

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2015/185787 A1

(43) Fecha de publicación internacional
10 de diciembre de 2015 (10.12.2015) **WIPO | PCT**

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61F 2/04 (2013.01) A61L 27/20 (2006.01)
A61L 27/24 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2015/070445

(22) Fecha de presentación internacional:
5 de junio de 2015 (05.06.2015)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201400467 5 de junio de 2014 (05.06.2014) ES

(71) Solicitantes: **UNIVERSIDAD DE GRANADA** [ES/ES];
Hospital Real., Avda. del Hospicio s/n, 18071 Granada
(ES). **SERVICIO ANDALUZ DE SALUD** [ES/ES];
Avda. de la Constitución, 18, 41071 Sevilla (ES).

(72) Inventores: **PÉREZ ALONSO, Alejandro José**; OTRI -
Universidad de Granada, Centro de Transferencia

Tecnológica, Gran Vía de Colón, 48, 18071 Granada (ES).
TORNÉ POYATOS, Pablo Juan; OTRI - Universidad de
Granada, Centro de Transferencia Tecnológica, Gran Vía
de Colón, 48, 18071 Granada (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE,
KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS,
RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY,
TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible):
ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW,
SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: DEVICE FOR ANASTOMOSIS

(54) Título : DISPOSITIVO PARA ANASTOMOSIS

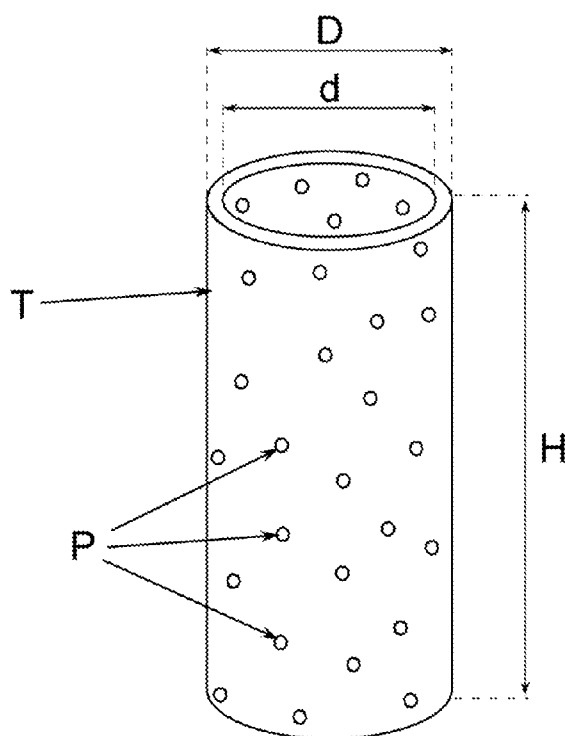


Figura 1

(57) Abstract: The invention relates to a device for anastomosis, comprising a tubular element made of biocompatible and resorbable material having a plurality of pores in the surface thereof. In a preferred embodiment, the device according to the invention is covered with a coating made of a material selected from the group consisting of agar, agarose hydrogel, gelatin, chitosan, hyaluronic acid, alginates, carrageenans, fibrin, or any of the combinations thereof. More preferably, the biocompatible and resorbable material is collagen.

(57) Resumen: La presente invención se refiere a un dispositivo para anastomosis que comprende un elemento tubular fabricado en material biocompatible y reabsorbible que posee una pluralidad de poros en su superficie. En una realización preferida, el dispositivo de la invención está recubierto con un recubrimiento de un material seleccionado del grupo que consiste en agar, hidrogel de agarosa, gelatina, quitosán, el ácido hialurónico, alginatos, carragenina, fibrina, o cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente, el biomaterial biocompatible y reabsorbible es colágeno.

WO 2015/185787 A1



BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

DISPOSITIVO PARA ANASTOMOSIS

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se encuentra dentro del campo de la medicina, y más concretamente en el campo de los dispositivos médicos utilizados en cirugía, y aún más concretamente el de los dispositivos para realizar anastomosis.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA

En la actualidad el tratamiento de la vía biliar extrahepática afectada por cáncer, estenosis, lesiones iatrogénicas y otras patologías consiste en la resección de las mismas, y una anastomosis en los casos más graves de la placa hiliar biliar al intestino delgado. Esta técnica, en muchos casos, tiene un transcurso dificultado por infecciones retrógradas de la vía biliar a través de los patógenos que ascienden del
15 intestino, o debido a complicaciones como la estenosis de la anastomosis, que requieren una nueva intervención para rehacer la técnica quirúrgica. En menor número de casos, el estancamiento de las secreciones biliares y la dificultad para el flujo de la bilis, requerirán un trasplante hepático incluso en aquellos casos en los que
20 únicamente la porción afectada es extrahepática. En aquellos pacientes receptores de injertos hepáticos, puede ocurrir en el seno de un rechazo crónico una nueva estenosis de la anastomosis biliar, requiriendo de este modo un retrasplante.

En la bibliografía actual existen pocas referencias a conductos artificiales creados para sustituir vías biliares patológicas, algunas con la ayuda de biopolímeros y otras con la
25 de estructuras histológicas de otra índole. Hasta el momento, estas o bien no presentaban una biocompatibilidad suficiente para permitir el flujo de la bilis (biopolímeros), o bien no se integraban histológicamente en el ambiente (intestino, vasos sanguíneos) [Shimono K, Nose Y. The need to develop artificial bile ducts. Artif
Organs. 1995; 19:115–6.], [Rosen M, Ponsky J, Petras R, Faming A, Brody F, Duperier
30 F. Small intestinal submucosa as a bioscaffold for biliary tract regeneration. Surgery. 2002; 132:480–7].

Algunos autores han publicado recientemente el exitoso resultado en la formación de órganos artificiales como los vasos sanguíneos [Teebken OE, Haverich A. Tissue
engineering of small diameter vascular grafts. Eur J Vasc Endovasc Surg.
35 2002;23:475–85.], [Shin'oka T, Imai Y, Ikada Y. Transplantation of a tissueengineered
pulmonary artery. N Engl J Med. 2001;344: 532–3] y el intestino delgado [Kaihara S,

Kim S, Benvenuto M, Kim BS, Mooney DJ, Tanaka K, et al. End-to-end anastomosis between tissue-engineered intestine and native small bowel. *Tissue Eng.* 1999;5:339–46.] , [Perez A, Grikscheit TC, Blumberg RS, Ashley SW, Vacanti JP, Whang EE. Tissue-engineered small intestine: Ontogeny of the immune system. *Transplantation.* 2002; 74:619–23] mediante cultivos celulares. Este principio ha sido utilizado por algunos autores como Rosen et al. [Rosen M, Ponsky J, Petras R, Faming A, Brody F, Duperier F. Small intestinal submucosa as a bioscaffold for biliary tract regeneration. *Surgery.* 2002;132:480–7] para facilitar la reconstrucción de partes de la circunferencia del conducto biliar mediante el uso de submucosa intestinal, a partir de la cual se producía la reepitelización.

Es necesario disponer de un conducto artificial que funcione morfológica e histológicamente de la misma manera que la vía biliar nativa para utilizarlo como sustituto de las vías biliares patológicas, evitando de este modo complejas técnicas quirúrgicas que dificultan el paso de la bilis y, finalmente, evitando el trasplante hepático en aquellas enfermedades en las que el parénquima hepático se encuentra indemne.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención es un dispositivo para su uso en anastomosis que mantiene las propiedades morfológicas, histológicas y funcionales del conducto nativo a la vez que permite la regeneración del conducto seccionado.

