

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 551 143**

21 Número de solicitud: 201430701

51 Int. Cl.:

A61L 27/60 (2006.01)

A61L 27/38 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

13.05.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

16.11.2015

Fecha de la concesión:

24.06.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

01.07.2016

73 Titular/es:

FUNDACIÓN TEKNIKER (33.3%)

C/ Iñaki Goenaga 5

20600 Eibar (Gipuzkoa) ES;

**CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGÉTICAS,
MEDIOAMBIENTALES Y TECNOLÓGICAS**

(CIEMAT) (33.3%) y

**CENTRO COMUNITARIO DE SANGRE Y TEJIDOS
DE ASTURIAS (CCST) (33.3%)**

72 Inventor/es:

MERINO ÁLVAREZ, Santos;

RETOLAZA MUÑOA, Aritz;

AZCÁRATE LETURIA, Sabino;

JORCANO NOVAL, José Luis;

HOLGUÍN FERNÁNDEZ, Almudena;

DUARTE GONZÁLEZ, Blanca;

MEANA INFIESTA, Álvaro;

GARCÍA PÉREZ, Eva y

GÓMEZ LLAMES, Sara

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

54 Título: **Dermis artificial, piel artificial, métodos para su preparación y sus usos**

57 Resumen:

Dermis artificial, piel artificial, métodos para su preparación y sus usos.

La presente invención se refiere a una dermis artificial que comprende una primera capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una segunda capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una red de polímero situada entre la primera y la segunda capas de gel. La invención también se refiere a una piel artificial que comprende dicha dermis artificial con al menos una capa de células epiteliales. La invención desvela métodos para la preparación de la dermis artificial y de la piel artificial, así como sus usos en la preparación de un medicamento, en particular para el tratamiento de reepitelialización de un paciente que lo necesite.

ES 2 551 143 B1

DESCRIPCIÓN

DERMIS ARTIFICIAL, PIEL ARTIFICIAL, MÉTODOS PARA SU PREPARACIÓN Y SUS USOS**CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a una dermis artificial que comprende capas de gel hechas a partir de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas, y células dérmicas embebidas, y una red de polímero entre capas de gel. La invención también se refiere a una piel artificial que comprende dicha dermis artificial y que comprende adicionalmente células epiteliales que se siembran sobre la superficie de esta dermis artificial. Tanto la dermis artificial como la piel artificial son especialmente útiles para el tratamiento, por ejemplo, de quemaduras importantes, úlceras crónicas, en ensayos para controlar la sensibilidad a diferentes productos, etc. Mediante el uso de células alteradas genéticamente, la dermis y la piel artificial también se pueden usar como un vehículo para terapia genética.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La piel es un tejido formado por dos partes, el epitelio o parte externa y la dermis, o la parte interna sobre la que se sitúa el epitelio. Estas dos partes tienen características claramente diferentes. Prácticamente no existe tejido extracelular en la epidermis, mientras que este componente es claramente predominante sobre células en la dermis.

La piel es un tejido que se puede reconstruir mediante técnicas de ingeniería de tejidos (Parenteau N, Sci Am, 280: 83 84, 1999). En estas técnicas, en general, el componente celular se genera "ex vivo" mediante técnicas de cultivo celular. Estas técnicas comienzan con un número pequeño de células tomadas a partir de una pequeña biopsia de piel, que a continuación se cultivan o se "expanden" para obtener un gran número de células en un breve periodo de tiempo. Estas células expandidas "ex vivo" se pueden usar para desarrollar grandes áreas de piel artificial. La matriz extracelular no se puede producir mediante cultivo celular, pero previamente se diseña y se prepara fuera del organismo. La matriz extracelular tiene que ser capaz de proporcionar estructuras que faciliten la adhesión de las células dérmicas cultivadas previamente y que estimulen el crecimiento normal de estas células. En esta matriz artificial, las células comienzan a fabricar las proteínas normales que constituyen la matriz dérmica natural, y al mismo tiempo, estas degradan lentamente la estructura original, de modo que con el tiempo, esta matriz artificial se reemplaza con una matriz extracelular real idéntica a una natural. Las células epiteliales cultivadas previamente (queratinocitos en el caso de la piel) se pueden sembrar sobre esta matriz artificial, en la que con nuevas técnicas de cultivo celular, estas células son capaces de generar una estructura que es muy similar al epitelio normal a partir del cual se originan. En otras palabras, uno de los factores clave en ingeniería de tejido de piel es el diseño de matrices dérmicas que imiten las condiciones naturales del organismo tanto como sea posible, y en las que las células introducidas sean capaces de comenzar un proceso complejo, cuyo fin es desarrollar una estructura tan similar como sea posible a la piel natural.

El otro factor clave en la ingeniería de tejidos para piel es la capacidad de la matriz dérmica para facilitar el crecimiento de las células que se siembran sobre ella. El desarrollo de matrices dérmicas que estimulan el crecimiento de células tanto dérmicas como epidérmicas significaría que podría ser posible cultivar grandes áreas de piel artificial a partir de una biopsia menor. Esto es especialmente importante cuando la piel artificial se va a usar para tratar quemaduras importantes, en las que hasta un 90 – 95 % del área de la superficie total del organismo se tiene que reemplazar tan rápidamente como sea posible, usando las áreas pequeñas de piel sana que permanecen en el paciente. La falta de matrices dérmicas capaces de generar estas áreas grandes de piel artificial a partir de biopsias menores es una de las limitaciones de las matrices dérmicas que se han descrito anteriormente (Sheridan R y Tompkins, Burns 25: 97 103, 1999).

