro de montura al comprimir la capa de hidrogel.

20 De acuerdo con otro modo de realización preferente de la presente invención, el pistón comprende dos elementos de retención, que sobresalen en particular de dicha región de borde de la base de pistón en un segundo lado de la base de pistón orientada en sentido opuesto a dicho primer lado que forma dicha superficie de contacto. Esto permite una fácil sujeción manual del pistón al segundo componente, así como también liberar el pistón del segundo componente desacoplándolo manualmente con el segundo componente.

25 Preferentemente, el segundo componente comprende un soporte para sujetar el pistón, sobresaliendo dicho soporte de un primer lado de la base del segundo componente hacia el fondo de membrana en dicho modo de funcionamiento del dispositivo. Preferentemente, dichos elementos de retención están diseñados para acoplarse con dicho soporte para conectar de modo liberable el pistón al soporte.

30 Además, de acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, la base del segundo componente comprende una abertura para cada elemento de retención, a través de la cual se puede acceder al elemento respectivo, por ejemplo, manualmente o por medio de una herramienta, desde un segundo lado de la base del segundo componente orientado en sentido opuesto a dicho primer lado de la base, de modo que los elementos de retención se pueden liberar del soporte a través de dichas aberturas, por ejemplo, doblándolos hacia fuera del soporte para sacarlos del acoplamiento con el soporte.

35 Además, de acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, el pistón comprende elementos de guía que sobresalen de dicha región de borde de la base de pistón en dicho segundo lado de la base de pistón orientado hacia en sentido opuesto a dicha superficie de contacto, en el que dichos elementos de guía están diseñados para deslizarse a lo largo dicho soporte para guiar el pistón con respecto al soporte cuando el pistón se conecta al soporte.

40 Además, de acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, el segundo componente comprende un medio de ajuste para ajustar una profundidad de penetración del pistón a lo largo de la dirección de compresión en la montura de injerto, es decir, para ajustar el espesor de la capa de hidrogel después de la compresión, en el que en particular, dichos medios de ajuste comprenden dos tornillos que se atornillan en una rosca interna formada en el primer lado de la base adyacente al soporte, de modo que las alturas de las cabezas de tornillo de dichos tornillos con respecto a dicho primer lado la base se puedan ajustar girando el tornillo respectivo en sentido horario o antihorario. Preferentemente, las cabezas de tornillo están diseñadas para hacer tope contra dicho miembro de montura en el modo de funcionamiento del dispositivo para limitar dicha profundidad de penetración.

45 Preferentemente, cada tornillo está dispuesto adyacente a una región de esquina del soporte, en el que dichas regiones de esquina del soporte se disponen una frente a la otra en diagonal.

50 Además, de acuerdo con un modo de realización preferente de la presente invención, la base del segundo componente comprende un receptáculo para recibir al menos un peso, preferentemente una pluralidad de pesos, para ajustar el peso del segundo componente, por medio del cual el segundo componente comprime dicha capa de hidrogel en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en el que en particular dicho receptáculo se forma por dicho soporte.

55 Preferentemente, dicho receptáculo comprende una abertura en el segundo lado de la base del segundo componente, a través de la cual dicho al menos un peso o dicha pluralidad de pesos se pueden disponer en dicho receptáculo.

Preferentemente, para soportar dicha placa de filtro, la pared circunferencial del recipiente comprende preferentemente un escalón en la que la placa de filtro puede descansar con una región de borde de la placa de filtro.

5 Además, dicha montura de injerto está diseñada preferentemente para descansar con una región de borde circunferencial del miembro de montura en un borde superior de la pared del recipiente en dicho modo de funcionamiento del dispositivo. Para estabilizar además la posición de la montura de injerto dentro del recipiente, dicho borde superior de la pared comprende preferentemente al menos un rebajo para recibir una región del miembro de montura de una manera que se ajuste a la forma.

10 Además, para poder retirar fácilmente la montura de injerto y/o dicha placa de filtro del recipiente del primer componente, dicha pared del recipiente preferentemente comprende una protuberancia para sacar la placa de filtro y/o la montura de injerto del recipiente. Preferentemente, dicha protuberancia se forma de modo que se pueda insertar un dedo de un usuario o la punta de una herramienta adecuada en la región interior del recipiente delimitada por dicha protuberancia, de modo que la montura de injerto y/o la placa de filtro se puedan levantar y retirar del recipiente por medio de un dedo o dicha punta de una herramienta.

15 Además, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un sistema de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende un dispositivo de acuerdo con la invención, así como un matraz para incubación de la capa de hidrogel comprimido. Preferentemente, dicho matraz está diseñado para recibir la montura de injerto con la capa de hidrogel comprimido que se encuentra en dicha montura de injerto. Para esto, el matraz comprende preferentemente una abertura a través de la cual se puede disponer la montura de injerto en un interior del matraz. Además, dicho matraz comprende una montura de soporte que está diseñada para disponerse en dicho interior del matraz en un fondo del matraz y para soportar la montura de injerto. Para cerrar dicha abertura apropiadamente, se proporciona preferentemente una tapa de matraz, que está en particular diseñada para presionar la montura de injerto contra la montura de soporte cuando la tapa cierra dicha abertura del matraz (también puede haber un elemento separado adicional que está diseñado para disponerse entre la montura de injerto y la tapa, en el que la tapa presiona contra este elemento y el elemento a su vez presiona contra la montura de injerto que se presiona a continuación contra la montura de soporte cuando la tapa cierra dicha abertura). Además, el matraz puede comprender otra abertura para rellenar o succionar un medio de cultivo celular o células en condiciones de cultivo celular de rutina, en el que en particular se proporciona un tapón de rosca para cerrar dicha abertura adicional. Para una mejor inspección del hidrogel (o células), el matraz se diseña preferentemente transparente. Finalmente, dicho matraz y dicha montura de soporte están diseñados preferentemente como un artículo de un solo uso.

30 Además, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una montura de injerto de acuerdo con la reivindicación 14. De acuerdo con ello, la montura de injerto comprende un miembro de montura circunferencial y un fondo de membrana (véase, por ejemplo, también anteriormente) conectado a dicho miembro de montura, en el que la montura de injerto está diseñada para recibir un hidrogel de modo que se forme una capa de hidrogel que cubra dicho fondo de membrana (véase, por ejemplo, también anteriormente).

35 En particular, el fondo de membrana está conectado integralmente al miembro de montura.

En particular, la montura de injerto está diseñada como un artículo de un solo uso (es decir, está diseñada para reemplazarla después de un solo uso).

40 En particular, la montura de injerto está diseñada para insertarla en un recipiente de un dispositivo para comprimir una capa de hidrogel que se encuentra en el fondo de membrana. Preferentemente, dicho dispositivo es el dispositivo de acuerdo con la invención.

Además, en particular, dicho sistema de acuerdo con la reivindicación 14 comprende además un matraz para incubación de la capa de hidrogel comprimido que se encuentra en la montura de injerto en el fondo de membrana.

45 En particular, dicho matraz está diseñado para recibir la montura de injerto con la capa de hidrogel comprimido que se encuentra en dicha montura de injerto en el fondo de membrana, es decir, de forma ventajosa, el uso de la montura de injerto es doble. Al principio, la montura de injerto sirve para sujetar el hidrogel que se va a comprimir y, después de esto, como medio para sujetar la capa de hidrogel comprimido durante la incubación, así como para el transporte al paciente.

En particular, el matraz comprende una abertura a través de la cual se puede disponer la montura de injerto en un interior del matraz.

50 En particular, el matraz comprende una tapa para cerrar dicha abertura.

En particular, dicho sistema de acuerdo con la reivindicación 14 comprende además una montura de soporte separada que está diseñada para disponerse en dicho interior del matraz en un fondo del matraz y para soportar la montura de injerto.

55 En particular, la tapa está diseñada para presionar la montura de injerto contra la montura de soporte cuando la tapa cierra dicha abertura del matraz (también puede haber un elemento separado adicional que está diseñado para

disponerlo entre la montura de injerto y la tapa, en el que la tapa presiona contra este elemento y el elemento a su vez presiona contra la montura de injerto que a continuación se presiona contra la montura de soporte cuando la tapa cierra dicha abertura).

5 En particular, el matraz comprende otra abertura para llenar un líquido, en particular un medio de cultivo celular, en el matraz.

Además, en particular, se proporciona un tapón de rosca para cerrar dicha otra abertura.

Además, en particular, dicho matraz es transparente al menos en secciones.

10 En particular, dicho matraz y/o la montura de soporte están diseñados como artículos de un solo uso (es decir, están diseñados para reemplazarlos después de un solo uso). Además, el problema de acuerdo con la invención se resuelve mediante un procedimiento para comprimir una capa de hidrogel de acuerdo con la reivindicación 15, en particular para generar un injerto de piel artificial, usando un dispositivo de acuerdo con la invención (eventualmente en combinación con dicho matraz), que comprende las etapas de: llenar un hidrogel en la montura de injerto de modo que dicho hidrogel forme una capa que cubra dicho fondo de membrana, en particular incubar la capa de hidrogel en la montura de injerto, disponer la placa de filtro en dicho recipiente del primer componente, disponer dicha montura de injerto que comprende la capa de hidrogel en dicho recipiente encima de la placa de filtro, disponer el primer componente sobre la montura de guía de modo que las varillas de guía se extiendan a través de su respectiva abertura del primer componente, disponer el segundo componente en el primer componente de modo que dichas varillas de guía se inserten en su respectiva abertura del segundo componente, comprimir la capa de hidrogel entre el fondo de membrana y el pistón conectado al segundo componente dejando que el segundo componente presione con el pistón a lo largo de la dirección de compresión contra la capa de hidrogel, en el que el segundo componente es guiado por dichas varillas de guía a lo largo de la dirección de compresión, y en particular, retirar la montura de injerto del dispositivo después de haber comprimido la capa de hidrogel, en particular disponer la montura de injerto con la capa de hidrogel comprimido a través de una abertura de un matraz en un interior del matraz encima de una montura de soporte dispuesta en un fondo del matraz, en particular cerrar el matraz con una tapa, presionando así el miembro de montura de la montura de injerto con la tapa contra la montura de soporte para fijar la montura de injerto en el matraz, y en particular incubar la capa de hidrogel comprimido para generar un injerto de piel artificial a partir de dicha capa de hidrogel comprimido.