Por tanto, un **primer aspecto** de la invención se refiere a un dispositivo para anastomosis, de ahora en adelante dispositivo de la invención, que comprende un elemento tubular fabricado en material biocompatible y reabsorbible que posee una pluralidad de poros en su superficie. En una realización preferida, el dispositivo de la invención está recubierto con un recubrimiento de un material seleccionado del grupo que consiste en agar, hidrogel de agarosa, gelatina, quitosán, el ácido hialurónico, alginatos, carragenina, fibrina, o cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente, el biomaterial biocompatible y reabsorbible es colágeno.

Aún más preferiblemente, el material del recubrimiento es un hidrogel de agarosa. Aún mucho más preferiblemente, el hidrogel de agarosa tiene una concentración de entre un 1% y un 5% de agarosa, aún más preferiblemente de entre un 1,5% y un 3% de agarosa, y mucho más preferiblemente de aproximadamente un 2% de agarosa.

En otra realización preferida, el diámetro de los poros del dispositivo de la invención es de entre 50 y 400 nm, más preferiblemente de entre 75 y 350 nm, y aún mucho más

preferiblemente de entre 100 y 300 nm. En una realización particular, el diámetro de los poros es de aproximadamente 200 nm.

En otra realización preferida, el dispositivo de la invención además comprende una válvula unidireccional en su interior.

- 5 En otra realización preferida, el dispositivo de la invención además comprende una al menos una célula, preferiblemente es una célula madre, más preferiblemente es una célula madre pluripotente o multipotente, con capacidad proliferativa y/o de diferenciación.

- Únicamente y en el caso particular de no utilizar embriones humanos o células pluripotentes obtenidas mediante la destrucción del embrión con fines industriales o comerciales en el entorno de la Unión Europea, aún más preferiblemente, las células pluripotentes son células de mamífero no humano o embriones no humanos. Aún más preferiblemente, si la célula madre pluripotente es una célula madre humana embrionaria, ésta ha sido obtenida mediante un procedimiento que no implica la destrucción del embrión (Chung *et al.*, Cell Stem Cell. 2008 Feb 7;2(2):113-7).
- 10
15

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento, o alternativamente, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento.

20

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o remplazar la actividad funcional de un tejido u órgano enfermo o dañado, o alternativamente, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o remplazar la actividad funcional de un tejido u órgano enfermo o dañado.

25

En una realización preferida, el tejido u órgano enfermo o dañado se selecciona del tracto gastrointestinal, tracto urogenital, tracto respiratorio, el ojo, vasos sanguíneos, músculos, tejido epitelial, tejido nervioso, tendones, tejido óseo y tejido cartilaginoso, o cualquiera de sus combinaciones.

30

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para prevenir o tratar procesos hemorrágicos (hemostasis), o alternativamente, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento para parcial prevenir o tratar procesos hemorrágicos (hemostasis).

35

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5 **Figura 1.-** Representación esquemática del dispositivo objeto de la invención. Los elementos identificados representan: **T**, el elemento tubular, **P** los poros, **D** el diámetro exterior, **d** el diámetro interior y **H** la altura del elemento tubular.

Figura 2.- Representación esquemática de una sección longitudinal de una realización particular del dispositivo objeto de la invención. **V** representa una válvula unidireccional y las flechas indican la dirección en la que se mueve el flujo.

10 **Figura 3.-** Colangiografía realizada 4 semanas después de la interposición de la prótesis biliar de colágeno-agarosa. La flecha indica la longitud del elemento tubular, **T**.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15 La presente invención se refiere a un dispositivo para su disposición entre dos secciones adyacentes en una operación de anastomosis que comprende un tubo o elemento tubular fabricado en material biocompatible y reabsorbible, preferentemente colágeno, que posee una pluralidad de poros en su superficie, y está recubierto con un recubrimiento seleccionado del grupo que consiste en hidrogel de agarosa, gelatina, quitosán, el ácido hialurónico y alginatos, preferentemente hidrogel de agarosa.

DISPOSITIVO DE LA INVENCION

25 Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a un dispositivo para anastomosis, de ahora en adelante dispositivo de la invención, que comprende un elemento tubular fabricado en material biocompatible y reabsorbible que posee una pluralidad de poros en su superficie. En una realización preferida, el dispositivo de la invención está recubierto con un recubrimiento de un material seleccionado del grupo que consiste en agar, hidrogel de agarosa, gelatina, quitosán, el ácido hialurónico, alginatos, carragenina, fibrina, o cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente, el biomaterial biocompatible y reabsorbible es colágeno.

30 A lo largo de la descripción el término "tubo" o "elemento tubular" hace referencia a un elemento hueco, abierto por ambos extremos, con forma sensiblemente cilíndrica. Debe entenderse que este término comprende tubos cilíndricos, tubos con sección elíptica u oval, tubos prismáticos o combinaciones de los mismos.

El término “anastomosis” se refiere a cualquier conexión quirúrgica entre dos estructuras, en particular a una conexión creada entre estructuras tubulares, como los vasos sanguíneos o los conductos biliares.

El término “poro” hace referencia a agujeros u orificios que atraviesan la superficie de un elemento.

Ejemplos de materiales biocompatibles y reabsorbibles son el colágeno, el ácido poliláctico, la caprolactona o el ácido poliglicólico.

El recubrimiento del tubo permite una rápida reabsorción por el organismo, este recubrimiento debe permitir la migración de macromoléculas a través de su interior.

Ejemplos de materiales que cumplen estas características son los hidrogeles de agarosa, la gelatina, el quitosán, el ácido hialurónico y el alginato. En una realización preferida el recubrimiento empleado es hidrogel de agarosa.

Por tanto, aún más preferiblemente, el material del recubrimiento es un hidrogel de agarosa. Aún mucho más preferiblemente, el hidrogel de agarosa tiene una concentración de entre un 1% y un 5% de agarosa, aún más preferiblemente de entre un 1,5% y un 3% de agarosa, y mucho más preferiblemente de aproximadamente un 2% de agarosa.

Por lo tanto, las dimensiones del elemento tubular, en particular los diámetros interior y exterior, dependerán, por tanto, del sujeto y de las estructuras sometidas a anastomosis. La altura del elemento tubular, H , se determinará en cada intervención, siendo recomendable la fabricación y almacenamiento de dispositivos con un elemento tubular con una altura mayor de la necesaria que permita, mediante su sección, reducirla fácilmente hasta la altura deseada.

El diámetro del poro puede ser variable. Tal y como se muestra en los ejemplos de la invención, la reepitelización se produce desde los extremos del conducto artificial, extendiéndose a lo largo de todo el trayecto mediante la migración celular que permiten los poros de la estructura tridimensional que forma el colágeno. La tasa de reepitelización fue similar desde ambos extremos. Esto permite su uso en un mayor número de indicaciones clínicas y facilita la técnica. En los ejemplos de la invención se muestra que las células pluripotenciales biliares son viables que se diferencian en células epiteliales de manera uniforme, migrando a través del conducto implantado.

En otra realización preferida, el diámetro de los poros del dispositivo de la invención es de entre 50 y 400 nm, más preferiblemente de entre 75 y 350 nm, y aún mucho más preferiblemente de entre 100 y 300 nm. En una realización particular, el diámetro de los poros es de aproximadamente 200 nm.