Existen varios modelos de dermis artificial. Por ejemplo, el documento EP 1375647 B1 desvela una matriz dérmica para uso en la generación de una dermis artificial. En este modelo, la matriz dérmica se prepara tal como sigue a continuación: se prepara una solución de plasma sanguíneo que comprende plaquetas y que contiene adicionalmente células dérmicas cultivadas "ex-vivo"; dicha solución se coagula a continuación para formar una capa de gel sobre la que se siembran queratinocitos y se cultivan hasta confluencia total o parcial. La capa de gel obtenida de este modo con los queratinocitos cultivados se puede fijar a continuación a un soporte sólido para permitir el transporte sin perder su integridad o degradación. Tal como se desvela en el documento EP 1375647 B1, dicho soporte sólido se fija a la superficie superior de la dermis artificial en la que se siembran los queratinocitos. En general, dicho soporte puede ser cualquier soporte sólido por ejemplo de ácido poliláctico-poliglicólico; o puede ser una membrana de silicio en cuyo caso se puede fijar a la capa de gel mediante un pegamento orgánico tal como fibrina; o también puede ser una gasa, empapada en vaselina o no, que se puede fijar mediante un pegamento inorgánico inerte de uso clínico u otro sistema mecánico. De acuerdo con el documento EP 1375647 B1, la matriz dérmica que se desvela permite la preparación de una dermis artificial adecuada para su uso en injertos de piel, y se ha usado satisfactoriamente en el tratamiento de epidermolisis bullosa.

Sin embargo, la matriz dérmica experimenta inconvenientes y su aplicación por ejemplo en terapia no es totalmente satisfactoria. Una de estas desventajas es que se requiere una manipulación extremadamente cuidadosa para asegurar que la lámina de matriz permanezca intacta y adecuada para el implante.

Otros sustitutos de piel artificial incluyen el uso de estructuras poliméricas tales como armazones para el cultivo

de piel artificial. El reemplazo dérmico Dermagraft™ para uso en el tratamiento de úlceras del pie diabético se prepara mediante la siembra de fibroblastos sobre una malla de poligalactina. Adicionalmente, también se conoce el cultivo de queratinocitos sobre una superficie de polímero, bien solo (documento WO99/064563) o bien en conjunto con fibroblastos (documento WO01/066695).

5 En vista de lo anterior, aún existe la necesidad en el estado de la técnica de proporcionar una dermis artificial alternativa y una piel artificial alternativa que superen al menos alguno de los inconvenientes asociados con las dermis y las pieles artificiales del estado de la técnica, que muestren una mayor solidez y firmeza, seann más fáciles de manipular, y permitan un tratamiento mejorado, eficaz de pacientes que requieren reepitelialización.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15 En un primer aspecto, la invención se refiere a una dermis artificial que comprende una primera capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, una segunda capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una red de polímero situada entre la primera y la segunda capas de gel.

La dermis artificial, denominada en lo sucesivo en el presente documento dermis artificial de la invención, tiene un espesor definido de aproximadamente 0,15 cm a aproximadamente 5 cm, preferentemente de aproximadamente 0,3 cm a aproximadamente 1,0 cm.

20 La dermis artificial de la invención se puede generar en una amplia diversidad de tamaños que varían, por ejemplo, entre aproximadamente 1 cm² y aproximadamente 100 cm², más preferentemente de aproximadamente 10 cm² a aproximadamente 90 cm², aún más preferentemente de aproximadamente 30 cm² a aproximadamente 80 cm². La dermis artificial también puede presentar diferentes formas.

25 La dermis artificial de la invención tiene preferentemente uno o más bordes sustancialmente lineales, que permiten la alineación fácil de secciones individuales de dermis artificial juntas durante los procedimientos de implante. La dermis tiene un grado de elasticidad, y por esta razón los bordes no necesitan ser exactamente lineales para permitir la alineación mutua, tal como el experto en la materia observa rápidamente.

30 La red de polímero de la dermis artificial consiste en una lámina polimérica que comprende poros. Los poros pueden presentar diferentes formas y tamaños dependiendo del método para su fabricación. Las formas de los poros pueden ser muy diferentes variando de forma cuadrada a forma circular, incluyendo por ejemplo poros elípticos, sin limitación. Los tamaños de los poros también pueden variar dentro de un amplio intervalo, y por lo general tienen entre 10 µm y 1000 µm de diámetro en el caso de los poros circulares, o presentan un lado de entre 10 µm y 1000 µm en el caso de los poros cuadrados.

Dado que la dermis artificial está destinada a su uso en el tratamiento de un paciente que la necesita, el polímero es preferentemente biocompatible y biodegradable.

35 El término "polímero" pretende incluir cualquier compuesto que este formado por unidades de repetición de monómeros, y por lo tanto incluye polímeros formados por una sola unidad de monómero, y copolímeros formados por al menos dos monómeros diferentes, por ejemplo, 2, 3, 4 o más.

40 De acuerdo con una realización en particular, dicho polímero se puede seleccionar entre el grupo que consiste en poli(metacrilato de metilo), polilactida, que incluye poli (L-lactida) (LPLA) y poli-(dl-lactida) (DLPLA), poliglicólido (PGA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), policaprolactona, (tal como poli(ε-caprolactona) (PCL)), polidioxanona (PDO), poli(glicólido-co-trimetileno-carbonato), poligliconato y sus mezclas. De acuerdo con una realización preferente, el polímero es PLGA. Cuando se usa PLGA, es más preferente que al menos un 50 % de las unidades de monómero sean ácido láctico. En una realización alternativa, la relación de unidades de monómero de ácido láctico a glicólico varía entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 17:3. La Tabla 1 proporciona varios ejemplos de polímeros, en general, y varios ejemplos de copolímeros de PLGA que tienen relaciones adecuadas de unidades de ácido láctico a ácido glicólico, por ejemplo 85/15; 75/25; 65/35; y 50/50. Estas relaciones se pueden aplicar de forma similar para otros copolímeros.

50 La dermis artificial de la invención puede comprender una o más capas de gel adicionales y una o más redes de polímero además de la dermis artificial tal como se ha descrito anteriormente con una primera capa de gel, una red de polímero, y una segunda capa de gel. En estas realizaciones de la dermis artificial de la invención, la disposición alternante de la capa de gel/ red de polímero/ capa de gel se mantiene. En este sentido, ejemplos de posibles dermis artificiales de la invención, presentan las siguientes estructuras de repetición:

- (i) capa de gel/red de polímero/capa de gel/red de polímero, o
- (ii) capa de gel/red de polímero/capa de gel/red de polímero/capa de gel, o
- 55 (iii) capa de gel/red de polímero/capa de gel/red de polímero/capa de gel/red de polímero,

y así sucesivamente.

