

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 189**

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

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09014319 .9**
96 Fecha de presentación: **21.07.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2147687**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.01.2010**

54 Título: **Implante plano**

30 Prioridad:
24.07.2007 DE 102007037051

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.04.2012

73 Titular/es:
Aesculap AG
Am Aesculap-Platz
78532 Tuttlingen/Donau, DE

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

74 Agente/Representante:
Tomas Gil, Tesifonte Enrique

ES 2 378 189 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 plano

5 [0001] La invención se refiere a un implante plano con una estructura en capas, que es particularmente idóneo para reemplazar tejidos biológicos.

10 [0002] Bajo meninge son entendidos los estratos de tejido conjuntivo que circundan el cerebro y pasan a la piel de la médula espinal que rodea el resto del sistema nervioso central (SNC). La llamada duramadre representa en este caso la meninge externa. Ésta consiste en un tejido conjuntivo predominantemente rígido y colágeno fibroso y tiene sobre todo la función de una cápsula orgánica, con lo cual impide particularmente una salida del líquido cerebroespinal.

15 [0003] La duramadre está dividida en dos hojas, donde en el área del cráneo la hoja externa es idéntica al periostio. Por ello, por ejemplo, en intervenciones neuroquirúrgicas son posibles lesiones de la duramadre y particularmente del tejido blando subyacente. Las lesiones de la duramadre (meninge externa) pueden ser en estos casos tan graves, que es necesario un reemplazo de por lo menos partes de la duramadre. Puesto que la duramadre está además fuertemente atravesada por vasos sanguíneos, las lesiones de este tipo están frecuentemente acompañadas de hemorragias fuertes.

20 [0004] La tarea de la presente invención es por consiguiente proveer un implante, que puede utilizarse particularmente para el reemplazo de la duramadre y que presenta particularmente buenas características hemostáticas así como de adhesión al tejido.

25 [0005] Esta tarea se resuelve a través de un implante plano, particularmente para el reemplazo de tejidos biológicos, con una estructura en capas, preferiblemente de,

- a) una capa de pericardio liofilizada de origen biológico y
- b) al menos una capa esponjosa de proteína extracelular liofilizada.

30 [0006] A través de la invención se pone a disposición un implante que presenta en consecuencia de su estructura compositiva tanto las características ventajosas de un pericardio como también de una esponja de proteína. En correspondencia a la conformación natural de un pericardio, la capa de pericardio del implante presenta generalmente una conformación de tipo cuero y por consiguiente mecánicamente estable. La capa de pericardio sirve preferiblemente como una especie de base estabilizadora o material de soporte para la capa esponjosa. Además, la capa de pericardio tiene la ventaja de que esencialmente no posee ningunas características adhesivas y por consiguiente tampoco causa coalescencias tisulares, por ejemplo, con el hueso del cráneo. La capa de proteína esponjosa posee preferiblemente características de adherencia al tejido. Por ello el implante se puede disponer directamente sobre el tejido a tratar sin que sean necesarios pasos de fijación adicionales, como por ejemplo un cosido. En otras palabras, el implante posee de una manera ventajosa características autoadhesivas. La adherencia del implante a superficies tisulares se debe sobre todo a las fuerzas capilares de la capa de proteína esponjosa. La humedad del tejido sirve en este caso como determinante de adherencia. La utilización del implante según la invención puede provocar por lo tanto también una ganancia de tiempo para el cirujano. Además, la capa de pericardio robusta y mecánicamente estable también permite en el caso de necesidad un cosido del implante en el punto a tratar o de aplicación en el cuerpo humano o animal. Así, el implante se puede coser, por ejemplo, a tejido duro, particularmente a tejido óseo. El implante puede absorber además de forma ventajosa varias veces su propio peso en líquido. Por ello, el implante según la invención es idóneo también para el tratamiento hemostático de heridas, en las que se puede absorber rápidamente y de manera duradera sangre y eventualmente también exudado, de la zona herida a través de la capa de proteína esponjosa. Simultáneamente, la capa de pericardio representa a causa de su conformación normalmente de tipo cuero una barrera de líquido insuperable, de modo que es también posible con ayuda del implante según la invención un cierre estanco del punto 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 cefalorraquídeo (fugas de LCR).

55 [0007] La formulación "capa esponjosa de proteína extracelular liofilizada" significa en el sentido de la presente invención, que la capa esponjosa está formada por una proteína extracelular liofilizada o por varias proteínas extracelulares liofilizadas y junto a la proteína extracelular o proteínas extracelulares puede presentar otros componentes, como por ejemplo serán descritos en lo sucesivo.

60 [0008] El implante posee preferiblemente una estructura al menos en doble capa. El implante puede existir particularmente en forma de una lámina.

