

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 753**

51 Int. Cl.:  
**A61L 27/24** (2006.01)  
**A61L 27/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08013085 .9**  
96 Fecha de presentación: **21.07.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2018880**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.01.2009**

54 Título: **IMPLANTE LAMINAR.**

30 Prioridad:  
**24.07.2007 DE 102007037051**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.02.2012**

73 Titular/es:  
**AESULAP AG  
AM AESULAP-PLATZ  
78532 TUTTLINGEN, DE**

72 Inventor/es:  
**Odermatt, Erich;  
Wegmann, Jürgen y  
Blender, Bernd**

74 Agente: **Tomas Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 373 753 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**

Implante laminar

- 5 [0001] La invención se refiere a un implante laminar con una estructura estratiforme, que se adecua particularmente para la sustitución y/o cierre de la duramadre.
- [0002] El término meninge se refiere a los estratos de tejido conjuntivo, que envuelven el cerebro y se extienden a la piel de la médula espinal, que envuelve el sistema nervioso central (SNC) restante. La llamada duramadre representa en este caso la meninge más externa. Consiste en un tejido conjuntivo terso en su mayor parte y fibroso de colágeno y tiene sobre todo la función de una cápsula de órgano, con lo que particularmente impide una salida del líquido cerebroespinal.
- 10 [0003] La duramadre está dividida en dos hojas, donde en el área del cráneo la hoja externa es idéntica al periostio. Por ello, en intervenciones neuroquirúrgicas son posibles por ejemplo lesiones de la duramadre y particularmente del tejido blando que hay por debajo. Las lesiones de la duramadre (meninge más externa) pueden ser en estos casos tan graves, que sea necesaria una sustitución de partes de la duramadre. Puesto que la duramadre está muy fuertemente recorrida por vasos sanguíneos, este tipo de lesiones están frecuentemente acompañadas de fuertes sangrados.
- 15 [0004] Baharuddin y colaboradores, Clinical Neurology and Neurosurgery, 104(4), páginas. 342-344, sep 2002 divulga un implante laminar para la sustitución de la duramadre, con una estructura estratiforme de un estrato de pericardio liofilizado de origen biológico.
- 20 [0005] La tarea de la presente invención es por consiguiente, proporcionar un implante, que pueda utilizarse particularmente para la sustitución de la duramadre y que presente particularmente buenas características hemostáticas, así como de adherencia al tejido.
- 25 [0006] Esta tarea se resuelve mediante un implante laminar, particularmente para la sustitución de tejidos biológicos, con una estructura estratiforme, preferiblemente de,
- 30 a) un estrato de pericardio liofilizado de origen biológico y  
b) al menos un estrato esponjoso de proteína extracelular liofilizada.
- [0007] Con la invención se pone a disposición un implante que a consecuencia de su estructura compositiva presenta tanto las características ventajosas de un pericardio como también de una esponja proteínica. Correspondiendo al estado natural de un pericardio, el estrato de pericardio del implante presenta generalmente un de estado tipo cuero y por consiguiente mecánicamente estable. El estrato de pericardio sirve preferiblemente como una especie de base estabilizadora o material de soporte para el estrato esponjoso. Además de esto, el estrato de pericardio tiene la ventaja de que esencialmente no posee características adhesivas y por consiguiente tampoco causa coalescencias tisulares, por ejemplo con el hueso del cráneo. El estrato esponjoso de proteína posee preferiblemente características de adhesividad al tejido. Por ello, el implante se puede colocar directamente sobre el tejido a tratar, sin que sean necesarios pasos de fijación adicionales, como por ejemplo una sutura. En otras palabras, el implante posee de forma ventajosa características autoadhesivas. La adherencia del implante a superficies tisulares se atribuye sobre todo a las fuerzas capilares del estrato esponjoso proteínico. La humedad del tejido sirve en este caso como determinante de adherencia. La utilización del implante según la invención puede suponer por lo tanto también un ahorro de tiempo para los cirujanos. Además de esto, el estrato de pericardio robusto y mecánicamente estable permite en caso de necesidad también un cosido del implante al punto de tratamiento o de aplicación en el cuerpo humano o animal. De esta forma, el implante se puede coser por ejemplo a tejido duro, particularmente tejido óseo. El implante puede absorber además de forma ventajosa varias veces su propio peso en líquido. Por ello, el implante según la invención se adecua también para el tratamiento hemostático de heridas, ya que se puede absorber sangre y eventualmente también exudado de la zona de la herida mediante el estrato proteínico esponjoso de forma rápida y duradera. Al mismo tiempo el estrato de pericardio presenta a causa de su estado normal de tipo cuero una barrera infranqueable para líquido, de modo que con ayuda del implante según la invención es posible también un cierre impermeable de los puntos de aplicación en el cuerpo humano y/o animal. Esto es particularmente ventajoso en la impermeabilización de la duramadre, para evitar la aparición de fugas de líquido cerebroespinal (fugas-LCE).
- 35 [0008] La expresión "estrato esponjoso de proteína extracelular liofilizada" significa en el sentido de la presente invención, que el estrato esponjoso está formado por una proteína extracelular liofilizada o varias proteínas extracelulares liofilizadas y puede presentar junto a la proteína extracelular o proteínas extracelulares otros componentes, como se describen por ejemplo a continuación.
- 40 [0009] El implante posee preferiblemente una estructura de dos estratos. El implante puede presentarse particularmente en forma de una lámina.
- 45  
50  
55  
60

[0010] En una forma de realización preferida el pericardio es xenógeno, particularmente de origen bovino, porcino o equino. Normalmente el pericardio es un pericardio bovino.