20 De acuerdo con un modo de realización de la presente invención, dicho hidrogel se genera de la siguiente manera: colágeno de tipo I se puede comprar disuelto en una solución ácida. Para gelificar este colágeno se tiene que neutralizar mediante un tampón básico. Posteriormente, la gelificación completa tarda, por ejemplo, 120 minutos a, por ejemplo, 37 °C en una estufa de incubación de células. Después de esto, el hidrogel se puede comprimir.

35 Además, después de haber comprimido el hidrogel, el hidrogel comprimido se procesa preferentemente de la siguiente manera: El hidrogel comprimido que contiene los fibroblastos se incuba durante, por ejemplo, 6 días hasta que los fibroblastos han proliferado hasta números de células biológicamente razonables. Después de esto, se añaden queratinocitos a la superficie del plano superior del gel. Después de, por ejemplo, 6 días adicionales (12 días en total), los queratinocitos han formado un epitelio estratificado (la epidermis). Por tanto, después de 12 días, el "hidrogel", que ahora se ha convertido en un injerto dermoepidérmico de piel, se puede trasplantar al paciente.

Otras características y ventajas de la invención se describirán por medio de descripciones detalladas de un modo de realización con referencia a las figuras, en las que

- 40 la fig. 1 muestra una vista en perspectiva de una montura de guía de un dispositivo de acuerdo con la invención;
- la fig. 2 muestra una vista en perspectiva de la montura de guía mostrada en la fig. 1, así como el primer componente inferior del dispositivo de acuerdo con la invención que comprende un recipiente para recibir una placa de filtro y una montura de injerto en el que se encuentra la capa de hidrogel;
- 45 la fig. 3 muestra una vista en perspectiva de la placa de filtro que se va a disponer en dicho recipiente y el primer componente que se dispone sobre la montura de guía;
- la fig. 4 muestra una vista en perspectiva de un segundo componente superior del dispositivo de acuerdo con la invención para comprimir la capa de hidrogel;
- 50 la fig. 5 muestra una vista en perspectiva de la disposición de la montura de injerto en dicho recipiente encima de la placa de filtro;
- la fig. 6 muestra la sujeción de un pistón al segundo componente, así como dicho primer componente que sujeta la placa de filtro y la montura de injerto;
- la fig. 7 muestra una vista en perspectiva de un detalle del segundo componente y el pistón conectado al mismo;

- la fig. 8 muestra otra vista en perspectiva de un detalle del segundo componente;
- la fig. 9 muestra una vista en perspectiva del segundo componente tras la disposición de este último en el primer componente y en la montura de guía;
- 5 la fig. 10 muestra una sección transversal del dispositivo de acuerdo con la invención en un modo de funcionamiento;
- la fig. 11 muestra un detalle de la sección transversal que se muestra en la fig. 10;
- la fig. 12 muestra una vista en perspectiva del pistón al levantarlo de la capa de hidrogel en la montura de injerto;
- la fig. 13-16 muestra vistas en perspectiva de un matraz para incubar la capa de hidrogel comprimido.
- 10 Las fig. 1 a 16 muestran un dispositivo para comprimir un hidrogel H. El dispositivo comprende una montura de guía 100 que está diseñada para sujetar/guiar un primer y un segundo componente 200, 400 del dispositivo uno con respecto al otro, de modo que el segundo componente 400 pueda presionar con un pistón 600 a lo largo de una dirección de compresión C contra una capa de hidrogel H dispuesta en una montura de injerto 500 situada en el primer componente 200 de una manera guiada.
- 15 Como se muestra en la fig. 1, dicha montura de guía 100 comprende un miembro de montura rectangular 103 formado por cuatro patas que están conectadas entre sí en cuatro regiones de esquina del miembro de montura 103, en el que dicho miembro de montura 103 se extiende o se sitúa sobre una base o capa inferior - cuando el dispositivo o la montura de guía 100 se encuentra en un modo de funcionamiento - a lo largo de un plano horizontal, y en el que de cada región de esquina del miembro de montura 103 sobresale una varilla de guía 104 desde el miembro de montura
- 20 103 en contra de dicha dirección de compresión C que está orientada perpendicular a dicho plano horizontal.
- Como se muestra en la fig. 2, dicho primer componente 200 comprende una base rectangular 201 que comprende una región de borde circunferencial 202 en la que se forman cuatro aberturas 204, a saber, una en cada región de esquina de la base 201 del primer componente 200. Cada abertura está diseñada para recibir una de las varillas de guía 104 de la montura de guía, de modo que dichas varillas de guía 104 se extiendan a través de su respectiva
- 25 abertura 204 de la base 201 del primer componente, cuando el primer componente se dispone encima de la montura de guía 100 como se muestra en la fig. 3. Además, como se ilustra en la fig. 2, la montura de guía 100 comprende dos mangos 102 que sobresalen de las patas opuestas del miembro de montura 103 de la montura de guía 100. Estos mangos 102 sirven para mover o transportar la montura de guía 100, en particular conjuntamente con el primer y el segundo componente 200, 400 dispuestos sobre la misma.
- 30 La base 201 del primer componente 200 comprende además un lado primero o superior 201a desde el que sobresale una pared circunferencial 203, de modo que una parte central de la base 201, por ejemplo, un fondo 230, así como dicha pared 203 forman un recipiente 220 para recibir una placa de filtro 300 y una montura de injerto 500 encima de la placa de filtro como se indica en las figs. 3, 5 y 6.
- La montura de injerto 500, que se muestra, por ejemplo, en la fig. 5, comprende un miembro de montura circunferencial (por ejemplo, rectangular) 502 y un fondo de membrana 501 (es decir, un fondo que forma una membrana) conectado a dicho miembro de montura 502, en el que la montura de injerto 500 está diseñada para recibir un hidrogel de modo que se forme una capa de hidrogel H que cubra dicho fondo de membrana 501. La membrana preferentemente consiste en PET, es de 18 micrómetros de espesor y microporosa, con un diámetro de poro de preferentemente 3 micrómetros.
- 35 De forma ventajosa, la montura de injerto con su fondo de membrana 501 se puede usar para comprimir el hidrogel así como vehículo para sujetar el hidrogel después de la compresión, por ejemplo, durante la incubación. De forma ventajosa, durante la incubación, un medio de cultivo celular puede alcanzar la capa de hidrogel desde abajo (a través del fondo de membrana) así como desde arriba.
- Además, el miembro de montura 502 de la montura de injerto 500 comprende una región de borde circunferencial superior 503 así como regiones 504 que sobresalen de cada una de las cuatro patas del miembro de montura 502.
- 45 La placa de filtro 300 tiene un contorno externo rectangular y está dispuesta de tal manera en el recipiente 220 del primer componente 200 que un borde circunferencial externo de la placa de filtro descansa en un escalón 205 de la pared 203 del recipiente 220 tal como se muestra en las figs. 3 y 5. La montura de injerto 500 se coloca encima de la placa de filtro 300 de modo que el fondo de membrana 501 de la montura de injerto 500 descansa en la placa de filtro
- 50 300, y de modo que la región de borde circunferencial superior 503 de la montura de injerto 500 descansa en un borde superior 206 de la pared 203 de la montura de injerto, en el que dichas regiones sobresalientes 504 de la montura de injerto 500 se acoplan con los rebajos correspondientes 207 formados en dicho borde superior 206 de la pared 203 del recipiente 220 de una manera que se ajustan a la forma.

Tras la compresión de la capa de hidrogel H, que se describirá a continuación, el exceso de agua W se presiona a través del fondo de membrana 501 de la montura de injerto y fluye a través de dicha placa de filtro 300 que soporta el fondo de membrana 501 al recipiente 220 donde se acumula en el fondo 230 del recipiente 220 como se muestra en la fig. 10, por ejemplo.

- 5 Para retirar la montura de injerto así como la placa de filtro del recipiente 220, la pared 203 del recipiente comprende una protuberancia 208 como se muestra en la fig. 2 que permite retirar manualmente la montura de injerto 500 así como la placa de filtro 300 del recipiente 220, por ejemplo, por medio de un dedo.

10 Cuando la montura de injerto 500 se dispone en el contenedor 220 como se pretende (consúltense la fig. 6), el segundo componente 400 se usa para comprimir la capa de hidrogel H a lo largo de la dirección de compresión C como se muestra en la fig. 10.

15 Como se ilustra en la fig. 4, el segundo componente 400 comprende una base 401 que comprende una región de borde circunferencial 403 en la que se forman cuatro aberturas 404, es decir, una abertura 404 en cada región de esquina de la base 401 del segundo componente 400. Cada una de estas aberturas 404 recibe una varilla de guía asociada 104 cuando el segundo componente 400 se dispone sobre el primer componente 200 (consúltense la fig. 9), de modo que un movimiento del segundo componente 400 hacia el primer componente 100 tiene lugar precisamente en la dirección de la compresión C.

20 Antes de disponer el segundo componente 400 sobre el primer componente 200, un pistón separado 600 se dispone en un soporte 402 del segundo componente 400 que sobresale de un lado primero o inferior 401a de la base 401 del segundo componente 400 a lo largo de la dirección de compresión C, y que comprende un primer lado o inferior 402a orientado enfrente a la capa de hidrogel H en el modo de funcionamiento del dispositivo de acuerdo con la invención, en el que dicho primer lado 402a se extiende perpendicular a la dirección de compresión C.