[0009] En una forma de realización preferida el pericardio es de origen xenógeno, particularmente bovino, porcino o equino. Normalmente el pericardio es un pericardio bovino.

65 [0010] Además, la proteína extracelular puede ser también de origen xenógeno, particularmente bovino, porcino o equino. Las proteínas de origen equino son especialmente preferidas en este caso a causa del reducido riesgo de

infección. Además, la proteína extracelular puede ser una proteína de soporte fibroso. Por ejemplo, la proteína extracelular puede ser colágeno y/o elastina. La proteína extracelular de colágeno es preferida. El colágeno puede ser particularmente del tipo I, II, III y/o IV. Colágeno del tipo I es preferido. Además, el colágeno puede ser colágeno de tendón.

5

[0011] 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 se puede tratar sobre todo de α 1-globulinas, α 2-globulinas y/o β -globulinas. La proteína extracelular puede ser también además una proteína inhibidora de coagulación de sangre, particularmente macroglobulina y/o antitrombina. Además, se tiene en consideración el fibrinógeno, que representa el precursor de la fibrina monómera.

10

[0012] En una forma de realización adicional, la proteína extracelular existe en forma desnaturalizada. Por ejemplo, la proteína extracelular puede existir 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 (kilo Dalton), particularmente de 150 hasta 250 kDa. Por ejemplo, la proteína extracelular puede ser gelatina parcialmente hidrolizada con un peso molecular de hasta 100 kDa. La gelatina puede estar caracterizada por ejemplo con un número Bloom de aproximadamente 240. La gelatina posee además la ventaja de que se adhiere especialmente bien a la superficie del tejido.

15

20

[0013] Según la invención es posible además, que la proteína extracelular sea de origen recombinante. Por ejemplo, la proteína extracelular puede estar producida por microorganismos, particularmente células de levadura.

25

[0014] En una forma de realización preferida la proteína extracelular representa una mezcla de diferentes proteínas, es decir, la capa de proteína esponjosa es una capa de varias proteínas extracelulares liofilizadas. Por ejemplo, la mezcla de proteínas puede ser una mezcla de gelatina y de colágeno. Por ello, las buenas características adhesivas de la gelatina, así como las características de fibra estables del colágeno pueden ser realizadas especialmente de manera ventajosa en el implante según la invención.

30

[0015] La proteína extracelular es no reticulada. Preferiblemente la capa esponjosa está libre de reticulantes. Esto tiene la ventaja, de que la capa esponjosa y con esto el implante, es en total degradable o reabsorbible más rápidamente.

35

[0016] Fundamentalmente ambas caras de la capa de pericardio pueden estar cubiertas con la capa esponjosa. Preferiblemente la capa de pericardio está cubierta unilateralmente con la capa esponjosa. En esta forma de realización se puede combinar con ventaja particular particularmente la estabilidad mecánica de la capa de pericardio con las características sobre todo adhesivas de tejidos de la capa de proteína esponjosa.

40

[0017] Para obtener una posible unión resistente entre la capa de pericardio y de proteína, en otra forma de realización la superficie de la capa de pericardio girada hacia la capa esponjosa es rugosa. Preferiblemente se introduce una rugosidad en el pericardio tras su liofilización. La rugosidad de la superficie del pericardio se realiza convenientemente antes de la sobreliofilización de la esponja de proteína sobre el pericardio. La rugosidad se puede realizar mecánicamente, particularmente con ayuda de un cepillo o una tabla de agujas. Junto a ello también pueden ser utilizados otros procedimientos para el tratamiento, particularmente procedimientos para la activación de la superficie del pericardio. Por ejemplo, la superficie de la capa de pericardio puede ser activada por tratamiento de plasma.

45

[0018] Según otra forma de realización la capa esponjosa se sobreliofiliza sobre la capa 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 existe preferiblemente como suspensión acuosa, que eventualmente se mezcla con un alcohol, por ejemplo isopropanol, para el aumento de la solubilidad de proteínas. Alternativamente se puede poner una capa de pericardio húmeda o no completamente secada en un medio formador, por ejemplo, una cubeta de liofilización, y cubrirse o revestirse con una capa esponjosa de una proteína extracelular previamente liofilizada. Una liofilización sucesiva conduce a un implante según la invención.

50

55

[0019] En una forma de realización alternativa, la capa esponjosa se fija químicamente con la capa de pericardio como base. La fijación química se puede lograr por ejemplo a través de reticulantes adecuados. Respecto a las propiedades y características de los respectivos reticulantes se hace referencia a la descripción precedente.