En otra realización particular, tal y como se muestra en la Figura 2, el dispositivo comprende una o más válvulas unidireccionales, V, dispuestas en el interior del tubo, entendiéndose por "válvula unidireccional" a un dispositivo que permite el flujo de un fluido o un gas en una dirección determinada, y lo impide en la dirección opuesta.

5 Estas válvulas unidireccionales están fabricadas preferentemente en el mismo material que el resto del tubo, aunque es posible fabricarlas en otro material biocompatible, preferentemente un material seleccionado del grupo formado por politetrafluoroetileno (PTFe o Teflón®), fibrina o Dacrón, puesto que para esta parte del dispositivo no sería necesaria una reabsorción completa.

10 En el ámbito de la presente invención, Dacrón es un material sintético (artificial) que se utiliza para reemplazar tejidos corporales normales, Este modo de realización es especialmente útil cuando no existe el mecanismo fisiológico de antirreflujo, o el tubo presenta una longitud mayor de 1 cm.

En otra realización preferida, el dispositivo de la invención además comprende al
15 menos una célula, preferiblemente es una célula madre, más preferiblemente es una célula madre pluripotente o multipotente, con capacidad proliferativa y/o de diferenciación. Aún más preferiblemente, la célula (o células) es una célula aislada, o una población celular aislada.

Únicamente y en el caso particular de no utilizar embriones humanos o células
20 pluripotentes obtenidas mediante la destrucción del embrión con fines industriales o comerciales en el entorno de la Unión Europea, aún más preferiblemente, las células pluripotentes son células de mamífero no humano o embriones no humanos. Aún más preferiblemente, si la célula madre pluripotente es una célula madre humana embrionaria, ésta ha sido obtenida mediante un procedimiento que no implica la
25 destrucción del embrión (Chung *et al.*, Cell Stem Cell. 2008 Feb 7;2(2):113-7).

El término "célula madre adulta" significa que la célula madre es aislada de un tejido o un órgano de un animal en un estado de crecimiento posterior al estado embrionario. Preferiblemente, las células madre de la invención han sido aisladas en un estado post-natal. Preferiblemente han sido aisladas de un mamífero, y más preferiblemente
30 de un humano, incluyendo neonatos, juveniles, adolescentes y adultos. Se pueden aislar células madre adultas de una gran variedad de tejidos y órganos, como médula ósea (células madre mesenquimales, células progenitoras adultas multipotentes y células madre hematopoyéticas), tejido adiposo, cartílago, epidermis, folículo piloso, músculo esquelético, músculo cardíaco, intestino, hígado, neuronal.

35 Si se desea, la célula puede ser modificada genéticamente por cualquier método convencional incluyendo, a modo ilustrativo, no limitativo, procesos de transgénesis,

deleciones o inserciones en su genoma que modifiquen la expresión de genes que sean importantes para sus propiedades básicas (proliferación, migración, diferenciación, etc.), o mediante la inserción de secuencias de nucleótidos que codifiquen proteínas de interés como, por ejemplo, proteínas con propiedades terapéuticas. Por tanto, en otra realización preferida, la célula de la invención ha sido modificada genéticamente.

El término "aislada" indica que la célula o la población celular de la invención a la que se refiere, no se encuentran en su ambiente natural. Esto es, la célula o la población celular ha sido separada de su tejido circundante. Y se ha incorporado en el dispositivo de la invención para favorecer la regeneración de tejidos y/o órganos.

El término "célula madre" hace referencia a una célula con capacidad clonogénica, de autorrenovación y de diferenciación en múltiples linajes celulares. En particular, las células madre mesenquimales tienen la capacidad de proliferar extensamente y formar colonias de células fibroblásticas. Tal como se usa en la presente invención, la expresión "célula madre" se refiere a una célula pluripotente o multipotente, capaz de generar uno o más tipos de células diferenciadas, y que además posee la capacidad de auto regenerarse, es decir, de producir más células madre.

Las células madre de acuerdo a la invención son preferiblemente seleccionadas del grupo que comprende células madre mesenquimales, células madre hematopoyéticas, células madre embrionarias no humanas, células madre pluripotentes inducidas, células madre adultas o combinaciones de las mismas. En una realización particular, las células madre son células madre humanas, en donde dichas células madre humanas no son células madre embrionarias humanas. En una realización particular, las células madre son células madre mesenquimales, preferiblemente células madre mesenquimales humanas.

El término "célula madre hematopoyética" o "HSC" hace referencia a una célula madre adulta con capacidad de dar lugar a los linajes hematopoyéticos tanto mieloides (monocitos y macrófagos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, eritrocitos, megacariocitos/plaquetas, células dendríticas) como linfoides (linfocitos T, células B, células NK). Este tipo celular se encuentra fundamentalmente en la médula ósea.

El término "célula madre mesenquimal" o "MSC", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una célula de estroma multipotente, originada a partir de la capa germinal mesodermal, que puede diferenciarse en una variedad de tipos de células, incluyendo osteocitos (células de hueso), condrocitos (células de cartílago) y adipocitos (células de grasa). Los marcadores expresados por las células madre mesenquimales incluyen CD105 (SH2), CD73 (SH3/4), CD44, CD90 (Thy-1), CD71 y

Stro-1 así como las moléculas de adhesión CD106, CD166, y CD29. Entre los marcadores negativos para las MSCs (no expresados) están los marcadores hematopoyéticos CD45, CD34, CD14, y las moléculas coestimuladoras CD80, CD86 y CD40 así como la molécula de adhesión CD31. Las MSC pueden ser obtenidas a partir de, sin quedar limitado a, médula ósea, tejido adiposo (tal como el tejido adiposo subcutáneo), hígado, bazo, testículos, sangre menstrual, fluido amniótico, páncreas, periostio, membrana sinovial, músculo esquelético, dermis, pericitos, hueso trabecular, cordón umbilical humano, pulmón, pulpa dental y sangre periférica. Las MSC de acuerdo con la invención pueden obtenerse a partir de cualquiera de los tejidos anteriores, tal como a partir de médula ósea, de tejido adiposo subcutáneo o de cordón umbilical. Se pueden aislar MSC de médula ósea mediante procedimientos conocidos por el experto en la materia. En general, dichos métodos consisten en aislar células mononucleares mediante centrifugación en gradiente de densidad (Ficoll, Percoll) de aspirados de médula ósea, y posteriormente sembrar las células aisladas en placas de cultivo de tejido en medio que contiene suero fetal bovino. Estos métodos se basan en la capacidad de las MSC de adherirse al plástico, de forma que mientras que las células no adherentes se retiran del cultivo, las MSC adheridas pueden expandirse en placas de cultivo. Las MSC también pueden aislarse de tejido adiposo subcutáneo siguiendo un procedimiento similar, conocido para el experto en la materia. Un método para aislar MSC de médula ósea o de tejido adiposo subcutáneo ha sido descrito previamente (De la Fuente et al., Exp. Cell Res. 2004, Vol. 297: 313:328). En una realización particular de la invención, las células madre mesenquimales son obtenidas a partir de cordón umbilical, preferiblemente de cordón umbilical humano.

