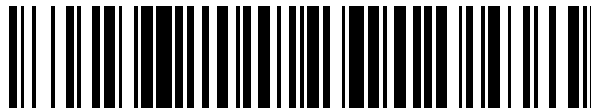


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 451**

51 Int. Cl.:

A61L 27/24 (2006.01)

A61L 26/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2009 E 09003282 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.12.2014 EP 2098255**

54 Título: **Procedimiento para la producción de un material de colágeno**

30 Prioridad:

07.03.2008 DE 102008013091
01.07.2008 DE 202008008627 U

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.01.2015

73 Titular/es:

AAP BIOMATERIALS GMBH (100.0%)
LAGERSTRASSE 11-15
64807 DIEBURG, DE

72 Inventor/es:

HEIMANN, LYDIA;
DINGELDEIN, ELVIRA, DR.;
VOGES, MICHAEL y
SCHUBERT, ELLEN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 526 451 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

Procedimiento para la producción de un material de colágeno

5 DescripciónSector del invento

10 El invento se refiere a un procedimiento para la producción de un material de colágeno, en particular en forma de un cuerpo del tipo de una esponja y/o del tipo de un velo, a un material de colágeno producido según este procedimiento y a la utilización del material de colágeno producido según el procedimiento.

Antecedentes del invento

15 Un colágeno es la proteína de entramado del tejido conjuntivo en forma de fibras. Según sean la estructura, el efecto farmacológico y el tipo de la procedencia, se establece diferencia entre un colágeno de los tipos I, II, III, X etc. Las fibras o respectivamente fibrillas de colágeno se obtienen en lo esencial a partir de tendones de Aquiles desmenuzados o a partir de tejidos subcutáneos de bovinos y equinos. A causa de la persistente problemática de la EEB (acrónimo de "encefalopatía esponjiforme bovina"), hoy en día ya no se utiliza un colágeno de procedencia bovina. Un colágeno se obtiene mediante una hidrólisis moderada. Se trata de una proteína de alto peso molecular y de una sustancia fisiológica.

25 El material en bruto obtenido según unos procedimientos conocidos pasa por diversas etapas de purificación y tratamiento, y finalmente es sometido usualmente a una liofilización, resultando el producto final en forma de unas placas fibrosas muy porosas, que son comercializadas en un tamaño de algunos centímetros cuadrados (p.ej. de 5x5, 5x10, 10x10 cm) con un espesor de aproximadamente 3 a 6 mm, y un peso de 50 a 250 g/m², de manera preferida de 70 a 130 g/m².

30 Usualmente, la esterilización se efectúa mediante un tratamiento con rayos γ . Las esponjas de colágeno usuales en el comercio contienen en la mayoría de los casos todavía un antibiótico para la profilaxis de infecciones, pasando a usarse en particular gentamicina, pero también vancomicina. El contenido de gentamicina es, por ejemplo, de 1,3 mg de la base, lo que corresponde a 2 mg de sulfato por cm². Con el fin de mejorar la estabilidad de las esponjas, que en el estado húmedo se colapsan, se hinchan y se disuelven, se lleva a cabo eventualmente una reticulación cruzada de las fibras mediante un tratamiento químico con p.ej. glutaraldehído o formaldehído.

35 Sin embargo, este tratamiento no es inocuo desde un punto de vista toxicológico. Además, él perjudica al efecto hemostático y disminuye la resorción. La resorción se efectúa por medio de la actividad de unos macrófagos inmigrados y por medio de unas colagenasas. En dependencia del grado de reticulación, en el caso del comportamiento de solubilidad se determinaron diversos períodos de tiempo de semidesintegración. En el ensayo con animales, después de una implantación por vía s.c. (subcutánea) de un colágeno bovino (esponjas) en ratas se observó un período de tiempo de resorción de por encima de 40 días. En la cirugía ósea en el caso de conejos, el período de tiempo de resorción de las esponjas de colágeno fue desde más que 3 hasta 6 semanas (véase la monografía: Kollagen, tierischer Herkunft (Colágeno, de procedencia animal), Bundesanzeiger n° 149, 10 de agosto del 94). Fundamentalmente, sobre la resorción de colágeno se influye por el sitio de la aplicación, por la cantidad y por el tipo del implante de colágeno así como por una reticulación transversal natural ya presente o por una reticulación con un aldehído.

50 Unos esenciales sectores clínicos de uso para unas esponjas de colágeno son, entre otros, la utilización como apósitos para heridas destinados al restañamiento local de la sangre, el revestimiento de defectos de tejidos, el reemplazo de la piel en caso de lesiones, el cubrimiento de la piel en el caso de quemaduras de gran área de superficie, el relleno de defectos óseos p.ej. después de unas cistectomías, también en la zona de la mandíbula.

55 Las propiedades hemostáticas (restañadoras de la sangre) del colágeno (del tipo I) que se ha obtenido a partir de la piel de un animal se explican por el contacto de los trombocitos de la sangre con la estructura de triple hélice del colágeno junto a una simultánea activación de la coagulación de la sangre. Para la agregación de las plaquetas son esenciales la estructura de fibrillas del colágeno natural y su estructura molecular polar. Para unos procedimientos destinados a la producción de tales productos de colágeno indicados especialmente para su uso como agentes hemostáticos, ya se describió como materia prima de partida también un material porcino, a saber la piel de unos cerdos (véanse p.ej. los documentos de patentes de la República Democrática Alemana DD 233 785 A1 o respectivamente DD 292 840 A5).