60

[0020] El implante según la invención posee preferiblemente un espesor de 1 hasta 10 mm, particularmente de 2 hasta 5 mm. La capa de pericardio posee particularmente un espesor de 0,1 a 4 mm, preferiblemente 0,5 a 2 mm. La capa esponjosa de la proteína extracelular posee preferiblemente un grosor de capa de 1 hasta 10 mm, particularmente 2 hasta 5 mm, preferiblemente 3 hasta 4 mm.

[0021] En una forma de realización adicional el implante según la invención posee un peso por unidad de superficie de 80 hasta 480 g/m², particularmente 160 hasta 330 g/m². El peso por unidad de superficie de la capa de pericardio se

encuentra preferiblemente entre 50 y 180 g/m², particularmente 80 y 110 g/m². La capa esponjosa posee preferiblemente un peso por unidad de superficie de 30 hasta 300 g/m², particularmente 80 hasta 120 g/m². La densidad del implante se encuentra preferiblemente entre 30 y 160 g/dm³, particularmente entre 50 y 110 g/dm³.

5 [0022] En otra forma de realización, el implante presenta bordes sobresalientes. Según la invención la capa de pericardio o la capa de proteína esponjosa puede mostrar en el implante bordes sobresalientes. De esta manera dependiendo del uso del implante se pueden enfatizar en el implante más las características de la capa de pericardio, particularmente su estabilidad mecánica, o las características de la capa de proteína esponjosa, preferiblemente sus características de adherencia de tejido.

10 [0023] El estrato de proteína esponjoso se conforma preferiblemente en toda su superficie sobre la superficie del pericardio.

15 [0024] En una forma de realización posible la capa esponjosa se forma sólo en parte sobre la superficie de la capa de pericardio. Según la invención se puede prever por ejemplo, que la capa de proteína se encuentre solamente en determinados puntos o en el borde exterior sobre la capa de pericardio.

20 [0025] Es además preferible, que la capa esponjosa contenga al menos un ácido orgánico biocompatible hidrosoluble. La acidez en la capa de proteína esponjosa se encuentra preferiblemente entre 1 y 10 % en peso, particularmente entre 2 y 8 % en peso. En el caso del ácido orgánico se trata convenientemente de un ácido no volátil. El ácido orgánico puede ser particularmente un ácido de bajo peso molecular: preferiblemente el ácido es un ácido alifático. Por ejemplo, el ácido puede presentar una cadena de carbono con 1 hasta 6 átomos de carbono, preferiblemente 3 hasta 6 átomos de carbono. El ácido puede ser además un ácido polivalente, particularmente bivalente. Además, en el caso del ácido puede tratarse de un ácido hidroxicarboxílico, particularmente ácido hidroxicarboxílico polivalente. El ácido puede ser por ejemplo un ácido sacárico.

25 [0026] Preferiblemente el ácido orgánico biotocompatible hidrosoluble de la capa de proteína esponjosa es un ácido del grupo que comprende ácido cítrico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido málico, ácido glucónico, ácido múxico, ácido glutárico y ácido adipínico. El ácido cítrico es especialmente preferido.

30 [0027] La acidificación en la capa de proteína esponjosa mejora con ventaja particular su capacidad de absorción de líquidos, particularmente líquidos corporales, preferiblemente sangre. Con ello se puede aumentar en total la capacidad de absorción de líquido del implante. Preferiblemente la capa esponjosa 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 es idóneo de manera particular para la detención de hemorragias (hemostasis).

35 [0028] En otra forma de realización, la capa esponjosa se puede mojar completamente con agua en un período de < 100 segundos, particularmente < 60 segundos, es decir, en su superficie interior y exterior. En relación con la sangre, el implante se puede mojar completamente preferiblemente en un período de < 180 segundos.

40 [0029] La capa esponjosa posee según otra forma de realización un valor de pH < 4 con adición de agua. Preferiblemente la capa de proteína esponjosa posee un valor de pH entre 3,0 y 3,5 en agua.

45 [0030] Según la invención está previsto además, que el implante, particularmente la capa de proteína esponjosa, contenga sustancias activas. Las sustancias activas pueden mostrar particularmente características antimicrobianas. Por ejemplo, las sustancias activas pueden ser antibióticos. Los antibióticos pueden ser gentamicina y/o rifampicina. Además, como sustancias activas pueden considerarse compuestos de metal biocompatibles, particularmente sales metálicas, preferiblemente sales de plata. El implante puede contener por ejemplo acetato de plata. Las sustancias activas pueden ser también metales en estado elemental, que existen preferiblemente en forma de nanopartículas. Así, el implante según la invención puede contener por ejemplo nanopartículas de plata.

50 [0031] Los agentes activos pueden ser además compuestos antiinflamatorios, particularmente alantoína, saponina, riboflavina, flavonoides, tocoferol, beta sitosterol, cineol soledum, dexpantenol y/o bromalaina. Como flavonoides se tienen en consideración preferiblemente nobiletina, rutina y/o hesperidina.