25 El pistón 600 comprende una base de pistón similar a una placa (por ejemplo, rectangular) 601 que tiene un primer lado o inferior 601a que se extiende perpendicular a la dirección de compresión C, en el que dicho primer lado 601a forma una superficie de contacto del pistón 600 para presionar contra la capa de hidrogel H así como una región de borde circunferencial 602 para estar en contacto con la pared 203 del recipiente 220 desde dentro de forma sellante cuando la superficie de contacto 601a presiona contra la capa de hidrogel H, de modo que el hidrogel H permanece dentro del recipiente 220 y no puede ir más allá del pistón 600.

30 Para conectar el pistón 600 al soporte 402 del segundo componente 400, el pistón 600 comprende dos elementos de retención 603 y una pluralidad de elementos de guía 604 que sobresalen de la región de borde circunferencial 602 así como de un segundo lado 601b de la base de pistón 601 orientado en sentido opuesto a dicha superficie de contacto 601a, en el que dichos elementos de retención 603 están diseñados para acoplarse con el soporte 402 para sujetar de manera liberable el pistón 600 al soporte 402, y en el que dichos elementos de guía 604 están diseñados para guiar el pistón 600 con respecto al soporte 402 al acoplar los elementos de retención 603 con el soporte 402 (consúltense la fig. 6). Cuando el pistón 600 se sujeta al soporte 402 por medio de los elementos de retención 604, el segundo lado 601b de la base de pistón 601 se extiende a lo largo o hace de tope contra el primer lado 402a del soporte 402 (consúltense las figs. 7 y 10).

40 Para ajustar una profundidad de penetración del pistón 600 en la montura de injerto 500, es decir, el espesor de la capa de hidrogel comprimido H, a lo largo de la dirección de compresión C, el segundo componente comprende dos tornillos que se muestran en la fig. 4 que se atornillan en una rosca interna formada en el primer lado 401a de la base del segundo componente 400 adyacente a las regiones de esquina del soporte 402, en el que dichas regiones de esquina se disponen una frente a la otra en diagonal.

45 Como se puede observar a partir de las figs. 10 y 11, las cabezas de tornillo de estos tornillos 410 descansan en la región de borde superior 503 del miembro de montura 502 de la montura de injerto 500 (véase la posición A en la fig. 11), cuando la superficie de contacto 601a del pistón 600 conectada al segundo componente 400 presiona bajo la guía de las varillas de guía 104 contra la capa de hidrogel H que se encuentra en el fondo de membrana 501 de la montura de injerto 500. Por tanto, cuanto más sobresalgan estas cabezas de tornillo del primer lado 401a de la base 401 del segundo componente, más espesor tendrá la capa de hidrogel H comprimido (véase la posición T en la fig. 11).

El peso del segundo componente y las partes unidas a la misma (por ejemplo, el pistón 600) proporcionan una fuerza para comprimir la capa de hidrogel.

50 Para ajustar dicho peso, el segundo componente 400 comprende un receptáculo 430 en un segundo lado 401b de la base 401 orientado en sentido opuesto al dicho primer lado 401a, estando dicho receptáculo 430 formado o delimitado por dicho soporte 402 para soportar el pistón 600. Dicho receptáculo 430 está diseñado para recibir uno o varios elementos de peso 800 por medio de los cuales se puede ajustar el peso total del segundo componente 400, incluyendo el pistón 600 (consúltense las figs. 9 y 10).

55 Después de haber comprimido la capa de hidrogel H como se pretende por medio del dispositivo de acuerdo con la invención, el segundo componente 400 se retira del primer componente 200 y la montura de guía 100. Para esto, la base 401 del segundo componente 400 comprende aberturas 420 por medio de las cuales se puede acceder a los

elementos de retención 603 desde el segundo lado 401b de la base, por ejemplo, por medio de un dedo, de modo que dichos elementos de retención 603 se puedan desacoplar del soporte 402 del segundo componente 400 (consúltense las figs. 8 y 9).

5 Una de ellas tiene el pistón 600 liberado del segundo componente 400, estando dicho pistón 600 normalmente adherido a la capa de hidrogel H en la montura de injerto 500. A continuación, el pistón 600 se levanta manualmente de la montura de injerto 500 como se muestra en la fig. 12.

10 De acuerdo con una modo de realización de la presente invención, el fondo de membrana 501 en el interior de la montura de injerto 500 así como dicha superficie de contacto 601a del pistón 600 comprenden cada uno un área de 6 × 7 cm. También son posibles otros tamaños. Por tanto, la capa de hidrogel comprimido final comprende un área correspondiente de, por ejemplo, 6 × 7 cm y un espesor definido por los tornillos 410, véase anteriormente.

15 Para un tratamiento adicional de la capa de hidrogel comprimido H, se proporciona un matraz 700 para incubación de la capa de hidrogel comprimido H (consúltense las fig. 13 a 16). El matraz 700 está diseñado para recibir la montura de injerto 500 con la capa de hidrogel comprimido H que se encuentra en dicha montura de injerto 500. Para esto, el matraz 700 comprende una abertura 704 en una parte superior 703 del matraz 700 a través de la cual la montura de injerto 500 se dispone en un interior del matraz 700 como se muestra en la fig. 14. De antemano, como se muestra en la fig. 13, una montura de soporte 706 se dispone en un fondo 702 del matraz 700 a través de su abertura 704 para soportar la montura de injerto 500. El montura de soporte 706 comprende rebajos 707 formados en un borde superior de la montura de soporte 706 para recibir dichas partes 504 del miembro de montura 502 de la montura de injerto 500, en el que la montura de injerto 500 está diseñada para descansar con su región de borde superior 503 en dicho borde superior de la montura de soporte 706. En particular, la montura de soporte 706 descansa con cuatro pies 709 en dicho fondo. Además, la montura de soporte 706 comprende dos regiones sobresalientes opuestas 708 para estar en contacto con una pared 702 del matraz 700 desde el interior del matraz 700, de modo que la montura de soporte 706 no se pueda desplazar en el interior del matraz 700 en una dirección lateral (consúltense las figs. 14 y 15).

25 Una vez que la montura de injerto 500 se sitúa apropiadamente en la montura de soporte 706 en el interior del matraz 700, la abertura 704 del matraz se cierra por medio de una tapa 710 que a continuación presiona la montura de injerto en la montura de soporte 706 para que la montura de injerto se fije a lo largo en una dirección perpendicular al fondo 701 del matraz entre la tapa 710 y la montura de soporte 706. También es posible disponer un elemento adicional entre dicha tapa 710 y la montura de injerto 500 para presionar la montura de injerto contra la montura de soporte 706 por medio de la tapa 710.

30 A través de otra abertura que se puede cerrar con un tapón de rosca, se puede llenar el matraz con un medio de cultivo celular. El medio de cultivo celular es necesario tanto para el cultivo de las células en y sobre la capa de hidrogel, como para el transporte de los injertos dermoepidérmicos hechos a partir de la capa de hidrogel.

Preferentemente, la montura de guía 100 está hecha de acero inoxidable.

Además, el primer componente 200 está hecho preferentemente de PEEK (poliéter éter cetona).

35 Además, el segundo componente 400 está hecho preferentemente de PEEK (poliéter éter cetona).

Además, el fondo de membrana 501 de la montura de injerto 500 está hecho preferentemente de PET (por ejemplo, de acuerdo con ISO 13485).

Además, el pistón 600 está hecho preferentemente de polipropileno.

Referencias

40 [1] Diezi, Mirco, Determining the conditions that regulate epidermal stratification vitro: Engineering an epidermal substitute in 3 steps, Master Thesis in Human Biology, Tissue Biology Research Unit, University of Zurich, February 2009;

[2] Baroli, B., Hydrogels for tissue engineering and delivery of tissue-inducing substances. J Pharm Sci, 2007. 96(9): p. 2197-223.

45 [3] Mimura, T., et al., Tissue engineering of corneal stroma with rabbit fibroblast precursors and gelatin hydrogels. Mol Vis, 2008. 14: p. 1819-28.

[4] Stark, H.J., et al., Organotypic keratinocyte cocultures in defined medium with regular epidermal morphogenesis and differentiation. Journal of Investigative Dermatology, 1999. 112(5): p. 681-691.

50 [5] Yamaoka, H., et al., Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. J Biomed Mater Res A, 2006. 78(1): p. 1-11.

[6] Ferguson, R.E. and B. Rinker, The use of a hydrogel sealant on flexor tendon repairs to prevent adhesion formation. Ann Plast Surg, 2006. 56(1): p. 54-8.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para comprimir un hidrogel, que comprende

5 - una montura de injerto separada (500) que comprende un miembro de montura circunferencial (502) y un fondo de membrana (501) conectado a dicho miembro de montura (502), en el que la montura de injerto (500) está diseñada para recibir dicho hidrogel (H) de modo que se forma una capa de hidrogel (H) que cubre dicho fondo de membrana (501),

- una montura de guía (100) que tiene una pluralidad de varillas de guía (104) que se extienden a lo largo de una dirección de compresión (C),

- una placa de filtro (300),

10 - un primer componente (200) que comprende una base (201) que tiene una pluralidad de aberturas (204), en el que cada abertura (204) está asociada a una de las varillas de guía (104), en el que el primer componente (200) está diseñado para disponerse sobre la montura de guía (100) en un modo de funcionamiento del dispositivo de modo que cada varilla de guía (104) se extiende a través de su abertura asociada (204), en el que el primer componente (200) comprende además una pared circunferencial (203) que sobresale de dicha base (201) del primer componente (200),
 15 de modo que el primer componente (200) forma un recipiente (220) que está diseñado para recibir la placa de filtro (300) y la montura de injerto (500) en dicho modo de funcionamiento, de modo que la placa de filtro (300) está dispuesta entre un fondo (230) de dicho recipiente (220) y el fondo de membrana (501) de la montura de injerto (500),

20 - un segundo componente (400) que comprende una base (401) que tiene una pluralidad de aberturas (404), en el que cada abertura (404) está asociada a una de las varillas de guía (104), en el que el segundo componente (400) está diseñado para disponerse sobre dicho primer componente (200) en dicho modo de funcionamiento, de modo que cada varilla de guía (104) que se extiende a través de su abertura asociada (204) del primer componente (200) también se inserte en su abertura asociada (404) del segundo componente (400) de modo que el segundo componente sea guiado por dichas varillas (104) a lo largo de la dirección de compresión (C),

25 - un pistón separado (600) que está diseñado para conectarse a dicho segundo componente (400) de manera liberable en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en el que en dicho modo de funcionamiento el segundo componente (400) está diseñado para presionar el pistón (600) a lo largo de la dirección de compresión (C) contra dicha capa de hidrogel (H) que se encuentra en el fondo de membrana (501) de la montura de injerto (500) para comprimir la capa de hidrogel (H) entre el pistón (600) y el fondo de membrana (501).

