

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 953 935**

51 Int. Cl.:

A61L 27/36 (2006.01)

A61L 27/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.09.2015 PCT/US2015/051328**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.2016 WO16048946**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2015 E 15778810 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2023 EP 3197513**

54 Título: **Espumas porosas derivadas de matriz extracelular, dispositivos médicos de MEC de espuma porosa y métodos de uso y fabricación de los mismos**

30 Prioridad:

25.09.2014 US 201462055056 P

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

17.11.2023

73 Titular/es:

**ACELL, INC. (100.0%)
6640 Eli Whitney Drive Suite 200
Columbia, Maryland 21046, US**

72 Inventor/es:

**VALMIKINATHAN, CHANDRA, M.;
GHEEWALA, NIKHIL, N.;
YOUNG, BRENT, D. y
GILBERT, THOMAS, W.**

74 Agente/Representante:

TORO GORDILLO, Ignacio

ES 2 953 935 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

Espumas porosas derivadas de matriz extracelular, dispositivos médicos de MEC de espuma porosa y métodos de uso y fabricación de los mismos

5

Campo de la invención

La invención descrita en el presente documento se dirige a espumas porosas de restauración de tejidos derivadas de material de matriz extracelular de tejidos de mamíferos, a dispositivos médicos fabricados a partir de los mismos, a métodos de uso y a métodos de fabricación de los mismos.

10

Antecedentes

Se han descrito materiales útiles para recuperar heridas derivados de la matriz extracelular (MEC) de tejidos de mamíferos en numerosas publicaciones que incluyen, aunque no de forma limitativa, las MEC descritas en las patentes de EE. UU. n.º 6.576.265, 4.902.508, 4.956.178, 5.554.389 y 6379710. Las MEC incluyen, pero sin limitación, la submucosa del intestino delgado (SID), la submucosa de la vejiga urinaria (SVU), la matriz de la vejiga urinaria (MVU; incluye la membrana basal epitelial), la dermis (PD) y la membrana basal del hígado (MBH). Las MEC útiles para recuperar heridas como materiales para la cicatrización se aplican normalmente en forma de una lámina, un gel, un polvo o una partícula de diversos tamaños, un líquido o como una forma tridimensional que no se asemeja a una lámina.

15

20

Una desventaja de las formas de los materiales para la cicatrización derivados de MEC en la técnica anterior es su naturaleza relativa bidimensional (plana). Otros materiales para la cicatrización de la técnica anterior son láminas, polvos o geles, que son difíciles de usar en aplicaciones de relleno de huecos, por ejemplo, huecos en heridas inducidas por traumatismos y son difíciles de usar como hemostáticos. Además, los armazones de MEC fluidos útiles para el suministro directo a la herida o el recubrimiento de otros armazones de polímeros sintéticos, a menudo requieren la degradación enzimática del armazón de MEC para su producción del armazón de MEC fluido. La degradación enzimática es indeseable, porque es deseable eliminar la enzima de los materiales médicos que se introducen en un ser humano. La eliminación de la enzima en materiales médicos es un desafío técnico.

25

30

El documento US 2009/0317469 A1 divulga un producto de material compuesto de MEC y métodos para su fabricación, en donde el producto se reticula y se comprime antes de su aplicación en el sitio de la lesión del tejido y es expandible en el sitio.

35

Por consiguiente, se necesitan nuevas composiciones en el campo de la medicina regenerativa de MEC con fluidez mejorada, propiedades de recubrimiento mejoradas, maleabilidad mejorada para construcciones tridimensionales, para aplicaciones tales como relleno de huecos, facilidad de uso mejorada, desde múltiples aplicaciones a una herida a aplicaciones menos frecuentes, por ejemplo, una sola aplicación sobre una herida y una curación acelerada. Adicionalmente, se pueden abordar nuevas composiciones de MEC con flexibilidad y propiedades de recubrimiento mejoradas a partir de técnicas de preparación que proporcionarían ventajas adicionales desde una perspectiva de la capacidad de fabricación, por ejemplo, la eliminación de la degradación enzimática. Adicionalmente, las nuevas composiciones de MEC deberían ser más resistentes a la separación de su vehículo, por ejemplo, solución salina, que las composiciones descritas en la técnica anterior. Las composiciones de MEC conocidas tienden a desprenderse del vehículo en cuestión de horas, si bien la composición actual de la MCE permanece en suspensión durante largos periodos de tiempo, por ejemplo, superiores a 1 semana. La invención que se describe a continuación es ventajosa sobre las composiciones para heridas de las MEC conocidas, porque resuelve los problemas de las MEC conocidas descritos anteriormente.

40

45

Sumario de la invención

Los anteriores y otros objetos, características y ventajas de la invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción más particular de las realizaciones preferidas de la invención.

55

En un primer aspecto, la invención se dirige a un método para fabricar un dispositivo de espuma médica que comprende (a) solubilizar material de matriz extracelular deshidratado obtenido de un tejido de mamífero en una solución que comprende un pH inferior a 4,0 o un pH superior a 9,0; (b) espumar dicho material de matriz extracelular solubilizado acidificado (pH < 4) o básico (pH > 9) en un mezclador industrial a velocidades en el intervalo de aproximadamente 500 rpm a aproximadamente 2500 rpm para formar un material de matriz extracelular espumoso; (c) neutralizar dicho material de matriz extracelular espumoso en una solución a aproximadamente pH 7; (d) mezclar dicho material de matriz extracelular espumoso en la solución de la etapa (c) para ayudar en la neutralización de dicho material de matriz extracelular espumoso a un pH de aproximadamente 7; (e) introducir dicho material de matriz extracelular espumoso de la etapa (d) en un molde; (f) liofilizar dicho material de matriz extracelular espumoso moldeado neutralizado mediante estantes de liofilizador enfriados previamente en un intervalo de temperatura entre 25 °C y -40 °C; seguido de (g) estabilizar dicho material en la etapa (f) introduciendo cristales de hielo en dicho material de matriz extracelular moldeado de la etapa (f) en un intervalo de temperatura entre 0 °C y -40 °C a una velocidad de

60

65

cambio de temperatura de 0,01 °C/min a 1 °C/min, durante períodos de tiempo que varían entre 0 minutos y 240 minutos; seguido de (h) sublimar dichos cristales de hielo introducidos en la etapa (g) a una presión de vacío en el intervalo de 100-120 mmHg para producir un dispositivo de espuma médica de MEC porosa. La pasta espumosa de MEC se puede utilizar como "tinta" en una impresora tridimensional para fabricar un dispositivo médico tridimensional, recubierta sobre un objeto tridimensional, tal como un implante quirúrgico y deshidratado, Como alternativa, la pasta de MEC se puede añadir a un molde, seguido de la deshidratación de la pasta moldeada para fabricar un dispositivo médico.