55 [0032] En una forma de realización preferida el implante presenta al menos una capa teñida. Preferiblemente está teñida con por lo menos un colorante la capa esponjosa de la proteína extracelular. 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 de la capa del implante puede ser útil sobre todo para una perceptibilidad mejorada de sus capas, particularmente para una diferenciación facilitada de la capa de proteína esponjosa de la capa de pericardio.

60 [0033] El implante según la invención existe convenientemente en forma esterilizada. Como métodos de esterilización se tienen fundamentalmente en consideración todos los procedimientos especializados, por ejemplo γ -esterilización,

irradiación de electrones, gasificación con óxido de etileno o esterilización con plasma. El implante puede existir además en forma confeccionada.

5 [0034] La presente invención se refiere también a un procedimiento para la fabricación del implante, en el que una capa de pericardio y por lo menos una capa de proteína extracelular son liofilizadas bajo unión entre sí.

[0035] En una forma de realización preferida el procedimiento comprende los siguientes pasos:

10 a) aplicación de una dispersión líquida, comprendiendo una proteína extracelular y por lo menos un agente de dispersión líquido, sobre una capa de pericardio,

b) enfriamiento y solidificación de la dispersión aplicada bajo conformación de al menos una capa fija, comprendiendo la proteína extracelular y el al menos un agente de dispersión,

15 c) eliminación del agente de dispersión por liofilización con unión de las capas entre sí.

[0036] Preferiblemente la capa de pericardio es liofilizada antes de la aplicación de la dispersión. Con ello se puede introducir rugosidad en la capa de pericardio después de su liofilización. A este respecto se hace referencia a la descripción precedente.

20 [0037] La dispersión líquida puede ser puesta a disposición en forma de una solución o suspensión. Como agente de dispersión se usa preferiblemente agua, que eventualmente se puede mezclar con un alcohol, particularmente isopropanol, para aumentar la solubilidad de la proteína extracelular.

25 [0038] Para la aplicación de la dispersión líquida sobre la capa de pericardio, ésta última puede ser transferida a un medio formador, por ejemplo, a una cubeta de liofilización, y se cubre con la dispersión líquida. Alternativamente a ello se puede transferir en primer lugar la dispersión líquida a un medio formador. En este caso la capa de pericardio se pone entonces 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.

30 [0039] Preferiblemente para la fabricación del implante se usa una dispersión líquida con una proporción de proteína extracelular entre 0,1 y 5 % en peso, particularmente 0,2 y 2,5 % en peso, referido al peso total de la dispersión líquida. Si la proteína extracelular es gelatina, se usa preferiblemente una dispersión con una proporción de gelatina entre 0,2 y 0,5 % en peso, referido al peso total de la dispersión. En el caso del 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 entre -10 y -50 °C, particularmente -20 y -40 °C.

40 [0040] En una forma de realización alternativa, una capa de pericardio húmeda o todavía no completamente secada es revestida o cubierta con una capa ya liofilizada de la proteína extracelular y a continuación sometida a una liofilización bajo unión de ambas capas. A este efecto la capa de pericardio se puede humedecer con agua antes del revestimiento o recubrimiento con la proteína extracelular. Con respecto a otras características y detalles se hace referencia a la descripción precedente.

45 [0041] El implante es idóneo generalmente con ventaja particular para el tratamiento, particularmente para el reemplazo y/o cierre de defectos del tejido, preferiblemente defectos de tejido blando. Preferiblemente el implante se usa para el sellado o impermeabilización de fugas de fluido y/o de aire en el cuerpo humano y/o animal.

50 [0042] Preferiblemente el implante se usa para el reemplazo y/o cierre de la duramadre, con lo que el implante preferiblemente está formado como duramadre "onlay". El implante se puede usar especialmente para la impermeabilización de una duramadre herida, sin que a tal objeto se elimine previamente tejido de duramadre del paciente. El implante es idóneo especialmente para la impermeabilización del líquido cefalorraquídeo del cerebro. Estas características impermeables del implante se pueden lograr sobre todo a través de su capa de pericardio, que generalmente representa una barrera absoluta física para líquidos, particularmente líquidos corporales. En contraposición a ello con esponjas puras de proteína convencionales existe el riesgo, de que en caso de sobrepasar su capacidad de absorción máxima para líquidos no se puedan detener otras cantidades de líquidos. Además, el implante puede coserse si se desea o es necesario con la duramadre a través de la capa de pericardio.