60 Unos conocidos agentes hemostáticos constituidos a base de un colágeno natural tienen en la mayoría de los casos un valor del pH muy bajo, típicamente un valor del pH situado por debajo de 6. Por este motivo pueden aparecer trastornos de la curación de las heridas.

65

El documento de patente europea EP 428541 B1 muestra, por el contrario, la producción de un implante de colágeno con un valor del pH más alto. Para esto se añade un tampón de un ácido. Para la producción de un implante de colágeno no se utiliza, no obstante, ningún material de partida a base de un colágeno natural sino un atelocolágeno. A diferencia de las sustancias de partida constituidas a base de un colágeno natural, los atelocolágenos son bien solubles y al realizar su elaboración ulterior son insensibles frente a unos valores del pH de más que 6,5. A pesar del alto valor del pH, una solución de atelocolágenos se solidifica de un modo relativamente sencillo. En el caso de la elaboración de un colágeno natural, el ácido estabiliza, por el contrario, a la estructura del colágeno, presuntamente por medio de la desnaturalización de las cadenas proteínicas. En el caso de unos valores del pH más altos, ya no aparece este efecto, de tal manera que la estructura se descompone. En comparación con un colágeno que contiene telopéptidos, es decir unos colágenos en los que los telopéptidos no habían sido eliminados por medios químicos, los atelocolágenos poseen un efecto restañador de la sangre menos bueno. Por lo demás, unos implantes producidos a partir de atelocolágenos son por regla general frágiles y poco resistentes a la flexión en el estado seco. Por el contrario, en el estado húmedo los implantes producidos a partir de atelocolágenos por regla general ya no son estables de forma, y poseen todavía solamente una muy pequeña resistencia a la rotura, de tal manera que un implante de colágeno, una vez que se ha vuelto húmedo, ya no puede ser retirado desde la herida ni ser cambiado de posición.

El documento EP 0 901 795 A2 muestra la producción de un material bioabsorbible que, mediando utilización de un tampón de hidrógenofosfato de sodio, es ajustado a un valor del pH situado entre 4,5 y 6,5. Se utiliza un material de colágeno que se ha obtenido mediante una descomposición enzimática.

A pesar de su frecuente uso en cirugía y ortopedia, y de las diversas modificaciones que se han llevado a cabo en el transcurso de los años en el procedimiento de producción, los productos que se encuentran en el mercado, que pasan a usarse predominantemente para el restañamiento de la sangre después de unas intervenciones quirúrgicas, tienen considerables desventajas, que conciernen tanto a la manipulación como también al comportamiento biológico.

Así, en la práctica se pone de manifiesto que los materiales de colágeno, por ejemplo en forma de esponjas, poseen frecuentemente una resistencia mecánica en húmedo demasiado pequeña, tienen un período de tiempo de resorción demasiado largo, se adhieren a los instrumentos quirúrgicos y a los guantes, y dan lugar a unos fenómenos de incompatibilidad, estando en primer plano en parte una fuerte formación de un seroma y unos trastornos de la curación de las heridas.

La resistencia mecánica en húmedo es por lo tanto importante, puesto que directamente al realizarse la aplicación de los materiales de colágeno, éstos pueden absorber muy rápidamente un líquido tisular y en particular sangre, con ello se colapsan y pierden su estructura esponjosa y su resistencia mecánica. Esto tiene entonces como consecuencia que el material ya no puede ser colocado correctamente sobre las superficies de las heridas y por consiguiente ya no es posible realizar las correcciones de posición que son frecuentemente necesarias, en el sitio de aplicación en la herida.

Además de esto, los materiales de colágeno tienen frecuentemente la propiedad de que se adhieren a los instrumentos quirúrgicos (tijeras, grapas, pinzas, etc.) o respectivamente a los guantes, tan pronto como ellos estén húmedos, lo que dificulta extraordinariamente una correcta colocación en posición exacta en la herida. En particular en el caso de los procedimientos que se practican cada vez más frecuentemente de la cirugía mínimamente invasiva, esta propiedad se manifiesta como extraordinariamente perturbadora y molesta, puesto que en el caso de estas intervenciones solamente se presenta una muy pequeña libertad de movimiento en el espacio.

El largo período de tiempo de resorción, de aproximadamente 20-40 días, constituye una gran desventaja. Conforme a las estipulaciones, la finalidad de uso preferida, a saber el restañamiento de la sangre, se consigue en efecto después de un intervalo de tiempo de desde unos pocos minutos hasta unas pocas horas, y por consiguiente se cumple la finalidad propiamente dicha de la aplicación. También el antibiótico, que se ha añadido para la profilaxis contra infecciones, es eluido por regla general muy rápidamente a partir del material de colágeno, de tal manera que se garantiza una protección por los antibióticos solamente durante unos pocos días. Después de esto, en el caso de una infestación bacteriana retardada, el material de colágeno constituye más bien un peligro, puesto que entonces el colágeno exento de antibióticos puede actuar en la herida como un medio de cultivo para agentes patógenos de infecciones, en particular cuando la herida tenga que ser drenada debido a una fuerte secreción. Por estos motivos, sería extraordinariamente deseable por lo tanto un período de tiempo de permanencia (período de tiempo de resorción) muchísimo más corto del material de colágeno.