30 **2.** Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** la montura de injerto (500) y/o el pistón (600) están diseñados como artículos de un solo uso.

35 **3.** Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** el pistón (600) comprende una base de pistón (601) que tiene un primer lado (601a) que forma una superficie de contacto para presionar contra la capa de hidrogel (H), en el que en particular el pistón (600) está diseñado para insertarse en la montura de injerto (500) con su superficie de contacto (601a) hacia adelante cuando se presiona con su superficie de contacto (601a) contra la capa de hidrogel (H), en el que la base del pistón (601) comprende una región de borde circunferencial (602) que está diseñada para ponerse en contacto con el miembro de montura (502) de la montura de injerto (500) cuando se presiona contra la capa de hidrogel (H).

40 **4.** Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** el pistón (600) comprende dos elementos de retención (603), que sobresalen en particular de dicha región de borde (602) de la base de pistón (601) en un segundo lado (601b) de la base de pistón (601) orientada en sentido opuesto a dicho primer lado (601a) que forma dicha superficie de contacto.

45 **5.** Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** el segundo componente (400) comprende un soporte (402) para el pistón (600), sobresaliendo dicho soporte (402) de un primer lado (401a) de la base (401) del segundo componente (400) hacia el fondo de membrana (501) en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en el que en particular los elementos de retención (603) están diseñados para acoplarse con dicho soporte (402) para conectar de manera liberable el pistón (600) al soporte (402).

50 **6.** Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 4 a 5, **caracterizado por que** la base (401) del segundo componente (400) comprende una abertura (420) para cada elemento de retención (603), a través de la cual se puede acceder al elemento de retención respectivo (603) desde un segundo lado (401b) de la base (401) del segundo componente (400) orientado en sentido opuesto al dicho primer lado (401a) de la base (401) del segundo componente (400), de modo que en particular los elementos de retención (603) se pueden liberar del soporte (402) manualmente por medio de dichas aberturas (420).

55 **7.** Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** el pistón (600) comprende elementos de guía (604) que sobresalen de dicha región de borde (602) de la base de pistón (601) en dicho segundo lado (601b) de la base de pistón (601) orientado en sentido opuesto a dicha superficie de contacto

(601a), cuyos elementos de guía (604) están diseñados para deslizarse a lo largo de dicho soporte (402) para guiar el pistón (600) con respecto al soporte (402) al acoplar los elementos de retención (603) con el soporte (402).

8. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** el segundo componente comprende un medio de ajuste para ajustar una profundidad de penetración del pistón (600) a lo largo de la dirección de compresión (C) en la montura de injerto (500), en el que en particular dicho medio de ajuste comprende dos tornillos (410) que se atornillan en una rosca interna formada en el primer lado (401a) de la base (401) adyacente al soporte (402), de modo que las alturas de las cabezas de tornillo de dichos tornillos (410) con respecto a dicho primer lado (401a) de la base (401) se pueden ajustar girando el tornillo respectivo (410) en sentido horario o antihorario, en el que las cabezas de tornillo (410) están diseñadas para reposar en dicho miembro de montura (502) en el modo del funcionamiento para limitar dicha profundidad de penetración.

9. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** la base (401) del segundo componente (400) comprende un receptáculo (430) para recibir al menos un elemento de peso (800), para ajustar el peso del segundo el componente (400), por medio del cual el segundo componente (400) comprime dicha capa de hidrogel (H) en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en el que en particular dicho receptáculo (430) está formado por dicho soporte (402), en el que en particular dicho receptáculo (430) comprende una abertura en el segundo lado (401b) de la base (401) del segundo componente (400), pudiendo disponerse por medio de dicha apertura al menos un elemento de peso (800) en dicho receptáculo (430).

10. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** dicha pared circunferencial (203) del recipiente (220) comprende un escalón (205) para soportar dicha placa de filtro (300).

11. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** dicha montura de injerto (500) está diseñada para descansar con una región de borde circunferencial (503) del miembro de montura (502) sobre un borde superior (206) de la pared (203) del recipiente (220) en dicho modo de funcionamiento del dispositivo, en el que en particular dicho borde superior (206) de la pared (203) comprende al menos un rebajo (207) para recibir una región (504) del miembro de montura (502) de la montura de injerto (500) de una manera que se ajuste a la forma.

12. Dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** dicha pared (203) comprende una protuberancia (208) para sacar la placa de filtro (300) y/o la montura de injerto (500) del recipiente (220).

13. Sistema que comprende un dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por que** el sistema comprende además un matraz (700) para incubación de la capa de hidrogel comprimido (H), en el que dicho matraz (700) está diseñado para recibir la montura de injerto (500) con la capa de hidrogel comprimido (H) que se encuentra en dicha montura de injerto (500), en el que en particular el matraz (700) comprende una abertura (704) a través de la cual la montura de injerto (500) se puede disponer en un interior del matraz (700), en el que en particular el matraz (700) comprende una tapa (710) para cerrar dicha abertura (704), en el que en particular dicho sistema comprende una montura de soporte (706) que está diseñada para disponerse en dicho interior del matraz (700) sobre un fondo (701) del matraz (700) y para soportar la montura de injerto (500), en el que la tapa (710) está diseñada para presionar la montura de injerto (500) contra la montura de soporte (706) cuando la tapa (710) cierra dicha abertura (704) del matraz (700), y en el que el matraz (700) comprende otra abertura para rellenar el matraz (700) con un líquido, en particular un medio de cultivo celular, y en el que en particular se proporciona un tapón de rosca (705) para cerrar dicha otra abertura, y en el que en particular dicho matraz (700) es transparente al menos en secciones, y en el que en particular dicho matraz (700) y/o la montura de soporte (706) están diseñados como artículos de un solo uso.

14. Sistema que comprende al menos una montura de injerto (500), comprendiendo la montura de injerto (500) un miembro de montura circunferencial (502) y un fondo de membrana (501) conectado a dicho miembro de montura (502), en el que la montura de injerto (500) está diseñada para recibir un hidrogel (H) de modo que se forme una capa de hidrogel (H) que cubra dicho fondo de membrana (501), en el que en particular el fondo de membrana (501) está conectado integralmente al miembro de montura (502), en el que la montura de injerto (500) está diseñada como un artículo de uso único, en el que la montura de injerto (500) está diseñada para insertarse en un recipiente (220) de un dispositivo para comprimir una capa de hidrogel (H) que se encuentra en el fondo de membrana (501), en el que en particular dicho dispositivo es el dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12, y en el que en particular dicho sistema comprende además un matraz (700) para incubación de la capa de hidrogel comprimido (H) que se encuentra en la montura de injerto (500) sobre el fondo de membrana (501), en el que en particular dicho matraz (700) está diseñado para recibir la montura de injerto (500) con la capa de hidrogel comprimido (H) que se encuentra en dicha montura de injerto (500) sobre el fondo de membrana (501), en el que en particular el matraz (700) comprende una abertura (704) a través de la cual la montura de injerto (500) se puede disponer en un interior del matraz (700), en el que en particular el matraz (700) comprende una tapa (710) para cerrar dicha abertura (704), en el que en particular dicho sistema comprende una montura de soporte separada (706) que está diseñada para disponerse en dicho interior del matraz (700) en un fondo (701) del matraz (700) y para soportar la montura de injerto (500), en el que la tapa (710) está diseñada para presionar la montura de injerto (500) contra la montura de soporte (706) cuando la tapa (710) cierra dicha abertura (704) del matraz (700), y en el que el matraz (700) comprende otra abertura para

llenar el matraz (700) con un líquido, en particular un medio de cultivo celular, y en el que en particular se proporciona un tapón de rosca (705) para cerrar dicha otra abertura, y en el que en particular dicho matraz (700) es transparente al menos en secciones, y en el que en particular dicho matraz (700) y/o la montura de soporte (706) están diseñados como artículos de un solo uso.

5 **15.** Procedimiento para comprimir una capa de hidrogel, en particular para generar un injerto de piel artificial, usando un dispositivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12 o un sistema de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende las etapas de:

- rellenar la montura de injerto (500) con un hidrogel (H) de modo que dicho hidrogel (H) forme una capa de hidrogel (H) que cubra dicho fondo de membrana (501),

10 - disponer la placa de filtro (300) en dicho recipiente (220) del primer componente (200),

- disponer dicha montura de injerto (500) que comprende la capa de hidrogel (H) en dicho recipiente (220) encima de la placa de filtro (300),

- disponer el primer componente (200) sobre la montura de guía (100) de modo que las varillas de guía (104) se extiendan a través de su respectiva abertura (204) del primer componente (200),

15 - disponer el segundo componente (400) sobre el primer componente (200) de modo que dichas barras de guía (104) se inserten en su respectiva abertura (404) del segundo componente (400), y

- comprimir la capa de hidrogel (H) entre el fondo de membrana (501) y el pistón (600) conectado al segundo componente (400) dejando que el segundo componente (400) presione con el pistón (600) a lo largo de la dirección de compresión (C) contra la capa de hidrogel (H), en el que el segundo componente (400) es guiado por dichas varillas de guía (104) a lo largo de la dirección de compresión (C).

