

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 498**

51 Int. Cl.:

A61F 2/00 (2006.01)

A61F 2/12 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.12.2016 PCT/EP2016/079659**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.06.2017 WO17093528**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2016 E 16805160 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2020 EP 3383314**

54 Título: **Superficies texturizadas para implantes**

30 Prioridad:

04.12.2015 GB 201521474

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

29.09.2021

73 Titular/es:

**ESTABLISHMENT LABS S.A. (100.0%)
Coyol Free Zone 4th St. Building B-15
La Garita Alajuela 20113 , CR**

72 Inventor/es:

**HILL, ERNIE;
BAYAT, ARDESHIR y
BARR, SIMON**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 857 498 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

Superficies texturizadas para implantes

Campo técnico

5 Esta invención se refiere a materiales de implantes biocompatibles que tienen topografías superficiales texturizadas para reducir una respuesta celular indeseable tras la implantación en el cuerpo y la formación subsiguiente de contractura capsular, con aplicación particular a implantes protésicos, tales como implantes mamarios de silicona. También se divulgan métodos para preparar tales superficies y plantillas útiles para preparar tales superficies.

Antecedentes

10 La cirugía basada en implantes se realiza en una variedad de situaciones, desde la reconstrucción por anomalías congénitas y defectos posteriores a la mastectomía por razones oncológicas, hasta aumentos por razones cosméticas. Desafortunadamente, los implantes mamarios actualmente disponibles no están exentos de complicaciones innatas. La complicación más común y la causa de insatisfacción del paciente después de la implantación es la formación de contractura capsular. (1) 1.773.584 aumentos de senos por razones estéticas fueron declarados en todo el mundo a la Sociedad Internacional de Cirugía Plástica Estética en 2014. (2) Se ha especulado que las tasas de contractura capsular ocurren en hasta el 17.5% de los procedimientos basados en implantes y, por lo tanto, un número significativo de estas mujeres habrá experimentado contractura capsular. (3)

15 La contractura capsular es la exageración de la respuesta de cuerpo extraño del tejido mamario de la paciente al implante mamario. La secuencia normal de la reacción de cuerpo extraño a un biomaterial da como resultado una cápsula que separa el implante. (4) Sin embargo, en algunos pacientes esta respuesta es exagerada y la cápsula fibrosa se vuelve más gruesa, fibrótica y menos flexible, lo que puede manifestarse como mastalgia, firmeza mamaria y un mal resultado estético. Como consecuencia, muchos pacientes requerirán una nueva operación para descomprimir la contractura capsular. (5)

20 Se ha demostrado que la contractura capsular es multifactorial, con material de relleno, colocación submuscular del implante, radioterapia adyuvante, colonización bacteriana del implante y textura de la superficie del implante, todo ello implicado en su desarrollo. (6)

25 Los implantes mamarios actuales, con una carcasa de elastómero y un relleno de gel de silicona o solución salina, evolucionaron a partir de un diseño teorizado en la década de 1960, que se convirtió en un implante texturizado recubierto de poliuretano a fines de la década de 1960. (7, 8) Como consecuencia de la preocupación de que el poliuretano era procanceroso y debido a la capacidad de la espuma de poliuretano para reducir la tasa de contractura, debido a la creencia de que la textura del implante reducía las tasas de contractura, se desarrollaron varias texturas de superficie de implante hechas de silicona (9, 10). Desde entonces, la construcción básica de la carcasa y el relleno ha perdurado, pero con modificaciones sutiles en la textura de la superficie de estos implantes. Las texturas que están actualmente disponibles se obtienen imprimiendo sal o espuma de poliuretano en la superficie de estas carcasas de implantes o moldeando la carcasa del implante a partir de un molde pretexturizado. (11) Si bien las técnicas de fabricación empleadas son toscas, una revisión sistemática y un metaanálisis han demostrado el efecto protector de la textura del implante sobre la contractura capsular. (12, 13) Sin embargo, ningún estudio ha demostrado que una superficie de implante en particular sea más eficiente para reducir la contractura y el enfoque predominante de las empresas de implantes hasta la fecha ha sido comercializar sus implantes con poca evidencia científica que atestigüe su capacidad.

30 Se ha demostrado que las topografías de micro y nano superficies influyen en la proliferación, unión, adhesión, migración y morfología celular. (14) Muchas de las topografías morfológicas que existen in vivo que interactúan con las células son las de la matriz extracelular (MEC) y se ha demostrado que las MEC de diferentes tipos de tejidos promueven la producción de morfologías tisulares de donde se derivan. (15, 16) También se ha teorizado que las texturas de los implantes reducen la contractura al interrumpir la cápsula plana que rodea el implante y promover el crecimiento interno del tejido mamario. (17) Sin embargo, también se ha demostrado que las "macrotexturas" profundas, con características superficiales profundas, desprenden partículas de silicona y aumentan la inflamación dentro de las cápsulas del implante. (18)

35 En general, las superficies de los implantes pueden tener un perfil de superficie principal compuesto por la forma de la superficie, que es la forma general de la superficie del material. Por ejemplo, la superficie de un implante mamario adoptará generalmente una forma curva, quizás con contornos/ondas adicionales que pueden ser características/ondulaciones naturales que se forman como resultado de la estructura física del implante. Sin embargo, la forma en que tales superficies interactúan con el tejido corporal a nivel celular se describe mejor con referencia a la rugosidad de la superficie, que se refiere a la textura topográfica de la superficie del implante primario en una escala más pequeña.

55 Los implantes mamarios se forman típicamente sumergiendo una plantilla en forma de implante (mandril) en polímero líquido para que quede uniformemente recubierto. Antes del curado, el implante puede someterse a un

proceso de texturización como la impresión en un molde para crear una textura estampada en silicona (por ejemplo, el implante Mentor Siltex™). Luego, el mandril se coloca en una cabina de flujo laminar caliente para permitir que el polímero se solidifique alrededor de la plantilla (curado). Este paso de curado permite aplicar una cantidad igual de calor alrededor del implante para que se cree una superficie homogénea. Este proceso se puede repetir varias veces para aumentar el grosor del implante y, a continuación, el implante se puede tratar más con un disolvente para que quede liso (para alisar aún más la superficie). Por lo tanto, los implantes mamarios de silicona generalmente se fabrican mediante este mismo proceso básico, independientemente de si están diseñados para ser lisos o texturizados.

En este sentido, las superficies de los implantes que son "lisas" de hecho suelen presentar un grado menor no intencionado de rugosidad superficial como resultado de finas ondulaciones, ranuras y/u otras anomalías superficiales que son un subproducto inherente del proceso mediante el cual se preparan las superficies (por ejemplo, que se forman durante el proceso de curado cuando la silicona líquida se escurre por el mandril bajo la fuerza de la gravedad).

Sin embargo, las superficies formalmente "texturizadas" comprenden típicamente una topografía de superficie muy texturizada. Tales texturas pueden ser patrones geométricos que se repiten regularmente o pueden ser de naturaleza irregular.

El documento WO2009/046425, por ejemplo, describe superficies de implantes texturizadas que tienen un patrón repetitivo geométrico regular altamente ordenado (barras paralelas) a micro o nanoescala que se afirma que interrumpen la formación de biopelículas bacterianas en la superficie del implante. El patrón repetido se forma mediante la producción de un patrón maestro usando técnicas fotolitográficas aplicadas en la fabricación de semiconductores y el patrón maestro luego se usa para contactar impresos con patrones replicados en la superficie del implante. Sin embargo, aunque las técnicas fotolitográficas convencionales pueden proporcionar estructuras geométricas simples como las ranuras representadas en el documento WO2009/046425, tales métodos no son atractivos cuando se buscan patrones geométricos más complejos porque dichos patrones dependen de la preparación y el uso de fotomáscaras con niveles graduados de opacidad a través de los cuales los niveles graduales de luz UV pueden pasar a la fotorresistencia. Dichas fotomáscaras son caras de producir y no se pueden modificar una vez producidas, lo que significa que cada diseño/patrón deseado requiere la preparación previa de fotomáscaras a medida.

El documento WO95/03752 (véase la figura 4) también representa una superficie de implante que tiene un patrón repetitivo geométrico regular altamente ordenado (pilares). Estas superficies microtexturizadas uniformes se pueden producir mediante el uso de tecnología de propulsores de haz de iones (ver, por ejemplo, la página 2 de WO95/03752). Sin embargo, tales superficies de implante de patrón uniforme conducen típicamente a la orientación de los fibroblastos de acuerdo con el patrón de superficie respectivo (véanse, por ejemplo, los párrafos 28, 34 y las figuras 14 y 15 del documento WO2009/046425). Sin embargo, como se explicó anteriormente, se entiende que la orientación organizada de los fibroblastos y, posteriormente, el colágeno es una etapa clave en la promoción de la contractura de la cápsula fibrótica. Por lo tanto, aunque tal orden de fibroblastos podría ser más aceptable en aplicaciones externas, como para su uso en la cicatrización de heridas, tales superficies con patrones altamente ordenados no son ideales para su uso en implantes protésicos, como los implantes mamarios, que son propensos a la formación de cápsulas y contractura.

Sin embargo, en la literatura se ha propuesto una variedad de superficies de implantes con textura irregular (es decir, no uniforme) con una variedad de resultados celulares diferentes observados. Sin embargo, varios enfoques para proporcionar superficies texturizadas no han logrado reducir o prevenir la formación de cápsulas y la posterior contractura. Por ejemplo, los párrafos 86-89 y las figuras 7 a 9 del documento WO 2011/097499 describen una serie de superficies de textura irregular, que no proporcionan la modulación de cápsula deseable. Se utiliza una técnica de "pérdida de sal" en la producción de Biocell™ disponible comercialmente (Allergan, Inc.). Estas superficies se describen e ilustran con más detalle en [Barr, S. 2009]. Esta técnica da como resultado una estructura de célula abierta. Las superficies de implante formadas por esta técnica de "pérdida de sal" también se representan en la figura 5 del documento WO95/03752. Sin embargo, tales implantes no son ideales ya que la introducción de partículas extrañas en la superficie de la silicona puede producir efectos perjudiciales sobre las propiedades del implante de silicona, por ejemplo, si las sales relevantes se encapsulan en la silicona.

Una técnica alternativa para formar una estructura abierta implica el uso de una espuma de célula abierta o una tela polimérica fibrosa para formar o imprimir un patrón en la superficie del implante. Por ejemplo, el implante Siltex™ (Mentor), disponible comercialmente, usa un mandril con una textura de espuma de poliuretano que se imprime en la silicona durante el curado. En los documentos US 2011/0276134, WO 2011/097499 y US2002/0119177 también se describen técnicas similares de texturización de tejido/espuma de células abiertas. Si tales estructuras de célula abierta se logran usando una tela con una geometría uniforme, entonces se pueden lograr estructuras de célula abierta con irregularidad a pequeña escala pero uniformidad de larga distancia (ver, por ejemplo, la figura 10 y 12 de US 2011/0276134). Si bien se informa que tales estructuras de células abiertas logran cierto éxito en la prevención de la formación de cápsulas, también tienen inconvenientes porque los finos intersticios y bordes formados como resultado del proceso pueden carecer de robustez y pueden desprenderse de la superficie del implante bajo fuerzas de fricción que conducen a fragmentos de silicona desprendidos en el cuerpo. Además, los poros grandes,

típicamente macroscópicos, formados por tales procesos tienen lados profundos y hoyos, lo que significa que las células quedan incrustadas en los valles profundos del implante y no pueden migrar debido a lados que son demasiado empinados para que las células escalen. Si bien esto puede dificultar el proceso de formación de la cápsula, las células no pueden mostrar un comportamiento migratorio y proliferativo natural con inhibición por contacto de las células dentro de las depresiones profundas de los implantes de textura intensa. Esto es indeseable ya que una célula adherente, como un fibroblasto que es capaz de unirse, migrar, proliferar y funcionar en una superficie con un estrés mínimo y sin inhibición, es probable que se comporte como lo haría un fibroblasto in vivo dentro de la MEC nativa. No obstante, las depresiones profundas normalmente todavía permiten el eventual crecimiento sustancial de células en los poros de la superficie, pero si bien esto puede anclar firmemente el implante en su lugar en el cuerpo, El crecimiento excesivo de tejido puede dar lugar a dificultades más adelante si el implante tiene que ser retirado o reemplazado (por ejemplo, si a pesar de todo se produce una contracción capsular), ya que una gran cantidad de tejido corporal también tendrá que cortarse con el implante.

El documento WO95/03752 divulga un método alternativo para producir topografías superficiales irregulares en implantes mamarios de silicona mediante la adición de partículas de silicona filtradas a la superficie todavía pegajosa del mandril antes del curado y la aplicación de una capa superior (páginas 10 a 12).

El documento WO2015/121686, que tiene inventores en común con la presente solicitud, propone una superficie texturizada irregular modelada sobre la membrana basal de la piel, siendo las características específicas de la membrana basal tales que imparten a la superficie sintética los valores característicos correspondientes para la rugosidad superficial media S_a , la altura cuadrática media de la raíz S_q , altura máxima de pico a profundidad de depresión S_z , asimetría superficial media S_{sk} , valor medio de exceso de curtosis (S_{ku} menos 3) y dimensión fractal.

El documento WO2013151755 divulga un material de implante que tiene una superficie de implante con una pluralidad de miembros en contacto con el tejido.

Sumario de la invención

Los inventores proponen nuevas topografías de superficies texturizadas biomiméticas para implantes, particularmente implantes mamarios. Los inventores han descubierto en particular que controlando aspectos de la textura de la superficie para que se parezcan a las características correspondientes de la topografía de la superficie del tejido adiposo, se podría lograr una respuesta celular mejorada, indicativa de una contracción capsular reducida, y un anclaje/crecimiento celular apropiado.

Los inventores buscaron producir una topografía de implante con una procedencia de la mama, específicamente tejido adiposo de la mama. Los inventores han empleado biomimetismo de sitio específico para generar una nueva superficie de implante que se adapta al sitio de implante previsto. Así, cuando se implanta un implante que comprende la nueva superficie del implante, como es convencional, en el plano del tejido entre el tejido adiposo de la mama en la parte anterior y la fascia del músculo pectoral en la parte posterior, la superficie que linda con el tejido adiposo proporciona un entorno eficaz para la adhesión, el crecimiento y la proliferación celular.

Para llegar a la nueva superficie del implante, los inventores aislaron el tejido adiposo de la interfaz del tejido adiposo, llevaron a cabo una serie de técnicas de fijación, lo caracterizó mediante técnicas de imagen, lo modeló con análisis de imágenes a medida y generó una réplica sintética de la superficie del tejido adiposo observada mediante fotolitografía 3D.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un material de implante que tiene una superficie de implante, cuya superficie de implante comprende una pluralidad de miembros en contacto con el tejido dispuestos en una matriz bidimensional regular o irregular, cada miembro en contacto con el tejido tiene una superficie curva convexa de contacto con el tejido, en la que la superficie del implante tiene de 1000 a 50000 miembros en contacto con el tejido por cm^2 .

Descripción detallada del invento

45 Textura de superficie

Los inventores han identificado características de la superficie del tejido adiposo que, cuando se reproducen en la superficie de un implante, pueden contribuir a mejorar la respuesta celular y reducir la contractura capsular. En particular, una o más de las siguientes características superficiales se pueden reproducir en la superficie del implante: la forma aproximadamente hemisférica de las células adiposas que forman la superficie del tejido adiposo (contra el cual se colocará el implante); el empaquetado cerrado de las células adiposas en la superficie (que el empaquetado cerrado trunca eficazmente los hemisferios, haciendo que parezcan fusionarse); la densidad de células (células por unidad de área), que está relacionada con el empaquetado cerrado; el tamaño medio (diámetro) de las células adiposas (que a su vez determina el radio de curvatura que presentan las células en la superficie); la distribución o variación de tamaño (diámetro); el espaciado promedio entre células adyacentes (distancia vecina más cercana); la distribución o variación en el espaciado entre células adyacentes (distancia del vecino más cercano); la cobertura de la superficie de las células (grado en que la superficie del tejido está formada por elementos distintos

de las células); y el rango de altura para la nanotextura en la superficie celular (la nanovariación de altura superpuesta sobre la micro/macro topografía de las células adiposas casi hemisféricas empaquetadas juntas).

5 Sin desear estar ligado a ninguna teoría, la provisión de una superficie similar al tejido adiposo en el implante puede permitir que el implante se tesele o se empaquete en el tejido adiposo del pecho. La topografía biomimética proporciona adecuadamente un entorno para las células que es menos probable que las superficies de implantes convencionales para provocar una respuesta de cuerpo extraño y especialmente contractura capsular.

La superficie de implante del material de implante de la invención busca imitar una o más de las características de la superficie del tejido adiposo que ha sido cuidadosamente caracterizada por los inventores.

10 Los miembros de la superficie del implante en contacto con el tejido corresponden a las células adiposas que proporcionan la topografía de la superficie adiposa. Como se señaló anteriormente, una característica de la superficie del tejido adiposo es la matriz de formas aproximadamente (en parte) hemisféricas: una forma globular, por lo que los miembros de la superficie del implante en contacto con el tejido tienen una superficie convexa (es decir, extendiéndose hacia fuera/alejándose de la superficie) curvada en contacto con el tejido. La provisión de una serie de tales superficies curvas convexas imita las múltiples superficies curvas que surgen del empaquetado compacto de las células adiposas.

15 Adecuadamente, la superficie curva convexa de contacto con el tejido tiene un radio de curvatura para el cual el radio es aproximadamente constante. Es decir, la curvatura es aproximadamente una curvatura esférica. Adecuadamente, la superficie curva convexa de contacto con el tejido corresponde a una parte de la superficie de una esfera. Adecuadamente, la superficie curva convexa de contacto con el tejido corresponde a una parte sustancial de la superficie (curva) de un hemisferio.

Adecuadamente, cada miembro en contacto con el tejido tiene la forma de una parte o la totalidad de un hemisferio.

Adecuadamente, cada miembro de contacto con el tejido, o al menos su superficie curva convexa de contacto con el tejido, tiene una forma globular. Los miembros en contacto con el tejido tienen adecuadamente de la forma de una parte o de la totalidad de un globo. Es decir, son o forman parte de un glóbulo.