En consecuencia, la dermis artificial de la invención incluye 2, 3, 4, 5, o varias capas de gel. En consecuencia, la dermis artificial de la invención incluye 2, 3, 4, o incluso más redes de polímero.

La dermis artificial de la invención es más robusta y firme que la dermis que se desvela en el documento EP 1375647 B1, y esto no se debe solamente al soporte mecánico y a la consistencia proporcionada por la red de polímero, sino que también se debe al hecho de que las células se comunican a través de los poros de la red.

Las capas de gel de la dermis artificial pueden ser iguales o diferentes con respecto a su composición, por ejemplo con respecto al tipo y origen de sus células dérmicas. Cuando la dermis artificial comprende al menos dos redes poliméricas, las redes poliméricas también pueden del mismo tipo o diferente, con respecto a su composición y a sus características.

En este sentido, se pueden usar diversos espesores de red de polímero, y los espesores pueden variar entre diferentes redes de polímero dentro de la misma dermis artificial. Ejemplos espesores adecuados son los que varían de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 100 micrómetros, preferentemente de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 40 micrómetros, e incluso más preferentemente de aproximadamente 25 micrómetros a aproximadamente 35 micrómetros.

Las capas de gel de la dermis artificial de la invención comprenden células dérmicas tales como células madre mesenquimales (MSC), células endoteliales, o fibroblastos. De acuerdo con una realización preferente las células dérmicas son fibroblastos. De acuerdo con la invención, las células dérmicas presentes en la primera y en la segunda capa de gel, y en otras capas de gel adicionales, cuando sea apropiado, pueden ser del mismo o diferente tipo y origen.

El plasma sanguíneo usado para preparar la capa de gel que comprende plaquetas y las células dérmicas puede tener su origen en cualquier fuente animal. De acuerdo con una realización en particular el plasma sanguíneo y las células dérmicas son de origen humano. Tanto el plasma sanguíneo como las células dérmicas pueden tener su origen en un sujeto donante adecuado (es decir, pueden ser alogénicos con respecto al paciente que se tratará con la dermis artificial o con la piel artificial de la invención) o pueden tener origen autólogo (es decir, pueden tener su origen en el mismo paciente que se va a tratar).

Las fuentes adecuadas de células dérmicas incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares y biopsias, por ejemplo de piel. Las células dérmicas se aíslan lo más preferentemente del tejido del sujeto donante o paciente y a continuación se cultivan o se expanden "ex-vivo" antes de su uso en la preparación de las capas de gel de la dermis artificial. En la técnica se conocen bien métodos para el cultivo o expansión de células.

Por ejemplo, en una realización de la invención, se pueden aislar fibroblastos a partir de la muestra dérmica de un sujeto donante o de un paciente con necesidad del tratamiento. La muestra dérmica se trata con colagenasa que libera por lo tanto los fibroblastos, que a continuación se aíslan (por ejemplo, por centrifugación) y a continuación se cultivan "ex-vivo".

Las MSC se pueden obtener a partir de cualquier fuente adecuada de tejido conectivo a partir de cualquier animal adecuado, pero preferentemente serán de origen humano. Es preferente que las MSC se obtengan a partir de fuentes de mamífero no patológicas, preferentemente post-natales (por ejemplo, roedores; primates). En una realización preferente, las MSC se obtienen a partir de una fuente de tejido conectivo, tal como, pero no se limita a, la fracción del estroma de tejido adiposo, cartílago hialino, médula ósea o piel. Preferentemente, las MSC se obtienen a partir de tejido adiposo del estroma humano, post-natal, no patológico.

Fuentes adecuadas de células de fibroblastos incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares y biopsias, por ejemplo fibroblastos cultivados a partir de prepucios obtenidos en operaciones de fimosis y/o fibroblastos dérmicos a partir de adultos sanos, obtenidos, por ejemplo, a partir de una biopsia de piel; los fibroblastos autólogos por ejemplo, se pueden obtener a partir de una biopsia de piel extraída del mismo sujeto que se va a tratar con la dermis artificial o piel artificial de la invención.

A modo de un ejemplo, se obtendrán diferentes líneas de fibroblastos humanos a partir de prepucios humanos obtenidos después de cirugía programada de fimosis o a partir de una biopsia de piel. La muestra se recoge en un medio de transporte (medio de eagle modificado con Dulbecco (DMEM), albúmina de suero bovino fetal al 10 %, 100 u/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin). En el laboratorio, la muestra se lava, preferentemente tres veces en solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS), y se corta cuidadosamente en piezas. Se puede introducir en 30 ml de tripsina al 0,05 % y solución de ácido etilendiamintetraacético al 0,02 % (EDTA) a la vez que se agita a 37 °C. Cada 30 minutos, la tripsina se recoge y se cambia por tripsina recién preparada. A continuación, la tripsina se neutraliza por adición de medio de cultivo completo (por ejemplo, DMEM, suero bovino fetal al 10 %). La operación se repite hasta que no se obtienen más células. Las células obtenidas se colocan en una placa de cultivo a una densidad de 100.000 células por cm² de superficie de cultivo. El medio se cambia cada 72 horas hasta que las células son confluentes. Después de la confluencia, estas células se pueden tripsinar y se puede preparar cultivos secundarios en una proporción de dos placas de cultivo para cada placa de cultivo en la fase anterior. Cuando las células muestran una sola capa de células similares a fibroblastos, parte de ellas se puede congelar, usando la técnica habitual, y se almacenan en crioviales en nitrógeno líquido. Los

pases ideales para el uso de estos fibroblastos están entre el 4^o y el 12^o.

Cuando se usan fibroblastos humanos en la dermis artificial del mismo paciente que se va a tratar, es posible proceder de la misma manera. Por ejemplo, una biopsia de piel del paciente se puede procesar tal como se ha descrito anteriormente. Una vez que se obtienen las células, parte de ellas se pueden cultivar, por ejemplo, en DMEM suero bovino fetal al 10 % a una densidad de aproximadamente 100.000 células por cm². Los subcultivos correspondientes se pueden propagar hasta que se obtenga un número suficiente de fibroblastos humanos para preparar la dermis artificial que el paciente necesita.