20

Figura 1

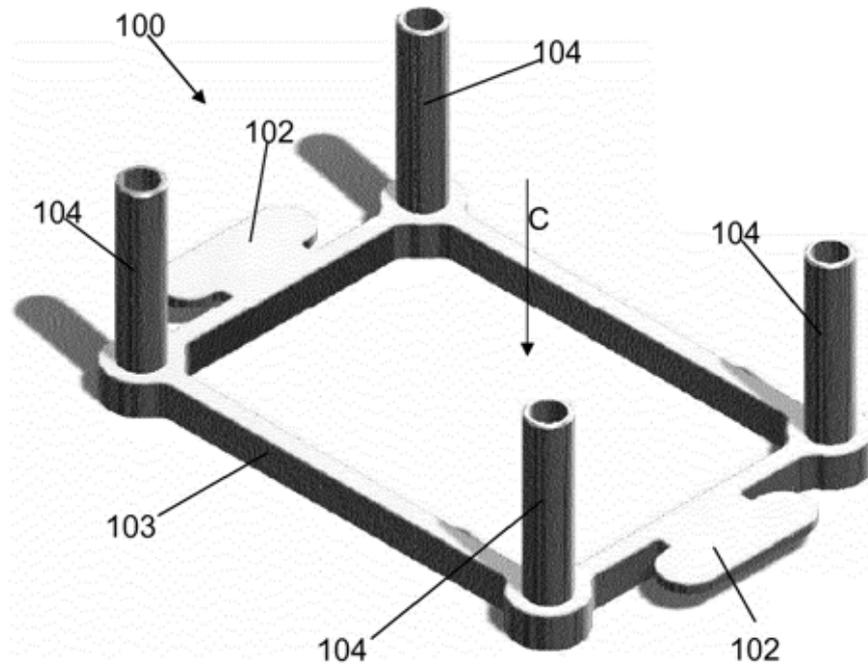


Figura 2

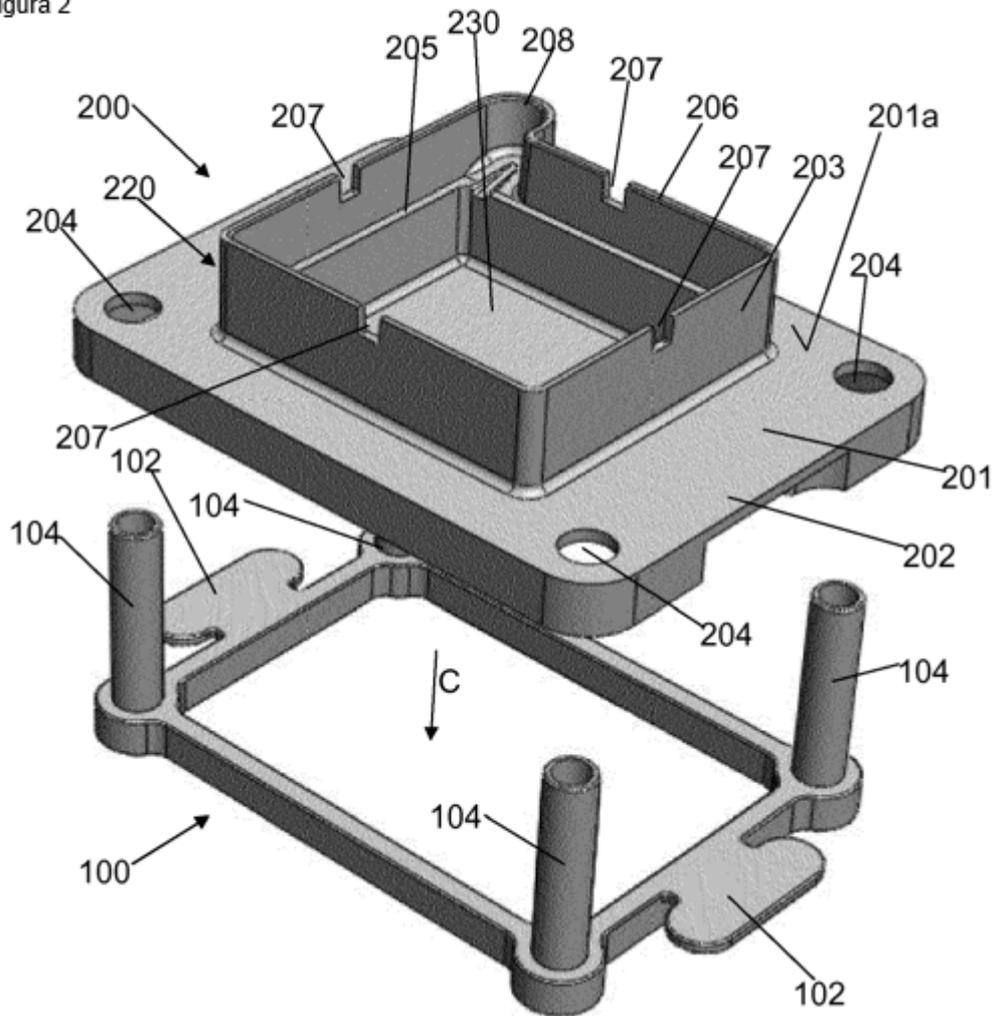


Figura 3

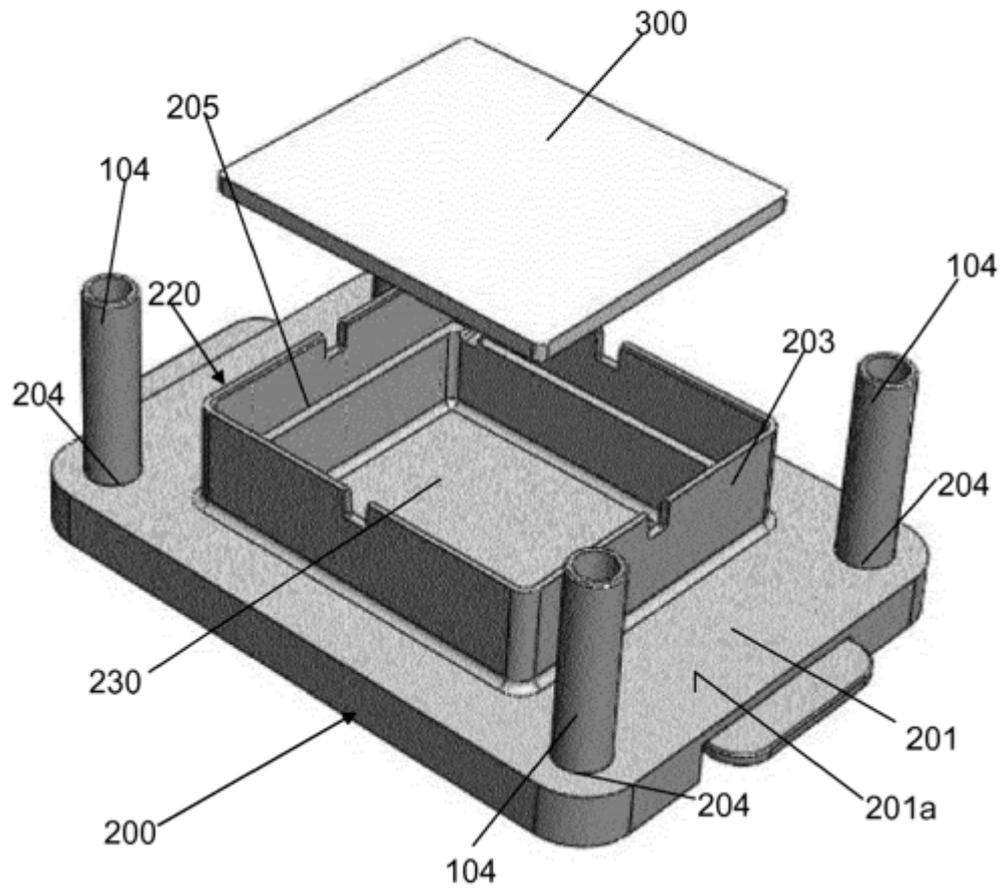


Figura 4

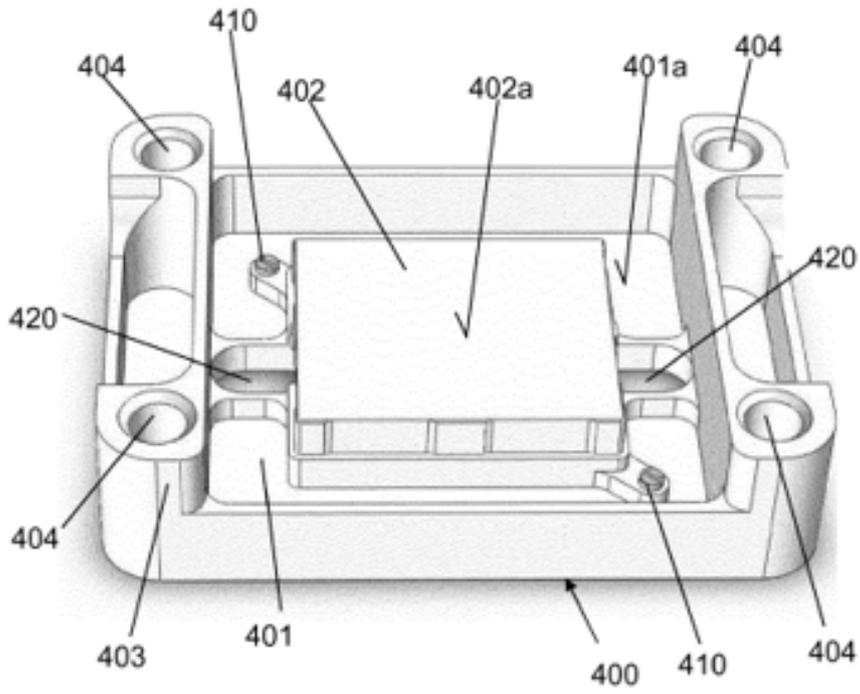


Figura 5