La pasta deshidratada también puede particularizarse y usarse para aplicaciones médicas. Se puede preparar un gel médico a partir de la pasta particularizada deshidratada, mezclando la pasta particularizada deshidratada en una solución.

En un segundo aspecto, la invención se dirige a un dispositivo de espuma médica fabricado a partir de MEC como se ha descrito anteriormente, que comprende una pluralidad de poros que tienen un diámetro en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a 500 micrómetros y que comprende además un mineral seleccionado de: calcio, fosfato, sales de calcio y fosfato, nitrato de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de calcio, óxido de calcio, fosfato de sodio, fosfato deshidrogenado de sodio, ácido fosfórico, matriz ósea desmineralizada o descelerizada, hueso alogénico en polvo, hidroxiapatita y fosfatos tricálcicos.

El dispositivo médico de la invención puede ser un gel, una forma de lámina o una forma tridimensional moldeada para imitar una estructura anatómica o moldeada para llenar un vacío, como ejemplos no limitativos o estar configurado de otro modo para la implantación en un sitio de lesión. El dispositivo médico comprende al menos el material de matriz extracelular espumoso deshidratado que tiene tamaños de poro en el intervalo de 1 micrómetro a 500 micrómetros, 100 micrómetros a 250 micrómetros o 100-150 micrómetros, por ejemplo.

En una realización de la invención, el dispositivo médico está moldeado. En una realización alternativa, el dispositivo médico se imprime en 3D (impreso desde una impresora de impresión tridimensional).

En otra realización más, el dispositivo médico de la invención es un dispositivo médico convencional que está recubierto con el material de pasta de matriz extracelular espumosa. El dispositivo médico puede adoptar una variedad de formas dependiendo del vacío de tejido que se va a llenar, del tejido que necesita aumento, del tamaño y la forma del tejido lesionado y de la porosidad, tal como similar a una esponja, necesaria para la aplicación particular, por nombrar sólo algunas aplicaciones y formas. Adicionalmente, el material de matriz extracelular espumoso tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antimicrobianas.

En otra realización de la invención, el material de pasta de matriz extracelular deshidratada puede particularizarse y añadirse a una solución, tal como agua, solución salina u otros tampones fisiológicos para formar un gel, un pegamento tisular u otras formas solubilizadas de la MEC, fabricadas a partir de una pasta de MEC de acuerdo con la invención descrita en el presente documento.

Breve descripción de las figuras

La invención se describe particularmente en las reivindicaciones adjuntas. Las ventajas adicionales de la invención descrita en el presente documento se pueden entender mejor haciendo referencia a la siguiente descripción tomada junto con los dibujos adjuntos.

La Figura 1 ilustra una espuma de MEC cúbica porosa de acuerdo con una realización de la invención;

Las Figuras 2A-2C ilustran diversas realizaciones de una malla de acuerdo con la invención;

La Figura 3 ilustra una espuma de MEC porosa en la forma de una parte del cuerpo de acuerdo con una realización de la invención.

La Figura 4 es un gráfico de columnas que compara la cicatrización de la espuma de MEC porosa en comparación con MicroMatrix 1X (aplicado una vez), MicroMatrix 4X (aplicaciones repetidas de partículas de MVU intactas el Día 0, Día 4, Día 7 y Día 14) y un vendaje húmedo en diversos puntos temporales después de que se introduzca una herida en la piel dorsal de un cerdo.

Descripción de la invención

En comparación con los materiales derivados de MEC de cicatrización de la técnica anterior, las espumas porosas derivadas de MEC de acuerdo con la invención descrita a continuación tienen al menos las siguientes ventajas:

(1) el uso de una arquitectura similar a una lámina como material de partida para generar una arquitectura porosa tridimensional para un dispositivo médico;

- (2) tamaño de poro controlado de espumas derivadas de MEC;
- (3) espumas de MEC mineralizadas con porosidad seleccionable;
- 5 (4) capacidad mejorada para permanecer en una suspensión el tiempo suficiente para generar matrices fluidas;
- (5) capacidad de recubrimiento mejorada de dispositivos médicos con una pasta fluida de espuma de MEC;
- 10 (6) preparación de formas tridimensionales, por ejemplo, formas de un dispositivo médico, ejemplos no limitativos, tales como pasadores, vendajes, sondas u otras estructuras huecas, férulas, válvulas, grapas, esponjas, implantes óseos o mallas;
- (7) capacidad mejorada para promover una cicatrización endógena rápida;
- 15 (8) propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antimicrobianas;
- (9) degradación no enzimática;
- 20 (10) la aplicación única de la espuma de MEC porosa divulgada promueve una curación más rápida que la aplicación única de productos de cicatrización de MEC de la técnica anterior;
- (11) fluidez mejorada;
- 25 (12) imprimible (impresión 3D);
- (13) moldeable.

En un aspecto, haciendo referencia a la Figura 1, la invención se refiere a un material 10 para la cicatrización que comprende una matriz extracelular (MEC), pero no se limita a SID, SVU, MVU y MBH, por ejemplo, que se procesa para formar una espuma de MEC porosa. Una espuma se define como porosa, si la mayor parte del volumen en la espuma tridimensional comprende cavidades (poros) 20 que están vacías o pueden llenarse con un gas tal como aire o con un fluido. Estas cavidades pueden estar llenas, por ejemplo, de fluidos corporales, tales como sangre u otras soluciones, tales como un cóctel de factores de crecimiento, factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento epidérmico o solución salina. La espuma de MEC porosa se puede solidificar parcial o totalmente mediante liofilización o secado al aire para formar un dispositivo médico de forma de lámina, es decir, una forma plana u otra tridimensional (es decir, no plana). La espuma de MEC porosa puede moldearse para adoptar cualquier forma, incluyendo, aunque no de forma limitativa, espumas de MEC cúbicas para compensación y refuerzo del espesor de grapas quirúrgicas, implantes óseos porosos y esponjas, formas de sondas porosas para aplicaciones como un injerto nervioso o una prótesis arterial o láminas porosas de diversos espesores como matrices porosas para la cicatrización y armazones porosos de reparación dérmica y materiales con formas específicas para rellenar defectos de tejido y/o para aumento de tejido después de resección de tejido o cirugía plástica.

Haciendo referencia a la Figura 1, el tamaño de los poros 20 en el interior de la espuma porosa MEC 10, de acuerdo con la invención, puede diferir del tamaño de los poros 20 que aparecen en el exterior de la espuma de MEC porosa. El diámetro interno de los poros varía entre aproximadamente 1 micrómetro y 500 micrómetros, aproximadamente 100 micrómetros a 250 micrómetros y más particularmente, aproximadamente 100-150 micrómetros, por ejemplo. Los tamaños de poro en este intervalo son ideales para la infiltración celular y el intercambio de fluidos corporales o medios de cultivo celular y los nutrientes asociados con esos fluidos.