La decisiva desventaja médica de los materiales de colágeno usuales en el comercio se debe, no obstante, a los fenómenos de incompatibilidades, parcialmente muy pronunciados, que se pueden observar frecuentemente. Éstos conducen, muy pronto después de la aplicación, a unos procesos inflamatorios con necrosis celulares y a una fuerte secreción de las heridas (formación de un seroma), que perturba sensiblemente al proceso natural de curación y lo retarda grandemente. Con frecuencia, de esta manera se impide un cierre regular de las heridas. Estos fenómenos conducen cada vez más frecuentemente a que los cirujanos y los ortopedas prescindan del uso, en sí deseado e indicado, de unos materiales de colágeno, puesto que los efectos secundarios que se han descrito no pueden ser

aceptados desde un punto de vista médico, y tampoco se le puede exigir al paciente una evolución perturbada y retardada de la curación de las heridas.

Misión del invento

5 El invento se basa en la misión de indicar un procedimiento especialmente rentable para la producción de un material de colágeno, en particular en forma de un cuerpo del tipo de una esponja y/o del tipo de un velo, que sea más sencillo y seguro en su uso y su manipulación, en el que el período de tiempo de resorción sea manifiestamente más breve, y que, a ser posible, sea esencialmente mejor en su compatibilidad que los productos que están disponibles hoy en día. Esto quiere decir que el material de colágeno, que se haya de desarrollar de nuevas debería mostrar un buen efecto hemostático, una mejorada resistencia mecánica en húmedo, debería ser mejor manipulable y aplicable, no debería adherirse a los instrumentos y artículos similares, debería tener un período de tiempo de resorción más corto y debería poseer una compatibilidad esencialmente mejorada, para que él pueda encontrar utilización en la medicina humana y/o veterinaria, y en particular para el cubrimiento de las heridas o como un implante.

En particular, es una misión del invento poner a disposición un material de colágeno, que tanto en el estado húmedo como también en el estado seco sea estable en su forma y resistente a la flexión, y que tenga en todo caso un valor del pH débilmente ácido.

Resumen del invento

El problema planteado por la misión del invento se resuelve ya mediante un procedimiento para la producción de un material de colágeno así como mediante una estructura laminar que contiene colágeno, de acuerdo con una de las reivindicaciones independientes.

Unas formas de realización y unos perfeccionamientos preferidas/os del invento se pueden deducir de las respectivas reivindicaciones subordinadas.

30 De acuerdo con el invento, está previsto, por una parte, un procedimiento para la producción de un material de colágeno, en particular de un implante para el cubrimiento de las heridas.

Para este fin, se produce una suspensión, que comprende un colágeno que contiene telopéptidos. Por lo tanto, no se utiliza ningún atelocolágeno tratado químicamente, en el que las cadenas de telopéptidos hayan sido eliminadas en su mayor parte y que se disuelve relativamente bien en agua.

Más bien, para la producción se utiliza de manera preferida un colágeno natural, a partir del cual, de manera preferida mediando adición de un ácido, se produce una suspensión que contiene colágeno. Por consiguiente, el colágeno no se disuelve, sino que permanece conservado en forma de partículas en la suspensión.

40 A la suspensión se le añade un tampón de fosfato, con lo cual la suspensión puede ser ajustada ya a un valor del pH aproximadamente neutro.

Los autores del invento han encontrado que la utilización de un tampón de fosfato conduce a una solidificación del material de colágeno. Presuntamente, esta solidificación se produce mediante una reticulación de las fibrillas de colágeno, por ejemplo, debido a unas fuerzas de Van der Waals. Para esto, se deja que la suspensión repose hasta que la reticulación o respectivamente la solidificación haya progresado suficientemente.

Seguidamente, se puede producir una estructura laminar mediante una desecación de la resultante mezcla que contiene colágeno. Por el concepto de "desecación" se entiende cualquier proceso, en el que se elimina el agua, y el colágeno, así como otros materiales sólidos, quedan atrás en forma de una estructura laminar.

De manera preferida, la desecación se efectúa en el marco de un proceso de liofilización, en el que por ejemplo la mezcla que contiene colágeno es congelada bruscamente en unas cubetas planas y seguidamente secada en vacío.

En el caso de una forma preferida de realización del invento, la suspensión se produce mediando adición de ácido fosfórico. De este modo se aumenta la proporción de fosfato de la mezcla resultante después de la adición del tampón de fosfato, con lo que se aumenta la resistencia mecánica de la estructura laminar resultante.

60 La adición del ácido en general parece que conduce por lo menos al hinchamiento de los colágenos, con lo cual se forman por lo menos parcialmente unas fibrillas de colágeno, las cuales se pueden reticular unas con otras después de la adición del tampón de fosfato.

En el caso de una forma preferida de realización del invento, por medio del tampón de fosfato la suspensión se ajusta a un valor del pH situado entre 5,5 y 8,5, de manera preferida entre 5,8 y 7,8, y de manera especialmente preferida entre 6,0 y 7,0.

5 Se ha puesto de manifiesto que, en el caso de unos valores del pH situados por debajo de 6,0, la curación de las heridas se empeora apreciablemente. Unos valores del pH situados por encima de 7,0 pueden conducir, por el contrario, a ciertas modificaciones, en particular por los antibióticos añadidos. En particular, las gentamicinas añadidas pueden formar toxinas.

10 Como un tampón de fosfato se utiliza de manera preferida un hidrógenofosfato de sodio, en particular un hidrógenofosfato de di- o trisodio. Los iones de sodio, al contrario que los iones de otros fosfatos, no conducen a ninguna interacción indeseada con el tejido.