A continuación, los fibroblastos humanos cultivados se pueden tripsinar, recontar y volver a suspender en medio de cultivo, preferentemente, para uso inmediato en la preparación de la dermis artificial de la invención.

Preferentemente, las células dérmicas se proporcionan en cada una de las capas de gel como una capa de células confluentes o parcialmente confluentes. El grado de confluencia puede variar entre una confluencia de un 50 % y un 100 %, por ejemplo, una confluencia de al menos un 60 %, o al menos un 70 %, o al menos un 80 %, o al menos un 90 % o al menos un 100 %. La concentración inicial de células dérmicas dentro del gel puede variar considerablemente. En general, se recomienda una concentración no inferior a 500 células dérmicas/cm² de superficie de gel, aunque puede ser mayor, pero preferentemente inferior a 4.000 células/cm².

El plasma sanguíneo que comprende plaquetas para uso en la preparación de las capas de gel de la dermis artificial de la presente invención se pueden preparar mediante cualquier medio conocido la técnica, tal como observará el lector experto en la materia, incluyendo la preparación a partir de sangre total o entera. La sangre se puede extraer con medios convencionales, tal como, punción en la vena. Es preferente que la extracción de la sangre entera se realice en presencia de agentes anticoagulantes adecuados para su uso en situaciones clínicas, preferentemente agentes que actúen por medio de la quelación de la concentración de calcio ionizado en la sangre total (por ejemplo, citrato sódico, EDTA, o heparina sódica). La sangre se puede extraer y/o almacenar en envases conocidos en la técnica para dichos fines, tales como bolsas de hemoterapia o, para pequeñas cantidades, pequeños envases de tipo Vacutainer. A continuación, el plasma sanguíneo que comprende plaquetas se puede aislar a partir de la sangre entera extraída con medios conocidos en la técnica tales como centrifugación a baja velocidad (aproximadamente 1500 rpm, preferentemente durante 5 minutos; alrededor de 160 g) para obtener un plasma sanguíneo que es muy rico en plaquetas, o a alta velocidad (entre 2900-3000 rpm, preferentemente durante 10 minutos; alrededor de 400 g) para obtener un producto con una concentración más baja de dichas células plaquetarias. En una realización en particular de la invención, el plasma sanguíneo se puede enriquecer en factores de crecimiento, tales como los de origen plaquetario. El experto en la materia es capaz de enriquecer en factores plaquetarios durante la preparación de plasma mediante la selección de técnicas de centrifugación apropiadas, usando su conocimiento habitual general. Como alternativa, el plasma sanguíneo también se puede extraer de la sangre total por medio de plasmaféresis.

Una vez que se ha aislado el plasma sanguíneo, se puede usar directamente para formar una capa de gel de acuerdo con la invención o se puede congelar, por ejemplo, a -20 °C para un uso posterior. Antes de su almacenamiento, el plasma también se puede tratar para asegurar que se eliminan todos los microorganismos por ejemplo, mediante tratamiento con azul de metileno. Esto es particularmente importante si el plasma se va a usar en la preparación de una dermis o piel artificial para el tratamiento de un sujeto no donante (es decir, alogénico).

El plasma sanguíneo usado en la preparación de dermis artificial de la presente invención comprende fibrinógeno. Este está preferentemente en un nivel mínimo de aproximadamente 1,67 mg/ml, las preferentemente de al menos aproximadamente 2 mg/ml. Sin embargo, el nivel también puede ser tan bajo como 0,4 mg/ml, o tan alto como 4 mg/ml. Como un ejemplo, se pueden usar entre aproximadamente 2 ml y aproximadamente 30 ml de plasma sanguíneo en la preparación de una capa de gel que tiene un área de superficie de aproximadamente 70 a aproximadamente 90 centímetros cuadrados.

Una descripción detallada de métodos para la preparación de capas dérmicas a partir de plasma sanguíneo y células dérmicas está contenida en el documento EP 1375647 B1 desde el párrafo [0007] al [0044] cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un método para la preparación de la dermis artificial de la invención, que comprende las siguientes etapas:

- (i) Proporcionar una primera y opcionalmente también una segunda solución de reacción que comprende plasma sanguíneo con plaquetas y células dérmicas,
- (ii) Coagular al menos una parte de la primera solución de reacción para proporcionar una primera capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas,
- (iii) Aplicar una red de polímero sobre dicha primera capa de gel,
- (iv) Coagular una parte adicional de la primera solución de reacción o al menos una parte de la segunda solución de reacción que comprende plasma sanguíneo con plaquetas y células dérmicas, sobre la superficie de la red de polímero mencionada para proporcionar una segunda

capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas.

En la primera etapa del método, se prepara una primera solución de reacción que comprende plasma sanguíneo con plaquetas y células dérmicas. Opcionalmente, se prepara una segunda solución de reacción si se desea una dermis artificial con diferentes capas de gel. Se puede preparar una solución de reacción por combinación o por mezcla de plasma sanguíneo que comprende plaquetas, obtenido tal como se ha desvelado anteriormente, con células dérmicas obtenidas y cultivadas tal como se ha descrito anteriormente, de modo que las células dérmicas se dispersen o se suspendan dentro del plasma. Del mismo modo se pueden usar diferentes células dérmicas con respecto a su tipo y origen para preparar una solución de reacción.

La solución de reacción se puede diluir con agentes apropiados, por ejemplo, pero no limitados a, solución salina.

En la segunda etapa del método, se forma una primera capa de gel a partir de una parte de la primera solución de reacción. Esta parte de la solución de reacción se coloca preferentemente dentro de un envase o molde que sea adecuado para la formación de una capa de gel esencialmente plana, y a continuación se coagula mediante tratamiento en condiciones adecuadas tales que la solución se convierte en un gel. En la técnica son bien conocidos métodos para la preparación de un gel a partir de una solución de reacción, e incluyen tratamiento con agentes de coagulación, tales como, pero no se limitan a sales de calcio (por ejemplo, un cloruro cálcico al 1 %, disuelto por ejemplo en cloruro sódico al 0,9 %) y trombina exógena.