[0011] La proteína extracelular también puede ser xenógena, particularmente de origen bovino, porcino o equino. Las proteínas de origen equino son especialmente preferidas en este caso a causa del reducido riesgo de infección. En el caso de la proteína extracelular puede tratarse además de una proteína de soporte fibrosa. La proteína extracelular puede ser por ejemplo colágeno y/o elastina. Preferiblemente la proteína extracelular es colágeno. El colágeno puede ser particularmente del tipo I, II, III y/o IV. Se prefiere el colágeno del tipo I. En el caso del colágeno puede tratarse además de colágeno de tendones.

[0012] En otra forma de realización la proteína extracelular es una proteína de plasma. Como proteínas de plasma se tienen en consideración fundamentalmente albúminas y/o globulinas, donde en el caso de las globulinas puede tratarse sobre todo de  $\alpha$ 1-globulinas,  $\alpha$ 2-globulinas y/o  $\beta$ -globulinas. La proteína extracelular puede ser además también una proteína inhibidora de coagulación de la sangre, particularmente macroglobulina y/o antitrombina. Se tiene en consideración además el fibrinógeno, que representa la fase previa de la fibrina monómera.

[0013] En una forma de realización más profundizada la proteína extracelular se presenta en forma desnaturalizada. La proteína extracelular puede presentarse por ejemplo en forma de un hidrolizado parcial. Preferiblemente la proteína extracelular es gelatina. La gelatina posee preferiblemente un peso molecular (PM) de 100 hasta 500 kDa (kilodalton), particularmente de 150 hasta 250 kDa. La proteína extracelular puede ser por ejemplo un hidrolizado parcial de gelatina con un peso molecular de hasta 100 kDa. La gelatina puede caracterizarse por ejemplo por un valor Bloom de aprox. 240. La gelatina posee además la ventaja, de que se adhiere especialmente bien a la superficie del tejido.

[0014] Según la invención es posible además, que la proteína extracelular sea de origen recombinante. La proteína extracelular puede estar compuesta por ejemplo por microorganismos, particularmente células de levadura.

[0015] En una forma de realización preferida la proteína extracelular presenta una mezcla de diferentes proteínas, es decir, el estrato de proteína esponjoso es un estrato de varias proteínas extracelulares liofilizadas. Se puede tratar por ejemplo en el caso de la mezcla de proteínas, de una mezcla de gelatina y colágeno. De esta forma se pueden realizar de forma ventajosa las características adhesivas de la gelatina, así como las características estables del colágeno en el implante según la invención.

[0016] Para el aumento de la estabilidad del implante la proteína extracelular puede estar fundamentalmente reticulada. La reticulación puede ser una reticulación física o una reticulación química. Como reticulantes se tienen en cuenta de forma conveniente moléculas biocompatibles. El implante presenta por lo tanto preferiblemente una proporción de reticulantes, que no conduce a ningún deterioro tisular relevante desde el punto de vista médico. Los reticulantes son por conveniencia compuestos multifuncionales, preferiblemente compuestos bifuncionales. Como reticulantes se tienen en cuenta particularmente diaminas, carbodiimidos, diisocianatos, ácidos dicarbónicos, di- y/o polialdehídos. Los polialdehídos son preferiblemente polisacáridos con grupos aldehídos (polialdehídicos). Los polisacáridos polialdehídicos pueden presentar un grado de oxidación de un 10 hasta un 50%, preferiblemente de un 10 hasta un 30%, preferiblemente aprox. de un 25%. En este caso debe entenderse con el término grado de oxidación la proporción unidades de monosacáridos con grupos aldehídos y grupos de carboxilos en el polisacárido polialdehídico. La utilización de polisacáridos con grupos de aldehído con un grado de oxidación más bajo es especialmente ventajosa a causa de su reabsorbilidad más rápida. La carbodiimida puede ser por ejemplo EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida-hidrocloruro). También se adecua para la reticulación de la proteína extracelular la NHS (N-hidroxisuccinimida).

[0017] En una forma de realización especialmente preferida la proteína extracelular no está reticulada. Preferiblemente el estrato esponjoso está libre de reticulantes. Esto tiene la ventaja, de que el estrato esponjoso y con esto el implante en general es degradable y reabsorbible más rápidamente.

[0018] Fundamentalmente ambas caras del estrato de pericardio pueden estar cubiertas con el estrato esponjoso. Preferiblemente el estrato de pericardio está cubierto solamente por un lado con el estrato esponjoso. En esta forma de realización se puede combinar con particular ventaja la estabilidad mecánica del estrato de pericardio con las características sobre todo de adhesividad tisular del estrato de proteína esponjoso.