15 En el caso de una forma preferida de realización del invento, se produce una suspensión con un contenido de colágeno de 0,3 a 7, de manera preferida de 0,5 a 3, de manera especialmente preferida de 0,6 a 1,5 % en peso. Antes de la desecación, en el caso de una forma preferida de realización del invento, el contenido de materiales sólidos de la mezcla resultante está situado entre 0,2 y 10 % en peso, de manera preferida entre 0,3 y 8 % en peso y de manera especialmente preferida entre 0,5 y 2,5 % en peso. El contenido de materiales sólidos es la proporción de los materiales sólidos que han quedado después de una desecación de la mezcla.

20 En particular a través del contenido de colágeno de la suspensión, de la proporción del colágeno y del contenido de materiales sólidos, se pueden ajustar el peso por unidad de superficie y la porosidad del material resultante.

25 Con el invento se puede poner a disposición una estructura laminar, que tiene una porción de fosfato, en particular de hidrógenofosfato de disodio, de 80 a 500, de manera preferida de 100 a 400, y de manera especialmente preferida de 220 a 370 mg/g. Las porciones de fosfato que están en el intervalo mencionado son especialmente compatibles con los tejidos.

30 En el caso de un perfeccionamiento del invento, la suspensión es desnaturalizada por medios mecánicos, en particular en un molino de coloides. Una tal desnaturalización mecánica, en la que solamente se añade un ácido, conduce a que las propiedades del colágeno natural permanezcan ampliamente conservadas, con lo cual se mejoran en particular las propiedades restañadoras de la sangre en comparación con unos conocidos implantes constituidos a base de atelocolágenos.

35 Con el invento se pueden producir unas estructuras laminares relativamente gruesas, con un espesor situado entre 1 y 10 mm, de manera preferida entre 2 y 7 mm, y que tienen un peso por unidad de superficie bastante pequeño, situado de manera preferida entre 20 y 200 y de manera especialmente preferida entre 50 y 150 g/m².

De esta manera se puede poner a disposición una estructura laminar, que puede absorber por lo menos el triple, de manera preferida por lo menos el quintuple, y de manera especialmente preferida el octuple de su propio peso, de un líquido, especialmente de agua.

40 Como material de partida para la producción del material de colágeno se utilizan de manera preferida las pieles de cerdos. En comparación con unos tejidos bovinos o equinos, los colágenos porcinos poseen una mejor compatibilidad, en particular cuando ellos no han sido modificados fuertemente por medios químicos.

45 En el caso de un perfeccionamiento del invento, al material de colágeno se le añade un antibiótico. En particular, en la suspensión se introduce con agitación un antibiótico tal como gentamicina, en particular sulfato de gentamicina y/o fosfato de gentamicina.

50 El sulfato de gentamicina es un antibiótico clásico con una compatibilidad bastante buena. En comparación con el sulfato de gentamicina, la adición del fosfato de gentamicina tiene sin embargo la ventaja de que se aumenta la concentración de fosfato, con lo cual se mejora, a su vez, la resistencia mecánica del material laminar que se ha producido. Así, en el caso de la utilización de fosfato de gentamicina se puede reducir también la proporción del tampón de fosfato.

55 Con el invento se puede poner a disposición una estructura laminar porosa, resistente a la flexión, que es estable en el estado húmedo y también en el estado seco, que tiene un valor del pH de más que 5,8, de manera preferida de más que 6,5 y de manera especialmente preferida de más que 7,2. El valor del pH de la estructura laminar en el sentido del invento se determina mediante impregnación de la estructura laminar con agua desionizada y subsiguiente medición del valor del pH.

60 Mediante el recurso de que la estructura laminar comprende unos colágenos, que comprenden, por lo menos parcialmente, unos telopéptidos, se asegura además un restañamiento especialmente bueno de la sangre.

De manera preferida, la proporción de un colágeno que contiene telopéptidos, es de más que 40 %, de manera preferida de más que 60 % y de manera especialmente preferida de más que 80 %.

65

De manera preferida, para la producción de la estructura laminar que contiene colágeno, se utilizan solamente unos colágenos naturales. El contenido de colágeno de la estructura laminar está situado entre 10 y 80, de manera preferida entre 20 y 60 % en peso.

5 La estructura laminar tiene una resistencia a la rotura en húmedo de más que 0,05, de manera preferida de más que 0,07 y de manera especialmente preferida de más que 0,1 N/mm². Así, el implante conforme al invento se puede desprender y desplazar también después de su colocación sobre una herida.

10 Referido a una tira de 1 cm de anchura de la estructura laminar, la resistencia a la rotura en húmedo es de más que 0,5, de manera preferida de más que 1,0 y de manera especialmente preferida de más que 1,5 N/cm.

Descripción de unos ejemplos preferidos de realización

15 Una estructura laminar que contiene colágeno, se puede producir por ejemplo de la siguiente manera:

Partiendo de un material de partida porcino, una piel de cerdo se purifica en condiciones básicas y por oxidación, y a continuación se ajusta a carácter ácido con un ácido fosfórico diluido, después de lo cual la piel se enjuaga, se desmenuza y después de una congelación intermedia a -28 ± 10 °C, se mezcla con agua, de tal manera que resulta una suspensión homogénea con un contenido de colágeno de aproximadamente 1 %, la suspensión se mezcla agitando eventualmente con por lo menos un antibiótico, y toda la mezcla se ajusta entonces mediante la adición de un tampón de fosfato a un valor del pH desde neutro hasta ligeramente básico, de manera preferida de 6,5 a 8,5 y de manera especialmente preferida de 7,2 a 7,8, el contenido de materiales sólidos se ajusta a 0,5 hasta 2,5 %, y la mezcla se liofiliza (se seca por congelación) después de una fibrilación establecida o exitosa de la suspensión.