El gel se forma a partir del fibrinógeno presente en el plasma, por la acción de trombina humana o bovina exógena e iones de calcio. En una realización alternativa, el proceso de coagulación se puede conseguir mediante la adición de agentes no proteicos.

El plasma derivado de la sangre, a diferencia de los concentrados de fibrinógeno bien conocidos en el estado de la técnica, proporciona todos los componentes para la cascada de coagulación, incluyendo la trombina que está presente en la forma de su precursor (inactivo), protrombina. La gelificación, y por lo tanto la producción de la capa de gel de la dermis artificial, se puede realizar mediante la estimulación de la ruta de coagulación intrínseca mediante la adición de calcio en presencia de fosfolípidos de origen plaquetario. Es particularmente preferente que el gel se forme, al menos en parte, mediante la conversión de fibrinógeno en fibrina que a continuación proporciona el componente de la estructura principal del gel. Otros componentes estructurales del gel pueden incluir, por ejemplo, fibronectina plasmática.

Además, otras proteínas que están presentes en el plasma sanguíneo, por ejemplo, albúmina, globulinas, factores de crecimiento, plasminógeno, etc., están implicadas en la formación y en la estabilidad del gel y en el crecimiento de las células que se cultivan en el gel.

Opcionalmente, la formación del gel por medio de agentes de coagulación se puede ver ayudada por la adición de agentes anti-fibrinolíticos a la solución de reacción, tales como, pero no limitados a aprotonina, ácido tranexámico (TXA), y ácido ϵ -aminocaproico (EACA). Es preferente el uso de dichos agentes cuando la solución de reacción comprende 2 mg/ml o menos de fibrinógeno.

En la tercera etapa, se aplica una red de polímero sobre dicha primera capa de gel por medios manuales.

La red de polímero se ha obtenido anteriormente por métodos convencionales de la técnica. En una realización en particular, la red se prepara por estampado en caliente. En este caso particular, se usa un sello de silicio fabricado tal como se hace referencia en (1) ["The influence of stamp deformation on residual layer homogeneity in thermal nanoimprint lithography". S. Merino, A. Retolaza, A. Juarros, H. Schiff. Microelectronic Engineering 85 (2008) 1892] que presenta la inversa de la formación de patrones en 3D a estampar sobre la lámina de polímero. El sello y la lámina de polímero se calientan a una temperatura superior a la temperatura de transición vítrea del polímero y se aplica una fuerza a la pila a esta temperatura. El polímero fluye, y ocupa los motivos del molde tridimensionales. A continuación, la pila se enfría a temperatura y se desmoldea (2) ["The use of automatic demoulding in Nanoimprint Lithography processes". S. Merino, H. Schiff, A. Retolaza, T. Haatainen. Microelectronic Engineering 84 (2007) 958]. Se obtiene una estructura de polímero con un patrón 3D estampado. La lámina con el patrón 3D se introduce a continuación en una cámara de vacío. A continuación se aplica plasma de oxígeno a la lámina de polímero con el fin de conseguir agujeros que atraviesen la lámina de polímero mientras que el patrón se mantiene en toda la superficie.

La dermis artificial y la piel artificial de la presente invención se pueden retirar del molde y aplicar directamente un paciente.

Es particularmente preferente que la red de polímero se aplique antes de la finalización de la etapa de gelificación previa, pero después de la adición de cualquier agente de gelificación o coagulación (es decir, la red de polímero se aplica de este modo a una superficie semisolidificada antes de la finalización del proceso de gelificación). En una realización del método, en el que un agente o agentes exógenos (por ejemplo trombina y/o calcio) se añade a la solución de reacción para inducir la formación de un gel, la red de polímero se aplica entre

aproximadamente 5 minutos y 30 minutos después de la adición de dicho agente o agentes (por ejemplo, a los 10, 15, 20, o 25 minutos).

En la cuarta etapa, se forma una segunda capa de gel a partir de una parte adicional de la misma solución de reacción usada en la primera capa de gel o a partir de una solución de reacción diferente. Esta parte de una solución de reacción se aplica a la superficie de la red de polímero y a continuación se coagula por tratamiento en condiciones adecuadas de modo que la solución se convierte en una segunda capa de gel. La coagulación se puede realizar mediante cualquiera de los medios que se han desvelado anteriormente.

De acuerdo con una realización en particular del método, la etapa (iv) y opcionalmente también la etapa (iii) se pueden repetir en este orden para proporcionar una dermis artificial con las estructuras que se han desvelado anteriormente. Por lo tanto, las etapas (iii) y (iv) se pueden repetir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces para proporcionar una dermis artificial que comprende una pluralidad de capas de gel y redes de polímero.

Además de la etapa (iv), el método para preparar la dermis artificial de la invención puede comprender el almacenamiento de la dermis artificial en condiciones apropiadas hasta que se consiga la confluencia o la pre-confluencia de las células dérmicas dentro de dicha dermis artificial. En una realización del método, esto puede necesitar entre aproximadamente 8 y aproximadamente 12 días. En consecuencia, la presente invención proporciona una dermis artificial de la invención que tiene células dérmicas que tienen una confluencia de al menos un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 % o incluso un 100 %.

La dermis artificial de la presente invención se puede almacenar en un medio de cultivo apropiado a un máximo de 37 °C antes de la aplicación a un paciente.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una piel artificial, también denominada en lo sucesivo en el presente documento la piel de la invención. La piel de la invención comprende la dermis artificial de la presente invención y al menos una capa de células epiteliales.

Dicha al menos una capa de células epiteliales se puede situar en principio en cualquier posición entre cualquier capa de gel y una red de polímero contigua de la dermis artificial. De acuerdo con una realización preferente, dicha al menos una capa de células epiteliales se coloca en la superficie exterior de la dermis artificial. De acuerdo con una realización particular, dicha superficie externa de la dermis es de una capa de gel. De acuerdo con otra realización en particular, dicha superficie externa es de una red de polímero.