Los términos “*célula madre pluripotente*” o “*célula troncal pluripotente*” y equivalentes gramaticales se usan de forma indistinta en el contexto de la presente invención para referirse a células no diferenciadas o poco diferenciadas, de cualquier especie, con capacidad para dividirse indefinidamente sin perder sus propiedades y capaces de formar cualquier célula de los tres linajes embrionarios (mesodermo, endodermo, ectodermo) y linaje germinal así como el linaje germinal cuando se cultivan en ciertas condiciones. La invención contempla el uso de cualquier tipo de célula madre pluripotente que sea capaz de generar una progenie de cualquiera de las tres capas germinativas incluyendo células derivadas de tejido embrionario, tejido fetal, tejido adulto y otras procedencias. Células pluripotentes adecuadas para su uso en la presente invención incluyen células madre embrionarias, células de carcinoma embrionario, células pluripotentes inducidas (iPS) y células germinales primordiales.

Asimismo, la invención contempla el uso de células madre pluripotentes de cualquier especie incluyendo, sin limitación, células humanas, de ratón, de rata, bovinas, de oveja, de hámster, de cerdo y similares.

El término "célula madre pluripotente inducida" o "iPS", según se usa en la presente

5 invención, se refiere a células que son sustancialmente idénticas genéticamente a una célula somática diferenciada de la que derivan pero que muestran características similares en cuanto a diferenciación y capacidad proliferativa a las células madre embrionarias pluripotentes. Típicamente, las iPS expresan en su superficie uno o varios marcadores seleccionados del grupo formado por SSEA-3, SSEA-4, TRA-I -60, TRA-1-81, TRA-2-49/6E y Nanog. Típicamente, las iPS expresan uno o varios genes
10 seleccionados del grupo de Oct-3/4, Sox2, Nanog, GDF3, REXI, FGF4, ESGI, DPP A2, DPP A4 y hTERT. Las iPS pueden generarse usando métodos descritos en el estado de la técnica tales como los métodos descritos por Takahashi y Yamanaka (Cell, 2006, 126:663-676), Yamanaka et al. (Nature, 2007, 448:313-7), Wernig et al. (Nature, 2007, 448:318-24), Maherali (Cell Stem Cell, 2007, 1:55-70); Maherali y Hochedlinger (Cell
15 Stem Cell, 2008, 3:595-605), Park et al. (Cell, 2008, 134:1-10); Dimos et al. (Science, 2008, 321:1218-1221), Bluelloch et al. (Cell Stem Cell, 2007, 1:245-247); Stadtfeld et al. (Science, 2008, 322:945-949) y Okita et al. (Science, 2008, 322: 949-953). Son células reprogramadas *in vitro* a partir de células somáticas diferenciadas de manera terminal
20 mediante transducción retroviral de los factores de transcripción Oct3/4, Sox2, Klf4 y c-Myc. Típicamente, las células iPS se obtienen a partir de células somáticas mediante la expresión en dichas células de las proteínas Oct- 3/4 y Sox2, de las proteínas Oct- 3/4, Sox2 y Klf4, de las proteínas Oct-3/4, Sox2, Klf4 y c-Myc y/o de las proteínas Oct- 4, Sox2, Nanog y LIN28.

25 *USOS DEL DISPOSITIVO DE LA INVENCION*

El dispositivo objeto de la invención puede, por ejemplo, ser útil para cualquier tipo de anastomosis, en particular para:

- Anastomosis biliares
- 30 • Anastomosis bilio-digestivas
- Anastomosis intestinales
- Anastomosis conductos pancreáticos
- Anastomosis pancreático-digestivas
- Anastomosis gastroesofágica
- 35 • Anastomosis colónicas

Por tanto, un **segundo aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento, o alternatively, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento.

5

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o reemplazar la actividad funcional de un tejido u órgano enfermo o dañado, o alternatively, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o reemplazar la actividad funcional de un tejido u órgano enfermo o dañado.

10

En una realización preferida, el tejido u órgano enfermo o dañado se selecciona del tracto gastrointestinal, tracto urogenital, tracto respiratorio, el ojo, vasos sanguíneos, músculos, tejido epitelial, tejido nervioso, tendones, tejido óseo y tejido cartilaginoso, o cualquiera de sus combinaciones.

15

En una realización más preferida, el dispositivo de la invención se emplea para anastomosis, preferentemente anastomosis biliares, tal y como se describe en los ejemplos. Por tanto, dicha realización preferida se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o reemplazar la actividad funcional de un conducto biliar.

20

Otra realización preferida se refiere al uso de un dispositivo en la elaboración de un medicamento para prevenir o tratar procesos hemorrágicos (hemostasis), transplante de órganos, cirugía del tracto gastrointestinal, cirugía del tracto urogenital, cirugía del tracto respiratorio, cirugía ocular, cirugía vascular, cirugía plástica, cirugía en tejido muscular, en tejido epitelial, en tejido nervioso, así como en reparación de tendones, tejido óseo y tejido cartilaginoso.

25

Otra realización preferida se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o reemplazar la actividad funcional de un conducto del tracto gastrointestinal, del tracto urogenital, del tracto respiratorio, o cualquiera de sus combinaciones.

30

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere al uso del dispositivo de la invención en la elaboración de un medicamento para prevenir o tratar procesos hemorrágicos (hemostasis), o alternatively, al dispositivo de la invención para su uso en la elaboración de un medicamento parcial prevenir o tratar procesos hemorrágicos

(hemostasis).

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere a un método *in vitro*, de ahora en adelante método de la invención, para preparar un tejido artificial, que comprende:

- 5 a) Sembrar el dispositivo de la invención con células, preferiblemente células madre, y más preferiblemente células madre adultas, y
- b) Cultivar las células en el soporte de la invención en un medio adecuado.

Preferiblemente, las células se cultivan en condiciones adecuadas para la adhesión celular.

El término "condiciones adecuadas para la adhesión celular", hace referencia a las condiciones particulares que permiten que las células madre se adhieran a la superficie del dispositivo de la invención. En una realización particular, las células madre se adhieren a la superficie del dispositivo de la invención en presencia de

15 polímeros que promueven la adhesión celular. El término "polímero que promueve la adhesión celular" hace referencia a un compuesto que facilita que las células de adhieran a la superficie de un soporte. Tales polímeros comprenden, sin limitarse a, colágeno, fibronectina, laminina, poli-lisina, gelatina y combinaciones de los mismos. En una realización alternativa preferida de la invención, las células madre se adhieren

20 a la superficie del soporte de fibras de carbón activado en ausencia de tales polímeros que promueven la adhesión celular.

Por tanto, en una realización preferida, la superficie del dispositivo de la invención se encuentra modificada por medio de polímeros que promueven la adhesión celular. Tales polímeros comprenden, sin limitarse a, colágeno, fibronectina, laminina, poli-

25 lisina y gelatina. En una realización alternativa preferida de la invención, las células madre se adhieren a la superficie del dispositivo de la invención en ausencia de tales polímeros que promueven la adhesión celular.

La expresión "condiciones adecuadas para la adhesión celular", tal como se utiliza en la presente invención, se refiere a condiciones de cultivo adecuadas que permiten

30 tanto la adhesión de las células madre sobre el dispositivo de la invención como su viabilidad sobre dicho soporte, en particular a las condiciones de pH, temperatura y fuerza iónica adecuadas para la adhesión y viabilidad de las células madre sobre el dispositivo de la invención.

La expresión "condiciones adecuadas para la diferenciación celular", tal como se utiliza

35 en la presente invención, se refiere a las condiciones de cultivo (medio de cultivo, temperatura, pH, etc) que permiten que se produzca una diferenciación de las células

madre precursoras hacia células diferenciadas maduras o hacia células en diferentes estadios de diferenciación.