25 Los miembros en contacto con el tejido pueden ser protuberancias, nódulos, hoyuelos elevados o glóbulos de manera que la superficie del implante tenga una disposición bidimensional de protuberancias, nódulos o hoyuelos elevados. Por tanto, cada una de las protuberancias, nódulos, hoyuelos elevados o glóbulos proporciona una superficie curva convexa de contacto con el tejido de modo que el efecto acumulativo de la disposición de dichas superficies curvas es el de imitar la topografía de la superficie del tejido adiposo.

30 Como se indicó anteriormente, los miembros en contacto con el tejido (protuberancias, nódulos o hoyuelos elevados) tienen adecuadamente la forma de parte o de la totalidad de un hemisferio. Los inventores creen que el hemisferio es la forma que más se asemeja a la superficie del tejido adiposo nativo.

35 La altura de los miembros en contacto con el tejido corresponde adecuadamente a la altura de un hemisferio que tiene un radio de curvatura correspondiente al radio de curvatura de la superficie curva convexa de contacto con el tejido. Por tanto, la altura corresponde adecuadamente al radio del hemisferio.

Adecuadamente, varía la altura de los miembros en contacto con el tejido. Es decir, la pluralidad de miembros en contacto con el tejido incluye miembros en contacto con el tejido de diferentes alturas, de modo que hay variación de altura dentro de la población de miembros en contacto con el tejido.

40 Los valores medios de altura adecuados están en el rango de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 10 a 150 μm , adecuadamente de 15 a 150 μm , adecuadamente de 15 a 130 μm , adecuadamente de 15 a 120 μm , adecuadamente de 15 a 110 μm , adecuadamente de 15 a 100 μm , adecuadamente de 15 a 90 μm , adecuadamente de 15 a 80 μm , adecuadamente de 15 a 70 μm , adecuadamente de 15 a 60 μm , adecuadamente de 15 a 50 μm , adecuadamente de 15 a 45 μm , adecuadamente de 15 a 45 μm , adecuadamente de 25 a 45 μm , adecuadamente de 30 a 45 μm , adecuadamente de 30 a 42 μm , adecuadamente de 32 a 42 μm , adecuadamente de 34 a 42 μm , adecuadamente de 34 a 40 μm , adecuadamente de 35 a 40 μm , adecuadamente de 36 a 40 μm , de manera adecuada aproximadamente 38 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite inferior adecuado para la altura media es 1 μm , adecuadamente de 5 μm , adecuadamente de 10 μm . En el caso de miembros de contacto con tejido separados entre sí, la altura se mide desde la superficie "base" ubicada entre los miembros de contacto con tejido. En el caso de miembros hemisféricos, la altura corresponde al radio del hemisferio.

50 Adecuadamente, al menos el 30% de la población de miembros en contacto con el tejido se encuentran dentro del rango de altura de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 15 a 130 μm , adecuadamente de 15 a 120 μm , adecuadamente de 15 a 110 μm , adecuadamente de 15 a 100 μm , adecuadamente de 15 a 90 μm , adecuadamente de 15 a 80 μm , adecuadamente de 15 a 70 μm , adecuadamente de 15 a 60 μm , adecuadamente de 15 a 50 μm , adecuadamente de 15 a 45 μm , adecuadamente de 20 a 45 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores

que un límite inferior adecuado para la altura es 1 μm , adecuadamente de 5 μm , adecuadamente de 10 μm . Adecuadamente de, al menos el 40% de la población de los miembros en contacto con el tejido se encuentran dentro de este rango de altura, adecuadamente al menos el 50% de la población, adecuadamente al menos el 60%, adecuadamente al menos el 70%, adecuadamente al menos el 80%, adecuadamente al menos el 90%.

- 5 En realizaciones en las que los miembros en contacto con el tejido no están separados y no hay espacio entre los miembros en contacto con el tejido que pueda considerarse como una superficie "base", se puede obtener una superficie/plano base hipotética con referencia a la información del perfil de altura (del tipo mostrado en las figuras 10-1B y 10-2B, obtenido a partir de datos de formación de imágenes con láser confocal), trazándose la superficie/plano de la base hipotética para que coincida con las depresiones/valles entre los picos. En tal caso, los valores medios de altura promedio se seleccionan adecuadamente de los rangos establecidos anteriormente y los siguientes rangos: adecuadamente de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 130 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 5 a 110 μm , adecuadamente de 5 a 100 μm , adecuadamente de 5 a 90 μm , adecuadamente de 5 a 80 μm , adecuadamente de 5 a 70 μm , adecuadamente de 5 a 60 μm , adecuadamente de 5 a 50 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 40 μm , adecuadamente de 5 a 35 μm , adecuadamente de 5 a 32 μm , adecuadamente de 5 a 30 μm , adecuadamente de 5 a 28 μm , adecuadamente de 5 a 25 μm , adecuadamente de 10 a 40 μm , adecuadamente de 10 a 35 μm , adecuadamente de 10 a 30 μm , adecuadamente de 15 a 40 μm , adecuadamente de 15 a 35 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite inferior adecuado para la altura media es 1 μm , adecuadamente de 5 μm , adecuadamente de 10 μm .

- Adecuadamente, al menos el 30% de la población de los miembros en contacto con el tejido (no espaciados) se encuentran dentro del rango de altura de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 150 μm , adecuadamente de 5 a 130 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 5 a 110 μm , adecuadamente de 5 a 100 μm , adecuadamente de 5 a 90 μm , adecuadamente de 5 a 80 μm , adecuadamente de 5 a 70 μm , adecuadamente de 5 a 60 μm , adecuadamente de 5 a 50 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 45 μm , adecuadamente de 5 a 40 μm , adecuadamente de 5 a 35 μm , adecuadamente de 5 a 32 μm , adecuadamente de 5 a 30 μm , adecuadamente de 5 a 28 μm , adecuadamente de 5 a 25 μm , adecuadamente de 10 a 40 μm , adecuadamente de 10 a 35 μm , adecuadamente de 10 a 30 μm , adecuadamente de 15 a 40 μm , adecuadamente de 15 a 35 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite inferior adecuado para la altura es 1 μm , adecuadamente 5 μm , adecuadamente 10 μm . Adecuadamente, al menos el 40% de la población de los miembros en contacto con el tejido se encuentran dentro de este rango de altura, adecuadamente al menos el 50% de la población, adecuadamente al menos el 60%, adecuadamente al menos el 70%, adecuadamente al menos el 80%, adecuadamente al menos el 90%.

- 35 La superficie subyacente del material del implante, sobre la que se superpone la superficie del implante, puede ser plana o no plana. Por ejemplo, como se discutió anteriormente, el material del implante puede tener una forma curva, por ejemplo, para adaptarse a la forma del implante.

- Adecuadamente, la cobertura de la superficie de los miembros en contacto con el tejido, siendo la extensión en la que la superficie del implante está cubierta/proporcionada por los miembros en contacto con el tejido, es al menos del 20% (% del área total de la superficie del implante cubierta). La cobertura de la superficie se puede determinar tomando medidas a partir de imágenes adecuadas de la superficie, por ejemplo, una imagen SEM. Adecuadamente, la cobertura de la superficie de los miembros en contacto con el tejido es de al menos 30%, adecuadamente al menos 40%, adecuadamente al menos 50%, adecuadamente al menos 60%, adecuadamente al menos 70%, adecuadamente al menos 80%, adecuadamente al menos 90%, adecuadamente al menos 95%, adecuadamente al menos 98%, adecuadamente al menos 99%, adecuadamente de aproximadamente 100%. Adecuadamente, el número de miembros en contacto con el tejido, su tamaño y ubicación, es tal que la mayoría, adecuadamente al menos el 60%, adecuadamente al menos el 70%, adecuadamente al menos el 80%, adecuadamente sustancialmente toda, adecuadamente, toda la superficie del implante es proporcionada por las superficies curvas convexas de contacto con el tejido de los miembros en contacto con el tejido.

- 50 Se cree que esta cobertura de "alta densidad" es una imitación particularmente eficaz de la superficie del tejido adiposo.

- La superficie del implante tiene 1000 a 50000 miembros en contacto con el tejido por cm^2 , adecuadamente de 1000 a 35000, adecuadamente de 1200 a 35000, adecuadamente de 1500 a 35000, adecuadamente de 1750 a 32500, adecuadamente de 2000 a 30000, adecuadamente de 2000 a 30000, adecuadamente de 2250 a 30000, adecuadamente de 2250 a 27500, adecuadamente de 5000 a 40000, adecuadamente de 10000 a 40000, adecuadamente de 10000 a 30000, adecuadamente de aproximadamente 25000 miembros en contacto con el tejido por cm^2 . Quedará claro a partir de los rangos anteriores que un límite inferior adecuado para la densidad (miembros en contacto con el tejido por cm^2) de los miembros en contacto con el tejido puede ser 5000, adecuadamente de 10000. Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite superior adecuado para la densidad (miembros en contacto con el tejido por cm^2) del contacto con el tejido puede ser 40000.

En realizaciones, la pluralidad de miembros en contacto con el tejido son miembros discretos, en el sentido de que están separados entre sí. En las realizaciones, la pluralidad de miembros en contacto con el tejido no son miembros discretos. Adecuadamente, son adyacentes entre sí, por ejemplo, para que parezcan unidos o fusionados entre sí.

5 Adecuadamente, la pluralidad de miembros en contacto con el tejido es una pluralidad de hemisferios truncados dispuestos para formar una matriz bidimensional de hemisferios fusionados.

Adecuadamente, los miembros que entran en contacto con el tejido están empaquetados de forma compacta. Adecuadamente, los miembros en contacto con el tejido están dispuestos de manera que tengan una estructura de empaquetado correspondiente a una capa en una estructura empaquetada compacta, especialmente seleccionada entre empaquetada compacta hexagonal (hcp) y cúbica centrada en la cara (fcc).

10 Adecuadamente, cada miembro en contacto con el tejido tiene al menos cuatro, adecuadamente al menos cinco, adecuadamente seis vecinos (es decir, otros miembros en contacto con el tejido).

15 Adecuadamente, cada miembro en contacto con el tejido tiene al menos cuatro, adecuadamente al menos cinco, adecuadamente de seis vecinos (es decir, otros miembros en contacto con el tejido) dentro de una distancia correspondiente a 2 veces la anchura (por ejemplo, el diámetro) del miembro en contacto con el tejido. Se considera que un vecino está ubicado dentro de esa distancia si al menos parte del vecino está rodeado por una línea imaginaria que define un círculo alrededor del miembro en contacto con el tejido, cuyo círculo tiene un radio de, en el caso anterior, 2 veces el ancho (por ejemplo, diámetro) del miembro de contacto con el tejido. Adecuadamente, la distancia corresponde a 1.5 veces la anchura (por ejemplo, el diámetro) del miembro en contacto con el tejido.

20 Adecuadamente, los miembros en contacto con el tejido son sustancialmente simétricos alrededor de un eje de rotación que es perpendicular a la superficie del implante (la dirección Z se extiende verticalmente desde la superficie del implante).

Adecuadamente, los miembros en contacto con el tejido están sustancialmente libres de características de borde y/o características de esquina. Adecuadamente, la superficie del implante está sustancialmente libre de características de borde y/o características de esquina.

25 Adecuadamente, la superficie del implante tiene valles formados por dos o más miembros adyacentes en contacto con el tejido (por ejemplo, miembros hemisféricos (parte) adyacentes). De hecho, el truncamiento de los miembros adyacentes en contacto con el tejido puede proporcionar los valles. Adecuadamente, los valles están interconectados. Es decir, un valle está unido a uno o más de otros valles (adecuadamente, dichos otros valles están formados por miembros adyacentes en contacto con el tejido). Los valles se pueden unir de un extremo a otro para formar la red interconectada.

30 Matriz bidimensional significa que los miembros en contacto con el tejido están ubicados en una matriz que se extiende en ambas direcciones lineales paralelas a la superficie del implante (direcciones X e Y). Por tanto, la provisión de superficies curvas convexas de contacto con el tejido de la invención representa un enfoque fundamentalmente diferente de las morfologías superficiales basadas en ranuras.

35 Adecuadamente, la matriz es una matriz sustancialmente hexagonal.

Adecuadamente, la matriz bidimensional es una matriz bidimensional sustancialmente regular. Esto refleja el orden en la superficie del tejido adiposo, aunque existe alguna desviación de la verdadera regularidad. Sin embargo, son posibles incluso arreglos más regulares/ordenados o arreglos irregulares/desordenados.

40 Adecuadamente, el espaciado medio de centro a centro vecino más cercano de la matriz de miembros en contacto con el tejido, TCM_{CCAVE} , es de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 1 a 120 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 10 a 120 μm , adecuadamente de 20 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 110 μm , adecuadamente de 30 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 90 μm , adecuadamente de 45 a 90 μm , adecuadamente de 50 a 90 μm , adecuadamente de 55 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 80 μm , adecuadamente de 68 a 80 μm , adecuadamente de 68 a 78 μm , adecuadamente de 69 a 75 μm , adecuadamente de 70 a 75 μm , adecuadamente alrededor de 73 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite superior adecuado para el espaciado medio del vecino más cercano de centro a centro es 200 μm , adecuadamente de 150 μm , adecuadamente de 100 μm . El punto central de un miembro en contacto con el tejido es el punto central cuando la superficie del implante se ve "de arriba hacia abajo".

45 En el caso de miembros (aproximadamente) hemisféricos en contacto con el tejido, el punto central es el centro de un círculo cuya circunferencia corresponde al límite del miembro en contacto con el tejido en el plano X-Y (es decir, la sección transversal relevante del miembro en contacto con el tejido). En el caso de otras formas, el punto central se puede obtener seleccionando un círculo cuyo diámetro sea tal que el círculo abarque la sección transversal X-Y del miembro en contacto con el tejido (es decir, cuando se ve "de arriba hacia abajo").

55 Adecuadamente, al menos el 30% de la población de los miembros en contacto con el tejido tiene un espacio vecino más cercano de centro a centro en el rango de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 1 a

120 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 10 a 120 μm , adecuadamente de 20 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 110 μm , adecuadamente de 30 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 90 μm , adecuadamente de 45 a 90 μm , adecuadamente de 50 a 90 μm , adecuadamente de 55 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 85 μm ,
 5 adecuadamente de 65 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 80 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite superior adecuado para el espaciado medio del vecino más cercano de centro a centro es 200 μm , adecuadamente de 150 μm , adecuadamente de 100 adecuadamente de 1 a 120 μm . Adecuadamente, al menos el 40% de la población de los miembros en contacto con el tejido se encuentran dentro de este rango, adecuadamente al menos el 50% de la población, adecuadamente al menos el 60%, adecuadamente al menos el 70%,
 10 adecuadamente al menos el 80%, adecuadamente al menos el 90%.

Adecuadamente, el diámetro medio de la pluralidad de miembros en contacto con el tejido, TCMd_{AVE} , es de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 1 a 120 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 10 a 120 μm , adecuadamente de 20 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 110 μm , adecuadamente de 30 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 100 μm ,
 15 adecuadamente de 40 a 90 μm , adecuadamente de 45 a 90 μm , adecuadamente de 50 a 90 μm , adecuadamente de 55 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 80 μm , adecuadamente de 68 a 80 μm , adecuadamente de 68 a 78 μm , adecuadamente de 69 a 75 μm , adecuadamente de 70 a 75 μm , adecuadamente aproximadamente 73 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite superior adecuado para el diámetro medio es 200 μm , adecuadamente de 150 μm , adecuadamente de 100 μm . El diámetro de un miembro en contacto con el tejido se puede obtener siguiendo la metodología descrita anteriormente para obtener el punto central del miembro en contacto con el tejido, por lo que el círculo seleccionado en ese método proporciona el valor de diámetro para el miembro en contacto con el tejido.

Adecuadamente, al menos el 30% de la población de miembros en contacto con el tejido tiene un diámetro en el rango de 1 a 200 μm , adecuadamente de 1 a 150 μm , adecuadamente de 1 a 120 μm , adecuadamente de 5 a 120 μm , adecuadamente de 10 a 120 μm , adecuadamente de 20 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 120 μm , adecuadamente de 30 a 110 μm , adecuadamente de 30 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 100 μm , adecuadamente de 40 a 90 μm , adecuadamente de 45 a 90 μm , adecuadamente de 50 a 90 μm , adecuadamente de 55 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 90 μm , adecuadamente de 60 a 85 μm , adecuadamente de 65 a 85 μm ,
 25 adecuadamente de 65 a 80 μm . Quedará claro a partir de los intervalos anteriores que un límite superior adecuado para el espaciado medio del vecino más cercano de centro a centro es 200 μm , adecuadamente de 150 μm , adecuadamente de 100 μm . Adecuadamente al menos el 40% de la población de miembros que entran en contacto con el tejido se encuentra dentro de este intervalo, adecuadamente al menos el 50% de la población, adecuadamente al menos el 60%, adecuadamente al menos el 70%, adecuadamente al menos el 80%,
 30 adecuadamente al menos el 90%.

Adecuadamente, la superficie del implante es una superficie cerrada. Es decir, está sustancialmente libre, adecuadamente completamente libre, de poros u otras estructuras abiertas. Por tanto, adecuadamente, el material de implante no es una célula abierta o un material poroso. Esto no excluye que el material a granel (es decir, debajo de la superficie) tenga una estructura porosa o abierta.

La superficie del implante también puede comprender una textura a nanoescala. Por ejemplo, esto se puede lograr mediante el uso de grabado con plasma de oxígeno como se describe en este documento. Los inventores han descubierto que la provisión de tal nanotextura imita la textura correspondiente en las superficies hemisféricas de las células adiposas. Adecuadamente, las superficies de contacto con el tejido de los miembros en contacto con el tejido comprenden características a nanoescala (por ejemplo, crestas o picos) que tienen una altura (medida, por ejemplo, por AFM) en el intervalo de 200 a 800 nm, adecuadamente de 300 a 700 nm. Adecuadamente, la altura media de estas características está en el intervalo de 200 a 800 nm, adecuadamente de 300 a 700 nm, adecuadamente de 400 a 600 nm.

Uso quirúrgico

Los inventores prevén un uso no cosmético del material de implante. Por ejemplo, en cirugía reconstructiva o aumento de senos, por ejemplo después de una cirugía o lesión oncológica.

50 El material de implante divulgado en el presente documento, adecuadamente como parte de un implante, puede colocarse de forma subcutánea, subfascial o submuscular. En el caso de un implante mamario, el implante puede ubicarse en el plano tisular entre el tejido adiposo de la mama (anteriormente) y la fascia del músculo pectoral (posterior).