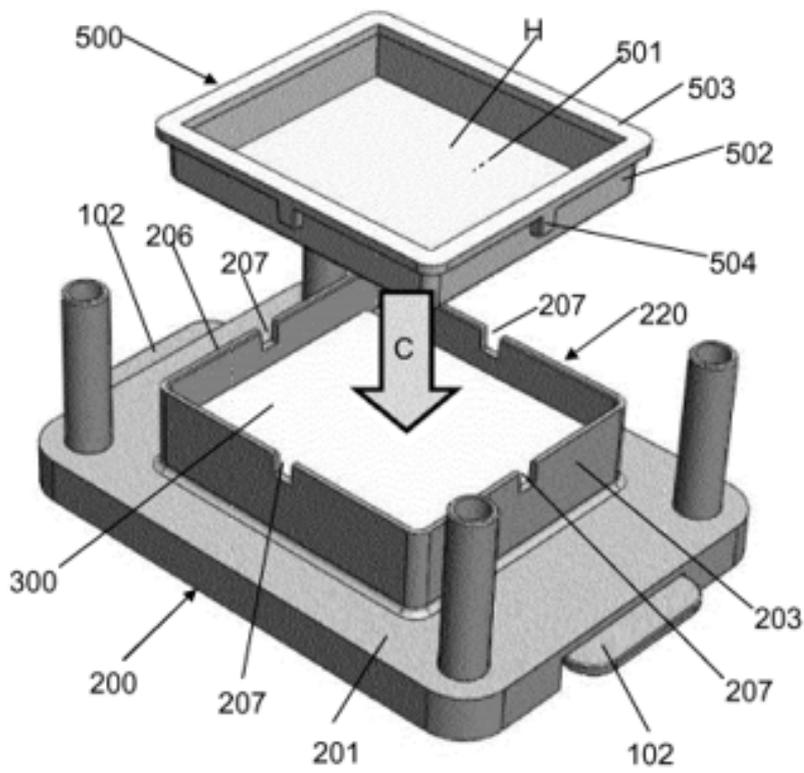


Figura 6

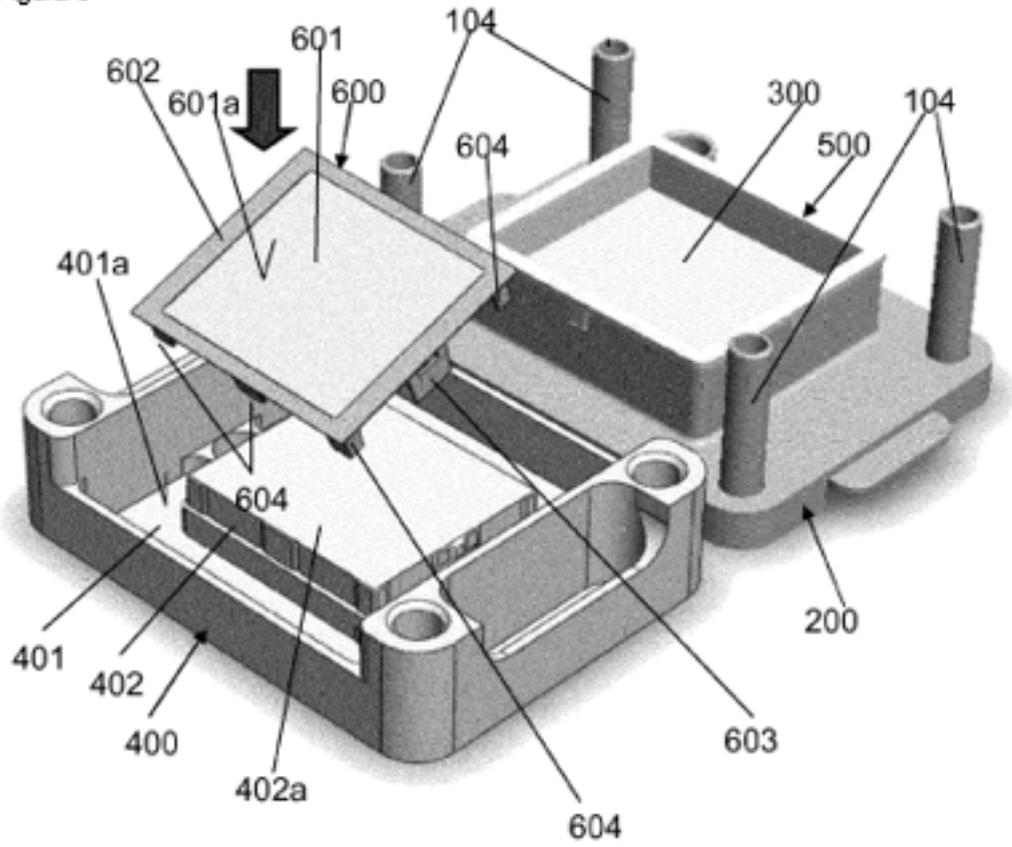


Figura 7

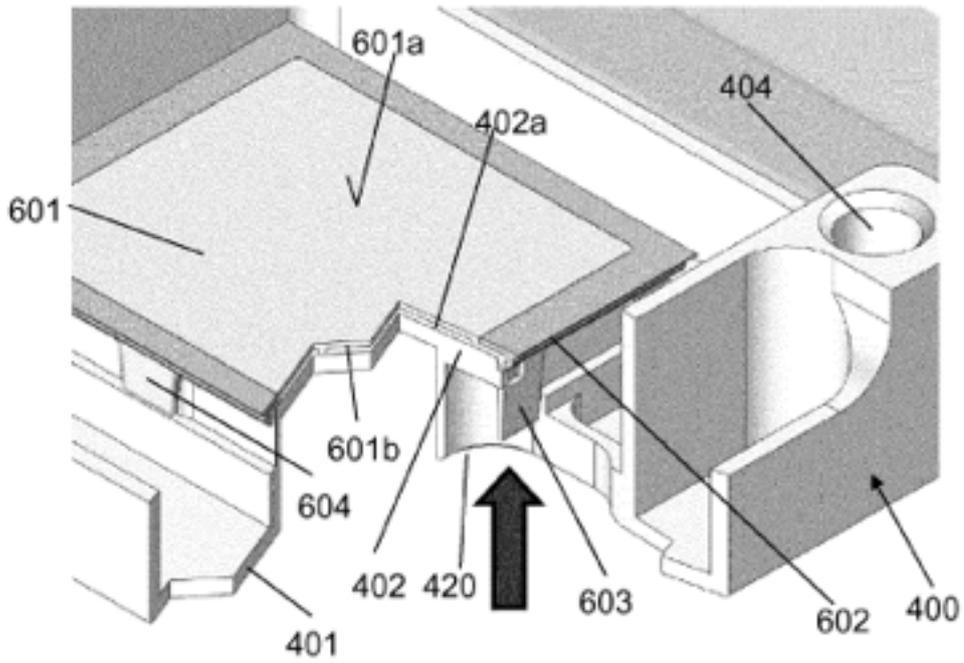


Figura 8

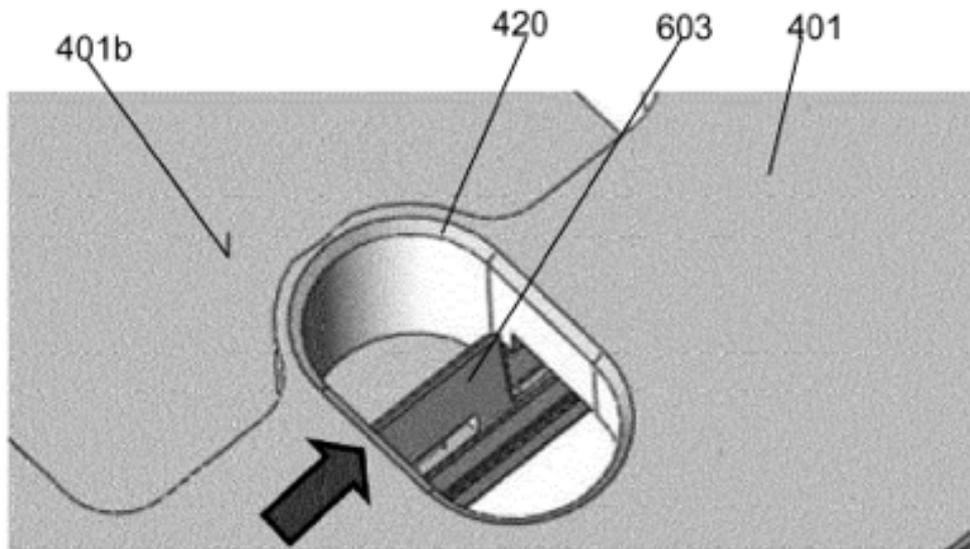
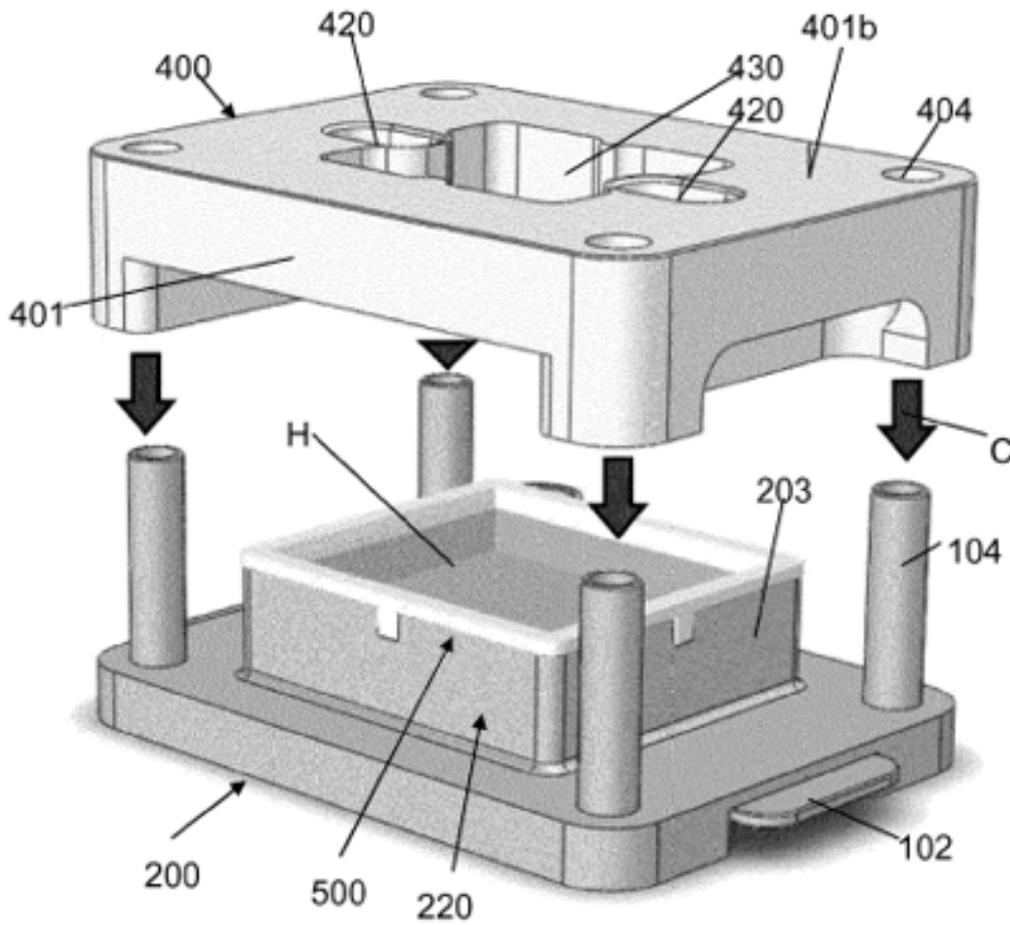