[0019] Para conseguir una unión a ser posible resistente entre los estratos de pericardio y de proteína, en otra forma de realización la superficie del estrato de pericardio girada hacia el estrato esponjoso está asperizada. Preferiblemente el pericardio se asperiza tras su liofilización. La asperización de la superficie del pericardio se realiza convenientemente antes de la sobreliofilización de la esponja proteínica sobre el pericardio. La asperización puede realizarse mecánicamente, particularmente con ayuda de un cepillo o una tabla de agujas. Además de estos, también pueden utilizarse otros procedimientos para el tratamiento, particularmente procedimientos para la activación, de la superficie del pericardio. La

superficie de el estrato de pericardio puede estar activada por ejemplo por el tratamiento de plasma.

[0020] Según otra forma de realización se sobreliofiliza el estrato esponjoso sobre el estrato de pericardio como base. Para ello, el pericardio preferiblemente previamente liofilizado por separado normalmente se pone en un medio moldeador, por ejemplo en una cubeta de liofilización, se cubre con una dispersión de la proteína extracelular, y a continuación se liofiliza. La dispersión de proteínas se presenta preferiblemente como suspensión acuosa, que eventualmente puede estar mezclada con un alcohol, por ejemplo isopropanol, para el aumento de la solubilidad de la proteína. Alternativamente puede ponerse en un medio moldeador, por ejemplo una cubeta de liofilización, un estrato de pericardio húmedo o no completamente seco, y cubrirse o taparse con una capa esponjosa de una proteína extracelular previamente liofilizada. Una liofilización posterior conduce a un implante según la invención.

[0021] En una forma de realización alternativa se fija químicamente el estrato esponjoso con el estrato de pericardio como base. La fijación química se puede lograr por ejemplo mediante reticulantes adecuados. Con respecto a las características y rasgos de los reticulantes considerados se hace referencia a la descripción precedente.

[0022] El implante según la invención posee preferiblemente un espesor de 1 hasta 10 mm, particularmente de 2 hasta 5 mm. El estrato de pericardio posee particularmente un espesor de 0,1 a 4 mm, preferiblemente de 0,5 a 2 mm. El estrato esponjoso de la proteína extracelular posee preferiblemente de un grosor de estrato de 1 hasta 10 mm, particularmente de 2 hasta 5 mm, preferiblemente de 3 hasta 4 mm.

[0023] En una forma de realización más profundizada el implante según la invención posee un peso por unidad de superficie de 80 hasta 480 g/m<sup>2</sup>, particularmente de 160 hasta 330 g/m<sup>2</sup>. El peso por unidad de superficie del estrato de pericardio se encuentra preferiblemente entre 50 y 180 g/m<sup>2</sup>, particularmente 80 y 110 g/m<sup>2</sup>. El estrato esponjoso posee preferiblemente un peso por unidad de superficie de 30 hasta 300 g/m<sup>2</sup>, particularmente de 80 hasta 120 g/m<sup>2</sup>. La densidad del implante se encuentra preferiblemente entre 30 y 160 g/dm<sup>3</sup>, particularmente entre 50 y 110 g/dm<sup>3</sup>.

[0024] En otra forma de realización el implante presenta bordes sobresalientes. Según la invención el estrato de pericardio o el estrato de proteína esponjoso puede presentar bordes sobresalientes en el implante. De esta manera, dependiendo del uso del implante, pueden realizarse en el implante, o bien más las características del estrato de pericardio, particularmente su estabilidad mecánica, o las características del estrato de proteína esponjoso, preferiblemente sus características adhesivas de tejido.

[0025] El estrato de proteína esponjoso se conforma preferiblemente en toda su superficie sobre la superficie del pericardio.

[0026] En una forma de realización posible, el estrato esponjoso se forma solo en parte sobre la superficie del estrato de pericardio. Según la invención se puede preveer por ejemplo, que el estrato de proteína solo se encuentre sobre el estrato de pericardio en determinados puntos o en el borde exterior.

[0027] Se prefiere además, que el estrato esponjoso contenga al menos un ácido orgánico biocompatible hidrosoluble. La acidez en el estrato de proteína esponjoso se encuentra preferiblemente entre 1 y 10% en peso, particularmente entre 2 y 8% en peso. El ácido orgánico es convenientemente un ácido no volátil. El ácido orgánico puede ser particularmente un ácido de bajo peso molecular. Preferiblemente el ácido es un ácido alifático. El ácido puede presentar por ejemplo una cadena de carbono con 1 hasta 6 átomos de carbono, preferiblemente de 3 hasta 6 átomos de carbono. El ácido puede ser además un ácido polivalente, particularmente bivalente. El ácido puede ser además un ácido hidroxicarboxílico, particularmente un ácido hidroxicarboxílico polivalente. El ácido puede ser por ejemplo un ácido sacárico.

[0028] Preferiblemente el ácido orgánico biocompatible soluble en agua del estrato proteínico esponjoso es un ácido del grupo que comprende ácido cítrico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido málico, ácido glucónico, ácido múxico, ácido glutárico y ácido adipínico. Se prefiere especialmente ácido cítrico.