25 Así, como material de partida para la obtención de colágeno conforme al invento se utiliza piel de cerdos, de tal manera que, por un lado, pueda ser excluida con seguridad la problemática de la EEB, que se presenta en el caso de unas materias primas bovinas. Por otro lado, se sabe que las propiedades biológicas de los tejidos de los cerdos, en particular de la piel de los cerdos, son más próximas a las de los órganos humanos, en particular a la piel, que las de los tejidos bovinos o equinos.

30 En el caso del procedimiento, en lo que respecta a la estabilidad del material de colágeno que se debe de producir, presenta una importancia especial el hecho de que la elaboración por oxidación de la piel de cerdo no se efectúe en un medio ácido, sino en un medio de carácter desde neutro hasta básico. Un tratamiento por oxidación, en particular con peróxido de hidrógeno, después del tratamiento en condiciones ácidas, repercute en efecto de un modo negativo sobre la fibrilación que es necesaria para la estabilización del material de colágeno en el intervalo fisiológico de valores del pH de 7,2 a 7,8, y se lleva a cabo por lo tanto antes del tratamiento en condiciones ácidas.

35 Se encontró además que el tratamiento en condiciones ácidas con ácido fosfórico presenta una importancia decisiva para la estabilidad, pero en particular para la adhesión del colágeno a los instrumentos y artículos similares. Así, sorprendentemente, la ausencia de adhesión a los instrumentos conforme al invento se puede conseguir en particular mediante el recurso de que el tratamiento con ácido clorhídrico, que usualmente se lleva a cabo en el proceso de producción, es reemplazado por el uso de ácido fosfórico.

45 Además, es importante que la piel sea mezclada con agua tan sólo después de la congelación intermedia, con el fin de ajustar un contenido de colágeno de aproximadamente 0,5 hasta 3,5 %. Por medio de un exceso de agua al realizar la congelación intermedia se daña, en efecto, a la estructura del colágeno, de tal manera que en el intervalo fisiológico de valores del pH al final de la producción del material de colágeno no se alcanza la estabilidad deseada. Por lo tanto, la congelación intermedia se lleva a cabo en un medio de carácter ácido, de manera preferida a un valor del pH de $3,0 \pm 0,5$.

50 Para el mejoramiento de la resistencia mecánica en húmedo y de la elasticidad del material de colágeno, se manifiesta como positivo el más alto valor del pH de 5,5 a 8,5, de manera preferida de 6,0 a 8,0 y de manera especialmente preferida de 6,3 a 7,7, mediante el tamponamiento con un fosfato después de la adición, o de manera especialmente preferida con la adición del antibiótico, puesto que de esta manera se podía alcanzar una mejor fibrilación.

60 Mediante la mezcladura con agitación de la suspensión con el antibiótico en forma de una solución tamponada con un fosfato, de manera preferida con un valor del pH de 6,5 a 7,8, se puede prescindir de un refuerzo adicional de la reticulación, por ejemplo mediante un tratamiento mecánico, en particular un tratamiento de vibración, con un subsiguiente reposo durante varias horas.

Ventajosamente, la suspensión con el antibiótico se emplea como una solución de fosfato, es decir que como ión de signo contrario del antibiótico se emplea un fosfato. De esta manera, en la suspensión ya no están presentes aniones perturbadores de ningún tipo, con lo cual no es necesario un refuerzo adicional de la reticulación, por ejemplo, mediante un tratamiento mecánico, en particular un tratamiento de vibración, con un subsiguiente reposo durante varias horas.

5 De manera preferida, la piel de cerdos que se utiliza procede exclusivamente de unos animales de matadero jóvenes, con una edad de 6 a 9 meses. Ésta constituye, en efecto, un material de partida más homogéneo y por consiguiente biológicamente más valioso que lo que se da el caso en los casos de animales bovinos o equinos, que se conducen al matadero tan sólo a una edad más alta.

10 En el caso de la elaboración de la piel de cerdos se ha puesto de manifiesto, sorprendentemente, que para conseguir unas propiedades esenciales del producto final, y ciertamente, entre otras, la elasticidad, la resistencia mecánica y la resorción, el contenido de grasa del material de partida tiene una influencia esencial. Por lo tanto, se utiliza de manera preferida un tejido subcutáneo con un contenido de grasa de la piel secada de no más que 2 %, de manera especialmente preferida de 0,1 % a 2 %, de manera más preferida de 0,5 % a 1,6 %.

15 Además de ello, se manifestó como ventajoso, en lugar de la usual esterilización del producto final por medio de rayos γ , el recurso de llevar a cabo un gaseo con óxido de etileno, con lo que se puede aumentar manifiestamente el grado de reticulación normal de las fibrillas de colágeno.

Para una reticulación y una estabilización especialmente buenas del material de colágeno, se lleva a cabo de manera preferida una esterilización con plasma junto con un gaseo con peróxido de hidrógeno.