60 [0043] Además, el implante según la invención, particularmente a causa de las características de adherencia de tejido de su capa de proteína esponjosa, puede también ser usado como agente hemostático. En esta forma, el implante puede ser usado para el tratamiento hemostático de heridas interiores, particularmente órganos de parénquima, como por ejemplo del hígado, del bazo, del páncreas, de los riñones, de los pulmones, de las cápsulas suprarrenales, pero también para el tratamiento de la tiroides y/o ganglios linfáticos. El implante es además idóneo también para intervenciones torácicas, por ejemplo para el cierre o para la impermeabilización de fugas de aire en el pulmón. 65 Igualmente es posible una aplicación del implante en operaciones gastrointestinales, especialmente para la

impermeabilización de anastomosis intestinal. Otra posibilidad de aplicación del implante consiste en el recubrimiento de erosiones de uretra. En las aplicaciones citadas anteriormente, el implante a causa de la conformación mecánicamente estable particularmente resistente a la rotura de la capa de pericardio puede ser cosida con ventaja particular sobre la herida respectiva. Esto no es posible con un implante que consiste exclusivamente de colágenos.

[0044] La presente invención comprende también la utilización de a) una capa de pericardio liofilizada de origen biológico y b) al menos una capa esponjosa, preferiblemente de proteína extracelular liofilizada para la fabricación de un implante plano. Respecto a otros detalles y características del implante, de la capa de pericardio, de la capa de proteína esponjosa, así como las posibilidades de empleo medicinales del implante se hace referencia a la descripción precedente.

[0045] Otros detalles y características de la invención resultan de la descripción que aparece a continuación de formas de realización preferidas en forma de figuras, ejemplos y reivindicaciones secundarias. En estas formas de realización pueden estar realizadas características individuales de manera individual o en combinación con otras características. Con esto, todas las figuras son incorporadas a través de referencia explícita en el contenido de esta descripción.

[0046] En las figuras se muestra lo siguiente:

Figura 1: vista esquemática desde arriba sobre un implante según la invención con bordes sobresalientes de la capa de pericardio,

Figura 2: vista esquemática desde arriba sobre un implante según la invención con bordes sobresalientes de la capa de proteína esponjosa,

Figura 3: vista esquemática de un implante según la invención.

Descripción de las figuras

[0047]

La figura 1 muestra esquemáticamente la vista desde arriba sobre un implante según la invención con una estructura en doble capa de una capa de pericardio liofilizada 12 y de una capa esponjosa 13 de proteína extracelular liofilizada 13. La capa de pericardio 12 presenta bordes sobresalientes en el implante 10. La capa de pericardio 12 más grande por área confiere características especialmente estables al implante 10. Por ejemplo, los bordes sobresalientes de la capa de pericardio 12 pueden servir para el cosido del implante 10 sobre una herida.

La figura 2 muestra esquemáticamente la vista desde arriba sobre un implante según la invención con una estructura en doble capa de una capa de pericardio liofilizada 22 y de una capa esponjosa 23 de proteína extracelular liofilizada. La capa de proteína esponjosa 23 presenta bordes sobresalientes en el implante 20. Con ello se pueden mejorar particularmente las características de adherencia de tejido del implante 20.

La figura 3 muestra esquemáticamente un implante según la invención 30 con una estructura en doble capa de una capa de pericardio liofilizada 32 y de una capa conformada esponjosamente 33 de proteína extracelular liofilizada.

Ejemplo 1:

Fabricación de implantes según la invención

[0048]

a) se cortó pericardio bovino liofilizado en un tamaño de 10 x 14 cm y se introdujo rugosidad con un cepillo. Luego se pusieron a remojo 6,6 g de colágeno en 132 ml de agua pura (agua milliQ de la compañía Millipor, Alemania). El colágeno puesto a remojo se suspendió durante 20 minutos en una mezcla de disolvente de 231 ml de agua pura y 33 ml de isopropanol. A continuación, se disolvieron 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 sobre cubetas de liofilización con una base de 165 cm². Los trozos de pericardio bovino previamente cortados fueron puestos con el lado rugoso sobre la suspensión. Después la composición se congeló a -40 °C y se liofilizó. Como productos se obtuvieron placas rectangulares de un pericardio bovino recubierto con una esponja de colágeno, en las que la esponja estuvo firmemente mecánicamente aplicada sobre el pericardio bovino y esta unión compositiva se mantuvo 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 agua pura (MilliQ, compañía Millipore, Alemania). Se dejó en remojo el colágeno en total durante 16 horas. Luego el colágeno puesto en remojo fue lavado varias veces con agua pura y suspendido durante 20 minutos en una mezcla de 231 ml de agua pura y 33 ml de isopropanol. Respectivamente 65 g de la suspensión fueron vertidos en una cubeta de liofilización con una base de 165 cm². A continuación, se liofilizó. Las placas de colágeno obtenidas después de la liofilización fueron tomadas de las cubetas y almacenadas en un lugar seco hasta el tratamiento ulterior. Trozos de pericardio bovino reelaborados y desengrasados fueron humedecidos con agua pura y presentados en las cubetas de liofilización previamente descritas. Luego las placas de colágeno fueron dispuestas sobre el pericardio. Las cubetas a continuación fueron congeladas y liofilizadas. Como productos se consiguieron trozos de pericardio bovino rectangulares, cubiertos con una esponja de colágeno, en los cuales la esponja estuvo firmemente aplicada sobre el pericardio bovino. En la inmersión en agua la estructura compositiva del implante se conservó.