Uso cosmético

55 El material de implante de la invención se puede utilizar en métodos cosméticos, por ejemplo, un método cosmético de aumento de pecho.

Dichos métodos pueden comprender la etapa de implantar en el cuerpo humano un implante que comprende el material de implante como se divulga en este documento.

Material del implante

5 En realizaciones de cualquiera de los aspectos de la presente, el material de implante comprende, adecuadamente comprende como componente principal (por ejemplo, al menos 50% en peso del peso total del material del implante, preferiblemente al menos 60% en peso, más preferiblemente al menos 70% en peso, más preferiblemente al menos 80% en peso, más preferiblemente al menos 90% en peso) en realizaciones consisten sustancialmente, en realizaciones típicas consisten en un material biocompatible adecuado.

10 Adecuadamente, el material se puede moldear, por ejemplo, mediante grabado y/o moldeo en una superficie texturizada. Adecuadamente, el material puede adecuadamente comprender como componente principal (por ejemplo, al menos 50% en peso del peso total del material de implante, preferiblemente al menos 60% en peso, más preferiblemente al menos 70% en peso, más preferiblemente al menos 80% en peso, más preferiblemente al menos 90% en peso, más preferiblemente al menos 95% en peso, más preferiblemente al menos 99% en peso) en las realizaciones consisten sustancialmente en, típicamente consisten en un polímero sintético biocompatible, adecuadamente de un polímero de organosilicio, preferiblemente una silicona y más preferiblemente polidimetilsiloxano (PDMS).

20 Se prefiere particularmente que la superficie del material de implante para el que se especifican aquí los parámetros de rugosidad superficial (es decir, la superficie destinada a entrar en contacto con el tejido del paciente, es decir, la superficie de contacto con el tejido) comprenda el polímero sintético biocompatible mencionado anteriormente. De hecho, como se indicó anteriormente, adecuadamente la superficie consiste sustancialmente en un polímero de organosilicio, preferiblemente PDMA. Por tanto, en las realizaciones, la superficie (superficie de contacto con el tejido) es una superficie texturizada de organosilicio, siendo la textura como se describe aquí.

Adecuadamente, la composición del material de implante es sustancialmente homogénea, especialmente en una dirección de profundidad desde la superficie (superficie de contacto con el tejido) hacia el material a granel.

25 El material de implante forma adecuadamente al menos parte de la capa superficial del implante relevante. Por tanto, las superficies de los implantes de la invención pueden comprender parcialmente superficies de implantes convencionales, así como las superficies novedosas y ventajosas descritas en este documento. En realizaciones, las superficies de material de implante de la invención descritas en este documento forman al menos la mitad, en realizaciones adecuadas más de la mitad, preferiblemente sustancialmente todas (por ejemplo, al menos 90%, 95%, 30 98% o 99% por área de la superficie del implante) de la superficie del implante en contacto con el tejido, tal como en el caso de que la superficie del implante en contacto con el tejido consista en dicho material de implante. El material que comprende las superficies de la invención puede ser diferente a otros materiales del implante o puede ser el mismo. Por tanto, el implante puede comprender una capa inferior del mismo de un material diferente a la capa superficial del implante de la invención.

35 El implante puede ser cualquier implante adecuado capaz de insertarse en un paciente, preferiblemente un implante protésico, opcionalmente un implante para inserción interna debajo de la superficie de la piel de un paciente, más preferiblemente un implante mamario.

40 Como se señaló anteriormente, los materiales de implante de la presente invención se configuran preferiblemente para insertarse subcutáneamente dentro de un paciente o pueden administrarse externamente. Preferiblemente, el implante se administra (se pretende que esté ubicado) internamente, por ejemplo, subcutáneamente, subfasialmente o submuscularmente.

Plantillas

45 En un aspecto adicional de la invención se proporciona una plantilla para usar en la preparación de un material de implante según cualquier aspecto o realización de la presente. Adecuadamente, dicha plantilla comprende una superficie texturizada como se describe de acuerdo con cualquier aspecto o realización en este documento, o un negativo (por ejemplo, un molde inverso) de una superficie texturizada como se describe en este documento. La plantilla puede comprender típicamente la información tridimensional, es decir, información X, Y, Z, correspondiente a la superficie del material del implante de la invención como se define de acuerdo con cualquier aspecto y realización de la presente. En las realizaciones, la plantilla es un sello o molde, por ejemplo, un sello para imprimir 50 una textura superficial de la invención en una superficie de implante o moldear la superficie del implante, opcionalmente en el que el sello o molde es un sello o molde de silicona. Por tanto, una superficie puede estamparse o moldearse varias veces para proporcionar un material de implante que tenga una superficie como la definida anteriormente. En las formas de realización, la propia plantilla es un molde. El uso de moldes es beneficioso, ya que se pueden utilizar para fabricar rápidamente una gran cantidad de implantes.

Métodos

Aquí también se divulga un método para preparar un material de implante que tiene una superficie texturizada que comprende los pasos de adquirir datos espaciales en las dimensiones X, Y y Z (es decir, datos espaciales tridimensionales) de una superficie de tejido adiposo y usando dichos datos espaciales para crear la superficie texturizada del implante.

- 5 Adecuadamente, el uso de los datos espaciales comprende además el paso de procesar los datos espaciales y usar los datos procesados para crear la superficie texturizada del implante.

10 Por tanto, los inventores proponen la adquisición de datos de imagen/topografía 3D correspondientes a una superficie de tejido adiposo para la reproducción (formación de) una superficie de implante. Este enfoque representa una desviación considerable de los enfoques convencionales para texturizar superficies de implantes, que se basan principalmente en la aplicación de prueba y error de métodos toscos y a menudo irreproducibles que no proporcionan un control adecuado de las superficies de implantes producidas (por ejemplo, haciendo espuma de células abiertas o texturizando, usando métodos de sal).

15 En realizaciones, la etapa de adquirir los datos espaciales X, Y, Z se realiza mediante cualquier perfilómetro de contacto o sin contacto adecuado, adecuadamente de mediante microscopía de fuerza atómica, escáner láser 3D o perfilador óptico.

20 En realizaciones, el paso de crear la superficie texturizada usando los datos espaciales X, Y, Z incluye impresión tridimensional o fotolitografía o litografía de haz E, particularmente fotolitografía óptica, por ejemplo, litografía UV, por ejemplo, usando un grabador láser. En una realización, el método incluye el paso de procesar los datos 3D (espaciales X, Y, Z) convirtiendo, convirtiendo adecuadamente de digitalmente los datos respectivos en una forma de datos que pueda ser leída por un sistema de litografía sin máscara. En una realización, el paso de procesamiento incluye la formación de una imagen en escala de grises de dos o más de 8 bits (u opcionalmente de 16 bits) en la que las 256 (por ejemplo u opcionalmente 65536) intensidades de escala de grises diferentes corresponden a cambios en la altura vertical de una superficie medida. Alternativa o adicionalmente, el paso de procesamiento incluye unir dos o más imágenes en escala de grises (mapas) para formar un montaje en mosaico de imágenes de superficie antes de aplicar la imagen a una superficie, por ejemplo, antes de asignar una serie de dosis de radiación en cada píxel y así controlar la exposición de la fotorresistencia.

30 El uso de tales métodos permite por tanto la producción de características superficiales controladas en una superficie de implante, que se basan en la reproducción de características superficiales tomadas de un entorno de tejido adiposo y no de superficies fabricadas por las formas crudas e incontroladas descritas en la técnica anterior. El método es más versátil que los métodos de la técnica anterior y la adaptación de la información digital X, Y, Z puede proporcionar no solo la topografía celular en sí, sino una variedad de topografías de la superficie utilizando las características de la superficie del tejido adiposo como inspiración original. El procesamiento y manipulación de los datos de la superficie durante la litografía o la impresión permite la reproducción de una variedad infinita de diseños de superficies.

35 El uso de la litografía por haz de electrones (E-beam) puede permitir la reproducción de características que tienen una resolución lateral de <50 nm. Por tanto, en una realización, el proceso de formación de la superficie de la invención a partir del uso de datos espaciales X, Y, Z incluye el uso de litografía por haz de electrones (E-beam).

En realizaciones, el método comprende además usar los datos espaciales X, Y, Z para exponer una fotorresistencia (por ejemplo, una fotorresistencia de haz E) que comprende la información X, Y, Z respectiva.

40 El método incluye adecuadamente el uso de la fotorresistencia expuesta y revelada (por ejemplo, una resistencia de haz de electrones) para formar la superficie texturizada. El paso de usar la fotorresistencia expuesta y revelada para transferir la superficie texturizada a una plantilla puede comprender opcionalmente usar un método de grabado, opcionalmente grabado con oxígeno y/o grabado profundo con iones reactivos.

45 Las realizaciones del método incluyen el uso de los datos espaciales X, Y, Z para exponer la fotorresistencia y/o una capa protectora de haz electrónico que comprende el uso de los datos espaciales de X, Y, Z para instruir el suministro de dosis variables de radiación a una superficie fotorresistente y/o de resistencia de haz E para exponer una fotorresistencia y/o resistencia de haz E que comprende la información X, Y, Z respectiva. Por lo general, los métodos de fotolitografía para preparar características 3D en objetos (como los que se usan comúnmente en la industria de los semiconductores) utilizan una fotomáscara graduada para controlar la intensidad relativa de la radiación recibida por varias partes de la fotorresistencia durante el paso de fotolitografía. Sin embargo, es caro y requiere mucho tiempo preparar tales fotomáscaras y, una vez hechas, no se pueden variar y deben usarse para hacer una variedad de patrones idénticos. Por el contrario, el uso de los datos X, Y, Z (por ejemplo, el color o la representación en escala de grises de la altura del pico al valle) para controlar la intensidad relativa de la radiación recibida en un punto dado de la fotorresistencia (por ejemplo, mediante el uso de una máquina de escribir láser configurada para leer tales datos en escala de grises) puede permitir ventajosamente la exposición de una fotorresistencia que, después del revelado, tenga las características de la superficie directamente en lugar de usar una fotomáscara. En otras palabras, en las realizaciones, el método de litografía es un método de litografía sin máscara.

5 En las realizaciones, el paso de preparar la fotorresistencia incluye aumentar o disminuir la escala de los parámetros originales X, Y y/o Z para la reproducción en la fotorresistencia. Esto se puede usar de manera ventajosa si la fotorresistencia necesita ser más delgado en la dirección vertical que las características verticales de la superficie que se está reproduciendo. Las características pueden ampliarse nuevamente durante otro paso, como el uso de grabado, por ejemplo, grabado profundo con iones reactivos.

También se divulga en el presente documento un método para preparar un material de implante que tiene una superficie texturizada que comprende el paso de hacer un molde de una superficie de tejido adiposo, el modelo contiene datos espaciales que representan las dimensiones X, Y y Z y utiliza dicho modelo para hacer el material de implante texturizado.

10 Método de aplicación de textura a las superficies de la invención.

15 El método puede comprender la etapa de preparar dicha superficie texturizada del material de implante mediante grabado, estampado o moldeado. En realizaciones, el método comprende la etapa de preparar dicha superficie texturizada del material de implante mediante grabado. En realizaciones, el método comprende la etapa de preparar dicha superficie de material de implante texturizado mediante estampación, opcionalmente estampación múltiple de una sola superficie para producir una superficie texturizada que tiene varias regiones estampadas de textura irregular, por ejemplo, en las que las imágenes estampadas cubren al menos la mitad, adecuadamente de más de la mitad, y en realizaciones sustancialmente toda la superficie del implante configurada para contactar con el tejido de un paciente cuando se inserta. En realizaciones, el método comprende la etapa de preparar dicha superficie texturizada del material de implante mediante moldeado.

20 En realizaciones, el material de implante preparado mediante dicho método es un material de implante como se describe en cualquiera de los aspectos y realizaciones de la invención descritas en este documento.

Conjunto de datos

25 También se divulga en el presente documento el uso de datos espaciales que representan las dimensiones X, Y y Z adquiridas de una superficie de tejido adiposo en un método de preparación de un material texturizado o fotorresistente para su uso en la preparación de un material texturizado. En realizaciones, el material texturizado es un material de implante texturizado como se describe en este documento o una plantilla como se describe en este documento.

30 También se divulga en el presente documento un método para procesar y/o modificar datos espaciales en las dimensiones X, Y y Z, adecuadamente para proporcionar un conjunto de datos capaz de ser utilizado por una impresora, por ejemplo, una impresora láser o una impresora 3D.

Los datos espaciales adquiridos de la superficie del tejido adiposo pueden procesarse antes de su uso en dicho método de preparación.

Los datos espaciales en las dimensiones X, Y y Z pueden adquirirse de una superficie de tejido adiposo.

35 También se divulga en el presente documento un soporte de datos, adecuadamente un soporte de datos legible por ordenador, que comprende datos espaciales como se define en el presente documento.

Tejido

En los métodos y usos anteriores, el tejido (es decir, el tejido del que los datos espaciales son las dimensiones X, Y y Z se han obtenido o son representativos) es tejido adiposo, preferiblemente tejido adiposo de la mama.

40 Al imitar las señales topográficas del tejido adiposo en la superficie de un implante de silicona, las células que lo encuentran se adhieren y se estabilizan sin estresarse y transformarse en un fenotipo proinflamatorio/fibrótico que da como resultado el inicio de inflamación crónica y fibrosis alrededor del implante a través de la atracción y activación de neutrófilos y macrófagos. En consecuencia, se cree que la extensión de la reacción a cuerpo extraño y la posterior formación de la contractura capsular podrían evitarse potencialmente.

45 Si bien se entiende que el tejido adiposo puede realizar tales funciones en el cuerpo, es completamente sorprendente que los excelentes resultados obtenidos utilizando los materiales fabricados preparados muestren los excelentes resultados observados cuando las características topográficas 3D se reprodujeron en las superficies de los implantes de silicona como se describe en la sección de ejemplos.

Otros aspectos

50 También se divulga en el presente documento un material de implante que comprende una superficie texturizada preparada mediante un método según se define de acuerdo con cualquier aspecto o realización del presente documento.

También se proporciona una plantilla para usar en la preparación de un material de implante de la invención como se describe en este documento, teniendo dicha plantilla parámetros de superficie texturizada como se define aquí, o un negativo de dichos parámetros de superficie texturizada, en el que opcionalmente la plantilla es un molde o sello, tal como se define anteriormente.

- 5 También se divulga en este documento el uso de una plantilla como se describe en este documento en un método para fabricar un material de implante texturizado. Normalmente, la plantilla es una plantilla de silicona, más preferiblemente PDMS.

10 También se divulga en este documento un método cosmético que comprende la etapa de insertar un material de implante como se describe en cualquiera de los aspectos y realizaciones de la invención divulgados en este documento por vía subcutánea en un paciente. Adecuadamente, dicho método es para proporcionar una contracción capsular mínima o nula y/o una respuesta inmunogénica celular. Además, en las realizaciones, el método es para reconstrucciones de la mama.

General

- 15 El término "que comprende" abarca "que incluye" así como "que consiste" por ejemplo, un implante "que comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional, por ejemplo, X + Y.

La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente", por ejemplo, una composición que está "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra "sustancialmente" puede omitirse de la definición de la invención.

El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x es opcional y significa, por ejemplo, x + 10%.

- 20 El experto comprenderá bien el uso del término "irregular" en el contexto de las superficies de la presente invención. Adecuadamente, el término "irregular" en el contexto de las superficies de la presente invención se refiere a áreas de superficie que están desprovistas de patrones geométricos regulares (como patrones repetidos), como en las escalas macro, micro y/o nano relevantes (como en el nivel de 1 cm x 1 cm, 1 mm x 1 mm, 100 micrones x 100 micrones y/o submicrónicos). El término "irregular" en el contexto de las superficies de la presente invención incluye por tanto superficies que parecen estar desordenadas.

25 Se apreciará al leer la presente solicitud que la superficie de los implantes preparados según la presente invención puede formarse mediante el uso de un sello que tiene una superficie de textura irregular que imparte su topografía de superficie irregular al implante al estampar. Por tanto, el sello puede usarse repetidamente sobre la superficie del implante para proporcionar finalmente hasta una cobertura de superficie completa que consiste en la superficie irregular sustancialmente repetida impresa por el sello. Por tanto, se pretende que el término "irregular" en el sentido de la presente invención incluya superficies que tienen más de una, como una pluralidad de áreas repetidas de tal topografía de superficie irregular. El alcance de la invención está limitado por las reivindicaciones adjuntas.

30 descripción de figuras

La figura 1 muestra un diagrama de flujo del proceso de fabricación de las superficies de los implantes.

- 35 La figura 2 muestra S.E.M. imagen de la superficie del lóculo de la mama que ilustra la naturaleza esférica compacta de esta superficie. Barra de escala 100 μm .

La figura 3 es un mapa de altura confocal láser de tejido mamario nativo.

La figura 4 muestra la salida confocal láser que captura la "superficie adiposa original".

La figura 5 es un esquema de la distancia y el "diámetro" del "vecino más cercano".

- 40 La figura 6A es un histograma del diámetro de la esfera.

La figura 6B es un histograma de distancias de los vecinos más cercanos.

45 La figura 6C es una demostración del flujo del proceso de análisis de Matlab (de izquierda a derecha): (A) Mapa de bits original del tejido mamario; (B) División de A usando umbrales de superficie; (C) Punto central de las áreas umbral de B; y (D) Mapa de bits generado de esferas con las mismas propiedades estadísticas que A (barras de escala = 100 μm).

La figura 7 muestra la imagen definida por Matlab.

Las figuras 8A, 8B y 8C muestran información estadística obtenida de la superficie del modelo.

La figura 9 muestra la superficie modelada grabada.

La figura 9B muestra un gráfico que indica la correlación de la altura de la nano-textura con la receta de grabado.

5 La figura 10 muestra información sobre el tejido nativo y sobre la superficie modelada cuando se transfiere a silicona: datos de altura de imagen de mapa de bits 1A generados a partir del programa Matlab; 1B perfil de altura del mapa de bits 1A a lo largo de la línea negra en 1A; 1C, una representación 3D del mapa de bits en 1A; 2A un escaneo 2D de la superficie de silicona real creado con SU8 y escaneado con un microscopio confocal láser; 2B perfil de altura de 2A a lo largo de la línea negra en esta figura; y 2C una representación 3D de la superficie modelada real Superficie escaneada confocal láser real.