En una realización particular de la invención, las espumas porosas se mineralizan mediante la adición de, por ejemplo, sales de calcio o sales de fosfato, nitrato de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de calcio, óxido de calcio y otras sales de calcio o sales de fosfato de fosfato de sodio, dihidrógenofosfato de sodio y ácido fosfórico y combinaciones de los mismos. Las espumas mineralizadas son aplicables para la reparación de lesiones ortopédicas óseas, tales como rellenar huecos en la fractura ósea de un/a paciente que de otro modo requerirían recoger hueso de otro sitio del/de la paciente para llenar el hueso, lesiones en la columna o lesiones en la cabeza (cráneo).

En otra realización de la espuma de MEC porosa de acuerdo con la invención, la espuma de MEC porosa solidificada se muele para producir partículas o polvo de MEC poroso fino. Tales espumas de MEC porosas en polvo, por ejemplo, pueden aspirarse en una jeringa para la inyección como una composición para la cicatrización en el sitio de la lesión tisular en un/a paciente. El tamaño de las partículas en las espumas MEC porosas de partículas varía, por ejemplo, de aproximadamente 1 nm a 1 milímetro, más particularmente de 1 micrómetro a 1 milímetro. Específicamente, se prefiere un tamaño de partículas en el intervalo de 100 micrómetros a 500 micrómetros para mezclas fluidas de las partículas. Las partículas, tras mezclarse con cantidades adecuadas de líquido para infusión, por ejemplo, agua, solución salina o solución salina tamponada con fosfato, pueden producir una mezcla fluida, tal como un gel, por ejemplo. Como se utiliza en el presente documento, el término "fluido" significa capaz de verterse o extrudirse a

temperatura ambiente. Las aplicaciones típicas de las mezclas fluidas que contienen partículas de espuma de MEC porosas incluyen, pero sin limitación, la cicatrización, rellenos dérmicos, aplicaciones óseas y vertebrales (especialmente las espumas mineralizadas) y aplicaciones intraarticulares que incluyen aplicaciones para el tratamiento de artritis incluyendo, aunque no de forma limitativa, osteoartritis, artritis reumatoide, otros tipos de artritis inflamatoria, artritis degenerativa, artritis séptica, incluyendo, aunque no de forma limitativa, la enfermedad de Lyme, gota y artritis traumática.

En otra realización de las espumas de MEC porosas de acuerdo con la invención, las espumas porosas se pueden aplicar a un dispositivo médico mediante recubrimiento, por ejemplo, incluyendo, aunque no de forma limitativa, el recubrimiento de una malla quirúrgica, material de sutura y otras estructuras de dispositivos médicos planas y sustancialmente tridimensionales. Como se usa en todas partes, el término "médico" significa relacionado con la práctica de la medicina o la cirugía. El recubrimiento se puede lograr mediante, por ejemplo, pulverización, inmersión, aplicación con brocha o rodillo.

En otra realización de la invención, la pasta de espuma de MEC porosa de acuerdo con la invención, se puede aplicar al lumen de una sonda o para formar de otro modo una varilla de MEC. La varilla rellena de pasta de espuma de MEC porosa se puede utilizar para aplicaciones tales como la regeneración de fibras nerviosas o el cierre de fístulas. En una realización no limitativa, se puede formar la varilla, por ejemplo, a partir de una lámina o una lámina multicapa de una MEC, MVU, por ejemplo o a partir de una lámina hecha de la pasta de MEC. La varilla se forma enrollando la(s) lámina(s) hasta darles forma cilíndrica y llenando la sonda con la pasta de espuma de MEC porosa. Como alternativa, la pasta de espuma de MEC porosa se puede extender sobre la lámina de MEC antes de enrollarla y a continuación, enrollarla hasta darle una forma cilíndrica encerrando la pasta de MEC porosa.

Para aplicaciones de neuroregeneración, por ejemplo, un extremo de un nervio cortado puede unirse a un extremo de una varilla de MEC y el otro extremo del nervio cortado puede unirse al otro extremo de la varilla de MEC, actuando por tanto como un canal de guía para promover la neurogénesis.

Para aplicaciones de reparación de fístulas, por ejemplo, la varilla formada enrollando una lámina de MEC y espuma hasta formar un cilindro se puede insertar en la fístula. En una realización de la invención, la composición de MEC podría modificarse de manera que después de la inserción a través del tracto de la fístula, la varilla se hincharía para llenar la geometría irregular tras la hidratación, por ejemplo, con solución salina.

En otra realización de la invención con respecto a una malla **30**, haciendo referencia a la Figura 2A, la espuma de MEC porosa de acuerdo con la invención puede incrustarse dentro de espacios **12** de la malla **30**, como se muestra en la Figura 2A, aplicada en la urdimbre y/o trama **14**, **16** de la malla como un recubrimiento, como se muestra en la Figura 2B o incrustarse tanto dentro de espacios **12** como recubierta en la urdimbre **14** y/o trama **16** de la malla **30**, como se muestra en la Figura 2C. La malla de espuma de MEC porosa incrustada puede fabricarse, por ejemplo, intercalando una capa de malla entre dos capas de pasta de espuma, como se ha descrito anteriormente y liofilizada. Las espumas liofilizadas que se obtienen pueden prensarse al vacío después de hidratación en agua o solución salina o sin hidratación, en una prensa de vacío, para obtener una construcción similar a una malla laminada continua. Con este enfoque, la MEC de un lado de la espuma se integra con la MEC del otro lado incrustándose a través de los poros de la malla.

Las aplicaciones típicas para tales dispositivos médicos mejorados con espuma de MEC porosa incluyen, pero sin limitación, la reparación de hernias, aplicación a campos infectados, minimización de adherencias de tejido a una malla sintética, reconstrucción mamaria, expansores de tejido y/o aumento de tejido, aplicaciones antiinflamatorias o antimicrobianas y analgesia.

En otra realización más, la espuma de MEC porosa de acuerdo con la invención, actúa como portadora de moléculas bioactivas, medicamentos y otros agentes farmacéuticos. Por ejemplo, las espumas de MEC porosas, de acuerdo con la invención, se aplican a los huecos de tejido como relleno de defectos después de la resección de tumores. A estas espumas se les pueden añadir fármacos quimioterapéuticos. Por ejemplo, las espumas de MEC porosas son vehículos de factores de crecimiento, moléculas pequeñas y otras moléculas dirigidas al tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer y la diabetes, fármacos antiinflamatorios, tales como esteroides y agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE), agentes antimicrobianos y analgésicos para aliviar el dolor.

En el presente documento se describe un método para fabricar espumas porosas derivadas de MEC. Las fuentes de MEC incluyen, pero sin limitación, SVU, MVU, SID y MBH, descritos anteriormente.