Figura 9



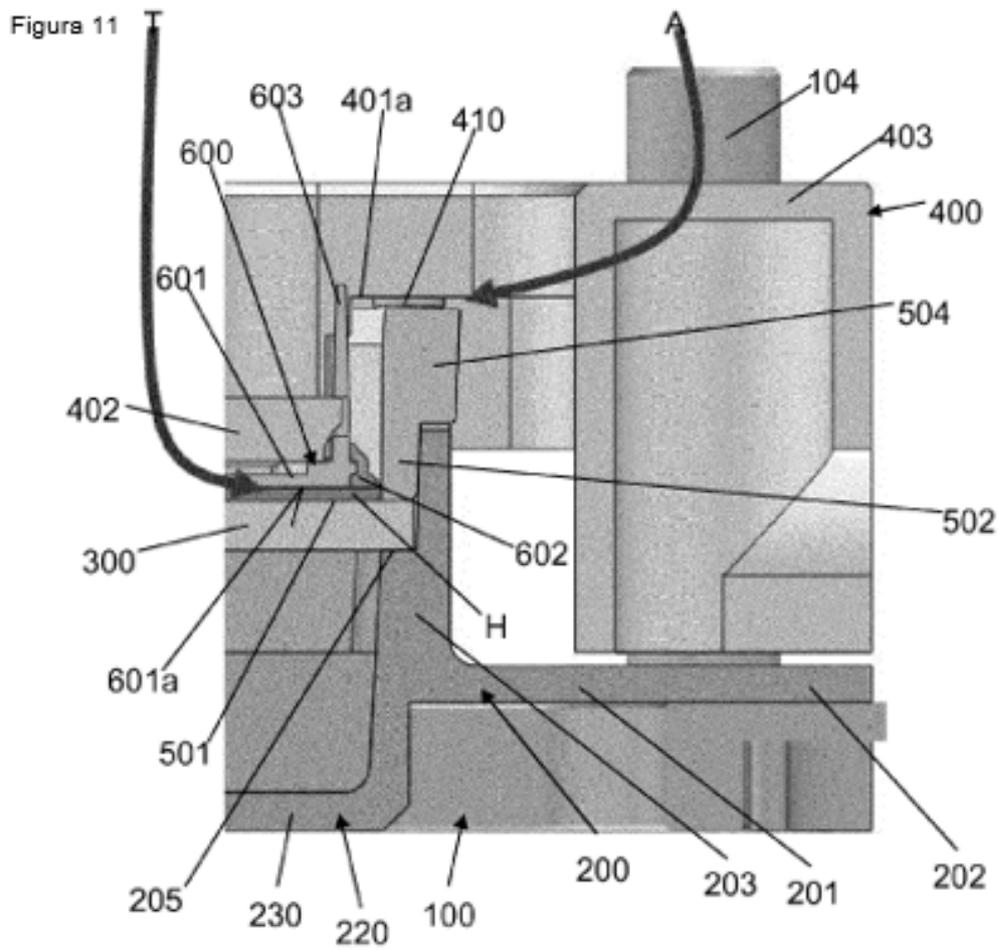
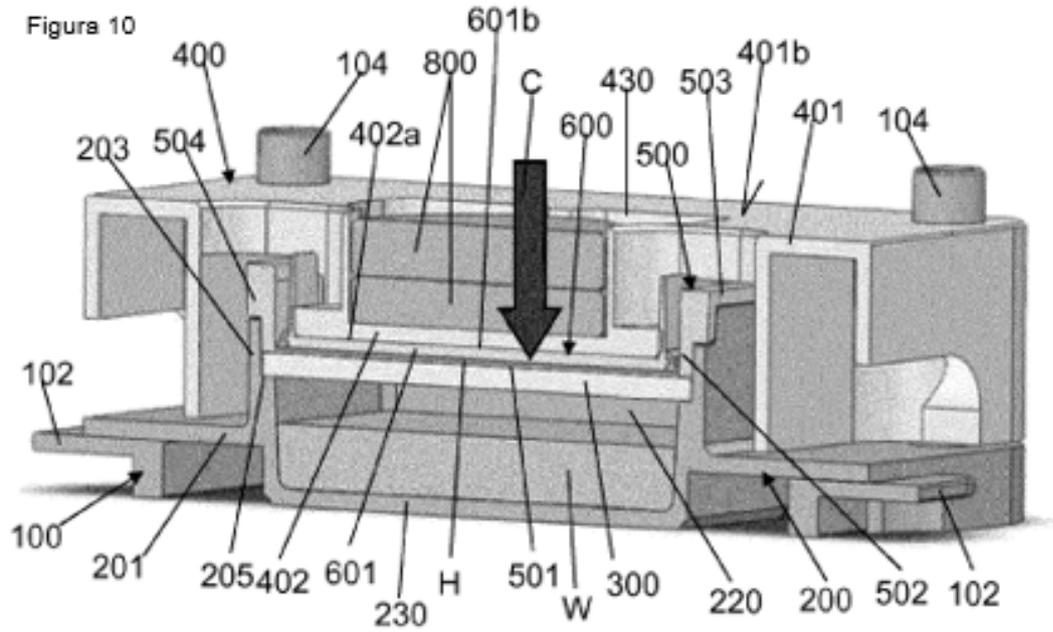