Las figuras 11A y 11B muestran un S.E.M. imagen de fibroblastos adheridos a la superficie adiposa y S.E.M. imagen de macrófagos THP-1 adheridos a la superficie adiposa.

10 Las figuras 12A y 12B muestran un S.E.M. imagen de fibroblastos adheridos a superficie modelada y S.E.M. imagen de macrófagos THP-1 adheridos a la superficie modelada.

Las figuras 13A, 13C, 13E y 13G son fibroblastos y macrófagos adheridos a las superficies mostradas en las figuras 13B, 13D, 13F y 13H (azul = núcleos, verde = adherencias focales, rojo = citoesqueleto).

15 La figura 14 muestra expresiones génicas relativas de QRT-PCR de IL-10, TNF-alfa, ILB1, CD206 e IL6 en comparación con el plástico de cultivo de tejidos.

La figura 15 muestra la producción relativa de citocinas de GRO-Alpha, IL10, IL8 y TNF Alpha en comparación con el plástico de cultivo de tejidos.

La invención se describe con más detalle a modo de ejemplo solo con referencia a los siguientes ejemplos y procedimientos experimentales.

20 Materiales y métodos

Se han creado 2 superficies biomiméticas, la superficie "adiposa original" y la superficie "adiposa modelada". Las muestras de tejido utilizadas en este estudio se obtuvieron a través de la investigación de cirugía plástica y reconstructiva (PRSR) de ética del banco de tejidos y piel (Código de ética del Comité de Ética de Investigación del Noroeste - 11/NW/0683). Se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes para el uso de su tejido en este estudio. Todo el procesamiento del tejido mamario se realizó en nuestro laboratorio autorizado por la Autoridad de Tejidos Humanos. A continuación se describe la caracterización y fabricación de dos nuevas superficies de implantes de polidimetilsiloxano (PDMS) derivadas de la topografía del tejido mamario nativo.

Recogida de tejido mamario y fijación de muestras

30 Se recogió tejido mamario de tres pacientes de operaciones electivas de reducción mamaria cosmética y se transportó a nuestro laboratorio en Dulbecco's Modified Eagle Medium (Sigma-Aldrich, Reino Unido) suplementado con 1% de penicilina y estreptomina (laboratorios PAA, Pasching, Austria), 1% L-glutamina (PAA) y suero bovino fetal al 10% (PAA). Los pacientes no tenían antecedentes médicos de malignidad o afecciones fibróticas, ninguno era obeso y ninguno fumaba.

35 El tejido mamario se lavó minuciosamente en solución salina tamponada con fosfato (PAA) templada suplementada con penicilina y estreptomina (PAA) al 1% antes de que los lóbulos del tejido adiposo mamario se diseccionaran de las muestras de tejido mamario. Se diseccionaron los lóbulos del tejido mamario y se fijaron en paraformaldehído al 2% (Sigma-Aldrich), glutaraldehído al 2.5% (Sigma-Aldrich) y tampón hepes 0.1 M (Formedium, Reino Unido) durante 7 días a 4°C.

40 El tejido adiposo se lavó cuatro veces en agua destilada durante 15 minutos cada una y luego se fijó posteriormente en tetróxido de osmio al 1% (Agar Scientific, Reino Unido) en hepes 0.1 M (Formedium) durante 1 hora. Después de dos pasos de lavado adicionales en agua destilada de 15 minutos cada uno, el tejido se deshidrató usando pasos de acetona graduados de 25%, 50%, 75%, 90% y 100%, durante 15 minutos en cada paso. Luego se realizaron tres lavados más en acetona al 100% antes de que el tejido se secara en un punto crítico (Quorum Technologies Ltd. East Sussex, Inglaterra).

45 Imagen, medición de muestras y generación de "superficie adiposa original"

50 Para la obtención de imágenes confocales con láser, se montó tejido adiposo fijo en un talón de microscopía electrónica de barrido (SEM) y se midió utilizando un microscopio confocal láser 3D de la serie X-100/X-200 con un objetivo de 50x (Keyence, Japón). La superficie de los adipocitos se midió usando un microscopio Dimensión Icon (Bruker, EE. UU.), Mapeo de fuerza cuantitativa usando una punta SCANASYST-FLUID + (nitruro de silicio, nominal k = 0.7) (Bruker). Para la microscopía electrónica de barrido (SEM), las muestras montadas se recubrieron por pulverización catódica con oro y paladio durante 120 segundos usando un recubridor de pulverización catódica SC7620 (Quorum Technologies Ltd, Reino Unido) y se obtuvieron imágenes usando un FEI (Oregón, EE. UU.) Quanta 250 FEG SEM.

Las imágenes del microscopio confocal láser se exportaron luego como un archivo de datos de grupo de puntos .asc. Este archivo .asc se abrió en Gwyddion. La sustracción de fondo de la imagen mediante una función de ajuste polinomial se utilizó antes de que los datos se convirtieran en un mapa de bits en escala de grises de 8 bits, que contenía los datos de altura en este archivo como 256 escalas de grises. Esto creó la superficie "Adiposo original". (figura 3).

5

Medida de la superficie adiposa

La superficie "Adiposo original" se analizó más a fondo para definir sus características estadísticas. El código de Matlab fue diseñado para reconocer los límites entre cada hemisferio dentro de estas imágenes. Esto se logró mediante la segmentación de la cuenca (ver figura 6C). Luego, el código estableció la altura máxima de cada uno de estos segmentos para reconocer la posición del centroide de cada hemisferio dentro de estos segmentos, antes de que una función de ajuste de esfera 3D estableciera el ajuste más cercano de una esfera a cada segmento. El código también generó datos para la distancia del vecino más cercano (la distancia entre un centroide y el siguiente) y el diámetro del hemisferio. (figura 5)

10

El código Matlab define una superficie "adiposa modelada"

El código de Matlab produjo una superficie, generada a partir de las medidas tomadas de la superficie "adiposa original". Al combinar el diámetro del hemisferio y la relación de cada hemisferio con su vecino más cercano, se generó una nueva superficie "Adiposa Modelada" con los mismos atributos estadísticos que el tejido nativo. (figura 6C). Esto permitió la generación de una nueva imagen de mapa de bits "adiposo modelado" (figura 7). La superficie "adiposa modelada" tenía los mismos atributos estadísticos que la superficie adiposa original. Los datos estadísticos se muestran con los ajustes de distribución logarítmica normal en las figuras 8A, 8B y 8C.

15

20

Fotolitografía 3d

Después de la generación de un mapa de bits de las superficies "adiposa original" y "adiposa modelada", estas se transfirieron a PDMS utilizando litografía en escala de grises sin máscara de un molde fotorresistente SU-8 ilustrado en la figura 1.

25

La capa base

En una sala limpia de clase 100, se sonicó una oblea de silicio simple de 4 x 4 cm durante 10 minutos en acetona, alcohol isopropílico (IPA) y agua destilada, se secó con gas nitrógeno y se horneó en una placa caliente durante 10 minutos a 150°C. A continuación, se centrifugó hexametildisilazano (Microchem, EE. UU.) Sobre la oblea a 3000 rpm durante 45 segundos antes de devolverlo a la placa calefactora durante 10 minutos más. Como capa de adhesión, se centrifugó SU8-2000.5 (Microchem, EE.UU.) sobre la oblea a 3000 rpm y se horneó en rampa de 25°C a 95 °C antes de mantenerlo a 95°C durante 5 minutos. La oblea revestida con SU-8 se expuso por inundación a luz de longitud de onda de 454 nm durante 20 segundos antes de volver a colocarse en la placa calefactora durante 5 minutos más. La oblea recubierta de SU-8 se desarrolló en disolvente EC durante 1 minuto antes de enjuagarla en IPA y hornear a 150°C durante 10 minutos.

30

35

La textura superficial

A continuación, se centrifugó una capa secundaria más gruesa de SU-8 2025 (Microchem, EE. UU.) Sobre la superficie de la oblea revestida con la capa base a 4000 rpm, correspondiente a un espesor de 30 µm. A esto le siguió un horneado previo a la exposición en rampa de 25°C a 95°C antes de mantenerlo a 95°C durante 10 minutos.

40

Exposición

La oblea se expuso al patrón "adiposo original" o "adiposo modelado" utilizando un aparato de escritura láser (LW405 Microchem, Italia). Las imágenes de mapa de bits se invirtieron antes de su uso con imageJ (19). Las imágenes de mapa de bits invertidas se cargaron en el software de escritura láser y el tamaño de píxel se registró en 0.5 µm en X e Y. Se usó un objetivo de 40x para exponer la fotorresistencia y la dosis de potencia del láser fue dictada por el nivel de escala de grises correspondiente (0 es sin dosis y 256 es la dosis máxima). La optimización se realizó en un diseño de cuña en escala de grises y las imágenes de mapa de bits se volvieron a formatear utilizando un código en Matlab para mejorar la linealidad de la fotorresistencia.

45

Desarrollo

Una vez que se transfirió el patrón, la oblea se sometió a un horneado posterior a la exposición durante 10 minutos a 95°C antes del desarrollo del patrón en disolvente Microposit EC (Chestech Ltd, Reino Unido) durante 10 minutos con agitación suave. A continuación, los sustratos se aclararon en IPA.

50

Textura secundaria

5 En el caso de la superficie adiposa modelada, para impartir una rugosidad a la superficie que tenía propiedades estadísticamente similares a las del tejido adiposo nativo, se utilizó una receta de grabado con oxígeno para texturizar la superficie del master SU-8. Se utilizó un sistema Oxford Plasmlab System 100 (Oxford, Inglaterra) para grabar la superficie SU-8 durante 6.5 minutos a 5 mTorr de presión, con una potencia de RF de 5, una presión de ICP de 300 y un caudal de O₂ de 45 Sccm.

El vapor de trimetilclorosilano actúa como una capa de liberación entre la silicona y el molde maestro

Para pasivar la superficie del molde SU-8, para reducir la unión de la silicona a esta plantilla maestra, se utilizó trimetilclorosilano (TMCS, Sigma, Reino Unido). El master SU-8 y 0.5 ml de TMCS se colocaron al vacío para vaporizar el TMCS. El vacío se mantuvo durante 1 hora para vaporizar el TMCS y silanizar la oblea.

10 La silicona de grado médico crea superficies adiposas en silicona

Para moldear la silicona posterior de cada oblea maestra, se utilizó silicona MED 6215 (Nusil California, EE. UU.), Una silicona de grado médico con permiso para su uso en humanos. Esta silicona se centrifugó sobre la oblea a 200 rpm y se curó durante la noche en un horno a 65°C antes de despegarse de la superficie del SU8 para producir tanto la superficie "Adiposo original" como la "Adiposa modelada".

15 Caracterización del sustrato

Las superficies de implantes fabricadas se caracterizaron mediante AFM, imágenes confocales con láser y microscopía electrónica de barrido.

Crecimiento de los macrófagos thp-1

20 Se cultivaron células de monocitos THP-1 humanos en medio RPMI 1640, "medio normal" (Sigma Aldrich, Reino Unido) suplementado con penicilina y estreptomina (PAA) al 1%, L-glutamina (PAA) al 1% y suero bovino fetal al 10% (PAA) en matraces de plástico de cultivo de tejidos (TCP) T75 (Corning Incorporated, EE. UU.). Los monocitos se incubaron a 37°C en CO₂ al 5% y el medio se cambió semanalmente. Los monocitos THP-1 se trataron con acetato de miristato de forbol 25 nM (PMA, Sigma Aldrich, Reino Unido) durante 24 horas para facilitar la diferenciación en macrófagos. Después de la diferenciación, los macrófagos se lavaron dos veces con medio normal y se dejaron reposar durante 24 horas más en medio normal. Antes de la siembra, se privó de suero a los macrófagos durante 24 horas en medio FBS al 0.5% para sincronizar estas células. Las células se sembraron a razón de 250.000 células por pocillo de una placa de cultivo de 24 pocillos (Corning Incorporated, EE.UU.) y cada experimento se realizó por triplicado.

Preparación de superficies de cultura

30 Las superficies fabricadas se cortaron en discos de 15 mm usando un cortador de punzón, antes de adherirse al fondo de una placa de 24 pocillos (Corning Incorporated) usando una gota de silicona MED 6215 sin curar, que se curó durante la noche a 65°C. Se utilizaron como controles TCP y una superficie lisa de silicona MED 6215, fabricada curando PDMS en una oblea de silicio simple. Antes de la siembra celular, las superficies fabricadas se lavaron dos veces con PBS y se esterilizaron usando etanol al 70% durante 15 minutos. Los implantes fabricados se secaron al aire durante media hora y se lavaron dos veces con PBS. Para microscopía confocal, se tomaron biopsias de 6 mm de las superficies fabricadas y

Extracción de ARN, síntesis de ADNc y reacción cuantitativa en tiempo real de la cadena de polimerasa

40 Las células se lavaron una vez con PBS, antes de lisarse en tampón RLT (Qiagen, Reino Unido) y se recogió el lisado. El ARN se extrajo utilizando el kit Qiagen ARN Mini según las instrucciones del fabricante. La pureza y la cantidad de ARN se evaluaron usando un espectrofotómetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, EE. UU.) Antes de que el ARN se transcribiera a ADNc usando un kit de síntesis de ADNc qScripts (Quanta Biosciences, EE. UU.). La qRT-PCR se realizó en una máquina LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Alemania) como se describió anteriormente (20). Se analizó la expresión génica del factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), interleucina beta1 (ILB1), interleucina 6 (IL6), interleucina 10 (IL10) y receptor de manosa (CD206). Los cebadores y las sondas se diseñaron utilizando Universal Probe Library y se adquirieron de Sigma Aldrich, Reino Unido. Los valores de Δ CT se calcularon restando los valores de CT del gen de referencia beta actina promediado. Las expresiones génicas relativas se calcularon utilizando el método $\Delta\Delta$ CT.

Marcador inflamatorio de matriz de citocina

50 El medio de cultivo celular se aspiró del pocillo de cultivo celular en cada momento y se almacenó a -80°C hasta su uso posterior. El análisis de Luminex se realizó mediante el inmunoensayo Procart-Plex™ Multiplex (eBioscience, Viena, Austria) para IL-1RA, IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF alfa, IFN gamma y GRO alfa según las instrucciones del fabricante.

inmunocitoquímica

Se realizó inmunocitoquímica en fibroblastos derivados de mama para la vinculina, F-Actina y DAPI. Se realizó inmunocitoquímica en macrófagos usando Integrin α -v. Los discos de las superficies de los implantes fabricados se cortaron con una biopsia por punción de 6 mm, se adhirieron a cubreobjetos circulares de 8 mm utilizando 3 μ l de silicona MED-6215 mezclada y se curaron a 65°C durante la noche, esterilizando y sembrando con 10.000 macrófagos o 5.000 fibroblastos.

Después de 24 horas de crecimiento celular, las células se fijaron en formalina tamponada neutra al 10% (Sigma-Aldrich, Reino Unido) durante 1 hora, se lavó en solución salina tamponada con Tris (TBS, Sigma-Aldrich, Reino Unido) y la formalina sin reaccionar se inactivó incubando en glicina al 1% durante 30 minutos. Las células fijadas se permeabilizaron con Triton-X 100 al 1% (Sigma-Aldrich, Reino Unido) durante 30 minutos. Después, las células se lavaron dos veces antes de bloquearlas en albúmina de suero bovino al 10% (BSA, Sigma-Aldrich, Reino Unido) durante 1 hora. Después del lavado, los fibroblastos se incubaron en anticuerpo antivinculina a una dilución de 1: 200 en BSA al 10% (V9131, Sigma-Aldrich, Reino Unido) durante 1 hora a temperatura ambiente (TA). Después de lavar, los macrófagos se incubaron en Anti-Integrin α -v a una dilución de 1: 750 en BSA al 10% (ab124968, Abcam, Cambridge, Reino Unido) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las células se lavaron en TBS-Tween (TBST, 0.1% Tween en TBS) y se incubaron en el anticuerpo secundario, tinte antimouse (anticonejo) Alexa-Fluor-488 (Invitrogen, Reino Unido) a una concentración de 1: 200 durante 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad. Las células se lavaron con TBST, se incubaron con Rhodamine Phalloidin (Sigma-Aldrich, Reino Unido) a una concentración de 1: 1000 durante 45 minutos, con 4', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, 1: 500 en TBST, Invitrogen, Reino Unido) durante 15 minutos antes de lavarlos dos veces y colocarlos en PBS a 4°C hasta obtener la imagen.

Microscopia confocal

Las imágenes se adquirieron utilizando un microscopio confocal de barrido láser invertido Leica SP5 (Leica, Wetzlar, Alemania) con una lente de inmersión x40. Se tomaron imágenes de las muestras en PBS y se usó ImageJ para compilar cortes de pila z usando la herramienta de proyección máxima.

Microscopia electrónica de escaneo

Se eliminó el medio de crecimiento y las células se lavaron dos veces con tampón hepes 0.1 M (Formedium, Reino Unido). Las células se fijaron en glutaraldehído al 2,5% (Sigma-Aldrich) y tampón hepes 0.1 M (Formedium, Reino Unido) durante 1 hora a TA. Después de dos pasos de lavado en agua destilada de 15 minutos cada uno, el tejido se deshidrató a través de una serie graduada de etanol, 25%, 50%, 75%, 90% y 100%, durante 15 minutos en cada paso. A continuación, se realizaron tres lavados más en etanol al 100% antes de que las células y el implante se secaran en un punto crítico (Quorum Technologies Ltd. East Sussex, Inglaterra).

Resultados

La superficie adiposa permanece intacta después de la fijación del tejido.

Se demostró que la textura del tejido adiposo mamario se conserva después de la fijación del tejido. S.E.M. las imágenes ilustran la textura de la superficie de estos lóculos mamarios; una disposición compacta de esferas con una capa variable de fibras que recorren su superficie (figura 2).

La microscopía confocal láser define las estadísticas de textura del lóbulo adiposo

Las imágenes confocales con láser (figura 3) muestran que el microscopio confocal láser logró obtener imágenes de la superficie natural de la mama. Los adipocitos presentes, los bloques de construcción individuales de esta superficie, también conservaron su naturaleza esférica y no se habían colapsado, lo que demuestra que la técnica de fijación había conservado con éxito el contenido estructural de estas esferas.