En una realización del método de fabricación de la invención, la MVU se prepara como se describe en la patente de EE. UU. n.º 6.576.265. Brevemente, la vejiga urinaria se extrae de un mamífero, por ejemplo, cerdo, oveja o vaca y la pared de la vejiga se deslaminada de las células epiteliales lumbinales, por ejemplo, aunque no de forma limitativa, remojando la vejiga urinaria en una solución salina hipertónica durante 10 a 120 minutos. El remojo elimina las células epiteliales de la membrana basal epitelial subyacente. Las capas de tejido epitelial que quedan después de este etapa inicial son la membrana basal epitelial y todas las capas ablumbinales hacia la membrana basal epitelial, es decir, al menos la túnica propia, túnica submucosa, túnica muscular y túnica serosa. Una o más capas de tejido, por ejemplo,

túnica propia, mucosa de la túnica muscular, túnica submucosa, túnica muscular y túnica serosa, se eliminan selectivamente mediante abrasión mecánica u otro tratamiento químico suave para formar la matriz MVU.

5 Después de que una o más capas abluminales se eliminan selectivamente de la vejiga urinaria u otro tejido epitelial, la matriz resultante incluye la membrana basal epitelial, que recubre la superficie luminal de la matriz y de la cual se eliminan las células epiteliales y sustancialmente todos los elementos celulares y una o más capas de tejido, por ejemplo, mucosa de la túnica muscular, túnica propia, túnica submucosa, túnica muscular y túnica serosa abluminal hacia la membrana basal epitelial.

10 La MEC, tal como la MVU como se ha descrito anteriormente, se rehidrata en ácido clorhídrico o hidróxido de sodio en un intervalo de concentración de aproximadamente 1 N a 0,001 N, preferiblemente a HCl 0,1-0,01 N, más preferiblemente a HCl 0,01 N, durante aproximadamente 5 minutos y en una etapa de mezcla, se mezcla en una licuadora industrial a velocidades de aproximadamente 500 rpm a 2500 rpm, preferiblemente a 2000 rpm, para producir una pasta espumosa fluida de MEC. A continuación, la pasta de espuma de MEC puede neutralizarse, a temperatura ambiente, por ejemplo, en una base, tal como NaOH, cuya concentración varía de aproximadamente 0,01 N a 1 N, preferentemente entre 0,1N y 1N, más preferiblemente a 1N. Otras bases, tales como KCl o NaHCO₃, también son útiles para neutralizar el ácido utilizado para preparar la pasta espumosa de MEC. Una vez se añade la base, tal como NaOH, a la pasta espumosa ácida de MEC, la pasta se mezcla de nuevo brevemente para neutralizar uniformemente la pasta antes de la fabricación de los armazones. Normalmente, la pasta espumosa de MEC se vierte a continuación, en un molde para formar una espuma de MEC porosa plana o tridimensional de forma anatómica, basándose en la aplicación prevista de cicatrización. Por ejemplo, la espuma de MEC porosa tridimensional rígida o semirrígida puede tener la forma de una varilla cilíndrica, una sonda, un cubo o una parte del cuerpo 10, por ejemplo, una nariz como se muestra en la Figura 3 o una oreja, mama, válvula cardiaca, alvéolo dental y otros tejidos tridimensionales complejos. Como se ha descrito anteriormente, los moldes para aplicaciones de dispositivos específicos incluyen, por ejemplo, pero sin limitación, moldes cúbicos para espumas de MEC porosas cúbicas para compensación y refuerzo del espesor de grapas quirúrgicas grapadas, para implantes óseos y esponjas, para moldes en forma de sonda para formar sondas de MEC porosas para aplicaciones como un injerto nervioso, prótesis venosa o arterial, prótesis traqueal, reemplazo o anastomosis esofágica o intestinal o moldes de láminas para formar láminas de MEC porosas como matrices porosas de cicatrización tópicas de MEC o de reparación de hernias y/o para armazones de reparación dérmica de MEC porosos.

Después de introducir la pasta de espuma de MEC en el molde, a continuación, la pasta se liofiliza o se seca al aire en condiciones específicas, como se describe más adelante, para producir un dispositivo de espuma de MEC porosa sólido o semisólido moldeado, es decir, no fluido. Los tamaños de poro en el interior del dispositivo de espuma de MEC porosa así como en el exterior del dispositivo de espuma de MEC porosa, pueden controlarse mediante temperaturas de liofilización así como mediante los materiales utilizados como molde. Utilizando el proceso que se describe a continuación, pueden obtenerse tamaños de poro en el exterior hacia el interior del dispositivo de espuma que varían desde, por ejemplo, 1 micrómetro (µm) a 500 micrómetros, 100 micrómetros a 250 micrómetros o 100-150 micrómetros. El tamaño de los poros puede variar según la concentración de MEC en la solución y según la velocidad de congelación.

La etapa general de liofilización de la pasta de MEC incluye el enfriamiento previo de los estantes del liofilizador a una temperatura que varía de 25 °C a -40 °C, de 4 °C a -20 °C o específicamente de -10 °C a -20 °C. Al enfriamiento previo le sigue la estabilización de la pasta moldeada a una temperatura que varía de 0 °C a -40 °C, de 0 °C a -20 °C, concretamente de -10 °C a -20 °C, durante períodos de tiempo que varían, por ejemplo, de entre 0 minutos a 240 minutos, 0 minutos a 120 minutos o 60 minutos a 120 minutos, para permitir la formación de cristales de hielo. Durante esta etapa, los estantes del liofilizador se enfrían a velocidades de 0,01 °C/min a 1 °C/min, por ejemplo o de 0,1 C°/min a 1 C°/min. El hielo formado a partir de la pasta de MEC durante esta etapa se sublima a continuación, mediante vacío a las temperaturas para estabilizar la pasta de espuma de MEC porosa moldeada descrita anteriormente. La presión de vacío utilizada está en el intervalo de 100-120 mmHg.

En una realización particular del método para fabricar espumas de MEC porosas, se añaden sales de calcio y fosfato, que van desde nitrato de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de calcio, óxido de calcio y otras sales de calcio y sales de fosfato a partir de fosfato de sodio, fosfato deshidrogenado de sodio y ácido fosfórico, a la etapa de mezcla anterior para producir espumas de MEC porosas mineralizadas. Las proporciones de las sales anteriores se pueden variar alterando las relaciones molares, específicamente para producir concentraciones de fosfato de calcio conocidas en la técnica para imitar el hueso nativo *in vivo*. Estas sales reaccionan *in situ* para formar espumas tridimensionales mineralizadas, como se ha descrito anteriormente. Las opciones de ácido (por ejemplo, fosfórico frente a clorhídrico), las relaciones molares de las sales de calcio y fosfato y el pH, pueden conducir a cambios en la microestructura del componente mineral de la espuma, tal como brushita, apatita, monetita. Como alternativa, las espumas también se pueden fabricar en hidróxido de sodio, con la adición de uno de los componentes del mineral, por ejemplo, iones de calcio o iones de fosfato y liofilizarse primero y a continuación, la sal alternativa (fosfato, si se usa calcio en la primera etapa) puede incluirse en la solución, inmediatamente después de la liofilización, para permitir la mineralización en las espumas. A esto le sigue a continuación, una nueva liofilización para obtener espumas mineralizadas.