[0049] En un ensayo paralelo se produjeron por liofilización esponjas de colágeno puras, es decir sin pericardio.

Ejemplo 2:

Comportamiento frente a sangre heparinizada

[0050] Los implantes fabricados en el ejemplo 1 fueron cortados en pedazos grandes de 3 x 5 cm. En una cubeta de cristalización fueron presentados 150 ml de sangre de cerdo heparinizada fresca. Sobre la superficie sanguínea se dispusieron simultáneamente un implante según la invención, así como una esponja de colágeno pura, donde en el caso del implante según la invención la capa de proteína esponjosa estaba directamente sobre la superficie sanguínea. A continuación, se determinó el tiempo hasta la penetración completa de ambos implantes a comparar. Mientras que la esponja de colágeno pura estaba completamente impregnada con sangre después de 50 segundos, se pudo observar en el caso del implante según la invención, que incluso después de 60 minutos aún no había penetrado sangre en el pericardio bovino. Esta observación apoya el efecto impermeabilizante del componente de pericardio del implante según la invención frente a líquidos corporales, particularmente sangre.

[0051] El implante según la invención fue pesado a continuación. Con ello se pudo constatar, que el implante había recogido 10 veces la cantidad de su propio peso en sangre. Referido sólo a la esponja de colágeno (deduciendo el peso del pericardio) la cantidad recogida de sangre correspondía a 27 veces el propio peso de la esponja de colágeno aplicada sobre el pericardio. Esto ilustra la alta fuerza de 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 sello

[0052] 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 fueron sujetados en un soporte con 25 mm de diámetro de sujeción. Para la determinación de la fuerza de presión del sello se presionó un sello (diámetro 12,5 mm) con una velocidad de 50 mm/min centralmente a través de los pedazos de ensayo sujetos, con lo que se determinó la fuerza a aplicar. Los resultados representados en la tabla 3.1 muestran, que con el producto de Lyoplast[®] y los implantes fabricados según ejemplo 1 esencialmente se tuvieron que aplicar las mismas fuerzas de presión. Esto ilustra que la estabilidad mecánica o resistencia del pericardio se mantiene en el implante según la invención.

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

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

3.2 Resistencia de desgarre del hilo

[0053] 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). Luego se atravesó un hilo Safil[®] (B/Braun, Aesculap, Tuttlingen) de la fuerza USP 2,0 1cm por debajo del borde de corte a

través del implante y se sujetó el implante en la mordaza inferior de una máquina de control de tracción (compañía Zwick Roell, Ulm, Alemania). Luego el hilo se fijó en la sujeción superior, con lo cual la distancia entre las abrazaderas era de 7 cm. La resistencia de desgarre del hilo se determinó con una velocidad de tracción de 300 mm/min. Los resultados reproducidos en la tabla 3.2 muestran que en el producto de Lyoplant® y los implantes fabricados según el ejemplo 1b) se midieron esencialmente las mismas resistencias de desgarre del hilo.

Tabla 3.2: comparación de la resistencia intermedia de desgarre del hilo

	Resistencia de desgarre del hilo	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	26,4 N	13,4
Lyoplant®	27,3 N	12,5

[0054] Al contrario que las esponjas de colágeno autoadhesivas convencionales, el implante según la invención posee la ventaja de que es suturable. Un cosido es sobre una ventaja con defectos mayores de la duramadre, como aparecen por ejemplo con tejido de duramadre tumeroso, ya que en estos casos la duramadre propia del cuerpo no está completamente a disposición como superficie de apoyo para el implante y por ello el implante debe ser fijado con ayuda de material de sutura al hueso del cráneo.

3.3 Mediciones de fuerza de desgarro

[0055] Se recortaron tiras rectangulares con una longitud de 100 mm y una anchura de 25mm de Lyoplant® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). Las tiras fueron sujetadas en las mordazas (distancia 7 mm) de una máquina de control de tracción y estiradas con una velocidad de tracción de 50 mm/min. La fuerza de desgarro fue determinada respectivamente en n = 7 muestras.