Se extrajo un mapa de bits de los datos de medición de la superficie, donde la altura se representó como 256 escalas de grises, de las imágenes confocales del láser (figura 4). Esto definió la superficie "Adiposo original".

Los datos confocales láser permiten la extracción de datos estadísticos de la superficie adiposa

El código Matlab, escrito para extraer los datos estadísticos de la superficie, permitía medir las distancias de los vecinos más cercanos y los diámetros de las esferas (figura 5).

Los diámetros de las esferas variaron de 16.8 μ m a 152.53 μ m (media de 43.26 μ m, mediana de 40.6 μ m, DE 13.69 μ m) (figura 6A), mientras que las distancias del vecino más cercano variaron de 30.69 μ m a 159.09 μ m (media de 71.4 μ m, mediana de 66.8 μ m, DE 31.77 μ m) (figura 6B).

El código de Matlab define la estructura base de la "Superficie adiposa"

Sobre la base de las esferas reconocidas en la superficie de una muestra, el código de Matlab generó la textura base de la nueva superficie adiposa modelada en escala de grises en función de la posición y los diámetros de las esferas en esta superficie (figura 6C, 7).

AFM cuantifica estadísticamente la superficie adiposa

Los perfiles de altura de 12 adipocitos de los datos se obtuvieron de las exploraciones AFM de las superficies de los adipocitos. Los perfiles de altura variaron entre cada adipocito, pero la información obtenida permitió determinar una receta de grabado para imitar los perfiles de altura/textura en la superficie adiposa modelada.

- 5 Los escaneos AFM de esta nanotextura mostraron que tiene una rugosidad aleatoria en su superficie y un perfil de altura que coincide con el de los adipocitos.

La superficie del molde SU-8 se texturizó usando una receta de grabado con oxígeno de 6.5 minutos que produjo una textura en la superficie del molde (figura 12B, grabado durante 6.5 minutos) con estadísticas y una altura de superficie que se encuentra dentro del rango de la medida en los adipocitos mamarios nativos.

- 10 La medición confocal láser demuestra la transferencia exitosa de la superficie adiposa modelada a silicona

La figura 10-1A ilustra los datos de altura generados por el código Matlab para la superficie de la superficie adiposa modelada en 2d, como una representación 3D (10-1C) y como un gráfico del perfil de esta superficie (10-1B) a lo largo de la línea negra en la imagen 10-1A. La figura 10 2A, 2B, 2C muestra la superficie adiposa modelada escaneada usando un microscopio confocal láser y los mismos resultados 2D, 3D y de perfil.

- 15 El crecimiento de fibroblastos y macrófagos de origen humano muestra el reconocimiento de la macrotextura de la superficie

Se cultivaron fibroblastos y macrófagos en cultivo sobre la superficie de las superficies adiposa original y adiposa modelada. Los fibroblastos se adhirieron a estas superficies y se conformaron a la macro textura debajo de ellas, orientándose a lo largo de los valles de las características esféricas debajo de ellas como se muestra más aparentemente en las figuras 11A, 12A.

- 20 Los macrófagos también se agruparon alrededor de la circunferencia de las características esféricas en las figuras 11B, 12B.

No se observaron diferencias significativas en los complejos de adhesión focal entre las superficies adiposa original y adiposa modelada en fibroblastos y macrófagos. Sin embargo, el patrón de reconocimiento de macrotexturas y crecimiento de fibroblastos alrededor de la periferia de las formas esféricas debajo de ellos fue continuo en las imágenes mostradas en las figuras 13A y 13E.

- 25

La superficie adiposa modelada induce una alteración positiva en los perfiles de genes cultivados en su superficie en comparación con las superficies lisas de silicona.

- 30 Como se muestra en la figura 14, la superficie adiposa modelada provocó una polarización pro-M2 en macrófagos THP-1. A las 12 horas, TNF alfa (vs adiposo original $p = 0.0008$, vs liso $p = 0.0008$), ILB1 (vs adiposo original $p = 0.0007$, vs liso $p = 0.0006$) e IL6 (vs liso $p = 0.0006$) tuvieron la expresión génica relativa más baja en la superficie modelada en comparación con la superficie adiposa lisa y original. A las 24 horas, IL10, que es una citoquina antiinflamatoria, tuvo la expresión más alta en la superficie adiposa modelada en comparación con la superficie adiposa original ($p = 0.0003$) y la superficie lisa ($p = 0.0003$). El CD206, que es un marcador del fenotipo M2a, tuvo una expresión relativa más alta en la superficie adiposa modelada en comparación con la superficie lisa a las 12 horas ($p = 0.0001$) y una superficie adiposa superior a la original ($p < 0.0001$).

- 35

También se puede ver que en muchos casos, las superficies fabricadas tenían menos influencia inflamatoria sobre los macrófagos THP-1 que el propio plástico de cultivo de tejidos.

- 40 La superficie adiposa modelada induce una alteración positiva en la expresión de citocinas en macrófagos cultivados en su superficie

Los perfiles de citocinas de los mismos macrófagos analizados en los datos de PCR anteriores, reforzaron el hecho de que la superficie adiposa modelada provocó un efecto positivo en los macrófagos THP-1 (figura 15). A las 12 horas, la Superficie Adiposa Modelada provocó la mayor producción de citocina antiinflamatoria IL10 (vs adiposo original $p = 0.0032$ y vs lisa $p = 0.0186$) y la producción más baja de antiinflamatorio Gro-Alpha (vs adiposo original $p = 0.0031$ y vs Lisa $p = 0.0192$), TNF-Alpha (vs adiposo original $p < 0.0001$ y vs Lisa $p = 0.0186$), quimioatrayente de neutrófilos IL8 (vs adiposo original $p = 0.0035$ y vs lisa $p = 0.0134$). A las 24 horas, los niveles de IL8 mostraron nuevamente los niveles más bajos en la superficie adiposa modelada (vs adiposo original $p = 0.0098$ y vs lisa $p = 0.0477$).

- 45

Observaciones

- 50 Se ha demostrado que la nueva textura de la superficie reduce la respuesta inflamatoria de los macrófagos e induce un fenotipo de macrófago activado alternativamente en la respuesta inicial del biomaterial in vitro.

5 Mediante un cuidadoso análisis de la superficie y el posterior modelado, los inventores han caracterizado las características relevantes del tejido adiposo mamario nativo. Específicamente, esto ha llevado a una mejor comprensión de las formas y disposición de las características en la superficie del tejido mamario nativo y esto, a su vez, ha ayudado a la replicación de estas características en la silicona. Mediante la combinación de una técnica fotolitográfica y el grabado con plasma de oxígeno, generalmente reservado para la industria de la microelectrónica, se ha logrado una micro y nanotextura superpuesta compleja en la superficie de la silicona de grado médico, que imita la que se encuentra dentro de la mama.

10 Para examinar el efecto in vitro de la textura del implante, se ha utilizado un ensayo desafiante basado en macrófagos, que es un tipo de célula con un papel indiscutible en la regulación de la reacción de cuerpo extraño. (25) Los macrófagos llegan a la interfaz de la herida del biomaterial dentro de las primeras horas y permanecen durante varios días y dictan la reacción de cuerpo extraño aguas abajo, razón por la cual se han elegido puntos de tiempo de 12 y 24 horas para evaluar sus reacciones. (26) Citocinas proinflamatorias IL-1 (3, (27), IL-6 (28), El TNF alfa (29) y la IL-8 (30) implicados en la activación de los macrófagos y la IL-10 (31), una potente citoquina antiinflamatoria, tienen papeles importantes en la reacción de los macrófagos a las superficies de los biomateriales y en la determinación del resto del cuerpo extraño. (31) También se ha descubierto que la IL8 y el TNF-alfa están regulados al alza en las cápsulas fibróticas contraídas. (32) Cada uno de los genes asociados con estas citocinas o las citocinas en sí se modulaban favorablemente por la superficie del implante novedoso.

15 Los fibroblastos son el tipo de célula tradicional que se utiliza para evaluar la reacción a las superficies de los implantes, ya que generan una matriz extracelular que es el componente principal de la cápsula. Los fibroblastos se incluyeron en la evaluación de las superficies del implante como un indicador de la alineación celular porque se ha teorizado que esto, con los implantes de superficie lisa, se ha teorizado que aumenta las tasas de contractura. (17) Los fibroblastos se reclutan aproximadamente entre 24 y 48 horas después de la creación de la herida al final de la fase inflamatoria y al comienzo de la fase proliferativa y son activados por los quimioatrayentes y las citocinas producidas por los macrófagos. (33) La superficie del implante ha demostrado que los fibroblastos reconocen la superficie del implante y siguen los valles entre cada hemisferio en la superficie en una variedad de direcciones diferentes, rompiendo así la alineación vista en los implantes de superficie lisa.

20 Nuestros resultados muestran que dos tipos de células diferentes están influenciados por la topografía de la superficie y que la modulación de esta respuesta es posible al proporcionar una topografía que imita una superficie de tejido adiposo, siendo esta respuesta independiente de la química del implante. (34)

30 En este documento se citan varias patentes y publicaciones con el fin de describir y divulgar más completamente la invención y el estado de la técnica al que pertenece la invención.

Referencias

1. Cash TF, Duel LA, Perkins LL, Sarwer DB. Women's psychosocial outcomes of breast augmentation with silicone gel-filled implants: A 2-year prospective study. *Plastic and reconstructive surgery*. 2002;109(6):2122-3.
- 35 2. The International Society of Aesthetic Plastic Surgery Releases Statistics on Cosmetic Procedures Worldwide [press release]. 2014.
3. Gabriel SE, Woods JE, O'Fallon WM, Beard CM, Kurland LT, Melton LJ. Complications Leading to Surgery after Breast Implantation. *The New England journal of medicine*. 1997;336(10):677-82.
- 40 4. Anderson JM. BIOLOGICAL RESPONSES TO MATERIALS. *Annual Review of Materials Research*. 2001;31(1):81-110.
5. Collis N, Sharpe DT. Recurrence of subglandular breast implant capsular contracture: Anterior versus total capsulectomy. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;106(4):792-7.
6. Araco A, Caruso R, Araco F, Overton J, Gravante G. Capsular contractures: a systematic review. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124(6):1808-19.
- 45 7. De Nicola RR. Permanent artificial (silicone) urethra. *J Urol*. 1950;63:168-72.
8. Ashley FL. A new type of breast prosthesis. Preliminary report. *Plastic and reconstructive surgery*. 1970;45(5):421-4.
9. Batich C, Williams J, King R. Toxic hydrolysis product from a biodegradable foam implant. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1989;23(SUPPL. A3):311-9.
- 50 10. Gasperoni C, Salgarello M, Gargani G. Polyurethane- covered mammary implants: A 12-year experience. *Annals of Plastic Surgery*. 1992;29(4):303-8.

11. Barr S, Bayat A. Breast implant surface development: perspectives on development and manufacture. *Aesthetic surgery journal / the American Society for Aesthetic Plastic surgery*. 2011;31(1):56-67.
12. Barnsley GP, Sigurdson LJ, Barnsley SE. Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006; 117(7):2182-90.
13. Wong CH, Samuel M, Tan BK, Song C. Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: A systematic review. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006;118(5):1224-36.
14. Bettinger CJ, Langer R, Borenstein JT. Engineering substrate topography at the Micro- and nanoscale to control cell function. *Angewandte Chemie - International Edition*. 2009;48(30):5406-15.
15. Hynes RO. The extracellular matrix: Not just pretty fibrils. *Science*. 2009;326(5957):1216-9.
16. Dvir T, Timko BP, Kohane DS, Langer R. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat Nano*. 2011;6(1):13-22.
17. Brandt B, Breiting V, Christensen L. Five years experience of breast augmentation using silicone gel prostheses with emphasis on capsule shrinkage. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*. 1984;18(3):311-6.
18. Del Rosario AD, Bui HX, Petrocine S, Sheehan C, Pastore J, Singh J, et al. True synovial metaplasia of breast implant capsules: A light and electron microscopic study. *Ultrastructural Pathology*. 1995;19(2):83-93.
19. Rasband WS. ImageJ1997-2012. Available from: <http://imagej.nih.gov/ij/>.
20. Syed F, Ahmadi E, Iqbal SA, Singh S, Mc-Grouther DA, Bayat A. Fibroblasts from the growing margin of keloid scars produce higher levels of collagen i and III compared with intralesional and extralesional sites: Clinical implications for lesional sitedirected therapy. *British Journal of Dermatology*. 2011;164(1):83-96.
25. Kenneth Ward W. A Review of the Foreign-body Response to Subcutaneously-implanted Devices: The Role of Macrophages and Cytokines in Biofouling and Fibrosis. *Journal of diabetes science and technology (Online)*. 2008;2(5):768-77.
26. Gerullis H, Georgas E, Bor, #xf3, s M, Klosterhalfen B, et al. Inflammatory Reaction as Determinant of Foreign Body Reaction Is an Early and Susceptible Event after Mesh Implantation. *BioMed Research International*. 2014;2014:6.
27. Collie AMB, Bota PCS, Johns RE, Maier RV, Stayton PS. Differential monocyte/macrophage interleukin-1 β production due to biomaterial topography requires the β 2 integrin signaling pathway. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2011;96A(1):162-9.
28. Kossovsky N, Freiman CJ, Stassi JB, Mena E. Cytokine Expression in Response to Biomaterials. *ImmunoMethods*. 1993;3(1):43-9.
29. Ma N, Petit A, Yahia L, Huk OL, Tabrizian M. Cytotoxic reaction and TNF-alpha response of macrophages to polyurethane particles. *Journal of biomaterials science Polymer edition*. 2002;13(3):257-72.
30. Brodbeck WG, Nakayama Y, Matsuda T, Colton E, Ziats NP, Anderson JM. BIOMATERIAL SURFACE CHEMISTRY DICTATES ADHERENT MONOCYTE/MACROPHAGE CYTOKINE EXPRESSION IN VITRO. *Cytokine*. 2002;18(6):311-9.
31. Jones JA, Chang DT, Meyerson H, Colton E, Kwon IK, Matsuda T, et al. Proteomic analysis and quantification of cytokines and chemokines from biomaterial surface-adherent macrophages and foreign body giant cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007;83A(3):585-96.
32. Kyle DJT, Harvey AG, Shih B, Tan KT, Chaudhry IH, Bayat A. Identification of molecular phenotypic descriptors of breast capsular contracture formation using informatics analysis of the whole genome transcriptome. *Wound Repair and Regeneration*. 2013;21(5):762-9.
33. Bainbridge P.1 BBC. Wound healing and the role of fibroblasts. *Journal of Wound Care*. 2013;22(8):407-12.
34. Chen S, Jones JA, Xu Y, Low HY, Anderson JM, Leong KW. Characterization of topographical effects on macrophage behavior in a foreign body response model. *Biomaterials*. 2010;31(13):3479-91.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un material de implante que tiene una superficie de implante, cuya superficie de implante comprende una pluralidad de miembros en contacto con el tejido dispuestos en una matriz bidimensional regular o irregular, teniendo cada miembro en contacto con el tejido una superficie curva convexa de contacto con el tejido, en el que la superficie del implante tiene de 1000 a 50000 miembros en contacto con el tejido por cm^2 .
2. Un material de implante de acuerdo con la reivindicación 1, en el que sustancialmente toda la superficie del implante es proporcionada por las superficies curvas convexas de contacto con el tejido de los miembros en contacto con el tejido.
- 10 3. Material de implante según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la superficie curva y convexa de contacto con el tejido tiene una curvatura esférica.
4. Material de implante según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la pluralidad de miembros en contacto con el tejido es una pluralidad de hemisferios truncados dispuestos para formar una matriz bidimensional de hemisferios fusionados.
- 15 5. Un material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la pluralidad de miembros en contacto con el tejido incluye miembros en contacto con el tejido de diferentes alturas de manera que hay variación de altura dentro de la población de miembros en contacto con el tejido.
- 20 6. Material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el diámetro medio de la pluralidad de miembros en contacto con el tejido, TCMdAVE, es de 1 a 120 μm .
7. Un material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el espaciado medio del vecino más cercano de centro a centro de la matriz de miembros en contacto con el tejido, TCMccAVE, es de 1 a 120 μm .
- 25 8. Un material de implante sintético según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la superficie de contacto con el tejido comprende un polímero biocompatible, opcionalmente un polímero de organosilicio, opcionalmente una silicona.
9. Un material de implante sintético según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la superficie de contacto con el tejido comprende polidimetilsiloxano.
10. Un material de implante sintético según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el material forma al menos parte de la capa superficial de un implante protésico, opcionalmente un implante colocado subcutáneamente/subfascialmente/submuscularmente tal como un implante mamario.
- 30 11. Material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la pluralidad de miembros en contacto con el tejido tiene una altura media de 5 μm a 120 μm .
12. Material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la superficie del implante comprende una textura a nanoescala que imita una textura correspondiente en las superficies hemisféricas de las células adiposas.
- 35 13. Material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que cada miembro en contacto con el tejido tiene al menos cuatro miembros vecinos en contacto con el tejido.
14. Un material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la superficie del implante tiene de 10000 a 40000 miembros en contacto con el tejido por cm^2 .
- 40 15. Una plantilla para su uso en la preparación de un material de implante según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, teniendo dicha plantilla una superficie texturizada correspondiente a la superficie del implante como se describe según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, o un negativo de la superficie del implante como se describe según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