[0029] La adición de ácido en el estrato de proteína esponjosa mejora ventajosamente su capacidad de absorción de líquidos, particularmente de líquidos corporales, preferiblemente de sangre. Con esto se puede aumentar en total la capacidad de absorción de líquido del implante. Preferiblemente el estrato esponjoso presenta una capacidad de absorción de líquido, que corresponde de 20 hasta 60 veces, particularmente de 30 hasta 60 veces, su propio peso. En esta forma de realización el implante según la invención se adecua de manera especial para la detención de hemorragias (hemostasis).

[0030] En otra forma de realización, el estrato esponjoso es empapable completamente con agua en un período de < 100 segundos, particularmente < 60 segundos, es decir, en su superficie exterior e interior. En relación con la sangre, el implante es completamente empapable preferiblemente en un período de < 180 segundos.

[0031] El estrato esponjoso posee según otra forma de realización un valor pH <4 con la adición de agua. Preferiblemente el

estrato de proteína esponjoso posee en agua un valor pH de entre 3,0 y 3,5.

[0032] Según la invención se prevé además, que el implante, particularmente el estrato de proteína esponjosa, contenga sustancias activas. Las sustancias activas pueden mostrar particularmente características antimicrobianas. Los agentes activos pueden ser por ejemplo antibióticos. Los antibióticos pueden ser gentamicina y/o rifampicina. También pueden considerarse como sustancias activas compuestos de metal biocompatibles, particularmente sales metálicas, preferiblemente sales de plata. El implante puede contener por ejemplo acetato de plata. Los agentes activos también pueden ser metales en estado elemental, que se presentan preferiblemente en forma de nanopartículas. De esta forma, el implante según invención puede contener por ejemplo nanopartículas de plata.

[0033] Los agentes activos pueden ser además compuestos antiinflamatorios, particularmente alantoína, saponina, riboflavina, flavonoides, tocoferol, beta sitosterol, cineol soledum, dexpanthenol y/o bromalaina. Como flavonoides se tienen en consideración preferiblemente nobiletina, rutina y/o hesperidina.

[0034] En otra forma de realización preferida el implante presenta al menos un estrato teñido. Preferiblemente el estrato esponjoso de la proteína extracelular está teñido al menos con un colorante. El colorante puede ser por ejemplo de los colorantes D & C (colorantes *Drug* y *Cosmetic*) (colorantes de medicamentos y cosméticos), riboflavina, retinol y/o azul de metileno. La coloración del estrato del implante puede ser de utilidad sobre todo para un reconocimiento mejorado de sus estratos, particularmente para una diferenciación facilitada del estrato de proteína esponjosa del estrato de pericardio.

[0035] El implante según la invención se presenta convenientemente en forma esterilizada. Como métodos de esterilización se tienen en cuenta fundamentalmente todos los procedimientos especializados, por ejemplo  $\gamma$ -esterilización, irradiación de electrones, gasificación con óxido de etileno o esterilización con plasma. El implante puede presentarse además de forma confeccionada.

[0036] La presente invención se refiere también a un procedimiento para la fabricación del implante, en el que un estrato de pericardio y al menos un estrato de proteína extracelular se liofilizan unidos el uno con el otro.

[0037] En una forma de realización preferida el procedimiento comprende los siguientes pasos:

a) aplicación de una dispersión líquida, comprendiendo una proteína extracelular y al menos un medio de dispersión líquido, sobre un estrato de pericardio,

b) enfriamiento y consolidación de la dispersión aplicada conformándose al menos un estrato duro, comprendiendo la proteína extracelular y el al menos un medio de dispersión,

c) eliminación del medio de dispersión por liofilización de la unión de los estratos entre sí.

[0038] Preferiblemente se liofiliza el estrato de pericardio antes de la aplicación de la dispersión. Con ello se puede asperizar el estrato de pericardio tras su liofilización. En relación a esto se toma como referencia la descripción precedente.

[0039] La dispersión líquida se puede disponer en forma de una solución o suspensión. Como medio de dispersión se usa preferiblemente agua, que eventualmente se puede mezclar con un alcohol, particularmente isopropanol, para aumentar la solubilidad de la proteína extracelular.

[0040] Para la aplicación de la dispersión líquida sobre el estrato de pericardio, este último puede traspasarse a un medio moldeador, por ejemplo, a una cubeta de liofilización, y cubrirse con la dispersión líquida. De forma alternativa a esto, puede traspasarse en primer lugar la dispersión líquida a un medio moldeador. En este caso se coloca entonces el estrato de pericardio sobre la dispersión. En ambos casos se lleva a cabo posteriormente el enfriamiento y la solidificación de la dispersión líquida, así como la eliminación del medio de dispersión líquido por liofilización.

[0041] Preferiblemente se usa para la fabricación del implante una dispersión líquida con una proporción de la proteína extracelular de entre 0,1 y 5% en peso, particularmente de 0,2 y 2,5% en peso, referido al peso total de la dispersión líquida. Si la proteína extracelular es gelatina, entonces se usa preferiblemente una dispersión con una proporción de gelatina de entre 0,2 y 0,5% en peso, referido al peso total de la dispersión. En el caso de colágeno como proteína extracelular se trabaja preferiblemente con una dispersión de colágeno, cuya proporción de colágeno se encuentra entre 2 y 2,5% en peso, referido al peso total de la dispersión. La liofilización se realiza preferiblemente en un intervalo de temperatura de entre -10 y -50 °C, particularmente entre -20 y -40 °C.