Además, también se pueden utilizar otras fuentes de minerales, específicamente derivados de titanio o de magnesio

o minerales derivados de silicato mineral reabsorbibles "similares a huesos", como alternativas a las sales simples de fosfato de calcio. Además, pueden utilizarse la matriz ósea desmineralizada o descelularizada, hueso alogénico en polvo, hidroxapatita y fosfatos tricálcicos, como fuentes de fosfato de calcio durante la mezcla para la preparación de los armazones.

5 Por ejemplo, para fabricar una de las espumas anteriores con fosfato tricálcico, se añade nitrato de calcio 0,3 M junto con fosfato de sodio y amonio 0,2 M, durante el proceso de mezcla descrito anteriormente. Como alternativa, se pueden lograr otras combinaciones haciendo reaccionar una gama de soluciones de ácido fosfórico de 0,01 M a 1 M, con varias fuentes de calcio, por ejemplo, nitrato de calcio, acetato de calcio, hidróxido de calcio o combinaciones de
10 los mismos, con una concentración en el intervalo de 0,1 M a 1 M, por ejemplo, 0,1 M a 0,5 M. Las proporciones de nitrato de calcio e hidróxido de calcio se pueden adaptar desde 1:1 a 10:1, dependiendo del tipo de mineral a obtener, como se mencionó anteriormente.

15 En otra realización, los dispositivos de espuma de MEC porosa se muelen para producir un polvo fino (por ejemplo, menos de 250 micrómetros) y se carga en una jeringa. El proceso de molienda puede variar desde almirez y maja, crio-molienda, fresado de cuchillas a fresado de alambre. El tamaño y el volumen de las partículas de espuma de MEC porosa requeridas determinarán el proceso de molienda que se utilice. El tamaño de las partículas molidas varía de aproximadamente 1 nm a 1 milímetro, particularmente de aproximadamente 1 micrómetro a 1 milímetro. Para mezclas fluidas de partículas de MEC porosa, se prefieren tamaños de partículas en el intervalo de 10 micrómetros a 500
20 micrómetros. Para formar una solución de espumas de MEC porosas en partículas, se utiliza una cantidad adecuada de agua, solución salina o solución salina tamponada con fosfato, por ejemplo, para producir una mezcla fluida que no se separa en diferentes fases durante un período de tiempo significativo (por ejemplo, más de 7 días, 1-7 días, 2-5 días o 3-4 días). Normalmente, para 10-1000 mg de polvo de espuma de MEC porosa, un intervalo de 100 microlitros a 1 mililitro de solución salina u otro fluido, produciría mezclas fluidas con propiedades variables para diferentes
25 aplicaciones. Las aplicaciones típicas incluyen la cicatrización, rellenos dérmicos, rellenos para trasplante de cabello, aplicaciones óseas y vertebrales (para espumas mineralizadas), incluyendo aplicaciones para el tratamiento de la artrosis.

30 En otra realización del método, las espumas de MEC porosas descritas anteriormente se pueden aplicar a dispositivos médicos tales como una malla, suturas y otras estructuras planas o tridimensionales. Tales aplicaciones en dispositivos médicos reducen las cicatrices y mejoran la curación. En una realización, malla y arquitecturas similares se incrustan dentro o se colocan a ambos lados de la pasta espumosa de MEC antes de la liofilización de la pasta espumosa de MEC porosa. Como alternativa, la estructura del dispositivo médico puede sumergirse, pintarse o rociarse con la pasta de espuma de MEC antes de su liofilización. En otra realización más, la pasta espumosa de MEC es la "tinta" en un
35 proceso de impresión 3D que se utiliza para fabricar un dispositivo médico plano o tridimensional. Asimismo, las espumas de MEC porosas se pueden convertir en mallas tridimensionales. Las aplicaciones típicas para tales mallas de espuma de MEC porosas incluyen, pero sin limitación, la reparación de hernias, reparación de fistulas, la aplicación en sitio contaminado, aplicaciones antiadhesivas, reconstrucción mamaria y aplicación de expansores de tejido y de aumento de tejido.

40 *Ejemplificación de la invención*

Se generaron espumas porosas como MVU a partir de la vejiga urinaria, como se ha descrito anteriormente. Se empaparon láminas de MVU en ácido clorhídrico 0,01 M durante 30 minutos para obtener una pasta uniforme de MEC.
45 La pasta se vertió en un molde y se liofilizó para obtener una espuma porosa uniforme. La espuma porosa liofilizada se preparó con un espesor de aproximadamente 6 mm y se cortó hasta un diámetro de 20 mm, usando un punzón de biopsia para formar un disco de espuma. Los discos de espuma se empaquetaron en bolsas Tyvek de doble capa y se esterilizaron terminalmente con irradiación con haz de electrones para su evaluación en el tratamiento de heridas de espesor total en la piel dorsal de tres cerdos adultos.

50 Al menos 10 discos de espuma liofilizada por cerdo, un disco de espuma por sitio de defecto, se implantaron en el defecto de la piel en el lado dorsal. Los discos de espuma se implantaron secos y a continuación, se cubrieron con una gasa humedecida con solución salina para hidratar el disco de espuma. La gasa empapada en solución salina se cubrió con un apósito no adherente. Las dimensiones de la herida se midieron en múltiples puntos temporales, incluido el inmediatamente después de la implantación, Día 1, Día 2, Día 12, Día 14, Día 18 y Día 21. Las heridas de control en el mismo animal se trataron con gasa humedecida con solución salina, una única aplicación de partículas de MVU intactas (MicroMatrix®, ACell, Inc.) (1X) o aplicaciones repetidas de partículas de MVU intactas el Día 0, Día 4, Día 7 y Día 14 (4X). El tamaño de la herida se midió mediante calibres y se cuantificó mediante imágenes tomadas con una cámara Aranz Silhouette. Por ejemplo, la curación se designó como 100 % (permaneció un 100 % del diámetro de la herida) y 0 % (la herida curó completamente sin dejar ningún defecto). También se realizó histología para evaluar el
60 potencial de curación y la calidad de la curación tras la aplicación de la espuma.

La Figura 4 es un gráfico de columnas que compara el porcentaje del diámetro del defecto que permaneció en el tiempo cero, 1 día, 12 días, 14 días, 18 días y 21 días, para heridas tratadas con discos de espuma liofilizada, 1X (partículas de MVU aplicadas un día), 4X (partículas de MVU aplicadas en cuatro días) y control.