El término "condiciones adecuadas para la proliferación o expansión celular", tal como se usa en la presente invención, se refiere a las condiciones de cultivo (medio de cultivo, temperatura, pH, etc.) que permiten que se produzca un incremento del número de células por división celular, en particular, del número de células madre.

El término "colágeno", tal y como se usa en la presente descripción, se refiere a una proteína que forma fibras y está presente en la matriz extracelular de todos los animales. El colágeno está constituido por tres cadenas polipeptídicas, denominadas cadenas α , que se ensamblan intracelularmente mediante puentes de hidrógeno para formar una cadena de procolágeno en forma de triple hélice. Las cadenas de colágeno son ricas en prolina o hidroxiprolina y glicina, residuos fundamentales para la formación de la superhélice. El procolágeno se secreta al espacio extracelular para dar lugar al tropocolágeno. Varias moléculas de tropocolágeno se unen entre sí mediante enlaces entre determinados aminoácidos, como lisina, para formar fibrillas y fibras de colágeno. El término colágeno incluye tanto las hélices α como el procolágeno, el tropocolágeno y todas las estructuras de fibrillas y fibras a las que dan lugar. Se conocen hasta 21 tipos de colágeno (colágeno tipo I- colágeno tipo XXI).

El término "cultivo" o "cultivo celular" empleado en la presente invención hace referencia al crecimiento de células o de tejidos en un medio adecuado. En la presente invención, dicho cultivo celular se refiere a un crecimiento de las células *in vitro*. En tal cultivo celular, las células proliferan, pero no se organizan en los tejidos *per se*. El término "cultivo adicional" se refiere a cultivar una célula o tejido hasta una determinada fase de crecimiento para, a continuación, utilizar otro método de cultivo para hacer que dicha célula o tejido alcance otra etapa de crecimiento. Un "cultivo en monocapa" se refiere a un cultivo en el que las células se multiplican en un medio adecuado mientras permanecen unidas entre sí y a un sustrato. Además, un "cultivo en suspensión" se refiere a un cultivo en el que las células se multiplican, en suspensión en un medio adecuado. Del mismo modo, un "cultivo de flujo continuo" se refiere al cultivo de células o explantes en un flujo continuo de medio fresco para mantener el crecimiento celular, por ejemplo, viabilidad. El término "medios condicionados" se refiere al sobrenadante, por ejemplo, libre de los cultivos de células/tejido, resultando después de un período de tiempo en contacto con las células cultivadas de tal manera que los medios han sido modificado para incluir determinados factores paracrinicos y / o autocrinicos producidos por las células y que se secretan en el cultivo. Un "cultivo confluyente" es un cultivo de células en las que todas las células

están en contacto y por lo tanto toda la superficie del recipiente de cultivo está cubierta, e implica que las células hayan alcanzado su máxima densidad, aunque confluencia no significa necesariamente que la división celular cese o que la población deje de aumentar de tamaño.

- 5 El término "diferenciación" hace referencia a la formación de células que expresan marcadores asociados con células más especializadas y más próximas a convertirse en células terminalmente diferenciadas, que son incapaces de división o diferenciación adicional. Los términos diferenciación "adicional" o "mayor", en un contexto de diferenciación, se refieren a la diferenciación de células que están más especializadas
- 10 y más próximas a convertirse en células terminalmente diferenciadas, incapaces de división o diferenciación adicional, que las células a partir de las cuales fueron cultivadas. El término "diferenciación final" se refiere a aquellas células que se han convertido en células terminalmente diferenciadas, incapaces de división o diferenciación adicional. Durante este proceso, cada tipo celular expresa un perfil
- 15 génico característico, que marca la capacidad proliferativa de cada tipo celular y su forma de responder a cada tipo de estímulo. Las células sufren modificaciones citológicas que dan lugar a formas y funciones determinadas durante el desarrollo embrionario o durante la vida de un organismo pluricelular, especializándose en un tipo celular. La diferenciación celular supone un proceso biológico de especialización
- 20 celular que permite que células con información genética idéntica den lugar a células diferentes entre sí, tanto estructural como funcionalmente, de acuerdo a las necesidades del organismo.

El término "medio de cultivo" o simplemente "medio", tal como se emplea aquí, hace referencia a cualquier sustancia o preparado que se utiliza para el cultivo de células

25 vivas. El término "medio", empleado en referencia a un cultivo celular, incluye los componentes del medio ambiente que rodea a las células en cultivo. El medio de cultivo puede ser sólido, líquido, gaseoso o una mezcla de fases y materiales. Los medios de cultivo incluyen medios líquidos de crecimiento, así como medios líquidos que no sustentan el crecimiento celular. Los medios también incluyen medios

30 gelatinosos tales como agar, agarosa, gelatina y matrices de colágeno. Los ejemplos de medios gaseosos incluyen la fase gaseosa al que las células que crecen en una placa de Petri u otro soporte sólido o semisólido están expuestos. El término "medio" también se refiere al material que está destinado para uso en un cultivo celular, incluso si todavía no se ha puesto en contacto con las células. El término "medio basa" se

35 refiere a un medio que promueve el crecimiento de muchos tipos celulares que no requieren ningún suplemento de nutrientes especiales. Medios más basales

comprenden generalmente cuatro grupos químicos básicos: aminoácidos, hidratos de carbono, sales inorgánicas y vitaminas. Un medio basal generalmente sirve como la base para un medio más complejo, al que los suplementos tales como suero, tampones, factores de crecimiento, lípidos, y similares, son añadidos. Ejemplos de medios basales incluyen, pero no están limitados a, Medio Eagle's Basal (EBM), medio esencial mínimo (MEM), medio modificado de Dulbecco Eagle (DMEM), medio 199, Ham F-10, Ham F-12, Mc Coy 5A, MEM de Dulbecco / FI 2, medio RPMI 1640, e Iscove modificado por Dulbecco (IMDM).

Condiciones habituales de incubación para la proliferación celular son conocidas por el experto en la materia. Tales condiciones comprenden una temperatura de 37 °C, saturación de humedad y atmósfera conteniendo del 5% al 21% de O₂, 5% CO₂.

Otras condiciones de cultivo adecuadas para expandir las células madre para su uso en el método de la presente invención pueden ser determinadas usando métodos estándar conocidos para un experto en la materia.

La expresión "poner en contacto" tal como se utiliza aquí hace referencia al proceso mediante el cual un dispositivo de la invención entra en contacto con una célula madre, en particular con una célula madre mesenquimal, y/o entra en contacto con un medio de cultivo adecuado para la diferenciación de dicha célula madre de acuerdo a la presente invención. Tal como entiende el experto en la técnica, la puesta en contacto de la célula madre con el dispositivo de la invención tiene lugar en condiciones adecuadas de adhesión celular de las células madre sobre el dispositivo de la invención, en particular, en condiciones adecuadas de pH, temperatura, fuerza iónica que permiten la viabilidad de las células y su adhesión al dispositivo de la invención.

El término "proliferación" o "expansión" en el contexto de la presente invención se emplea para hacer referencia a un aumento en el número celular, derivado de la división celular.