[0042] En una forma de realización alternativa se cubre o estratifica un estrato de pericardio humedecido o aún no secado completamente con un estrato ya liofilizado de la proteína extracelular, y a continuación se somete a una liofilización en

unión de ambos estratos. Para ello, el estrato de pericardio se puede humedecer con agua antes del recubrimiento o estratificación con la proteína extracelular. En relación a otras características y detalles se remite a la descripción precedente.

5 [0043] El implante se usa para la sustitución y/o cierre de la duramadre, con lo que el implante se conforma preferiblemente como duramadre en aposición. El implante se puede usar especialmente para la obturación de una duramadre dañada, sin que se elimine previamente a tal objeto tejido duramadre del paciente. El implante se adecua especialmente para la obturación del líquido cerebroespinal del cerebro. Estas características de obturación del implante se pueden lograr sobre todo por su estrato de pericardio, que presenta en general frente a los líquidos, particularmente líquidos corporales, una especie de barrera de fluido física absoluta. En contraposición a ello, con las esponjas de proteína puras convencionales existe el riesgo de que al superar su máxima capacidad de absorción de líquidos, no se puedan retener otras cantidades de líquido. Además, el implante puede coserse si se desea o es necesario, con la duramadre a través del estrato de pericardio.

10 [0044] La presente invención comprende también la utilización de a) un estrato de pericardio liofilizado de origen biológico y b) al menos un estrato esponjoso con, preferiblemente de, proteína extracelular liofilizada para la fabricación de un implante laminar. En relación a otros detalles y características del implante, del estrato de pericardio, del estrato de proteína esponjoso, así como de las posibilidades de empleo medicinal del implante, se hace referencia a la descripción precedente.

15 [0045] Otros detalles y características de la invención resultan de la siguiente descripción de formas de realización preferidas en forma de figuras, ejemplos y reivindicaciones secundarias. En estas formas de realización pueden estar realizados rasgos de la invención de forma individual o en combinación con otras características. Todas las figuras se realizan con referencia explícita al contenido de esta descripción.

20 [0046] En las figuras se muestra lo siguiente:

25 figura 1: vista esquemática en planta de un implante según la invención con bordes sobresalientes del estrato de pericardio,

figura 2: vista esquemática en planta de un implante según la invención con bordes sobresalientes del estrato de proteína esponjoso,

30 figura 3: vista esquemática de un implante según la invención.

#### Descripción de las figuras

35 [0047] La figura 1 muestra esquemáticamente la vista en planta de un implante 10 según la invención con una estructura de dos estratos de un estrato de pericardio liofilizado 12 y de un estrato esponjoso 13 de proteína extracelular liofilizada 13. El estrato de pericardio 12 presenta en el implante 10 bordes sobresalientes. El estrato de pericardio 12 más grande en superficie confiere al implante 10 características especialmente estables. Los bordes sobresalientes del estrato de pericardio 12 pueden servir por ejemplo para el cosido del implante 10 a una herida.

40 [0048] La figura 2 muestra esquemáticamente la vista en planta de un implante 20 según la invención con una estructura de dos estratos de un estrato de pericardio liofilizado 22 y de un estrato esponjoso 23 de proteína extracelular liofilizada. El estrato de proteína esponjoso 23 presenta bordes sobresalientes en el implante 20. Con ello se pueden mejorar particularmente las características de adhesión al tejido del implante 20.

45 [0049] La figura 3 muestra esquemáticamente un implante 30 según la invención con una estructura de dos estratos de un estrato de pericardio liofilizado 32 y un estrato esponjoso 33 de proteína extracelular liofilizada.

#### Ejemplo 1:

##### Fabricación de implantes según la invención

50 [0050]

55 a) Se cortó pericardio bovino liofilizado en trozos de un tamaño de 10 x 14 cm y se asperizó con un cepillo. A continuación se pusieron a remojo 6,6 g de colágeno en 132 ml de agua ultrapura (agua milliQ de la empresa Millipor, Alemania), que contenía aditivos de ácido acético. El colágeno puesto a remojo se suspendió durante 20 minutos en una mezcla de disolvente de 231 ml de agua ultrapura y 33 ml de isopropanol. A continuación, se disolvieron en la solución 264 mg de ácido málico (0,1% en peso, referido al peso total de la suspensión de colágeno) en 264 ml de la suspensión. A continuación, se vertieron respectivamente 65 g de la suspensión en cubetas de liofilización con una base inferior de 165 cm<sup>2</sup>. Los trozos de pericardio bovino previamente cortados se

colocaron sobre la suspensión con el lado asperizado. Después se congeló la composición a -40 °C y se liofilizó. Se obtuvieron como productos, placas rectangulares de pericardio bovino cubiertas con una esponja de colágeno, donde la esponja estaba mecánicamente fijada sobre el pericardio bovino y esta unión compositiva permaneció estable particularmente en la inmersión en agua.