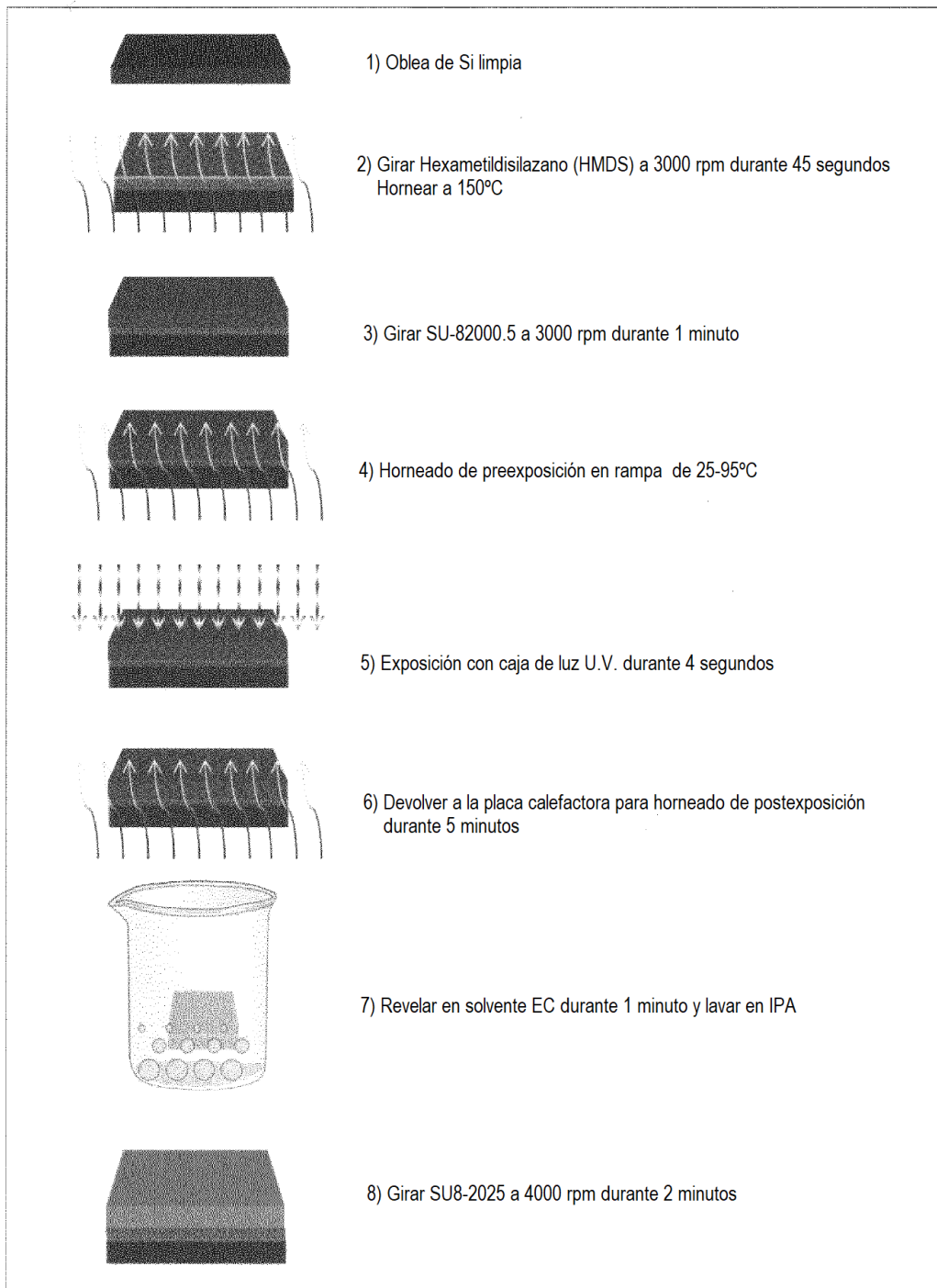


Figura 1



Figura 1 cont

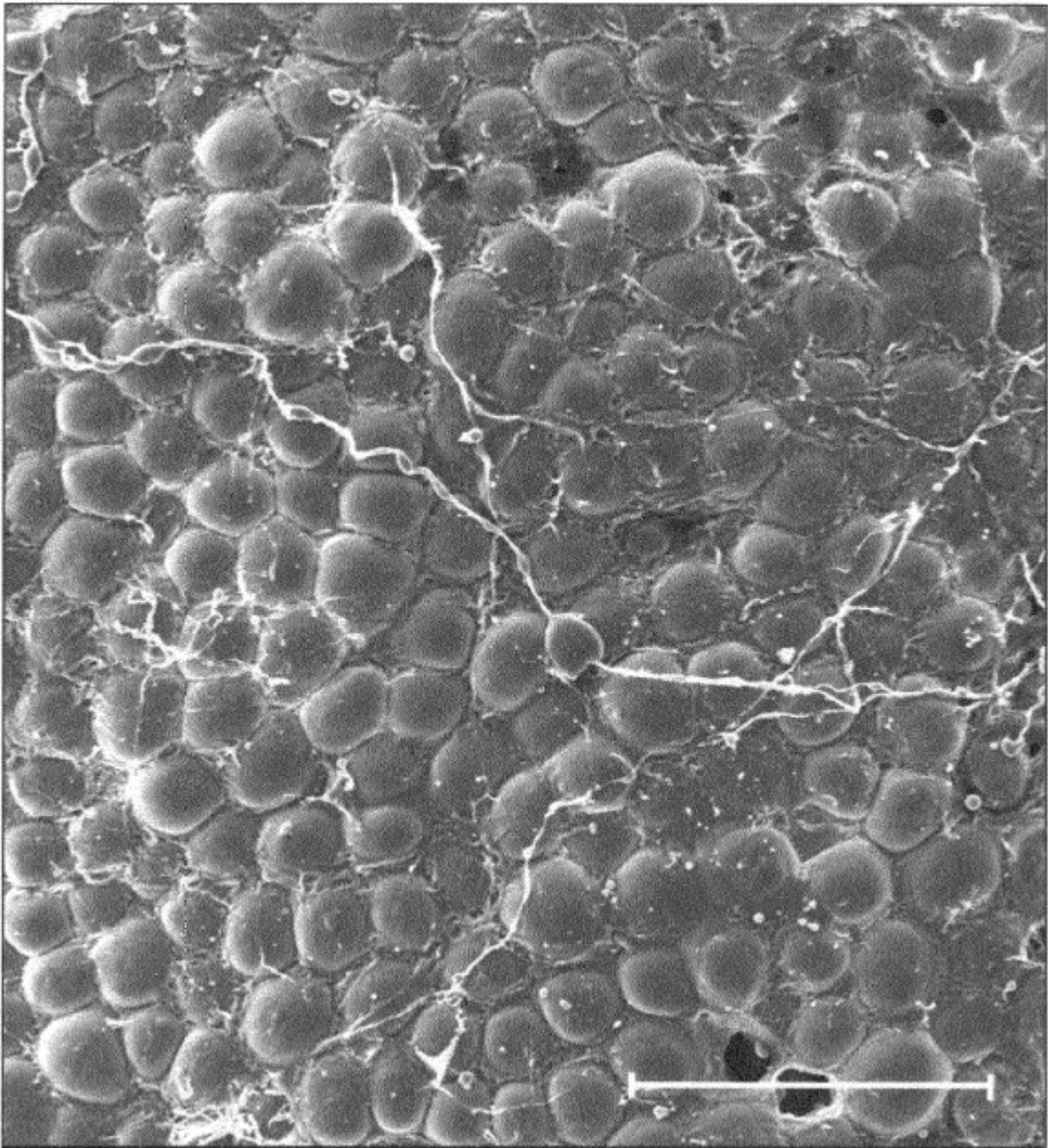


Figura 2

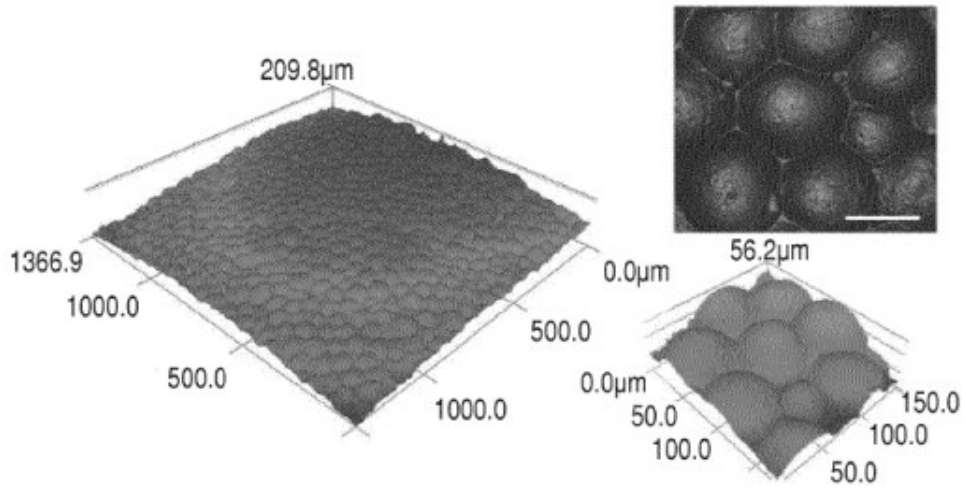


Figura 3

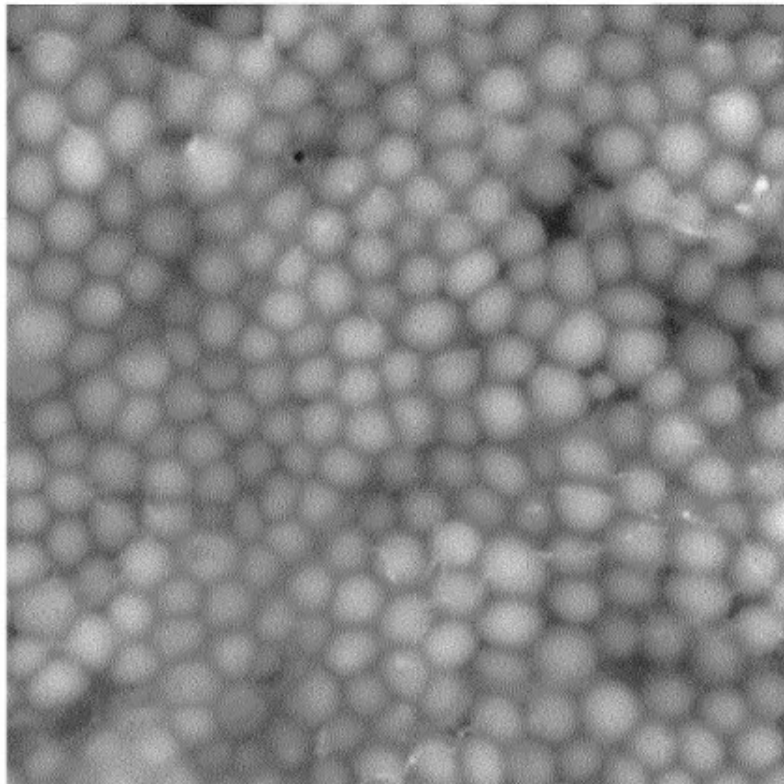


Figura 4

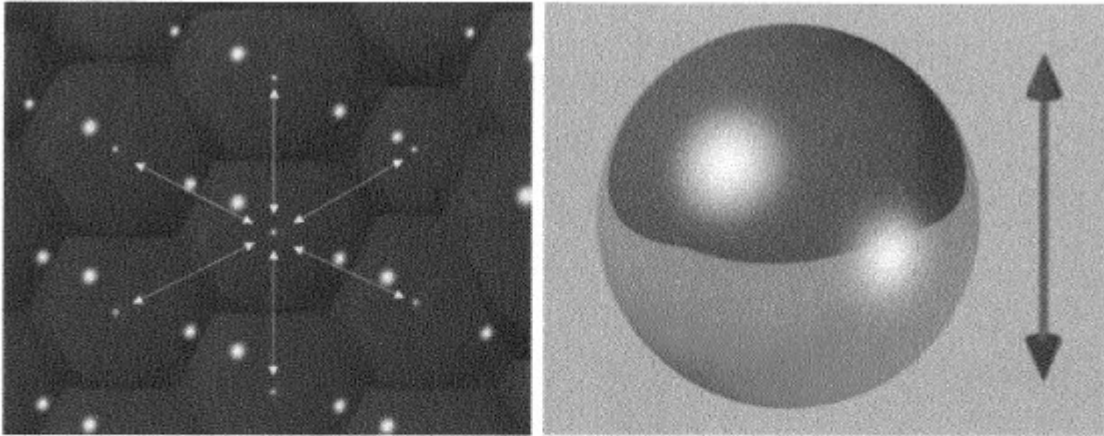


Figura 5

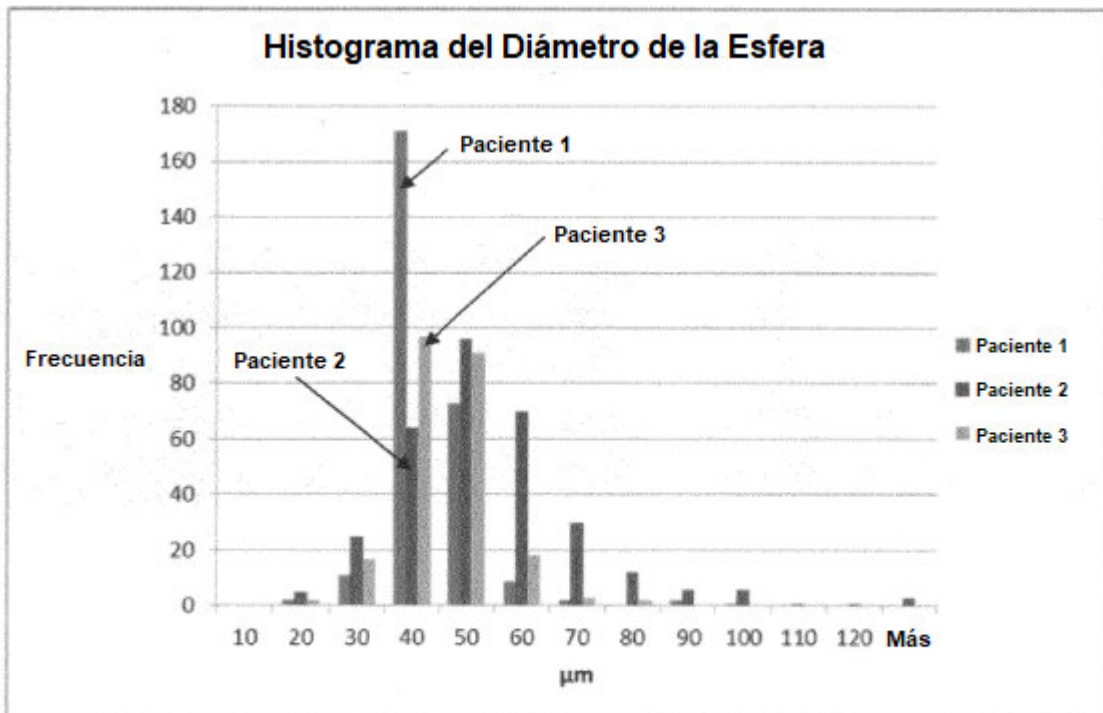


Figura 6A

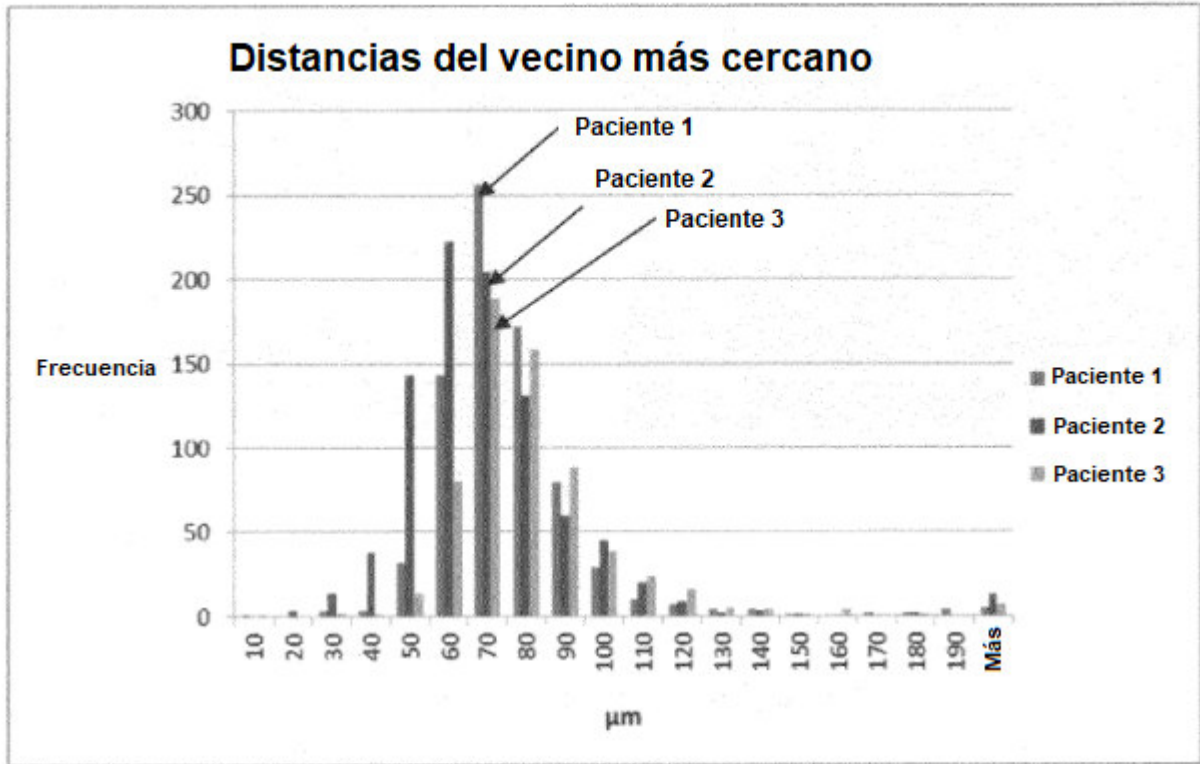