20 En una forma de realización ventajosa del procedimiento conforme al invento, delante de la purificación en condiciones básicas u oxidantes de la piel de cerdo se anteponen unas etapas de tratamiento salino, con cloruro sódico e hidrógenocarbonato de sodio, con el fin de alcanzar un hinchamiento especialmente moderado de la piel. Un descohesionamiento neumático del colágeno, que se lleva a cabo en el estado de la técnica, por ejemplo, de acuerdo con el documento DD 233 785 A1, no se lleva a cabo en el presente caso por motivos de un tratamiento especialmente moderado.

30 A pesar de la mejorada resistencia mecánica en húmedo, los materiales de colágeno producidos conforme al invento mostraron, en un ensayo con animales, después de una implantación por debajo de la piel de la espalda de ratas, en comparación con dos productos usuales en el comercio, además de esto, de manera sorprendente, un período de tiempo de resorción esencialmente más corto.

Sorprendentemente, las mencionadas modificaciones en el procedimiento de producción del material de colágeno conducen también a un efecto hemostático comparativamente mejorado.

35 En el caso de las modificaciones realizadas conforme al invento para el proceso de producción y de la comprobación sistemática de diversas producciones experimentales que resulta a partir de ello, en un ensayo con animales se llegó a un resultado totalmente imprevisible. Se puso de manifiesto, en efecto, que el valor del pH de la suspensión de colágeno presenta una importancia decisiva para la compatibilidad biológica del material de colágeno. Así, unos materiales de colágeno con un valor del pH de 7 a 8 eran manifiestamente mejor compatibles que unos productos en venta, usuales en el comercio, ensayados paralelamente, que tenían unos valores del pH situados entre 4 y 5.

45 En el caso de los otros trabajos de desarrollo realizados en esta dirección, se puso de manifiesto que unos materiales de colágeno con unos valores del pH comprendidos entre 6,5 y 8,5, de manera preferida entre 7,2 y 7,8, mejoraban la compatibilidad de tal manera que en la zona de las heridas no tenía lugar ninguna secreción aumentada (formación de un seroma), que las heridas de la piel se curaban p.p., que tenía lugar una oclusión rápida de la herida, y que al realizar la evaluación histológica de las muestras de tejidos, que habían sido tomadas en el sitio de la implantación, se podían encontrar unas condiciones fisiológicas y que correspondían a la evolución de la curación ajustada a la especie.

50 Seguidamente se indican unos ejemplos acerca de la producción de los materiales de colágeno de acuerdo con el procedimiento conforme al invento, que entonces se habían utilizado como base para unos ensayos comparativos con unos productos usuales en el comercio.

Ejemplo 1:

55 Unas pieles hendidas de cerdos se someten a un tratamiento salino con cloruro sódico e hidrógenocarbonato de sodio, y se purifican mediante un tratamiento en condiciones básicas durante 24 horas con una lejía de sosa al 2 % y mediante un tratamiento por oxidación durante 30 minutos con una solución de peróxido de hidrógeno al 20 %. En este caso tiene lugar de manera preferida cada vez un enjuague con agua entre las etapas individuales de tratamiento.

60 A continuación, los trozos de piel se ajustan con un ácido fosfórico 0,2 M a un valor del pH de 2,5 a 3,5, se enjuagan y se desmenuzan (se pican). La papilla de colágeno obtenida se muele después de una congelación intermedia a -28 ± 10 °C y se mezcla con agua, de tal manera que resulta una suspensión homogénea con un contenido de colágeno de aproximadamente 1 %.

Primeramente, en el transcurso de 10 minutos se añade dosificadamente una solución de sulfato de gentamicina, que ha sido ajustada a un pH de 6,5 a 7,8 con un tampón de fosfato, en particular con una mezcla de una solución de los hidrógenofosfatos de di- y trisodio.

5 A continuación, toda la suspensión de colágeno homogeneizado y de sulfato de gentamicina se ajusta con el tampón de fosfato a un valor del pH desde neutro hasta ligeramente básico (a un pH de 6,5 a 8,5), y se ajusta con agua destilada a un contenido de materiales sólidos de 0,5 % a 2,5 %.

10 Después de esto, la suspensión se continúa agitando lentamente a como máximo 25 °C hasta que comience la fibrilación.

Después de esto, la suspensión se envasa en unos recipientes conformadores y se liofiliza (se seca por congelación).

15 **Ejemplo 2:**

Unas pieles hendidas de cerdos se someten a un tratamiento salino con cloruro sódico e hidrógenocarbonato de sodio, y se purifican mediante un tratamiento en condiciones básicas durante 24 horas con una lejía de sosa al 2 %, y mediante un tratamiento por oxidación durante 30 minutos con una solución de peróxido de hidrógeno al 20 %. En este caso, tiene lugar de manera preferida cada vez un enjuague con agua entre las etapas individuales de tratamiento.

20 A continuación, los trozos de piel se ajustan con un ácido fosfórico 0,2 M a un valor del pH de 2,5 a 3,5, se enjuagan y se desmenuzan (se pican). La papilla de colágeno obtenida se muele después de una congelación intermedia a -28 ± 10 °C y se mezcla con agua, de tal manera que resulta una suspensión homogénea con un contenido de colágeno de aproximadamente 1 %.

25 Primeramente, en el transcurso de 10 minutos se añade dosificadamente una solución de carácter ácido (a un pH de desde 4,5 hasta 5,5) de sulfato de gentamicina.

30 A continuación, toda la suspensión de colágeno homogeneizado y de sulfato de gentamicina se ajusta con un tampón de fosfato, en particular con una mezcla de una solución de los hidrógenofosfatos de di- y trisodio, a un valor del pH desde neutro hasta ligeramente básico (a un pH de 6,5 a 8,5).