Las células epiteliales de la capa pueden tener su origen en cualquier fuente animal adecuada pero lo más preferentemente son de origen humano. Las células epiteliales pueden tener su origen en un sujeto donante adecuado (es decir, pueden ser alogénicas con respecto al paciente tratado con la dermis artificial o la piel artificial de la invención) pueden tener origen autólogo (es decir, pueden tener su origen en el mismo paciente que se va a tratar).

Las células epiteliales se aíslan lo más preferentemente de tejido de sujeto donante o de sujeto paciente y se cultiva no se expanden "ex-vivo" antes de su uso en la preparación de la piel o epidermis artificial tal como se desvela a continuación. Las fuentes adecuadas de células epiteliales incluyen, pero no se limitan a líneas celulares y biopsias.

En la técnica son bien conocidos métodos para el cultivo de células epiteliales y se puede usar cualquier método adecuado. Este puede incluir, por ejemplo, cultivo celular en presencia de células alimentadoras (tales como, pero no limitadas a, células 3T3-Swiss irradiadas), o el uso de medios de cultivo celular especializados tales como, pero no limitados a, medios bajos en calcio.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para preparar la piel artificial de la invención. Este método comprende las siguientes etapas:

- (i) preparar una dermis artificial de acuerdo con la presente invención,
- (ii) sembrar células epiteliales sobre al menos la superficie de una capa de gel o red de polímero; y
- (iii) cultivar las células hasta que se produzca una capa de células epiteliales.

Preferentemente, las células epiteliales se siembran a una densidad de entre aproximadamente 1.500 y aproximadamente 15.000 células por centímetro cuadrado de área de superficie de la dermis artificial (por ejemplo, 2.500; 5.000; 7.500; 10.000; 12.500 células por cm²).

Las células epiteliales colocadas sobre la superficie de la dermis artificial se adherirán y proliferarán en condiciones de cultivo apropiadas, así como las células dérmicas dentro del gel de dermis artificial, durante la etapa (iii), formando las células epiteliales una capa.

En consecuencia, en una realización particular, la etapa (iii) se realiza almacenando la piel artificial obtenida en

la etapa (ii), en condiciones adecuadas para el cultivo de las células epiteliales, preferentemente en un medio de cultivo u otro líquido adecuado. El experto en la materia será consciente de las condiciones adecuadas para el cultivo de estas células y puede incluir el uso de medios de cultivo y/o un entorno controlado apropiados para poner en práctica la etapa (iii).

El almacenamiento se realiza en condiciones apropiadas hasta que se consigue una confluencia o pre-confluencia de las células dérmicas y las células epiteliales sobre la superficie de y/o dentro de dicha dermis artificial. En una realización del método, esto puede necesitar entre aproximadamente 8 y aproximadamente 12 días. En consecuencia, la presente invención proporciona una piel artificial de la invención que tiene células epiteliales y células dérmicas sobre la superficie y/o dentro de la dermis artificial que tiene una confluencia de al menos un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 % o incluso un 100 %.

La dermis artificial y la piel artificial de la presente invención se pueden almacenar a un máximo de 37 °C en un medio de cultivo apropiado antes de su aplicación a un paciente con necesidad de las mismas.

La dermis artificial y la piel artificial de la presente invención se pueden usar en terapia.

A este respecto, un aspecto de la invención se refiere al uso de la dermis artificial o de la piel artificial de la invención para la preparación de un medicamento. En el presente contexto, un medicamento se refiere a una preparación que comprende la piel artificial o la dermis artificial de la invención, que es adecuada para su aplicación como un injerto en un paciente con necesidad de un tratamiento con el mismo.

De acuerdo con una realización particular, el uso de la dermis artificial o piel artificial es para la preparación de un medicamento para el tratamiento de reepitelialización de un paciente que lo necesite.

Además, en una realización particular, dicha reepitelialización es de un tejido de mucosa, dérmico o epidérmico de un paciente.

Por lo tanto, la dermis artificial y la piel artificial de la invención, son para uso en el tratamiento de un defecto o trastorno de los tejidos dérmico, epidérmico o de mucosa. La dermis artificial y la piel artificial de la presente invención se pueden usar como un reemplazo o sustituto para tejidos de mucosa, dérmico o epidérmico de un paciente, que incluyen, pero no se limitan a, los que se enumeran en la Tabla 2. La piel artificial usada como dicho reemplazo o sustituto comprende preferentemente un epitelio no estratificado sencillo pero como alternativa puede comprender un epitelio apropiado tal como se describe en la Tabla 2.

La invención incluye la dermis artificial o piel artificial de la invención para uso como un injerto quirúrgico, por ejemplo en el reemplazo de tejidos de mucosa, dérmico o epidérmico que incluyen, pero no se limitan a, los que se desvelan en la Tabla 2. En algunas realizaciones, la invención incluye un método para uso de la dermis artificial o piel artificial en un procedimiento quirúrgico, de modo que el procedimiento quirúrgico se aplica directamente a la ubicación del injerto el sujeto.

La dermis artificial y la piel artificial de la presente invención también son para uso en la reparación, tratamiento, y/o prevención de afecciones, trastornos o enfermedades de la piel, tales como síntomas de quemaduras, que incluyen, pero no se limitan a quemaduras de primer grado, quemaduras de segundo grado y quemaduras de tercer grado; síntomas de heridas, que incluyen pero no se limitan a heridas epidérmicas, heridas en la piel, heridas crónicas, heridas agudas, heridas externas, heridas internas y heridas congénitas (por ejemplo, epidermolisis bullosa); y síntomas de úlceras que incluyen, pero no se limitan a, úlceras de presión y úlceras diabéticas.

El proceso de la presente invención se ilustra a continuación por referencia los ejemplos que pretenden ser solamente ilustrativos y no se interpretan como limitantes de la presente invención en modo alguno.

EJEMPLOS

Tabla 1: Polímeros adecuados para uso en la dermis artificial de la presente invención.