b) Se introdujeron 2,64 g de ácido acético glacial y 6,6 g de colágeno en 132 ml de agua ultrapura (MilliQ, empresa Millipore, Alemania). El colágeno se dejó en remojo en total durante 16 horas. Después, se lavó múltiples veces el colágeno puesto a remojo con agua ultrapura y se suspendió durante 20 minutos en una mezcla de 231 ml de agua ultrapura y 33 ml de isopropanol. Se vertieron respectivamente 65 g de la suspensión en una cubeta de liofilización con una base inferior de 165 cm<sup>2</sup>. A continuación se liofilizó. Las placas de colágeno obtenidas después de la liofilización se sacaron de las cubetas y se almacenaron en seco hasta el siguiente paso de elaboración. Trozos de pericardio bovino reelaborados y desengrasados se humedecieron con agua ultrapura y se colocaron en las cubetas de liofilización previamente descritas. A continuación, se colocaron las placas de colágeno sobre el pericardio. Las cubetas fueron congeladas y liofilizadas a continuación. Como productos se obtuvieron piezas rectangulares de pericardio de bovino cubiertas con una esponja de colágeno, donde la esponja quedó firmemente fijada sobre el pericardio bovino. En la inmersión en agua, la estructura compositiva del implante quedó intacta.

[0051] En un ensayo paralelo se fabricaron por liofilización esponjas de colágeno puras, es decir, sin pericardio.

**Ejemplo 2:**

Comportamiento frente a sangre heparinizada

[0052] Los implantes fabricados en el ejemplo 1 se cortaron en trozos de 3 x 5 cm. Se colocaron en una cubeta de cristalización 150 ml de sangre de cerdo fresca heparinizada. Se colocaron simultáneamente sobre la superficie sanguínea un implante según la invención, así como un esponja de colágeno puro, donde en el caso del implante según la invención el estrato de proteína esponjosa quedó directamente sobre la superficie sanguínea. A continuación, se determinó el tiempo hasta el completo recalado de ambos implantes a comparar. Mientras que la esponja de colágeno puro estaba completamente llena de sangre pasados 50 segundos, se pudo observar en el caso del implante según la invención, que aún tras 60 minutos no había penetrado sangre a través del pericardio bovino. Esta observación apoya el efecto impermeabilizante del componente de pericardio del implante según la invención frente a líquidos corporales, particularmente sangre.

[0053] A continuación se pesó el implante según la invención. Se pudo constatar por tanto, que el implante absorbió una cantidad de sangre de 10 veces su propio peso. Referido a la esponja de colágeno sola (previa deducción del peso del pericardio) la cantidad de sangre absorbida correspondió a 27 veces el peso propio de la esponja de colágeno aplicada sobre el pericardio. Esto ilustra la alta fuerza absorción de la esponja de colágeno en el implante según la invención.

**Ejemplo 3:**

Ensayos in vitro:

3.1 Determinación de la fuerza de presión del émbolo

[0054] Se recortaron trozos circulares con un diámetro de 45 mm de Lyoplast® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). Los trozos se sujetaron en una sujeción con 25 mm diámetro de fijación. Para la determinación de la fuerza de presión del émbolo se presionó un émbolo (diámetro 12,5 mm) con una velocidad de 50 mm/min centralmente a través de las unidades de ensayo fijadas, con lo que se determinó la fuerza a aplicar. Los resultados representados en la tabla 3.1 muestran que hubo que aplicar esencialmente las mismas fuerzas de presión con el producto Lyoplast® y los implantes fabricados según el ejemplo 1. Esto muestra que se mantiene la estabilidad mecánica o resistencia del pericardio del implante según la invención.

Tabla 3.1: comparación de la fuerza de presión del émbolo intermedia

	Fuerza de presión del émbolo	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	145 N	22 N
Lyoplast®	164 N	31 N

3.2 Fuerza de desgarro de hilo

[0055] Se recortaron tiras rectangulares con una longitud de 30 mm y una anchura de 25mm de Lyoplast® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). A continuación se pasó un hilo Safil® (B/Braun, Aesculap, Tuttlingen) de fuerza USP 2,0 1 cm por debajo del borde de corte a través del implante y el implante se fijó en la mordaza de sujeción inferior de una máquina de control de tracción (empresa Zwick Roell, Ulm, Alemania). Después se fijó el hilo en la sujeción superior, con lo que la distancia de las mordazas de sujeción era de 7 cm. La fuerza de desgarro de hilo se determinó con una velocidad de tracción de 300 mm/min. Los resultados reproducidos en la tabla 3.2 muestran, que con el producto Lyoplast® y con el implante fabricado según el ejemplo 1b) se midieron esencialmente fuerzas de desgarro de hilo iguales.

Tabla 3.2: comparación de la fuerza de desgarro de hilo intermedia

	Fuerza de desgarro de hilo	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	26,4 N	13,4
Lyoplast®	27,3 N	12,5

[0056] Al contrario que las esponjas de colágeno autoadhesivas convencionales, el implante según la invención posee la ventaja de que éste es cosible. Un cosido es sobre todo una ventaja en defectos mayores de la duramadre, como aparecen por ejemplo en tejido duramadre tumoroso, ya que en estos casos la duramadre propia del cuerpo no está completamente a disposición del implante como superficie de soporte para el implante, y el implante tiene que sujetarse por lo tanto con ayuda de material de sutura al hueso del cráneo.