En una realización particular, el método de la invención se lleva a cabo siguiendo un proceso similar al descrito en [Carriel V., Garzon I., Jimenez J., Alaminos M. 2012. *Epithelial and stromal development patterns in a novel substitute of the human skin generated with fibrin-agarose biomaterials*. Cell Tissues Organs 196 1-12]. Concretamente, se añaden células madre mesenquimales a una preparación de solución salina, y finalmente a DMEM y a ácido tranexámico para evitar la fibrinólisis espontánea. Una vez obtenida la mezcla, se añade a la preparación no solidificada de agarosa en conjunto con CaCl₂, y posteriormente se procede a la polimerización del

hidrogel de agarosa junto con las células madre mesenquimales sobre la superficie del dispositivo para anastomosis.

La combinación resultante se almacena en estufas a 37°C.

- 5 A menos que se especifique expresamente lo contrario, el término "que comprende" se usa en el contexto del presente documento para indicar que pueden estar presentes elementos adicionales opcionalmente además de los elementos de la lista introducida por "que comprende". Sin embargo, se contempla como una realización específica de la presente invención que el término "que comprende" engloba la posibilidad de que no
10 estén presentes elementos adicionales, es decir para el fin de esta realización "que comprende" debe entenderse como que tiene el significado de "que consiste en".

MODOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

15 Fabricación de un dispositivo para anastomosis biliar

Se construyeron tubos de colágeno de 4 mm de diámetro y 1 mm de grosor de la pared. El tamaño de los poros formados fue de 200 nm. Posteriormente se recubrieron todas sus superficies con hidrogel agarosa al 2%. Para su almacenamiento se emplearon estufas a 37°C.

- 20 La altura del tubo se modificó para adaptarlo a cada intervención.

Implantación del conducto artificial en los animales de experimentación

- Se implantó el conducto a 40 cobayas (Grupo 1: 13 cobayas; Grupo 2: 13 cobayas; Grupo 3: 14 cobayas) de la raza Dunkin Hurlley con un peso aproximado de 1 kg $\pm$
25 200 g. En todas ellas se sustituyó la vía biliar extrahepática en la porción comprendida entre la inserción del conducto cístico y la ampolla de Vater. Para la intervención se realizó una incisión subcostal derecha para acceder directamente a las vías biliares, realizando una inducción anestésica con 20 mg/kg de ketamina, y manteniendo una infusión continua de propofol a razón de 0,2 mg/kg/min. Una vez identificado el
30 conducto común hepático en el interior del ligamento hepatoyeyunal, se realizó una sección circunferencial por debajo de la inserción del conducto cístico. A este nivel se interpuso la prótesis de colágeno con la ayuda de material de sutura compuesto de ácido poliláctico de reabsorción lenta de calibre 10/0 a través del microscopio quirúrgico. Los animales de experimentación se estabularon según la normativa
35 vigente. Durante los primeros 7 días postoperatorios se administró por vía subcutánea analgesia y antibioterapia (azitromicina).

El dispositivo objeto de la invención que se implantó en los animales de experimentación adquirió una función y forma similares a las de la vía biliar nativa a partir de las 4 semanas tras el injerto. La creación de un neoconducto biliar nos abre nuevas vías terapéuticas para el tratamiento de afecciones confinadas a la vía biliar extrahepática, evitando complejas técnicas quirúrgicas con elevados costes socioeconómicos y alta morbilidad.

Se podría asegurar que las células pluripotenciales biliares son viables y que se diferencian en células epiteliales de manera uniforme, migrando a través del conducto implantado, aunque para poder asegurarlo son necesarios más estudios histológicos dirigidos. El examen macroscópico mostró que a partir de las 4 semanas, nuestro conducto biocompatible era completamente similar morfológicamente a la vía biliar nativa. La histología y la inmunohistoquímica demostraron que histológicamente la disposición tisular era similar, con una expresión antigénica parecida. En el nuevo ambiente creado, la bilis fluía a través del neoconducto hasta el duodeno (fig. 3). A través de nuestra investigación no hemos podido determinar qué factores estimulan la diferenciación celular y la reepitelización, bien a través de componentes en la bilis, bien mediante estímulos de quimiotaxis.

Estudio morfológico y funcional

Los animales fueron sacrificados a las 4 semanas, 3 meses y 6 meses tras la sustitución del conducto biliar. Tras el sacrificio se realizó un estudio histológico mediante tinción de hematoxilina-eosina. Del mismo modo, los especímenes fueron expuestos a antígenos de membrana epitelial y de queratina de bajo peso molecular. Todo ello fue comparado con los especímenes obtenidos de la vía biliar nativa conseguida de 10 cobayas control. Todos ellos fueron estudiados del mismo modo.

El dispositivo implantado se integró morfológica y fisiológicamente dentro de la vía biliar, manteniendo las funciones de conducción de la bilis y evitando técnicas con morbilidad elevada, así como costes sanitarios altos.

Resultados

Todos los animales de experimentación sobrevivieron hasta el momento de su sacrificio (4 semanas en el Grupo 1; 3 meses en el Grupo 2; 6 meses en el Grupo 3) tras la implantación del conducto artificial. Se desarrollaron fisiológicamente, ganancia de peso y tamaño, de manera similar a los animales control (1,9 kg $\pm$ 200 g). En todos los grupos se realizó una medición de los niveles sanguíneos de bilirrubina y enzimas

hepáticas tras el sacrificio, obteniendo niveles normales en los 40 animales intervenidos (Tabla 1).

	4 semanas tras Tx (n = 13)	3 meses tras Tx (n = 13)	6 meses tras Tx (n = 14)	Controles (n = 10)
Bil total (mg/dL)	0,12 ($\pm$ 0,02)	0,11 ($\pm$ 0,02)	0,10 ($\pm$ 0,02)	0,10 ($\pm$ 0,02)
ALP (IU/L)	27 ($\pm$ 5)	24 ($\pm$ 5)	20 ($\pm$ 5)	20 ($\pm$ 5)
ALT (IU/L)	90 ($\pm$ 5)	82 ($\pm$ 5)	80 ($\pm$ 5)	78 ($\pm$ 5)

Los resultados se presentan como la media del grupo $\pm$ desviación estándar.

Tabla 1 – Cambios en las enzimas biliares y hepáticas en los tests sanguíneos de las cobayas trasplantadas a lo largo del periodo de estudio frente a los valores normales del grupo control

Estudio macroscópico del neoconducto biliar

Macroscópicamente todos los conductos artificiales implantados parecían completamente degradados a partir de las 4 semanas, aunque persistían adherencias y ligera inflamación de los tejidos adyacentes. Los especímenes extraídos a partir de los 3 meses (3 y 6 meses) se encontraban completamente reabsorbidos, y el aspecto era comparable al de la vía biliar nativa, persistiendo ligeras adherencias de los tejidos circundantes. El aspecto macroscópico del hígado era completamente normal, sin observarse signos de cirrosis. El neoconducto a partir de las 4 semanas estaba parcialmente reabsorbido, observándose algunos granulomas en los extremos distales donde estaban presentes las suturas de ácido poliláctico. Se observan algunas áreas con la presencia de tejido glandular bajo el epitelio biliar. Todo el trayecto del neoconducto se encontraba reepitelizado, aparentemente con el mismo grosor en todos sus extremos, con algunas áreas irregulares.