5 Las heridas de espesor total tratadas con un disco de espuma de MVU liofilizada mostraron una curación completa del defecto de la herida a los 18 días y 21 días, macroscópica e histológicamente. La histología de las heridas tratadas con el disco de espuma mostró que la curación se completó a los 21 días. Las heridas tratadas con una sola aplicación de disco de espuma mostraron una curación marginalmente más rápida que múltiples aplicaciones de partículas de MVU y significativamente más rápida que una sola aplicación de partículas de MVU. El sitio de la herida tratada no mostró signos de infección. Se observaron la vascularización, gránulos de grasa y epitelización, en el sitio del defecto en las muestras implantadas con espumas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar un dispositivo de espuma médica, que comprende:
 - 5 (a) solubilizar material de matriz extracelular deshidratado obtenido de un tejido de mamífero en una solución que comprende un pH inferior a 4,0 o un pH superior a 9,0;
 - (b) espumar dicho material de matriz extracelular solubilizado acidificado (pH < 4) o básico (pH > 9) en un mezclador industrial a velocidades en el intervalo de aproximadamente 500 rpm a aproximadamente 2500 rpm para formar un material de matriz extracelular espumoso;
 - 10 (c) neutralizar dicho material de matriz extracelular espumoso en una solución a aproximadamente pH 7;
 - (d) mezclar dicho material de matriz extracelular espumoso en la solución de la etapa (c) para ayudar en la neutralización de dicho material de matriz extracelular espumoso a un pH de aproximadamente 7;
 - (e) introducir dicho material de matriz extracelular espumoso de la etapa (d) en un molde;
 - 15 (f) liofilizar dicho material de matriz extracelular espumoso moldeado neutralizado mediante estantes de liofilizador enfriados previamente en un intervalo de temperatura entre 25 °C y -40 °C; seguido de
 - (g) estabilizar dicho material en la etapa (f) introduciendo cristales de hielo en dicho material de matriz extracelular moldeado de la etapa (f) en un intervalo de temperatura entre 0 °C y -40 °C a una velocidad de cambio de temperatura de 0,01 °C/min a 1 °C/min, durante periodos de tiempo que varían entre 0 minutos y 240 minutos; seguido de
 - 20 (h) sublimar dichos cristales de hielo introducidos en la etapa (g) a una presión de vacío en el intervalo de 100-120 mmHg para producir un dispositivo de espuma médica de MEC porosa.

2. El método de la reivindicación 1, en donde dicho material de matriz extracelular se selecciona del grupo que consiste en submucosa, membrana basal epitelial, membrana basal epitelial y túnica propia, dermis y membrana basal del hígado.

3. El método de la reivindicación 1, que comprende además particularizar dicho dispositivo de espuma médica después de la etapa (h).

- 30 4. El método de la reivindicación 1, en donde dicho ácido se selecciona del grupo que consiste en HCl, ácido fosfórico, ácido acético o dicha base se selecciona del grupo que consiste en hidróxido de sodio e hidróxido de amonio.

5. El método de la reivindicación 1, en donde dicha solución neutralizante de la etapa (c) comprende una base seleccionada del grupo que consiste en NaOH, NaHCO₃ y KCl o si se utiliza una base para espumar, un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácido acético y ácido clorhídrico.

- 35 6. El método de la reivindicación 1, en donde dicho molde comprende una forma similar a una lámina.

7. Un método para fabricar un gel médico que comprende,
 - 40 proporcionar el dispositivo de espuma de MEC porosa de la reivindicación 1;
 - moler dicho dispositivo de espuma de MEC porosa para formar un polvo; y
 - mezclar dicho polvo con una solución acuosa para formar dicho gel médico.

- 45 8. El método de la reivindicación 1, en donde dicho dispositivo de espuma de MEC comprende un tamaño de poro en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 500 micrómetros.

9. El dispositivo de espuma de MEC obtenido mediante un método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende: una pluralidad de poros que tienen un diámetro en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a 500 micrómetros y que comprende además un mineral seleccionado del grupo que consiste en calcio, fosfato, sales de calcio y fosfato, nitrato de calcio, hidróxido de calcio, carbonato de calcio, óxido de calcio, fosfato de sodio, fosfato deshidrogenado de sodio, ácido fosfórico, matriz ósea desmineralizada o descelularizada, hueso alogénico en polvo, hidroxiapatita y fosfatos tricálcicos.

- 50 10. El dispositivo de espuma de MEC de la reivindicación 9, en donde dicho dispositivo comprende una forma configurada para la implantación en un sitio de lesión tisular en un/a paciente.