3.3 Mediciones de resistencia tensil

[0057] Se recortaron tiras rectangulares con una longitud de 100 mm y una anchura de 25mm de Lyoplast® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). Las tiras se tensaron en las mordazas de sujeción (distancia 7 mm) de una máquina de control de tracción y se estiraron con una velocidad de tracción de 50 mm/min. La resistencia tensil se determinó respectivamente en n = 7 muestras.

Tabla 3.3: comparación de la resistencia tensil intermedia

	Resistencia tensil	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	211 N	75 N
Lyoplast®	187 N	26 N

[0058] Los resultados representados en la tabla 3.3 muestran que la resistencia tensil del implante según la invención es comparable con la resistencia tensil de Lyoplast®.

[0059] Los ensayos descritos en los ejemplos 3.1 hasta 3.3 muestran en general, que las características condicionadas por el material del implante según la invención en cuanto a su fuerza de presión del émbolo, resistencia de desgarro de hilo y resistencia tensil son comparables con pericardio bovino puro y por lo tanto o queda modificado de forma no ventajosa por la estructura estratiforme del implante según la invención. Estas características hacen el implante especialmente preciado, para ser usado como material de sustitución de la duramadre, particularmente como duramadre en aposición.

3.4 Capacidad de absorción de agua

[0060] Se recortaron tiras rectangulares con una longitud de 100 mm y una anchura de 25mm de Lyoplast® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). A continuación, las tiras fueron introducidas en una cápsula de petri con 20 ml de agua. Después de que los implantes estuvieran completamente impregnados de agua, se determinó la capacidad de absorción de agua según la siguiente fórmula:

$$X = \frac{W_{\text{mojado}} - W_{\text{seco}}}{W_{\text{mojado}}} \cdot 100\%$$

Tabla 3.4: comparación de la capacidad de absorción de agua intermedia

	Capacidad de absorción de agua	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	1565 %	93%
Lyoplant®	542 %	106%

[0061] Se comprobó que el implante según la invención es estable en agua. Particularmente no pudo comprobarse ningún despegado de los estratos el uno del otro. Además de ello, ni el producto Lyoplant® ni el implante según la invención se hinchó en el agua, lo que es particularmente ventajoso para la aplicación en la neurocirugía, puesto que los implantes que se hinchan, generalmente pueden conducir a complicaciones (dolores, presión intracraneal más alta). En total se realizaron n = 6 mediciones.

#### 10 **Ejemplo 4**

##### Ensayos experimentales en animales

[0062] En un ensayo animal con 6 cerdos (animales 1, 2, 3, 4, 5 y 6) se examinó el implante según la invención en comparación con un pericardio bovino puro (sin esponja de colágeno adicional). Tras narcotización de los animales se realizó una incisión de aprox. 6 cm por encima de la oreja y el sangrado producido se mitigó con métodos operativos corrientes. A continuación, se realizó con una perforadora quirúrgica una craneotomía de 4 cm de diámetro para dejar la duramadre de los animales al descubierto. Después, se realizó en la duramadre un defecto con un diámetro de 2,5 cm. A continuación, se cortó pericardio bovino liofilizado (Lyoplant® B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) con las dimensiones del defecto de los animales 1, 3 y 5 y se fijó con una costura continua a la duramadre restante de estos animales. El tiempo medio de la aplicación del pericardio bovino hasta la comprobación intraoperativa de la impermeabilidad FCE (FCE, fluido cerebroespinal) fue de 18 minutos. Paralelo a ello, se cortó un implante producido según el ejemplo 1 de las dimensiones del defecto de los animales 2, 4 y 6, y a continuación se colocó sobre los defectos de estos animales. El tiempo medio de la aplicación del implante hasta la comprobación intraoperativa de la impermeabilidad FCE fue de 5 minutos, lo que justifica de manera notable la ventaja del ahorro de tiempo para el cirujano.

[0063] Tras la aplicación se comprobó con ayuda de la llamada maniobra de Vasalva la impermeabilidad del implante antes de que se cerrase la herida (comp. para ello la tabla 4). La sección de los animales se llevó a cabo tras 28 días. Los animales fueron narcotizados de nuevo y se dejó al descubierto la zona de la herida de la duramadre. Los implantes (Lyoplant®, así como los implantes según la invención) seguían siendo visibles en todos los animales. Antes de la recogida de muestras histológicas, se comprobó una vez más la impermeabilidad del cierre de la duramadre con la maniobra de Vasalva (tabla 4). Tanto el diagnóstico macroscópico como histológico mostraron, que en ninguno de los animales aparecieron adhesiones entre las meninges y el cerebro. Se calificó además como muy buena la curación de la herida y la adaptación de los implantes a la duramadre. Las reacciones de infección mínimas aparecidas, se atribuyen a la curación natural de las heridas.

Tabla 4: presión intercraneal inducida.