En el estudio realizado al neoconducto a partir de los 3 y 6 meses, el tubo artificial era indetectable. Todo el conducto estaba cubierto por un epitelio columnar simple. El colágeno que conformaba el tubo artificial estaba sustituido por tejido conjuntivo denso y cubierto en su cara intraabdominal por un epitelio de características similares al mesotelio de otros órganos. Apenas existía presencia de tejido glandular bajo la superficie del epitelio biliar. En todos los casos, el tejido hepático no sufrió ningún tipo

de alteración, sin presencia de estasis biliar ni de cirrosis, como se demostró a través de los cortes histológicos del parénquima hepático obtenidos. No se evidenciaron restos de las suturas empleadas. La transición en los extremos entre el neoconducto y la vía biliar nativa no pudo llegar a localizarse, debido a la inexistencia de diferencias tisulares entre las porciones.

Inmunohistoquímica

Todos los especímenes fueron expuestos a los antígenos frente a membrana epitelial y frente a queratina de bajo peso molecular (CAM 5.2 anticuerpo). Todas las células que recubrían la luz del neoconducto fueron positivas para el antígeno frente a membrana epitelial, mostrando una organización similar a las células epiteliales de la vía biliar nativa. Por otro lado, la positividad para los antígenos que muestra la queratina de bajo peso molecular fue menor que la observada en los controles.

Conclusiones

Ante la presencia de estenosis o afecciones cancerígenas propias de la vía biliar extrahepática, estos segmentos pueden ser extirpados y sustituidos por el conducto artificial mediante anastomosis término-terminales. De este modo es posible preservar la papila de Vater, manteniendo las funciones biológicas de esta válvula, evitando infecciones retrógradas que ocurren en las anastomosis biliodigestivas. Ninguna de estas complicaciones estuvo presente en los ensayos realizados.

Modo de realización del método de la invención: Combinación del dispositivo para anastomosis con células madre

Para preparar un tejido artificial basado en el soporte de la invención sembrado con células madre se siguió el siguiente proceso: Se añadieron células madre mesenquimales (760 μ L) a una preparación de 2 ml de solución salina, y finalmente a 125 μ L de DMEM y 15 μ L de ácido tranexámico para evitar la fibrinólisis espontánea. Una vez obtenida la mezcla, se adjuntó a la preparación no solidificada de agarosa al 2% en conjunto con 50 μ L de CaCl_2 , y posteriormente se procedió a la polimerización del hidrogel de agarosa-células madre mesenquimales sobre la superficie del soporte de la invención. El conjunto resultante se almacenó en estufas a 37°C.

REIVINDICACIONES

- 1.- Un dispositivo para anastomosis que comprende un elemento tubular fabricado en material biocompatible y reabsorbible que posee una pluralidad de poros en su superficie.
- 2.- El dispositivo según la reivindicación anterior que está recubierto con un material seleccionado del grupo que consiste en agar, hidrogel de agarosa, gelatina, quitosán, el ácido hialurónico, alginatos, carragenina, fibrina, o cualquiera de sus combinaciones.
- 3.- Dispositivo según reivindicación 2, caracterizado porque el material del recubrimiento es un hidrogel de agarosa.
- 4.- Dispositivo según reivindicación 3, caracterizado porque el hidrogel de agarosa tiene una concentración de entre 1 y 3% de agarosa.
- 5.- Dispositivo según reivindicación 4, caracterizado porque el hidrogel de agarosa tiene una concentración de aproximadamente un 2% de agarosa.
- 6.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el material biocompatible y reabsorbible es colágeno.
- 7.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el diámetro de los poros es de entre 100 y 300 nm.
- 8.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el diámetro de los poros es de aproximadamente 200 nm.
- 9.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que además comprende una válvula unidireccional en su interior.
- 10.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que además comprende al menos una célula, preferiblemente una célula madre pluripotente o multipotente, con capacidad proliferativa y/o de diferenciación, donde la célula madre

es pluripotente no es una célula madre embrionaria humana.

11.- Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que además comprende una población de células, preferiblemente células madre adultas
5 multipotentes, con capacidad proliferativa y/o de diferenciación.

12.- Uso de un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, en la elaboración de un medicamento.

10 13.- El uso de un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, en la elaboración de un medicamento para parcial o totalmente incrementar, restaurar o remplazar la actividad funcional de un tejido u órgano enfermo o dañado.

14.- El uso de un dispositivo según la reivindicación 13, donde el tejido u órgano
15 enfermo o dañado se selecciona del tracto gastrointestinal, tracto urogenital, tracto respiratorio, el ojo, vasos sanguíneos, músculos, tejido epitelial, tejido nervioso, tendones, tejido óseo y tejido cartilaginoso.

15.- El uso de un dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, en la
20 elaboración de un medicamento para prevenir o tratar procesos hemorrágicos (hemostasis).

