

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 404**

51 Int. Cl.:

A61F 13/02 (2006.01)

A61L 15/22 (2006.01)

A61L 15/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.09.2009 PCT/US2009/055578**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.03.2010 WO10027954**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2009 E 09812101 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2016 EP 2323601**

54 Título: **Implante envolvente reenrollable y método para preparar una membrana enrollada helicoidalmente**

30 Prioridad:

03.09.2008 US 203484

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

31.05.2017

73 Titular/es:

**COLLAGEN MATRIX, INC. (100.0%)
15 Thornton Road
Oakland, NJ 07436, US**

72 Inventor/es:

**LI, SHU-TUNG y
YUEN, DEBBIE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 614 404 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 envolvente reenrollable y método para preparar una membrana enrollada helicoidalmente

Antecedentes

5 Una lesión en un tejido y un órgano a menudo induce la formación de tejido cicatrizal fibroso, que impide la función del tejido o del órgano curados.

Por ejemplo, cuando se daña tejido nervioso (p. ej., un nervio periférico tal como el nervio mediano de la muñeca), a menudo se forma tejido cicatrizal en el del lugar lesionado y alrededor de este, que no únicamente afecta a la transmitancia de señal nerviosa y al crecimiento axonal a través del lugar lesionado, sino también desarrolla neuroma doloroso. De manera similar, la formación de tejido cicatrizal provocada por una lesión en un tendón puede tener como resultado adhesión del tendón al tejido circundante, que, si el tejido está en la región de articulación, puede llevar a la inmovilización de la articulación. Adicionalmente, una lesión de tendón también puede inducir adhesión entre el tendón y un nervio adyacente, dando como resultado dolor grave y pérdida de productividad.

El documento US 6090996 describe un implante en forma de espiral formado de una matriz polimérica, que se diseña para ser insertado en una oquedad de tejido.

15 El documento US 4778467 describe una prótesis tubular para promover la regeneración nerviosa y que se hace de material biocompatible que es impermeable a fluidos asociados con un nervio lesionado.

El documento US 2004/001877 enseña una membrana plana hecha de una membrana tubular invertida que contiene fibras orientadas. Para minimizar la formación de tejido cicatrizal dentro y alrededor de un lugar lesionado, se necesita una hoja protectora biocompatible, semipermeable y oclusiva a células que envuelva el lugar lesionado para impedir la invasión de células fibrogénicas.

20

Compendio

Esta invención está relacionada con una membrana reenrollable para envolver y proteger un lugar lesionado, p. ej., un nervio dañado.

25 En un aspecto, esta invención presenta una membrana para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado según la reivindicación 1.

La membrana incluye una hoja de una matriz porosa formada de fibras biopoliméricas reticuladas que se orientan circunferencialmente alrededor de un mandril durante la fabricación de la hoja, la hoja se enrolla espiralmente de modo que al menos una parte se superpone a otra parte de la hoja y, al absorber un fluido, la partes superpuestas se adhieren de cerca entre sí para prohibir la penetración celular. La hoja es reenrollable, reabsorbible, semipermeable y oclusiva a células; y la hoja tiene un grosor de 0,05 mm a 1 mm, una densidad de 0,05 g/cm³ a 0,8 g/cm³, una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 2x10⁶ Daltons, una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 1 kg, un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 5 segundos, y un tiempo de resorción en vivo de 2 meses a 12 meses.

30

La expresión "tejido cilíndrico" usada en esta memoria se refiere tanto a un tejido como a un órgano que tengan una forma cilíndrica o tubular. Ejemplos incluyen, aunque sin limitarse a estos, nervio, tendón, vaso sanguíneo, uréter e intestino.

35

Las fibras biopoliméricas usadas para preparar la hoja de membrana pueden ser polímeros naturales, tales como colágeno, elastina, fibrina y polisacáridos (p. ej., ácido algínico, quitosano); polímeros sintéticos, tales como poli(ácido glicólico), poli(ácido láctico), y copolímeros de poli(ácido glicólico) y poli(ácido láctico); materiales diseñados genéticamente, o una combinación de los mismos. Estos se pueden orientar, es decir, al menos la mitad de las fibras en la hoja están en una dirección general determinada por el método descrito en la patente de EE.UU. 6.391.333 o mediante un método análogo.