Tabla 3.3: Comparación de la fuerza intermedia de desgarro

	Fuerza de desgarro	Desviación típica
Implante según ejemplo 1	211 N	75 N
Lyoplant®	187 N	26 N

[0056] Los resultados representados en la tabla 3.3 muestran que la fuerza de desgarro del implante según la invención es comparable con la fuerza de desgarro de Lyoplant®.

[0057] En total, los ensayos descritos en los ejemplos 3.1 hasta 3.3 muestran que las características condicionadas por el material del implante según la invención en cuanto a su fuerza de presión del sello, resistencia de desgarre del hilo y fuerza de desgarro son comparables con pericardio bovino puro y por lo tanto no están modificadas desventajosamente a través de la estructura en capas del implante según la invención. Estas características hacen especialmente valioso el implante, para ser usado por ejemplo como material de sustitución para la duramadre, particularmente para duramadre "onlay".

3.4 Capacidad de absorción de agua

[0058] Se recortaron tiras rectangulares con una longitud de 100 mm y una anchura de 25mm de Lyoplant® (pericardio bovino liofilizado B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) y de implantes compositivos fabricados según el ejemplo 1). Las tiras fueron introducidas a continuación en una cubeta 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 intermedia de agua

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

5 [0059] Resultó que el implante según la invención es estable en agua. Particularmente no se pudo constatar ningún despegue de las capas la una de la otra. Además, ni el producto de Lyoplant® ni el implante según la invención se hincharon en 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 fueron hechas n = 6 mediciones.

10 Ejemplo 4

Exámenes experimentales en animales

15 [0060] En un ensayo en animales con 6 cerdos (animales 1, 2, 3, 4, 5 y 6) el implante según la invención se examinó en comparación con un pericardio bovino puro (sin esponja de colágeno suplementaria). Después de la narcotización de los animales se hizo una sección de aprox. 6 cm de largo por encima de la oreja y la hemorragia producida debido a ello se detuvo a través de métodos operativos corrientes. A continuación, con una perforadora quirúrgica se hizo una craneotomía con 4 cm de diámetro para preparar libremente la duramadre de los animales. Luego se estableció en la duramadre un defecto con un diámetro de 2,5 cm. A continuación, se cortó el pericardio bovino liofilizado (Lyoplant® B/Braun Aesculap AG, Tuttlingen) con las dimensiones de 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 desde la aplicación del pericardio bovino hasta la comprobación intraoperativa de la estanqueidad LCR (CSF, ceresbrospinal fluid) ascendió a 18 minutos. Paralelamente se cortó un implante producido según el ejemplo 1 con las dimensiones del defecto de los animales 2, 4 y 6 y a continuación se aplicaron sobre los defectos de estos animales. El tiempo medio entre la aplicación del implante hasta la comprobación intraoperativa de la estanqueidad LCR ascendió a 5 minutos, lo que justifica de manera notable la ventaja del ahorro de tiempo para el cirujano.

30 [0061] Después de la aplicación se comprobó la estanqueidad del implante con ayuda de la así llamada maniobra Valsalva, antes de que se cerrara la herida (compárese a tal objeto la tabla 4). La sección de los animales se realizó después de 28 días. Los animales fueron de nuevo narcotizados y la zona herida de la duramadre fue libremente preparada. Los implantes (Lyoplant® así como los implantes según la invención) eran aún visibles en todos los animales. Antes de la toma de muestras histológicas se comprobó de nuevo la estanqueidad del cierre de la duramadre mediante la maniobra Valsalva (tabla 4). Tanto los resultados macroscópicos como también los histológicos mostraban en este caso, que en ninguno de los animales se habían producido adhesiones entre las meninges y el cerebro. Además, la curación de la herida y el crecimiento interno de los implantes en la duramadre ha sido valorado como muy bueno. Las reacciones de infección mínimas aparecidas, se atribuyen a la curación natural de las heridas.

Tabla 4: Presión intracraneal inducida.

Implante	Animal N°	LCR intraoperativo-impermeable hasta	LCR sección-impermeable 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

40 [0062] El ensayo con los animales muestra que la funcionalidad y seguridad de la capa de pericardio es comparable en el implante según la invención con la funcionalidad y seguridad del producto denominado Lyoplant® distribuido por el solicitante. Una ventaja particular frente al producto distribuido comercialmente de Lyoplant® consiste en que el efecto impermeabilizante del implante según la invención se inicia en un tiempo notablemente menor, de lo que resulta un ahorro de tiempo para el cirujano. Por ello es finalmente posible, reducir los costes de intervenciones quirúrgicas,

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

5 [0063] En general, los ensayos descritos en la parte de los ejemplos de la presente solicitud, justifican que el implante según la invención debido a sus características especiales condicionadas por el material, pueda 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 porque por un lado es autoadhesivo, pero por otro lado también es suturable, siempre que esto sea deseado a causa de la particularidad del defecto del tejido a tratar.