Polímero	Punto de fusión, Tm (°C)	Temperatura de transición vítrea, Tg (°C)	Resistencia a la tracción (GPa)	Tiempo de degradación (meses) ^a
Poliglicólido (PGA)	225-230	35-40	7,0	6-12
Poli (L-lactida) (LPLA) ^c	173-178	60-65	2,7	> 24
Poli-(dl-lactida) (DLPLA) ^c	Amorfo	55-65	1,9	12-16
Poli (ε-caprolactona) (PCL)	58-63	(-65)- (-60)	0,4	> 24
Polidioxanona (PDO)	N/D	(-10)-0	1,5	6-12
Poli(glicólido-co-trimetilen-carbonate) o poligliconato (PGA-TMC)	N/D	N/D	2,4	6-12
85/15 PLGA ^b	Amorfo	50-55	2,0	5-6
75/25 PLGA	Amorfo	50-55	2,0	4-5
65/35 PLGA	Amorfo	45-50	2,0	3-4
50/50 PLGA	Amorfo	45-50	2,0	1-2

a: Tiempo de degradación in vivo. Este tiempo depende del tamaño del sustrato final.

b: PLGA se refiere al copolímero poli(ácido láctico-co-glicólico) y ab/cd muestra la composición de masa de cada polímero en el copolímero poli(ácido láctico)/poliglicólico.

c: Ambos polímeros se denominan normalmente polímeros de poli-lactida.

Tabla 2: Usos de dermis artificial o piel artificial.

Sistema	Tejido	Epitelio*
Digestivo	Conductos de las glándulas submandibulares	columnar estratificado
	encía unida	Escamoso estratificado, queratinizado
	dorso de la lengua	Escamoso estratificado, queratinizado
	paladar duro	Escamoso estratificado, queratinizado
	esófago	Escamoso estratificado, no queratinizado
	intestino delgado	Columnar simple, no ciliado
	intestino grueso	Columnar simple, no ciliado
	recto	Columnar simple, no ciliado
Integumentario	ano	Escamoso estratificado,
	piel	Escamoso estratificado, queratinizado
	conductos de las glándulas sudoríparas	Cuboidal estratificado
Reproductor femenino	mesotelio de cavidades corporales	Escamoso simple
	cuello del útero (endocervix)	Columnar simple
	cuello del útero (ectocervix)	Escamoso estratificado, no queratinizado
	vagina	Escamoso estratificado, no queratinizado
Respiratorio	labios mayores	Escamoso estratificado, queratinizado
	orofaringe	Escamoso estratificado, no queratinizado
	laringe	Columnar pseudoestratificado, ciliado
	laringe – Cuerdas vocales verdaderas	Escamoso estratificado, no queratinizado
Visual	tráquea	Columnar pseudoestratificado, ciliado
	córnea	Escamoso estratificado, no queratinizado
Nasal	nariz	Columnar pseudoestratificado
Urinario	uréter	Transicional
	uretra membranosa	Columnar pseudoestratificado, no ciliado
	uretra peneana	Columnar pseudoestratificado, no ciliado
	orificio externo de la uretra	Escamoso estratificado

REVINDICACIONES

- 5 1. Una dermis artificial que comprende una primera capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una segunda capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una red de polímero situada entre la primera y la segunda capas de gel.
2. Una dermis artificial de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la red de polímero comprende poros que tienen un diámetro medio de entre 10 µm y 1000 µm.
- 10 3. Una dermis artificial de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la red de polímero está constituida por hebras de polímero entrelazadas teniendo cada hebra un diámetro medio de 10 µm a 1000 µm.
4. Una dermis artificial de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicho polímero es biocompatible y biodegradable.
- 15 5. Una dermis artificial de acuerdo con la reivindicación 4 en la que dicho polímero se selecciona entre el grupo que consiste en poli(metacrilato de metilo), polilactida, poliglicólido, poli(ácido láctico-co-glicólico), policaprolactona, polidioxanona, poli(glicólido-co-trimetileno-carbonato), poligliconato y sus mezclas.
6. Una dermis artificial de acuerdo con la reivindicación 5, en la que dicho polímero es poli(ácido láctico-co-glicólico).
- 20 7. Una dermis artificial de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que las células dérmicas de la primera y la segunda capas de gel pueden ser del mismo tipo o diferentes.
8. Un método para la preparación de una dermis artificial de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende las etapas de:
 - (i) Proporcionar una primera solución de reacción y opcionalmente una segunda solución de reacción comprendiendo ambas plasma sanguíneo con plaquetas y células dérmicas,
 - 25 (ii) Coagular al menos una parte de la primera solución de reacción para proporcionar una primera capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas,
 - (iii) Aplicar una red de polímero sobre dicha primera capa de gel,
 - (iv) Coagular una parte adicional de la primera solución de reacción o al menos una parte de una
 - 30 segunda solución de reacción que comprende plasma sanguíneo con plaquetas y células dérmicas, sobre la superficie de dicha red de polímero para proporcionar una segunda capa de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas.
9. Una piel artificial que comprende una dermis artificial de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y al menos una capa de células epiteliales.
- 35 10. Una piel artificial de acuerdo con la reivindicación anterior, en la que la al menos una capa de células epiteliales se coloca sobre la superficie externa de la dermis artificial.
11. Un método para preparar una piel artificial de acuerdo con las reivindicaciones 9-10, que comprende:
 - (iv) preparar una dermis artificial de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7,
 - (v) sembrar células epiteliales sobre al menos una capa de gel o red de polímero; y
 - (vi) cultivar las células hasta que se produzca una capa de células epiteliales.
- 40 12. Uso de una dermis artificial o piel artificial de acuerdo con las reivindicaciones anteriores 1 a 7 o 9-10, para la preparación de un medicamento.
13. Uso de la dermis artificial o piel artificial de acuerdo con la reivindicación 12, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de reepitelialización de un paciente que lo necesite.
- 45 14. Uso de la dermis artificial o piel artificial de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la reepitelialización es de un tejido mucoso, dérmico o epidérmico.