- 55

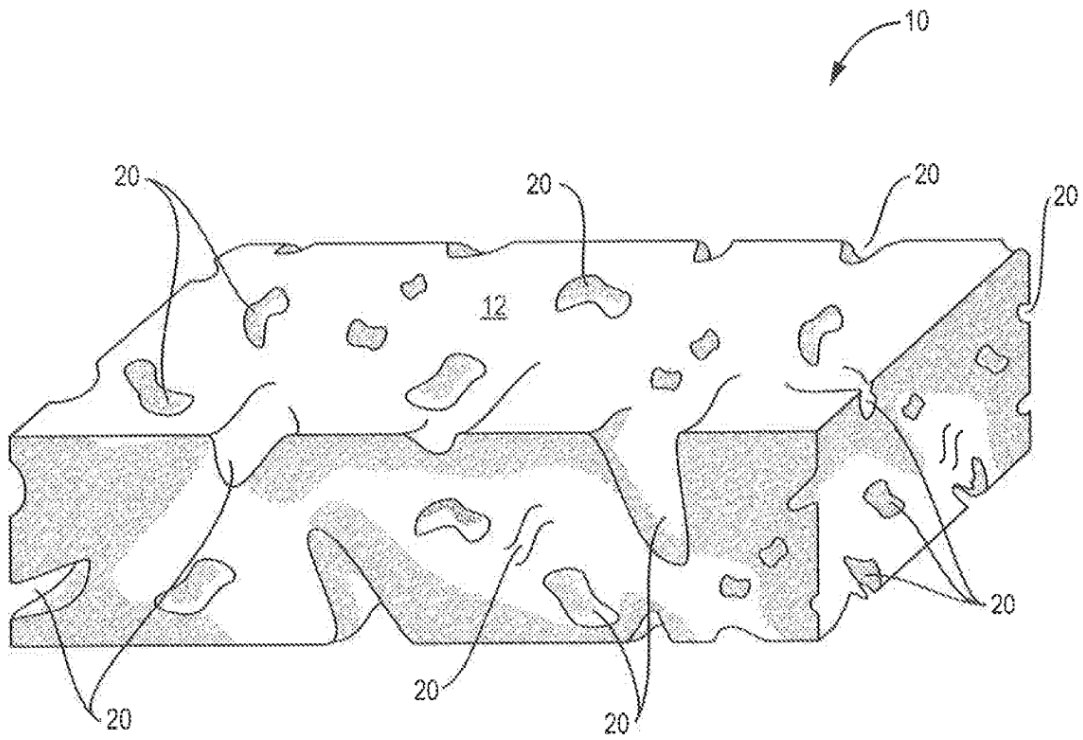


FIG. 1

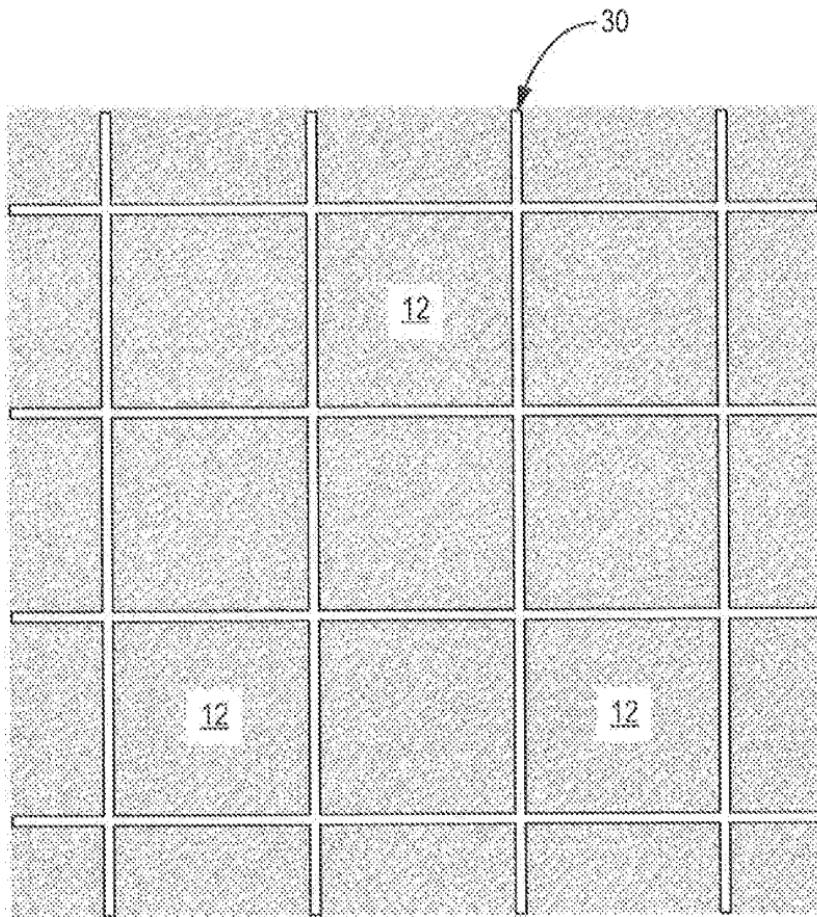


FIG. 2A

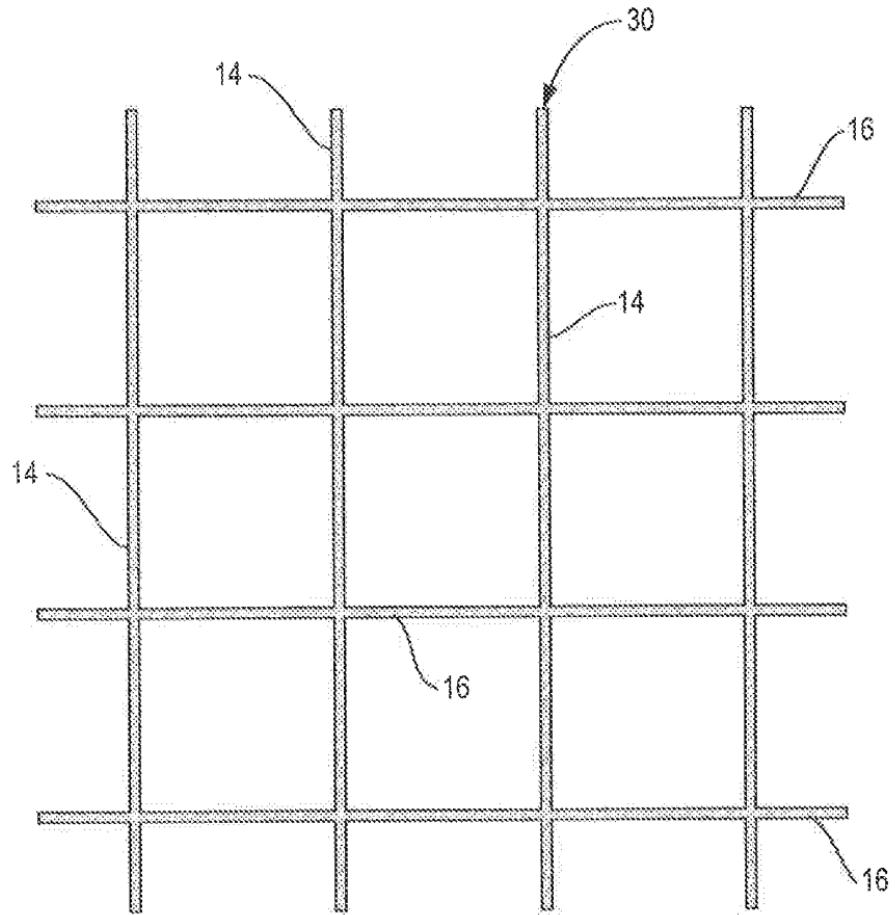