35 Después de esto, la suspensión se ajusta con agua destilada a un contenido de materiales sólidos, referido al colágeno, de 0,5 % hasta 2,5 % (usualmente de 1 %).

40 A continuación, la suspensión se continúa agitando lentamente a como máximo 25 °C hasta que comience la fibrilación.

Después de esto, la suspensión se envasa en unos recipientes conformadores.

45 Para el reforzamiento de la reticulación, la papilla se introduce vibrando con un dispositivo adecuado en unas cubetas de liofilización, y para la compleción de la fibrilación se deja reposar por lo menos durante 20 horas a aproximadamente 10 °C.

Después de una fibrilación exitosa, la suspensión se liofiliza (se seca por congelación).

50 **Ejemplo 3:**

Unas pieles hendidas de cerdos se someten a un tratamiento salino con cloruro sódico e hidrógenocarbonato de sodio, y se purifican mediante un tratamiento en condiciones básicas durante 24 horas con una lejía de sosa al 2 % y mediante un tratamiento por oxidación durante 30 minutos con una solución de peróxido de hidrógeno al 20 %. En este caso, tiene lugar de manera preferida cada vez un enjuague con agua entre las etapas individuales de tratamiento.

55 A continuación, los trozos de piel se ajustan con un ácido fosfórico 0,2 M a un valor del pH de 2,5 a 3,5, se enjuagan y se desmenuzan (se pican). La papilla de colágeno obtenida se muele después de una congelación intermedia a -28 ± 10 °C y se mezcla con agua, de tal manera que resulta una suspensión homogénea con un contenido de colágeno de aproximadamente 1 %.

60 Una solución acuosa al 2 % de sulfato de gentamicina se conduce a través de una columna con una resina intercambiadora de aniones cargada con un fosfato hasta que en el material eluido ya no se pueda detectar nada de sulfato. La solución de fosfato de gentamicina, que se ha obtenido de esta manera, se ajusta después de esto con un tampón de fosfato, en particular con una mezcla de una solución de los hidrógenofosfatos de di- y trisodio, a un

valor del pH de 6,5 a 7,8 y a continuación se añade dosificadamente en el transcurso de 20 a 30 minutos a la suspensión de colágeno.

5 Después de esto, toda la suspensión de colágeno homogeneizado y de sulfato de gentamicina se ajusta con el tampón de fosfato a un valor del pH desde neutro hasta ligeramente básico (a un pH se desde 6,5 hasta 8,5).

A continuación, la suspensión se ajusta con agua destilada a un contenido de materiales sólidos, referido al colágeno, de 0,5 % a 2,5 % (usualmente de 1 %).

10 Después de esto, la suspensión se continúa agitando lentamente a como máximo 25 °C hasta que comience la fibrilación y se envasa en unos recipientes conformadores

Puesto que en la suspensión ya no están presentes unos perturbadores iones de sulfato, ya no es necesario realizar un refuerzo de la reticulación tal como se ha descrito en el Ejemplo 2.

15 Después de una fibrilación exitosa, la suspensión se liofiliza (se seca por congelación).

20 Para la evaluación de las propiedades y de los efectos, un material de colágeno producido conforme al invento se comparó con dos productos obtenibles en el comercio de diferentes fabricantes, en unos ensayos con animales realizados en ratas, a saber

1. un material de colágeno producido conforme al invento, en particular según el Ejemplo 2, en particular un velo de colágeno:
un colágeno de cerdos,
25 un valor del pH de 7,6,
un contenido de gentamicina de 1,3 mg de la base por cm²

2. Producto comercial A:
un colágeno de caballos,
30 un valor del pH de 4 a 5,
un contenido de gentamicina de 1,3 mg de la base por cm²

3. Producto comercial B:
un colágeno de caballos,
35 valor del pH de 4 a 5,
un contenido de gentamicina de 1,3 mg de la base por cm²

40 En el caso de cada vez cinco ratas por cada período de tiempo de ensayo (5, 15, 35 días), por cada animal se implantaron dos muestras de un material de colágeno que tenían un tamaño de en cada caso 1 cm², a la derecha y a la izquierda, paravertebralmente por debajo de la piel de la espalda. La evolución de la curación se comprobó diariamente mediante una adspección. Después de haber transcurrido los períodos de tiempo de ensayo, los animales se sacrificaron, desde el sitio de implantación se extrajo el correspondiente lugar inclusive la piel, la capa subcutánea, el material de colágeno y eventualmente la musculatura cutánea, y éste se investigó histológicamente (con un microscopio óptico).

45 Manipulación

El material de colágeno producido conforme al invento correspondía a las características preestablecidas de manipulación por los cirujanos, es decir que no se observó ninguna adhesión a instrumentos, guantes, etc., junto con una fuerte adhesión a la superficie de la herida y una aplicación segura así como sencilla junto con una buena resistencia mecánica en húmedo. En los casos de los productos comparativos A y B, se observaron las conocidas desventajas de manipulación (una adhesión a los instrumentos y a los guantes, una resistencia mecánica en húmedo manifiestamente más pequeña).

Restañamiento de la sangre

55 El muy buen restañamiento de la sangre que se observó en el material de colágeno producido conforme al invento se debe de atribuir a la fuerte fibrilación durante la producción. En comparación con un producto comercial autorizado especialmente para el restañamiento de la sangre, se redujo el período de tiempo de coagulación a una tercera parte hasta una quinta parte.