Implante	animal nº	impermeable al FCE intraoperativamente hasta	impermeable al FCE en sección hasta
Implante según ejemplo 1	2	2,2 kPa	2,2 kPa
Implante según ejemplo 1	4	2,2 kPa	2,2 kPa
Implante según ejemplo 1	6	2,2 kPa	2,2 kPa
Lyoplant®	1	2,2 kPa	2,2 kPa
Lyoplant®	3	1,1 kPa	2,2 kPa
Lyoplant®	5	2,2 kPa	2,2 kPa

[0064] El ensayo con animales muestra, que la funcionalidad y seguridad del estrato de pericardio en el implante según la invención es comparable con la funcionalidad y seguridad del producto vendido por la solicitante bajo la denominación Lyoplant®. Una ventaja particular frente al producto vendido comercialmente Lyoplant® consiste en que, el efecto impermeabilizante del implante según la invención emplea se inicia en un tiempo notablemente menor, de lo que resulta un ahorro de tiempo para el cirujano. Por ello es finalmente posible, reducir costes de intervenciones quirúrgicas,

particularmente intervenciones neuroquirúrgicas. Esto rige también en vistas a defectos del tejido más grandes, que se tratan o curan con ayuda del implante según la invención.

5 [0065] En general, los ensayos de la presente solicitud descritos en la parte de los ejemplos prueban, que el implante según la invención, debido a sus características puede ser tanto cosido a un tejido como también pegado a un tejido. El implante según la invención se caracteriza por consiguiente de manera especialmente ventajosa, por el hecho de que por una parte es autoadhesivo, pero por el otro también es cosible, en caso de que fuera deseable por la particularidad del tejido defectuoso a tratar.

**REIVINDICACIONES**

1. Implante laminar con una estructura estratiforme formada por
- 5 a) un estrato de pericardio liofilizado de origen biológico y  
b) al menos un estrato esponjoso de proteína extracelular liofilizada como implante para la sustitución y/o cierre de la duramadre, preferiblemente como duramadre en aposición.
2. Implante laminar según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es colágeno.
- 10 3. Implante laminar según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es gelatina.
4. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular no es reticulada.
- 15 5. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** el estrato de pericardio está cubierto por una cara con el estrato esponjoso.
6. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la superficie girada hacia el estrato esponjoso del estrato de pericardio está asperizada.
- 20 7. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** el estrato esponjoso está liofilizado como base en el estrato de pericardio.
8. Implante según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** el estrato de pericardio presenta un espesor de entre 0,1 y 4 mm, preferiblemente 0,5 y 2 mm.
- 25 9. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** el estrato esponjoso posee un grosor de estrato de 1 hasta 10, particularmente de 2 hasta 5, preferiblemente de 3 hasta 4 mm.
- 30 10. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** el estrato de pericardio posee un peso por unidad de superficie de 50 hasta 180 g/m<sup>2</sup>.
- 35 11. Implante laminar según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** el estrato esponjoso posee un peso por unidad de superficie de 30 hasta 300 g/m<sup>2</sup>.
12. Implante laminar según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** el estrato esponjoso presenta una capacidad de absorción de líquido, que corresponde a de 20 hasta 60 veces, particularmente de 30 hasta 60 veces, su propio peso.
- 40 13. Implante laminar según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** el estrato esponjoso se puede empapar completamente con agua en un período de < 100 s, particularmente < 60 s.
- 45 14. Procedimiento para la fabricación de un implante para la sustitución y/o cierre de la duramadre, preferiblemente como duramadre en aposición, donde un estrato de pericardio y al menos un estrato de proteína extracelular se liofilizan y se unen el uno al otro.
15. Uso de
- 50 a) un estrato de pericardio liofilizado de origen biológico y  
b) al menos un estrato esponjoso de proteína extracelular liofilizada para la fabricación de un implante laminar según una de las reivindicaciones 1 hasta 13.

Fig. 1

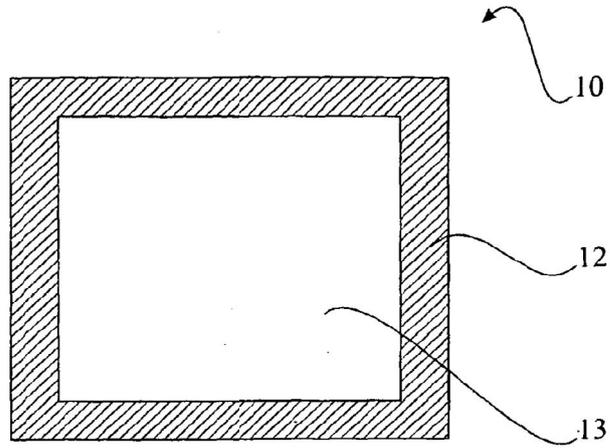


Fig. 2

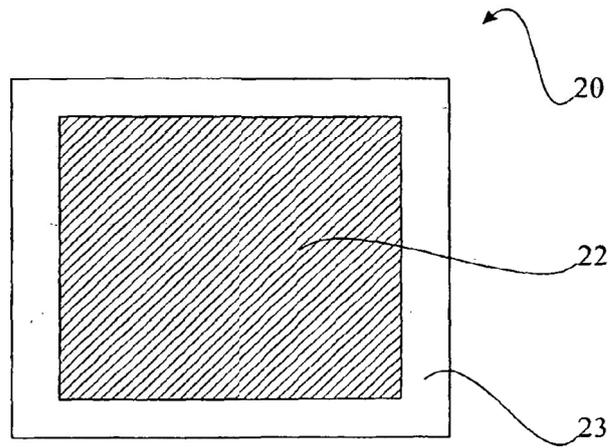


Fig. 3