Figura 12

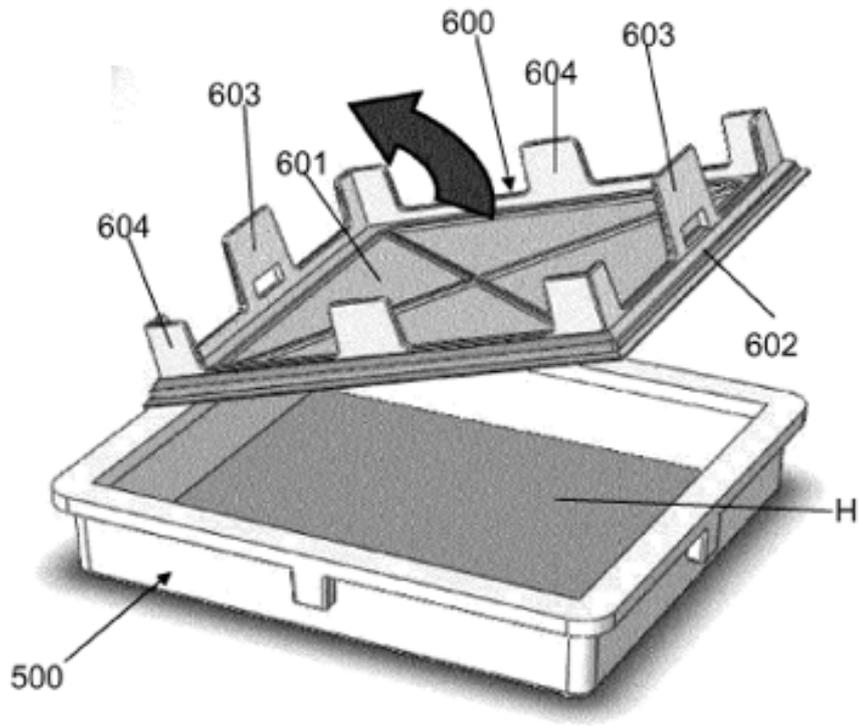


Figura 13

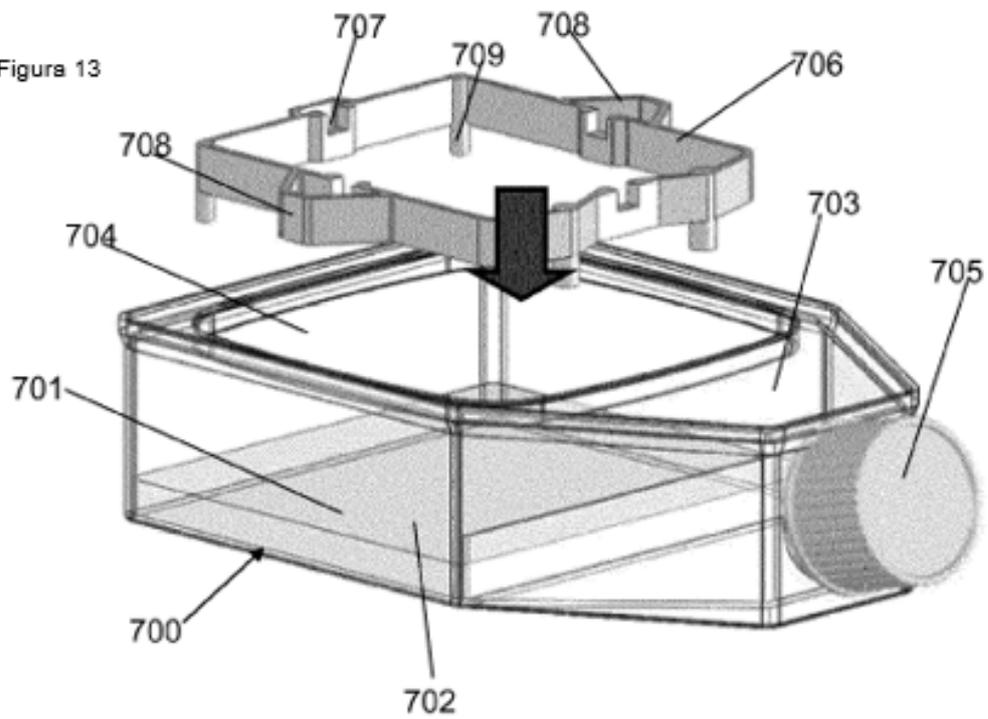


Figura 14

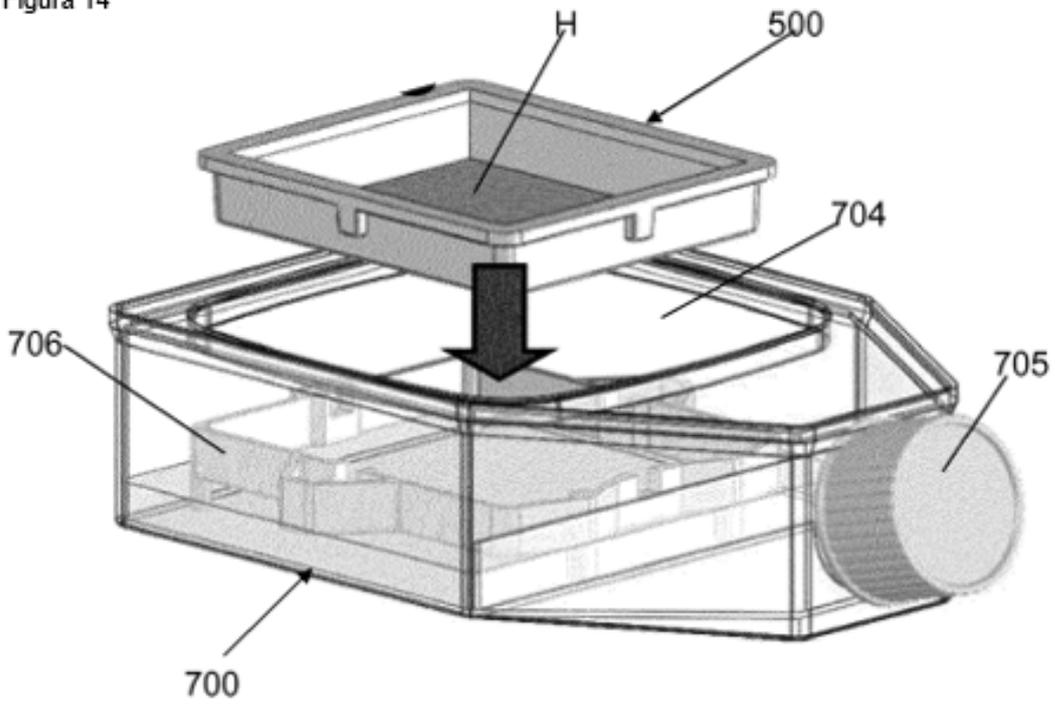


Figura 15

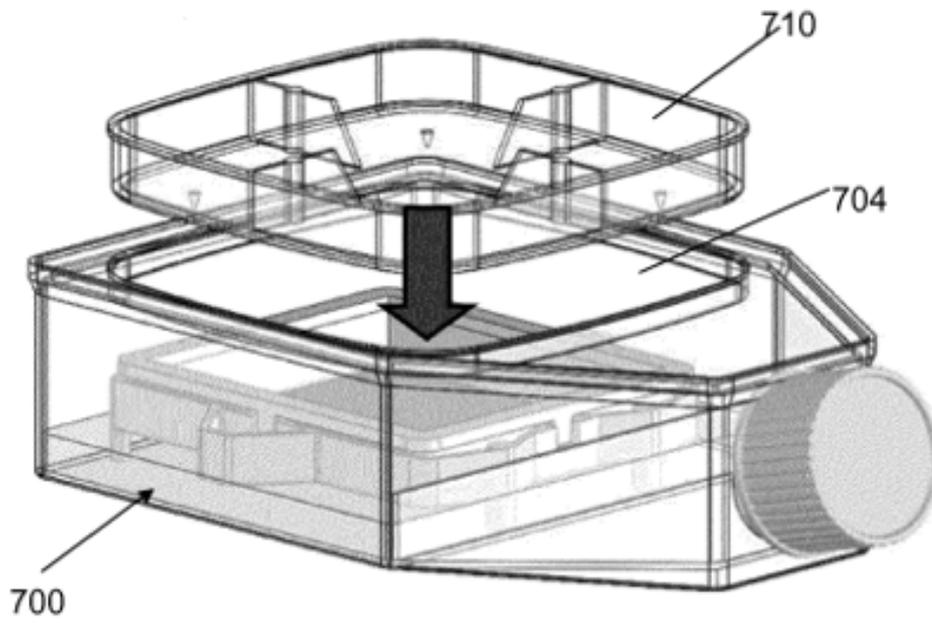
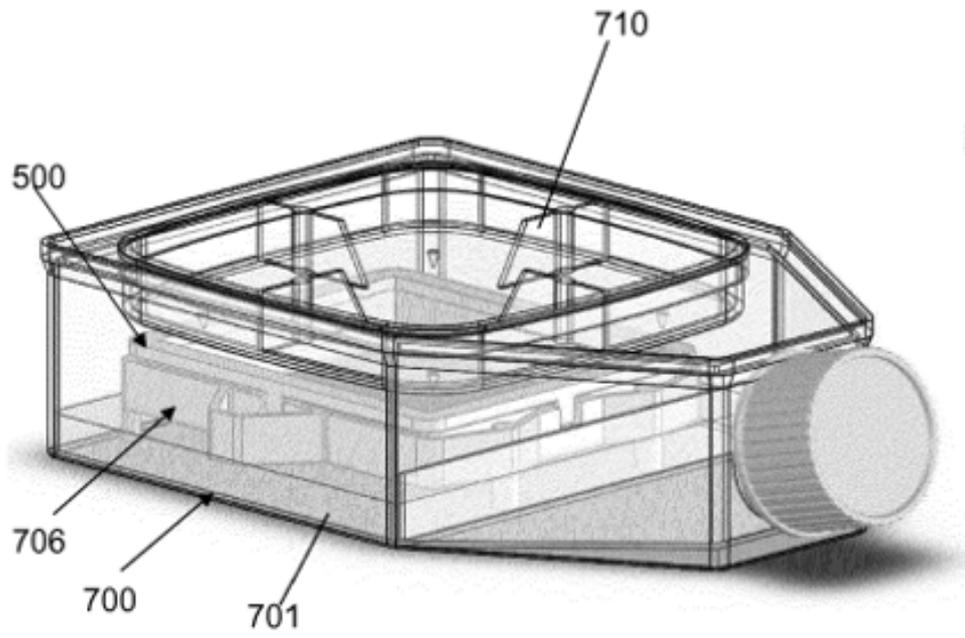


Figura 16



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es para la conveniencia del lector solamente. No forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha puesto gran cuidado para la recopilación de las referencias, no se puede excluir la existencia de errores u omisiones y la Oficina de Patentes Europea declina toda responsabilidad al respecto.

5

Documentos de patente citados en la descripción

- **WO 2012004564 A1 [0006]**

Literatura no patente citada en la descripción

- Determining the conditions that regulate epidermal stratification in vitro: Engineering an epidermal substitute in 3 steps, Master Thesis in Human Biology. **DIEZI ; MIRCO**. Tissue Biology Research Unit. University of Zurich, February 2009 [0072]
- **BAROLI, B.** Hydrogels for tissue engineering and delivery of tissue-inducing substances. *J Pharm Sci*, 2007, vol. 96 (9), 2197-223 [0072]
- **MIMURA, T. et al.** Tissue engineering of corneal stroma with rabbit fibroblast precursors and gelatin hydrogels. *Mol Vis*, 2008, vol. 14, 1819-28 [0072]
- **STARK, H.J. et al.** Organotypic keratinocyte cocultures in defined medium with regular epidermal morphogenesis and differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 1999, vol. 112 (5), 681-691 [0072]
- **YAMAOKA, H. et al.** Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. *J Biomed Mater Res A*, 2006, vol. 78 (1), 1-11 [0072]
- **FERGUSON, R.E. ; B. RINKER.** The use of a hydrogel sealant on flexor tendon repairs to prevent adhesion formation. *Ann Plast Surg*, 2006, vol. 56 (1), 54-8 [0072]