60 Histología

El material de colágeno producido conforme al invento muestra, en comparación con los productos comerciales A y B, una compatibilidad manifiestamente mejorada. Las células ya después de 5 días habían inmigrado hasta llegar al centro de los implantes, mientras que en el caso de los productos comparativos, los implantes habían sido colonizados a lo sumo marginalmente.

65

No se observaron ni detritos celulares ni células necróticas (como en los casos de A y B) en el implante propiamente dicho.

5 Después de 15 días, el material de colágeno producido conforme al invento había sido parcialmente resorbido en el tejido conjuntivo circundante. Los productos A y B eran todavía reconocibles macroscópicamente y no habían sido resorbidos en un grado digno de mención.

10 Después de 35 días, en el caso del implante producido conforme al invento eran reconocibles histológicamente solamente unos restos marginales. En el caso de los implantes A y B, los materiales de colágeno se habían conservado todavía en su mayor parte.

Evolución de la curación

15 También en la evolución de la curación postoperatoria inmediata (compatibilidad) se observaron unas diferencias manifiestas. Así, en el caso de los productos A y B se llegó a unos hinchamientos, que no se eran observados en el caso del material de colágeno producido conforme al invento. Por lo demás, en el caso de este material de colágeno, después de 5 días, las heridas se habían sanado establemente p.p., mientras que en el caso de los productos A y B, los bordes de las heridas solamente se habían pegado y se ensancharon al ejercer una ligera presión. Dentro de éstos se encontraban también los implantes intactos, mientras que, al contrario de esto, en el caso del material de
20 colágeno producido conforme al invento, los implantes ya no eran reconocibles macroscópicamente.

Los resultados de los ensayos que se han descrito muestran inequívocamente que por medio del contenido de antibióticos no se influye o se influye solamente de una manera irrelevante tanto sobre el período de tiempo de resorción como también en particular sobre la compatibilidad histológica de los diferentes implantes de materiales de
25 colágeno, sino que posiblemente el tipo del colágeno pero, en particular, la esencial diferencia en el valor del pH, tiene una importancia decisiva para la compatibilidad manifiestamente mejor, para el buen efecto hemostático y para el período de tiempo de resorción grandemente acertado del material de colágeno que se ha producido conforme al invento.

30 El fomento de la curación de las heridas mediante el material de colágeno fisiológico producido conforme al invento, que se había observado en el ensayo con animales, se basa en una estimulación de la actividad celular, en particular de la actividad de los fibroblastos.

35 En el caso de unos primeros usos clínicos, el material de colágeno producido conforme al invento mostró, en comparación con unos conocidos productos comerciales, como era de esperar, una evolución de la curación muchísimo mejor y más rápida, sin trastornos para la curación de las heridas o sin formación de un seroma.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la producción de un material de colágeno, en particular de un implante para el cubrimiento de heridas, que comprende las etapas de:
- 5 - producir una suspensión, que comprende un colágeno que contiene telopéptidos, utilizándose un colágeno natural para la producción de la suspensión,
- añadir un tampón de fosfato,
- dejar reposar a la suspensión hasta que haya tenido lugar una solidificación,
10 - producir una estructura laminar mediante una desecación de la resultante mezcla que contiene colágeno.
2. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con la reivindicación precedente, caracterizado por que la suspensión es elaborada mediante la adición de un ácido para formar un material de partida que contiene colágeno.
- 15 3. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con la reivindicación precedente, caracterizado por que se utiliza ácido fosfórico.
4. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que como material de colágeno se utilizan unas pieles de mamíferos, en particular de cerdos.
- 20 5. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la mezcla que contiene colágeno, en particular la suspensión, es ajustada mediante la adición de un tampón de fosfato a un valor del pH comprendido entre 5,5 y 8,5, de manera preferida entre 5,8 y 7,8, de manera especialmente preferida entre 6,0 y 7,0.
- 25 6. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la suspensión se produce con un contenido de colágeno de 0,3 a 7, de manera preferida de 0,5 a 3, y de manera especialmente preferida de 0,6 a 1,5 % en peso.
- 30 7. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la mezcla, antes de la desecación, es ajustada a un contenido de materiales sólidos de 0,2 a 10 %, de manera preferida de 0,3 a 8 %, y de manera especialmente preferida de 0,5 a 2,5 %.
- 35 8. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que se produce una estructura laminar con una proporción de fosfato, en particular del hidrógenofosfato de disodio, de 80 a 500, de manera preferida de 100 a 400, de manera especialmente preferida de 220 a 370 m/g.
- 40 9. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la suspensión es desnaturalizada mecánicamente, en particular con un molino de coloides.
- 45 10. Procedimiento para la producción de un material de colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que se añade un antibiótico.
11. Estructura laminar que contiene colágeno, en particular producida con un procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, que comprende un colágeno natural que contiene telopéptidos, siendo el valor del pH de la estructura laminar de más que 5,8, de manera preferida de más que 6,5 y de manera especialmente preferida de más que 7,2, y teniendo la estructura laminar una porción de fosfato situada entre 80 y 500 mg/g.
- 50 12. Estructura laminar que contiene colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la estructura laminar es estable en húmedo y es resistente a la flexión en seco.
- 55 13. Estructura laminar que contiene colágeno de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la proporción del colágeno que contiene telopéptidos, referida al colágeno total, es de más que 40 %, de manera preferida de más que 60 % y de manera especialmente preferida de más que 80 %.