- ②① N.º solicitud: 201430701
②② Fecha de presentación de la solicitud: 13.05.2014
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	RUSZYMAH B H I et al. Formation of tissue engineered composite construct of cartilage and skin using high density polyethylene as inner scaffold in the shape of human helix. INTERNATIONAL JOURNAL OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 20110315 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL 15.03.2011 VOL: 75 No: 6 Págs: 805-810 ISSN 0165-5876 Doi: doi:10.1016/j.ijporl.2011.03.012. Ver todo el documento, especialmente el apartado 2.2 de "Materiales y métodos".	1-14
A	WO 02072800 A1 (CT INVESTIG ENERGETICAS CIEMAT et al.) 19.09.2002, todo el documento.	1-14
A	ES 2184623 A1 (CT INVESTIG ENERGETICAS CIEMAT et al.) 01.04.2003, todo el documento.	1-14
A	STEFANO N., et al. Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 20091119 19.11.2009 VOL: 13 No: 47 Págs: 9211-9216 ISSN 1673-8225 Doi: doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2009.47.001. Ver todo el documento.	1-14
A	EP 0416702 A1 (HC IMPLANTS BV) 13.03.1991, todo el documento.	1-14
A	BÖTTCHER-HABERZETH S., et al. Tissue engineering of skin. Burns : journal of the International Society for Burn Injuries Netherlands Jun 2010 VOL: 36 No: 4 Págs: 450-460 ISSN 1879-1409 (Electrónico) Doi: doi:10.1016/j.burns.2009.08.016 pubmed:20022702. Ver todo el documento.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
31.10.2014

Examinador
B. Pérez Esteban

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61L27/60 (2006.01)

A61L27/38 (2006.01)

C12N5/071 (2010.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61L, C12N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTUS0, TXTUS1, TXTUS2, TXTUS3, TXTUS4, TXTUS5, TXTEP1, TXTGB1, TXTWO1, TXTAU1, TXTCA1, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP, XPESP2, Google.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.10.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	RUSZYMAH B H I et al. INTERNATIONAL JOURNAL OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY, 20110315 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL 15.03.2011 VOL: 75 No: 6 Págs: 805-810 ISSN 0165-5876 Doi: doi:10.1016/j.ijporl.2011.03.012.	15.03.2011
D02	WO 02072800 A1 (CT INVESTIG ENERGETICAS CIEMAT et al.)	19.09.2002
D03	ES 2184623 A1 (CT INVESTIG ENERGETICAS CIEMAT et al.)	01.04.2003
D04	STEFANO N., et al. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 20091119 19.11.2009 VOL: 13 No: 47 Págs: 9211-9216 ISSN 1673-8225 Doi: doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2009.47.001.	19.11.2009
D05	EP 0416702 A1 (HC IMPLANTS BV)	13.03.1991
D06	BÖTTCHER-HABERZETH S., et al. Burns : journal of the International Society for Burn Injuries Netherlands Jun 2010 VOL: 36 No: 4 Pags: 450-460 ISSN 1879-1409 (Electrónico) Doi: doi:10.1016/j.burns.2009.08.016 pubmed:20022702.	Junio 2010

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud de patente describe y reivindica una dermis artificial formada por dos capas de gel de plasma sanguíneo coagulado que comprende plaquetas y células dérmicas, y una capa porosa de polímero biocompatible y biodegradable situada entre ellas, así como un método de preparación de esta dermis artificial. Se reivindica también una piel artificial formada por la dermis anteriormente mencionada y una capa de células epiteliales, y un método para preparar esa piel artificial. Finalmente, en la solicitud se reivindican los usos de la dermis y la piel artificiales en procesos de reepitelización.

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

No se ha encontrado en el estado de la técnica ningún documento que divulgue una dermis o piel artificial como las de la solicitud, ni los métodos y usos reivindicados, ni se han encontrado documentos que, solos o en combinación con otros, pudieran conducir al experto en la materia al objeto de la invención, sus métodos de preparación, y sus usos, por lo que las reivindicaciones 1 a 14 de la solicitud tienen novedad y actividad inventiva según los artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes, respectivamente.

Se citan en este informe algunos documentos del campo técnico de la solicitud que se consideran cercanos a la misma, pero que no afectan su novedad ni su actividad inventiva, como a continuación se explica.

Así, el documento D01 describe una piel artificial formada por dos capas, la primera de las cuales está formada por gel de fibrina y fibroblastos, y la segunda, que se deposita encima de la primera capa, por gel de fibrina y queratinocitos. Como en la solicitud, el gel de fibrina se obtiene a partir de plasma sanguíneo humano, coagulado por adición de calcio. Sin embargo, el documento D01 no incluye una capa de polímero entre las dos capas de gel, por lo que la piel artificial divulgada no se considera lo suficientemente cercana a la de la solicitud como para afectar su novedad ni su actividad inventiva. Por ello, las reivindicaciones 1 a 14 de la presente solicitud cumplen estos dos requisitos de patentabilidad, según los artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes.

También los documentos D02, D03 y D04 divulgan dermis y pieles artificiales formadas a partir de gel de plasma humano coagulado al que se añaden células dérmicas y epidérmicas (fibroblastos y/o queratinocitos). Como en el caso anterior, en ninguno de estos documentos del estado de la técnica se describe la presencia de una capa de polímero en las dermis o pieles generadas, por lo que tampoco los documentos D02 a D04 afectan la novedad ni actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 14 de la solicitud, según los artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes.

En el documento D05 encontramos una piel artificial formada por dos capas, de modo que la capa inferior está constituida por un polímero artificial macroporoso al que se añaden fibroblastos, y la capa superior es una capa polimérica no porosa que contiene queratinocitos. Puesto que las capas no están formadas por gel de plasma sanguíneo, al tratarse de materiales diferentes a los empleados en la solicitud, no se considera que el documento D05 afecte la novedad ni actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 14 de la solicitud, según los artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes.

Finalmente, el documento D06 es una revisión de ingeniería de tejidos epiteliales, en la que se describen los diferentes materiales empleados para la generación de pieles y dermis artificiales, y los usos clínicos de las mismas. Este documento se cita únicamente a efectos de información general en el campo técnico de la solicitud, pues, al no divulgar ninguna piel como la descrita en la solicitud, no afecta la novedad ni actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 14 de la solicitud.