Figura 6B

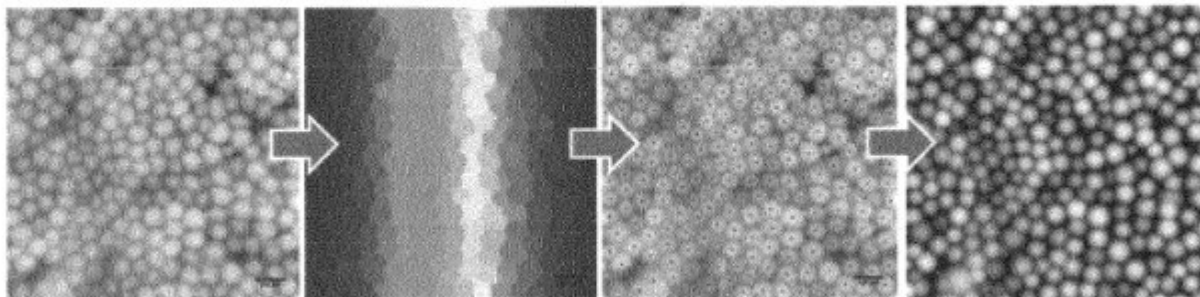


Figura 6C

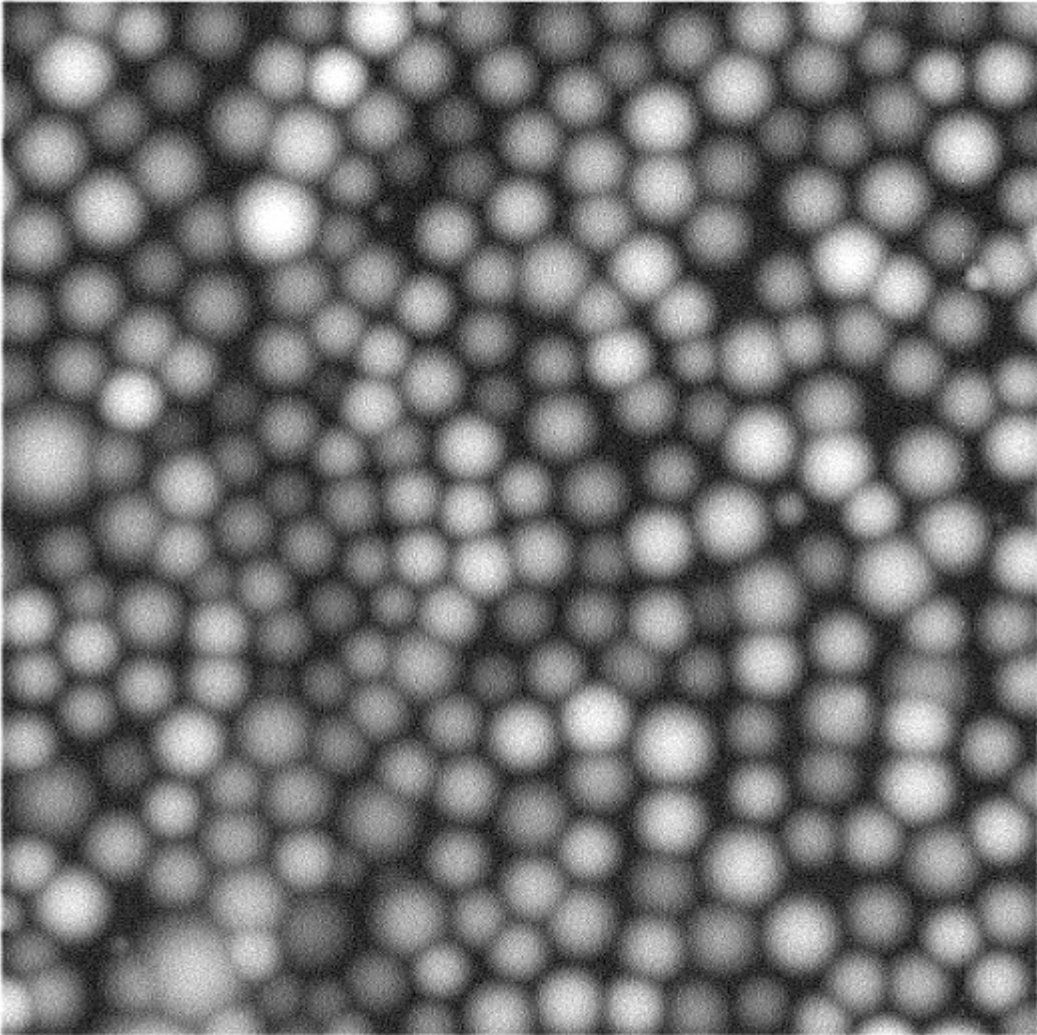


Figura 7

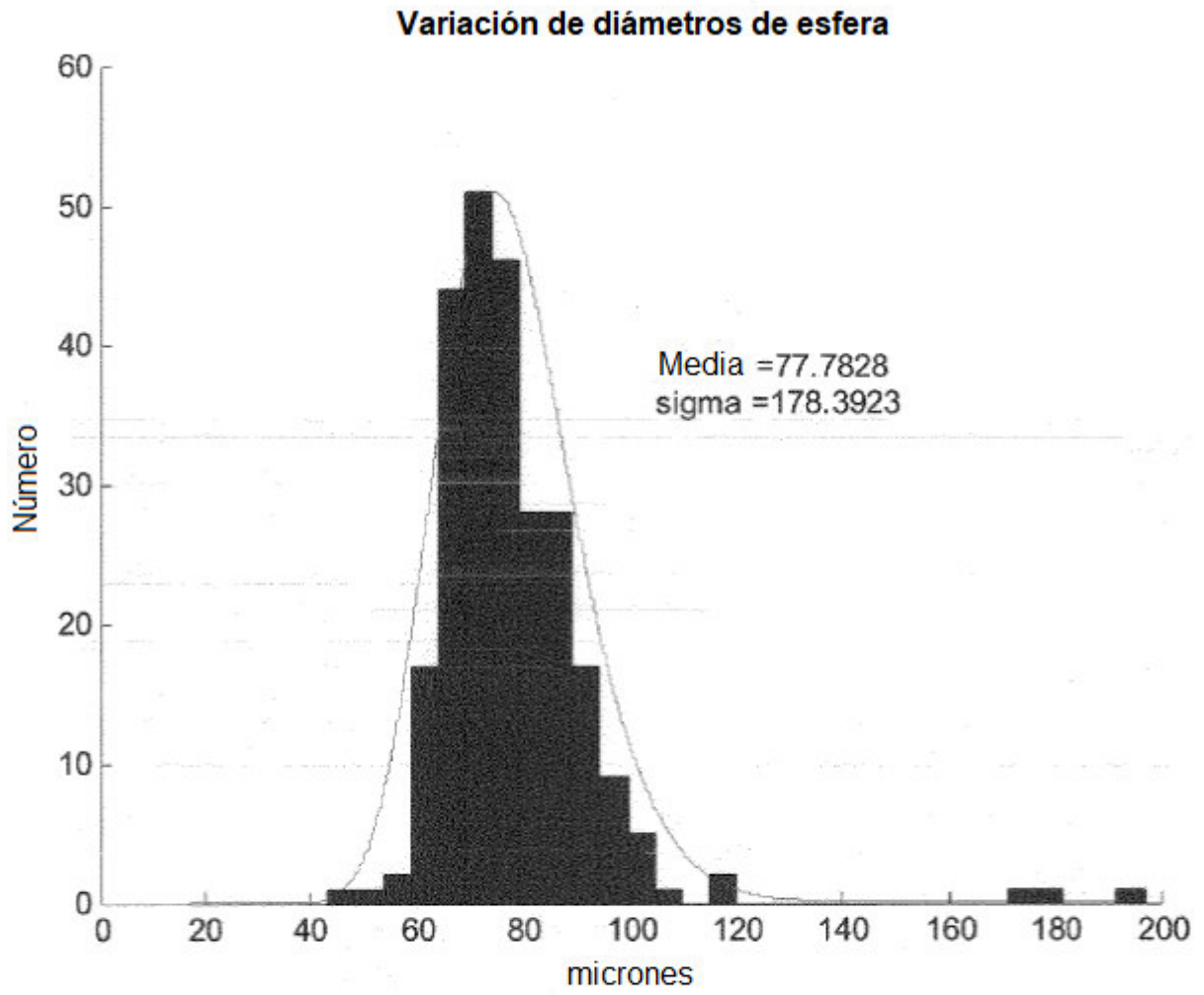


Figura 8A

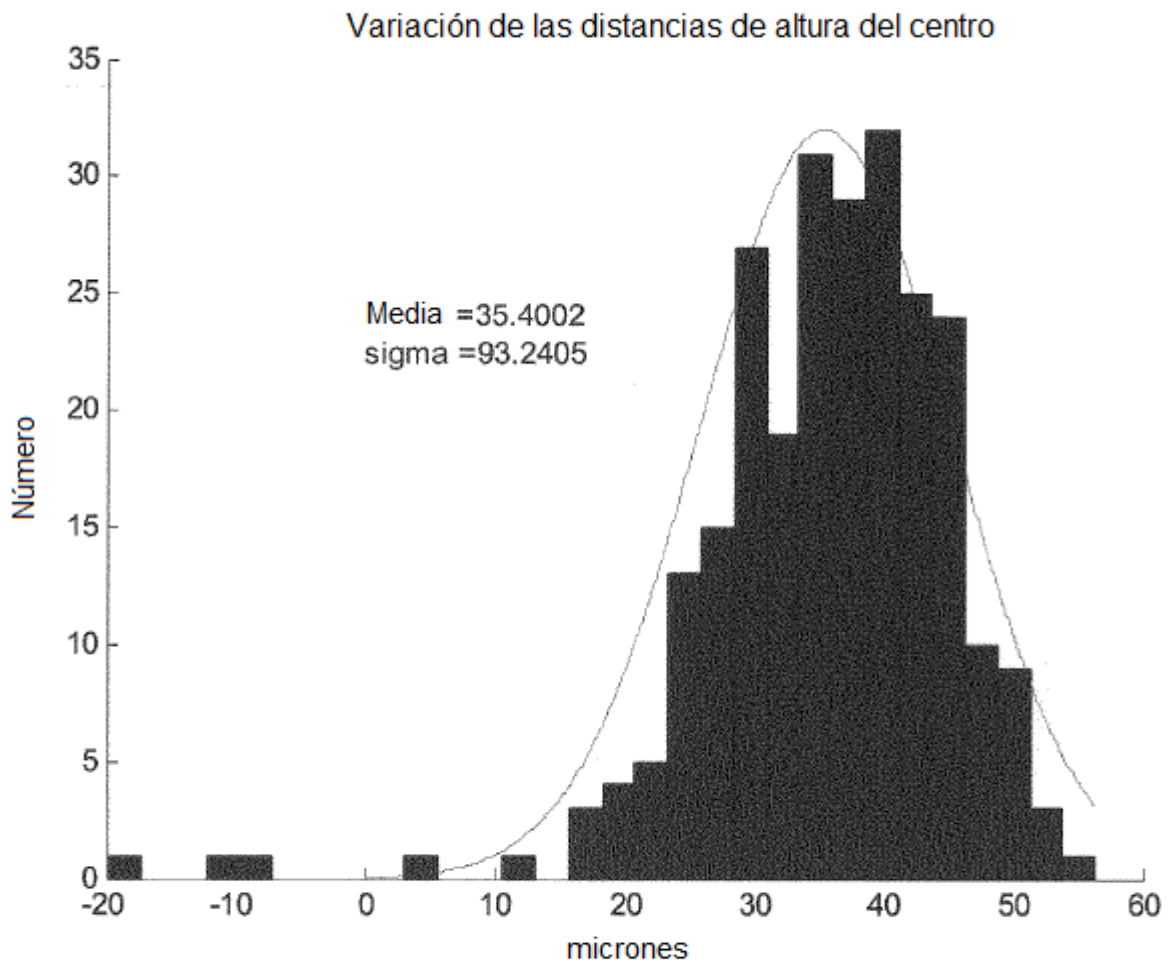


Figura 8B

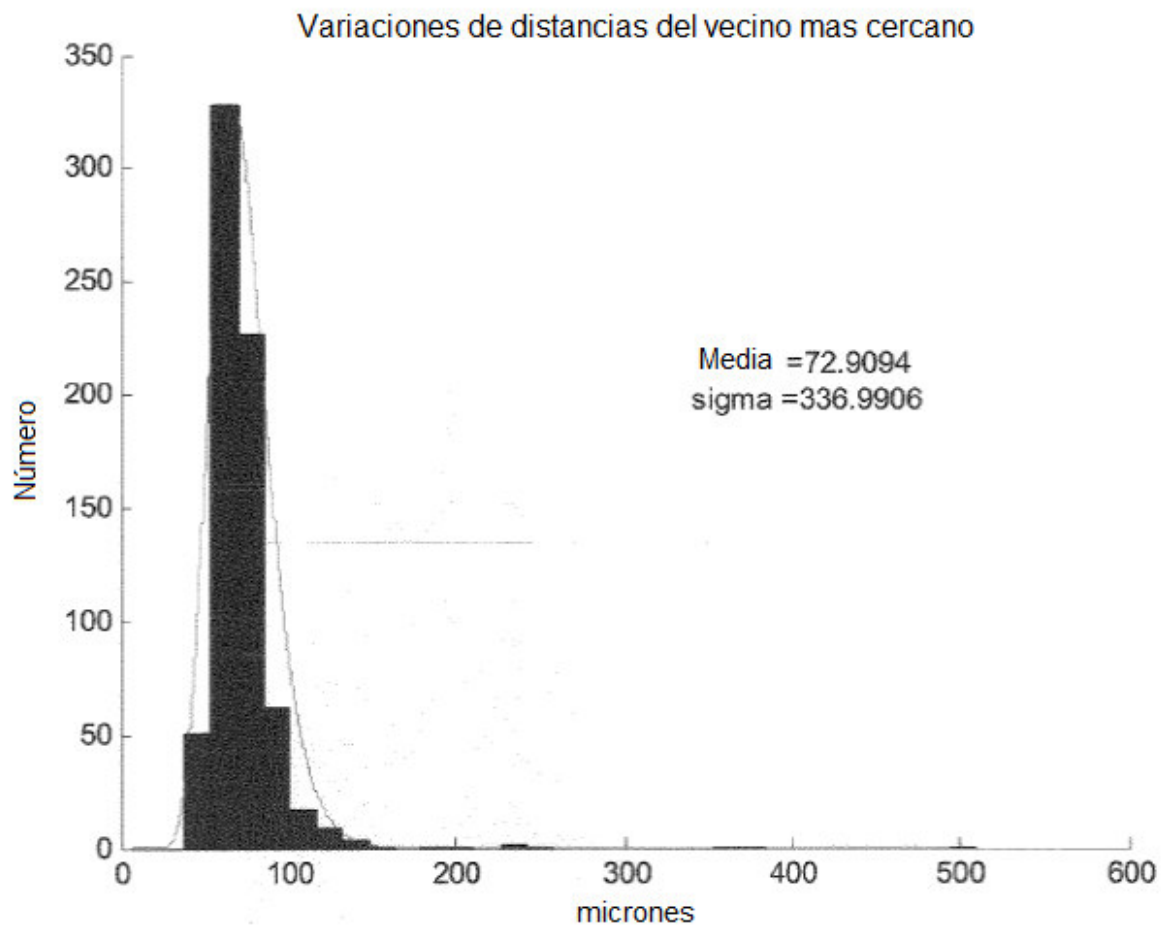


Figura 8C

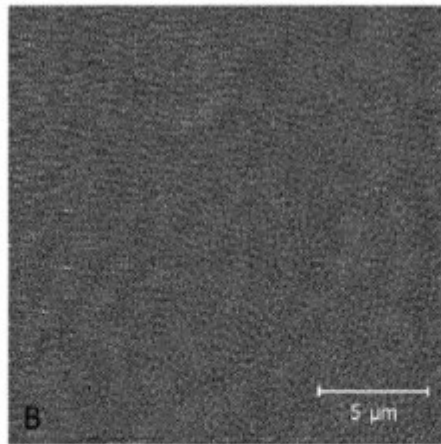


Figura 9A

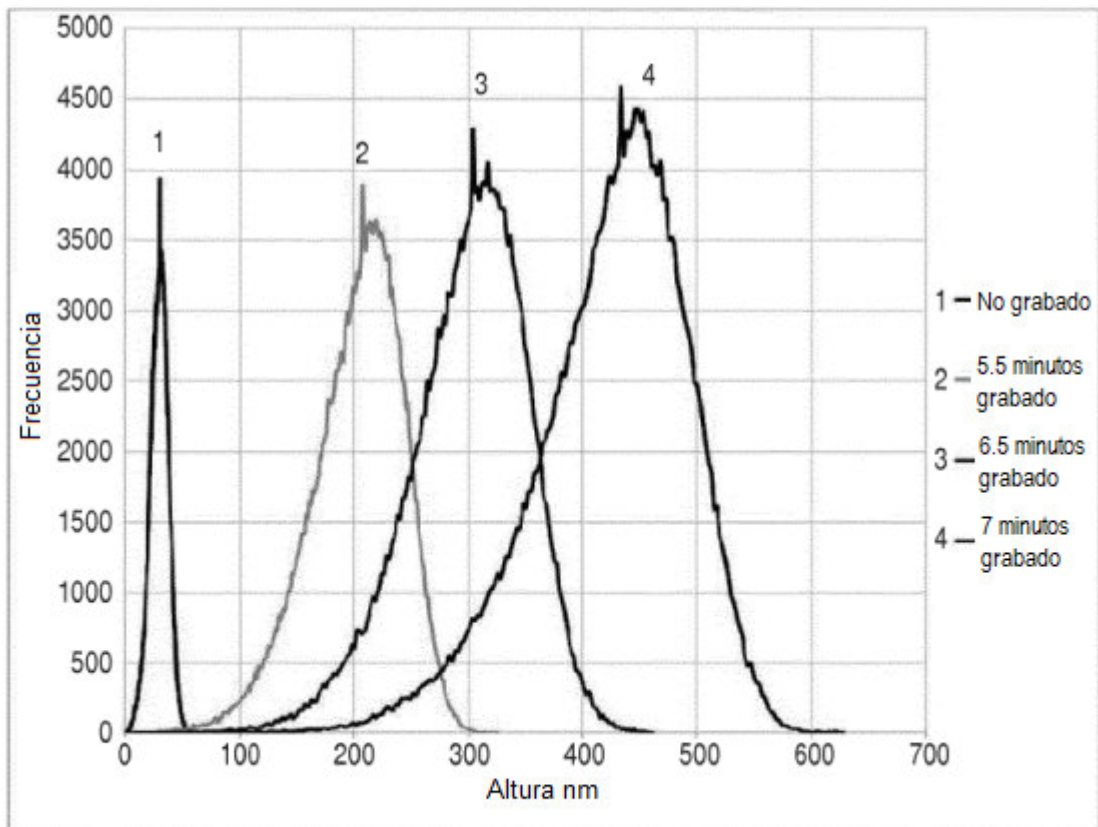