1/2

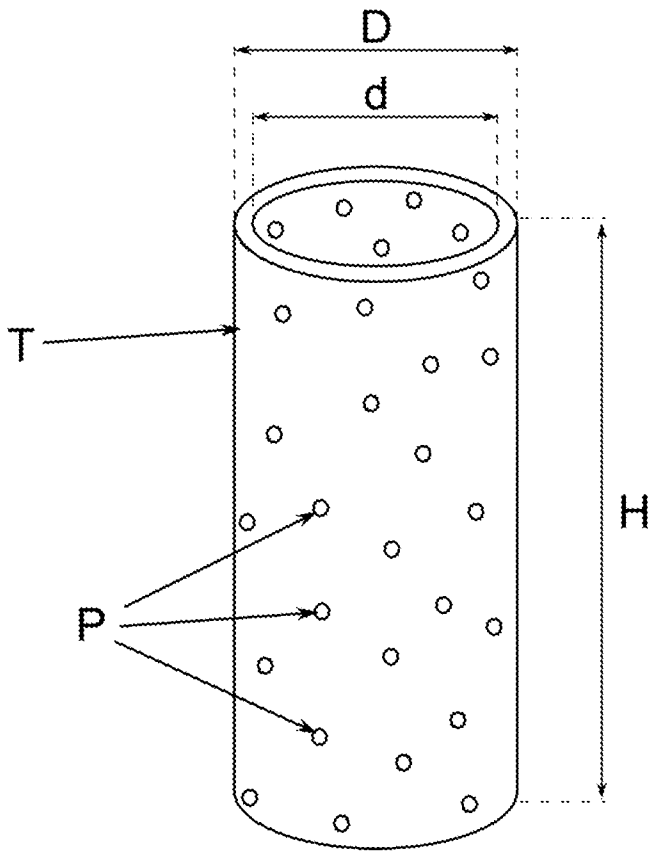


Figura 1

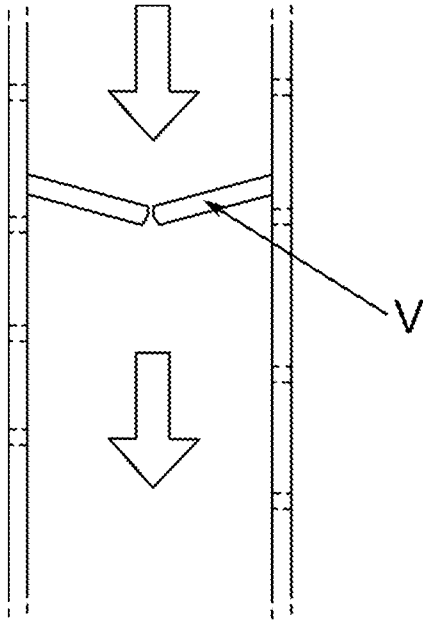


Figura 2

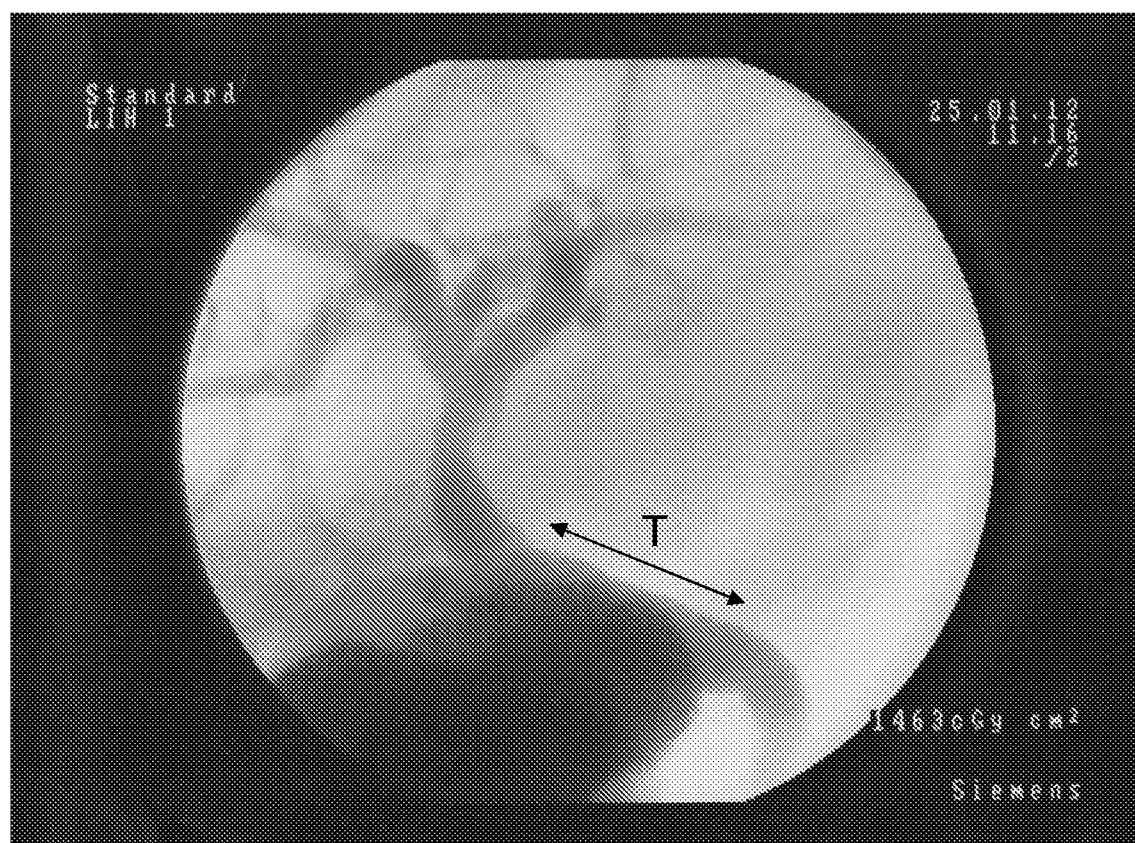


Figura 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2015/070445

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61F, A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPIAP, TXTUS0, TXTUS1, TXTUS2, TXTUS3, TXTUS4, TXTUS5, TXTEP1, TXTGB1, TXTWO1, TXTAU1, TXTCA1, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PÉREZ ALONSO A.J., <i>et al.</i> [Bile duct reconstruction using 3-dimensional collagen tubes]. Cirugía spanish Spain Nov 2013 VOL: 91 No: 9 Pags: 590 - 594 ISSN 1578-147X (Electronic) Doi: doi:10.1016/j.ciresp.2012.10.006 pubmed:23827933. See the whole document.	1-15
X	US 2010316690 A1 (SEFTON MICHAEL V ET AL.) 16/12/2010, see the whole document, especially examples 1 and 5.	1, 6-15
A		2-5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17/09/2015

Date of mailing of the international search report
(22/09/2015)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
B. Pérez Esteban

Telephone No. 91 3498484

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070445

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TWAL W. O., <i>et al.</i> Cellularized microcarriers as adhesive building blocks for fabrication of tubular tissue constructs. Annals of biomedical engineering. United States 14/08/2013 (on line) VOL: 42 No: 7 Pags: 1470 - 1481 ISSN 1573-9686 (Electronic) Doi: doi:10.1007/s10439-013-0883-6 pubmed:23943070. See the whole document. US 2008095818 A1 (ABATANGELO GIOVANNI ET AL.) 24/04/2008, see the whole document.	1, 9-15
A		2-8
X		1
A		2-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070445

Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US2010316690 A1	16.12.2010	US2012171258 A1	05.07.2012
-----	-----	-----	-----
US2008095818 A1	24.04.2008	ITPD20040265 A1	27.01.2005
		JP2008517684 A	29.05.2008
		WO2006045836 A2	04.05.2006
		WO2006045836 A3	20.07.2006
		CA2584483 A1	04.05.2006
		AU2005298645 A1	04.05.2006
		EP1824527 A2	29.08.2007
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070445

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61F2/04 (2013.01)

A61L27/24 (2006.01)

A61L27/20 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/070445

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

A61F, A61L

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

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

EPODOC, WPIAP, TXTUS0, TXTUS1, TXTUS2, TXTUS3, TXTUS4, TXTUS5, TXTEP1, TXTGB1, TXTWO1, TXTAU1, TXTCA1, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	PÉREZ ALONSO A.J., <i>et al.</i> [Bile duct reconstruction using 3-dimensional collagen tubes]. Cirugía española Spain Nov 2013 VOL: 91 No: 9 Pags: 590 - 594 ISSN 1578-147X (Electrónico) Doi: doi:10.1016/j.ciresp.2012.10.006 pubmed:23827933. Ver todo el documento.	1-15
X	US 2010316690 A1 (SEFTON MICHAEL V ET AL.) 16/12/2010, Ver todo el documento, especialmente los ejemplos 1 y 5.	1, 6-15
A		2-5

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
17/09/2015

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
22 de septiembre de 2015 (22/09/2015)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
B. Pérez Esteban
Nº de teléfono 91 3498484

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/070445

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	TWAL W. O., <i>et al.</i> Cellularized microcarriers as adhesive building blocks for fabrication of tubular tissue constructs. Annals of biomedical engineering. United States 14/08/2013 (en línea) VOL: 42 No: 7 Pags: 1470 - 1481 ISSN 1573-9686 (Electrónico) Doi: doi:10.1007/s10439-013-0883-6 pubmed:23943070. Ver todo el documento.	1, 9-15
A		2-8
X		1
A		2-15
	US 2008095818 A1 (ABATANGELO GIOVANNI ET AL.) 24/04/2008, Ver todo el documento.	

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/070445

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US2010316690 A1	16.12.2010	US2012171258 A1	05.07.2012
-----	-----	-----	-----
US2008095818 A1	24.04.2008	ITPD20040265 A1	27.01.2005
		JP2008517684 A	29.05.2008
		WO2006045836 A2	04.05.2006
		WO2006045836 A3	20.07.2006
		CA2584483 A1	04.05.2006
		AU2005298645 A1	04.05.2006
		EP1824527 A2	29.08.2007
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

A61F2/04 (2013.01)

A61L27/24 (2006.01)

A61L27/20 (2006.01)