10

REIVINDICACIONES

1. Implante plano, particularmente para reemplazar tejidos biológicos, con una estructura en capas constituida por
- 5 a) una capa de pericardio liofilizada de origen biológico y
 b) al menos una capa esponjosa de proteína extracelular liofilizada, **caracterizada por el hecho de que** la proteína extracelular es no reticulada.
2. Implante plano según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es colágeno.
- 10 3. Implante plano según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es gelatina.
4. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la capa de pericardio está ocupada por un lado con la capa esponjosa.
- 15 5. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la superficie de la capa de pericardio girada hacia la capa esponjosa es rugosa.
6. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la capa esponjosa está aplicada por liofilización sobre la capa de pericardio, en forma de base.
- 20 7. Implante según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** la capa de pericardio presenta un espesor entre 0,1 y 4 mm, preferiblemente 0,5 y 2 mm.
8. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la capa esponjosa posee un espesor de capa de 1 hasta 10, particularmente 2 hasta 5, preferiblemente 3 hasta 4 mm.
- 25 9. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la capa de pericardio posee un peso por unidad de superficie de 50 hasta 180 g/m².
- 30 10. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por el hecho de que** la capa esponjosa posee un peso por unidad de superficie de 30 hasta 300 g/m².
11. Implante plano según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** la capa esponjosa presenta una capacidad de absorción de líquido que corresponde a de 20 hasta 60 veces, particularmente de 30 hasta 60 veces su propio peso.
- 35 12. Implante plano según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** la capa esponjosa puede ser completamente mojada con agua en un período de tiempo < 100 s, particularmente < 60 s.
- 40 13. Implante plano según una de las reivindicaciones anteriores como implante para el reemplazo y/o cierre de la duramadre, preferiblemente como duramadre "onlay".
14. Procedimiento para la fabricación de un implante, en el cual una capa de pericardio y al menos una capa de proteína extracelular se liofilizan y se unen entre sí, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es no reticulada.
- 45 15. Uso de a) una capa de pericardio liofilizada de origen biológico y b) al menos una capa esponjosa de proteína extracelular liofilizada para la fabricación de un implante plano, **caracterizado por el hecho de que** la proteína extracelular es no reticulada.

Fig. 1

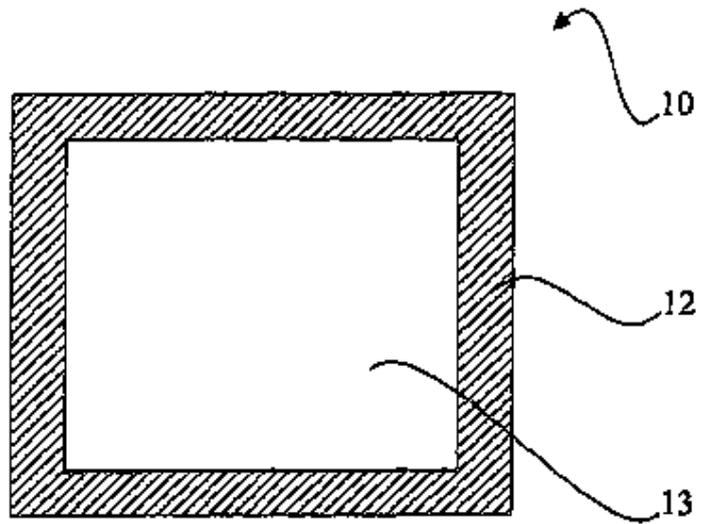


Fig. 2

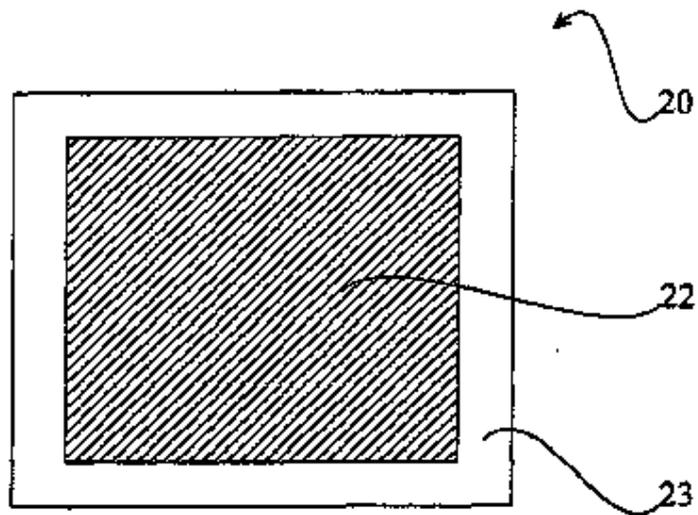


Fig. 3