Figura 9B

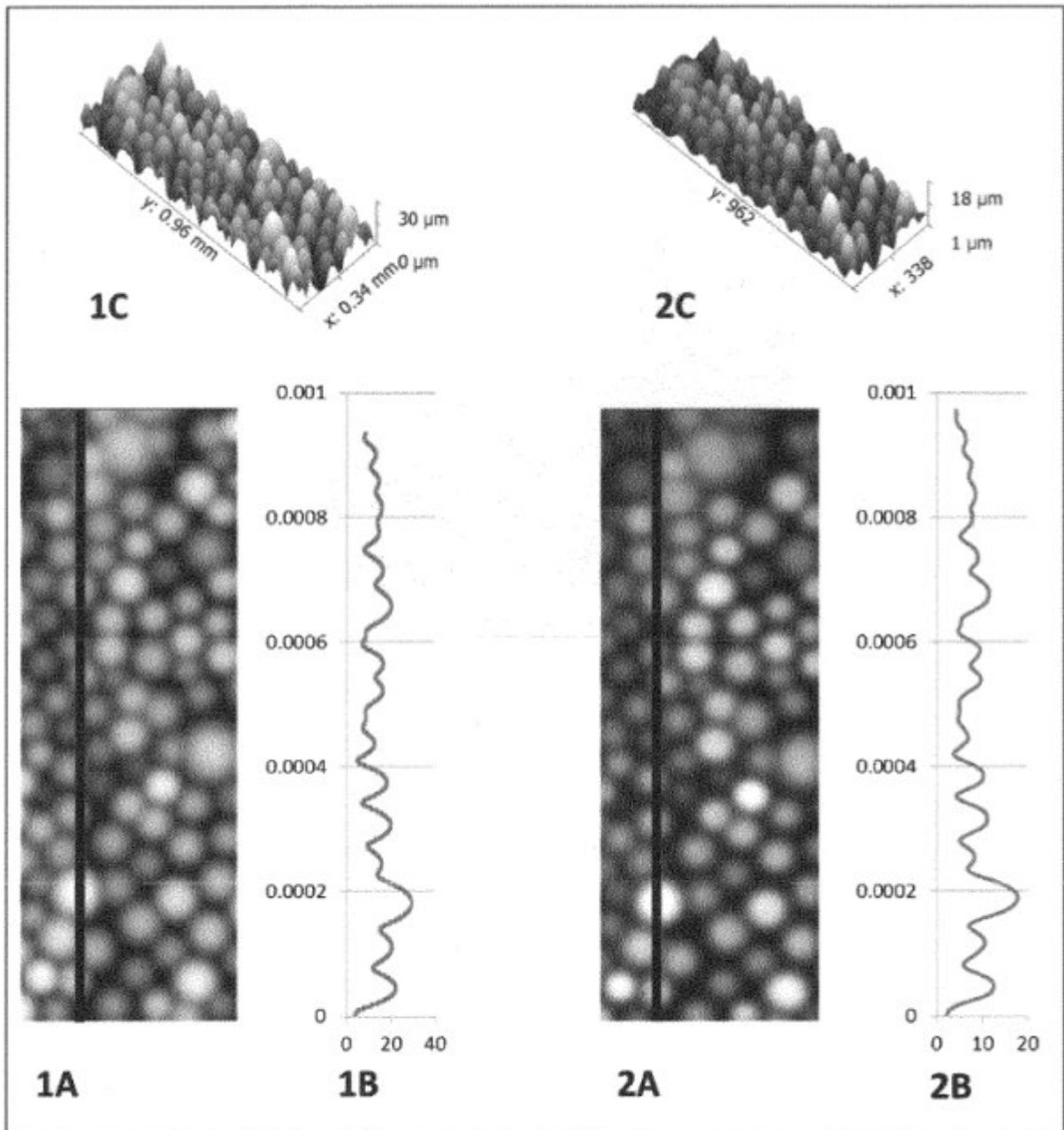
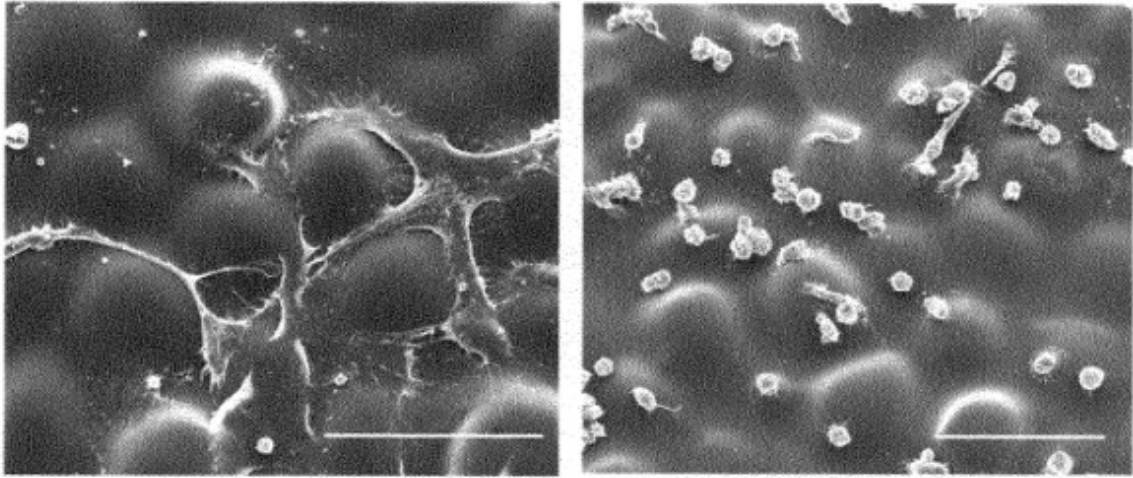
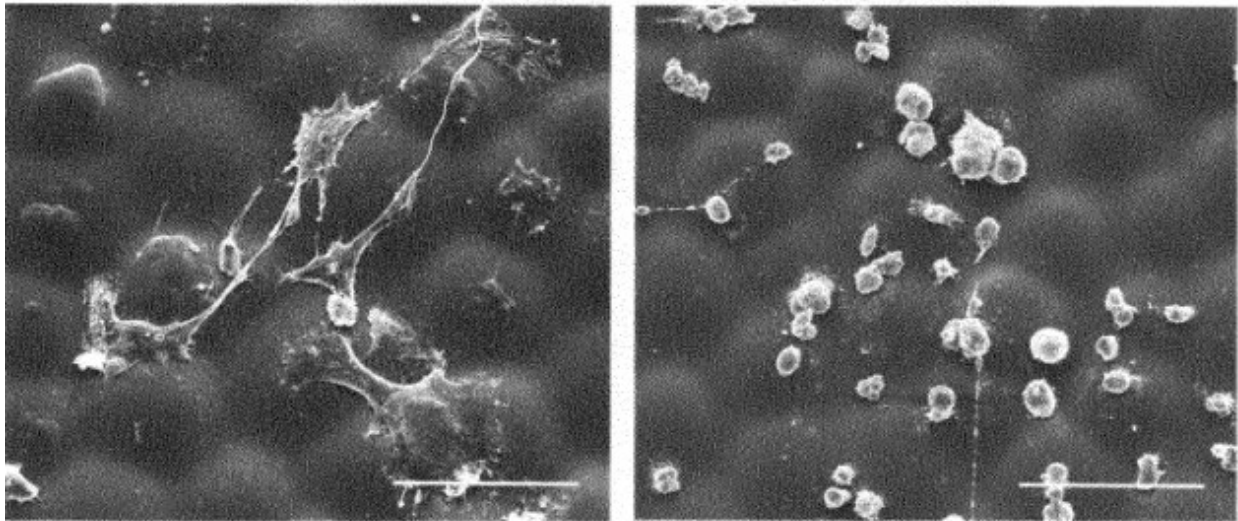


Figura 10



Figuras 11A y 11B



Figuras 12A y 12B

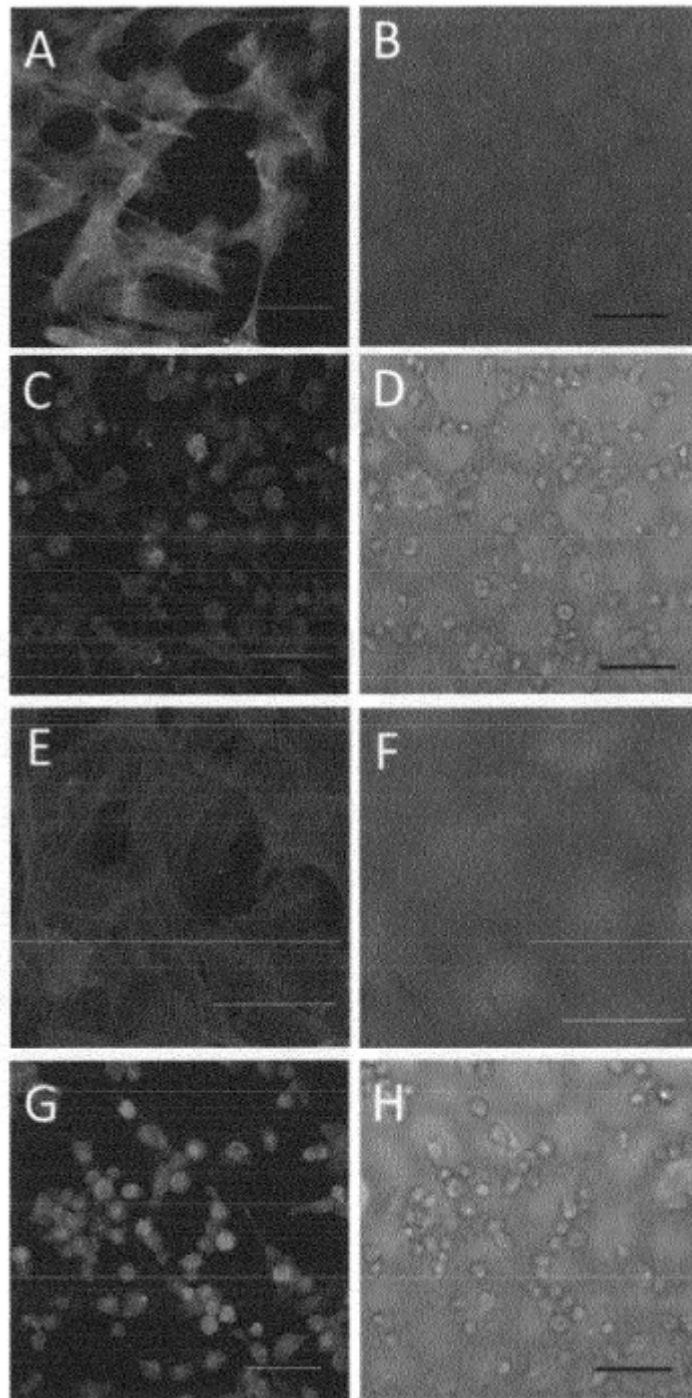


Figura 13

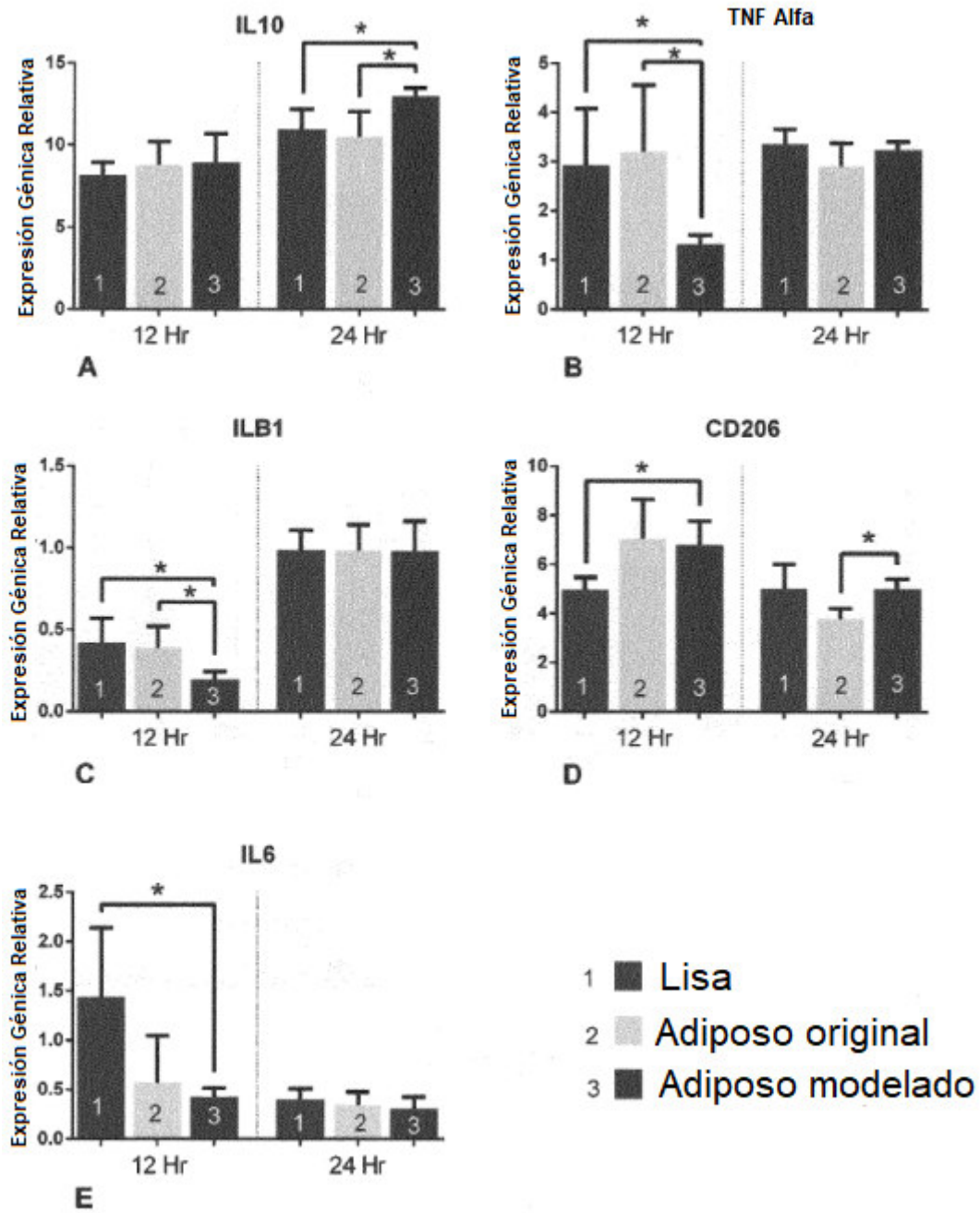


Figura 14

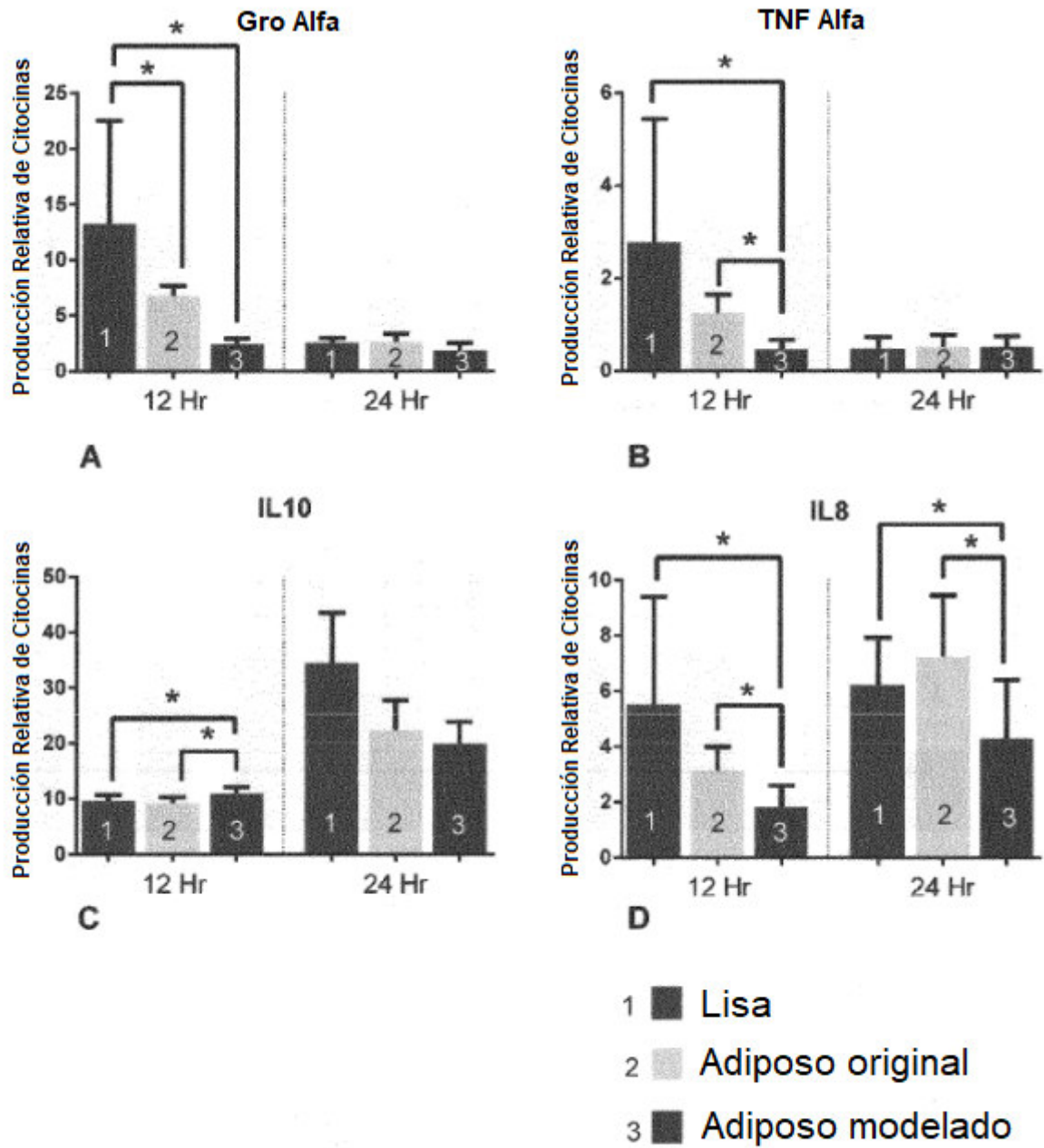


Figura 15