FIG. 2B

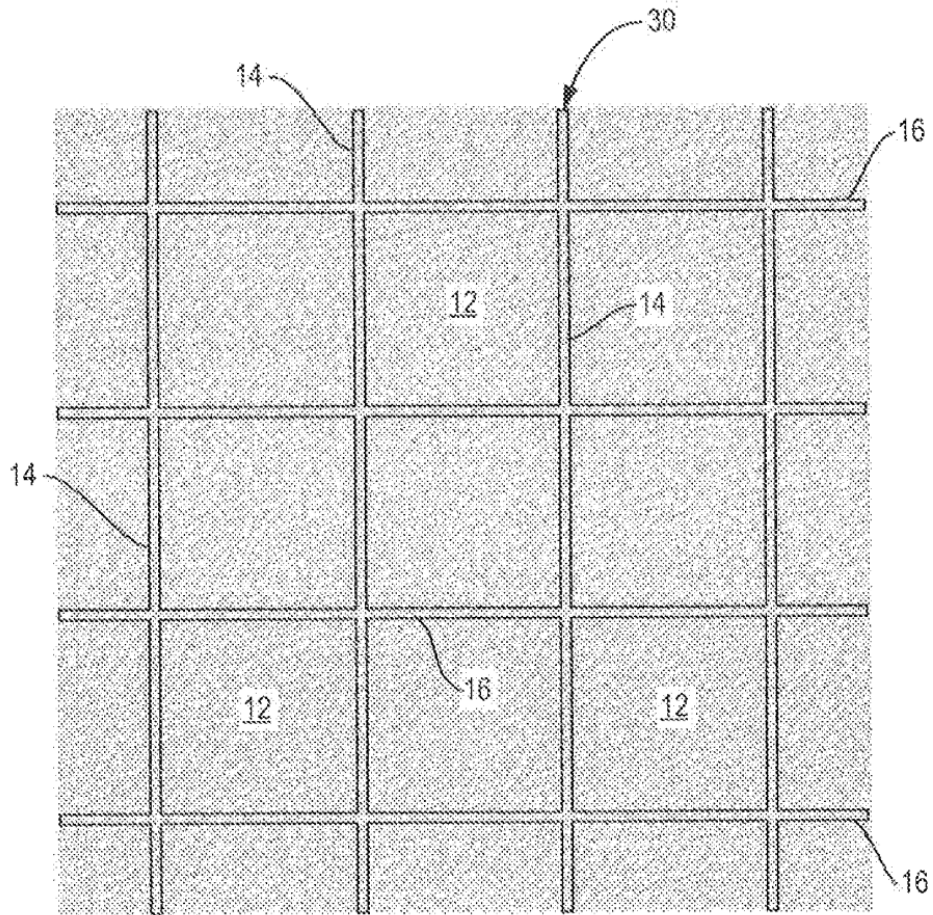


FIG. 2C

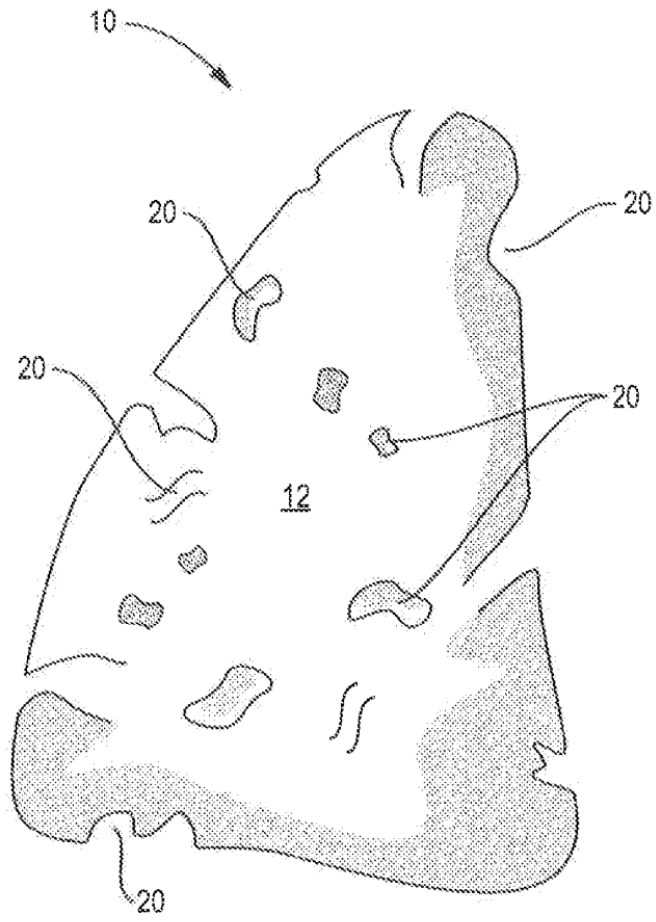


FIG. 3

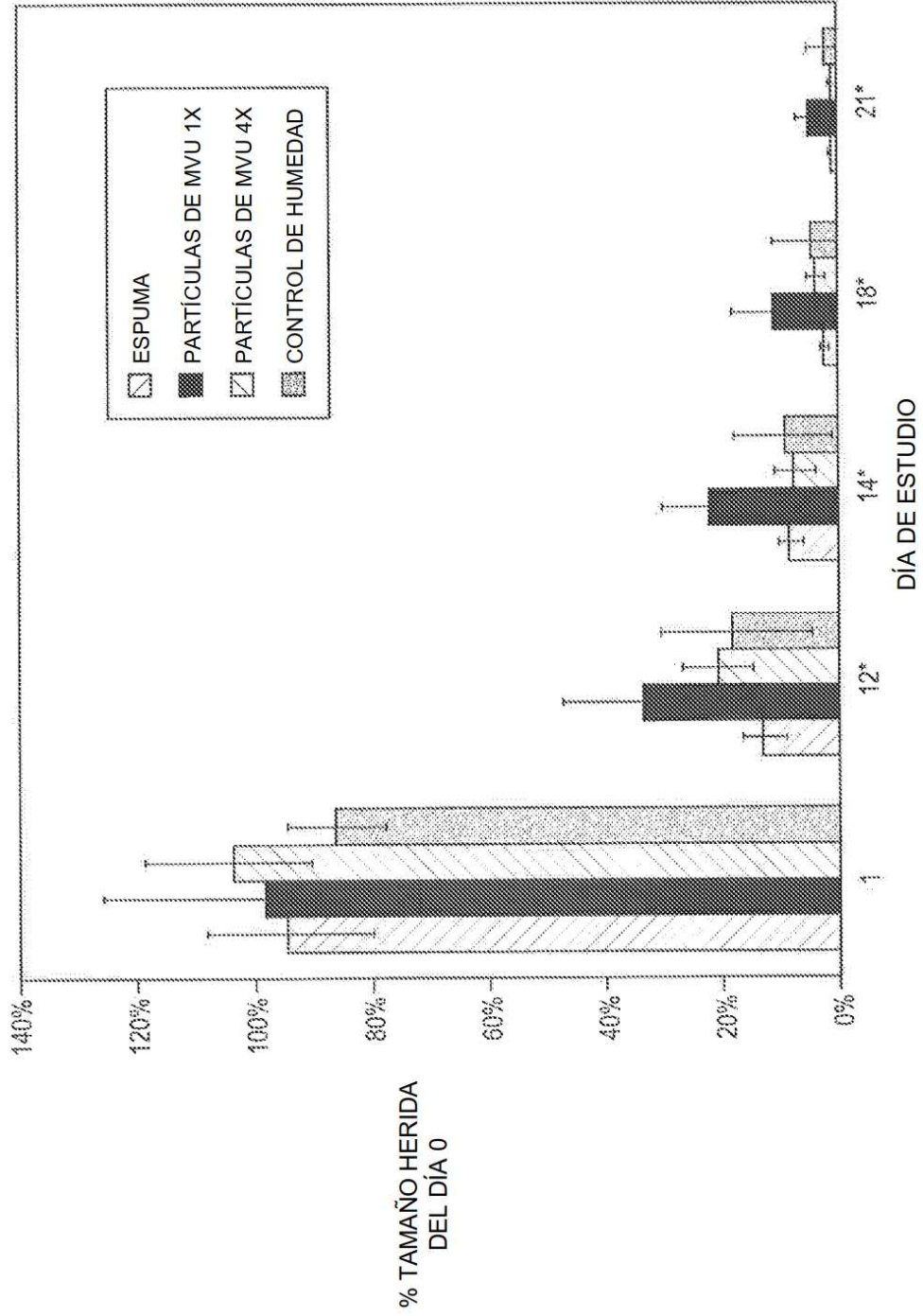


FIG. 4