40

La hoja de membrana puede tener un grosor de 0,1 mm a 0,4 mm (p. ej., 0,1 mm a 0,3 mm), una densidad de 0,2 g/cm³ a 0,8 g/cm³ (p. ej., 0,2 g/cm³ a 0,5 g/cm³), una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 1x10⁵ Daltons (p. ej., no superiores a 7x10⁴ Daltons), una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 0,7 kg (p. ej., 200 gramos a 600 gramos), un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 1 segundo, y un tiempo de resorción en vivo de 4 meses a 9 meses. La altura de la hoja ("H," es decir, la dimensión a lo largo de la dirección longitudinal) puede ir de 1 cm a 10 cm (p. ej., de 2 cm a 5 cm). La longitud de la hoja ("L," es decir, la dimensión a lo largo de la dirección circunferencial) puede ir de 0,4 cm a 20 cm (p. ej., de 0,4 cm a 4 cm). La longitud se puede predeterminar sobre la base de la circunferencia del tejido cilíndrico que tiene el lugar lesionado. Preferiblemente, la longitud es menor que el doble de la circunferencia de dicho tejido. Más preferiblemente, la longitud es aproximadamente de 1,2 a 1,5 veces la circunferencia de dicho tejido.

50

Se puede incluir un agente bioactivo en la membrana de esta invención para promover la curación de heridas y/o para impedir adhesión de tejido. Ejemplos incluyen, aunque sin limitarse a estos, factores de crecimiento, citocinas,

lamininas, glicosaminoglicanos, glicoproteínas, fibronectinas, fármacos (p. ej., rapamicina, antibióticos) y similares. El agente bioactivo se puede incorporar en la membrana por medio de interacciones electrostáticas, interacciones físicas o mecánicas, enlace covalente usando agentes reticulantes o luz, una combinación de los anteriores, o por medio de una molécula espaciadora que se conoce bien en la técnica.

- 5 En otro aspecto, esta invención presenta una membrana para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado según la reivindicación 7.

La membrana incluye una hoja de una matriz porosa formada de fibras biopoliméricas reticuladas que se orientan circunferencialmente alrededor de un mandril durante la fabricación de la hoja, la hoja se enrolla helicoidalmente para formar una hélice que tiene un paso de 2 mm a 40 mm y un diámetro interior de 1 mm a 50 mm.

- 10 El paso ("p") usado en esta memoria es la distancia más corta entre dos unidades vecinas repetidas de hélices. Como se demostrará más adelante, el paso de una hoja enrollada helicoidalmente es la suma de la anchura ("w") de la hoja y la holgura ("g") entre las dos unidades vecinas de hélice.

- 15 La membrana enrollada helicoidalmente hoja es repetible, reabsorbible, semipermeable y oclusiva a células. Tiene un grosor de 0,05 mm a 1 mm (p. ej., 0,1 mm a 0,4 mm), una densidad de 0,05 g/cm³ a 0,8 g/cm³ (p. ej., 0,2 g/cm³ a 0,8 g/cm³), una anchura de 2 mm a 30 mm, una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 2x10⁶ Daltons (p. ej., no superiores a 1x10⁵ Daltons, o no superiores a 7x10⁴ Daltons), una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 1 kg (p. ej., 0,1 kg a 0,5 kg), un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 5 segundos (p. ej., 0,1 segundos a 1 segundo), y un tiempo de resorción en vivo de 2 meses a 12 meses (p. ej., 4 a 9 meses). La altura de la hoja enrollada helicoidalmente ("h") puede ir de 1 cm a 10 cm. Las fibras biopoliméricas usadas para preparar la hoja de membrana helicoidal se pueden orientar y/o ser fibras de colágeno.

- 20 Como reconoce bien un experto en la técnica, las mediciones de grosor, densidad, altura, longitud, paso, diámetro, anchura y holgura entre dos unidades vecinas de la hoja de membrana presentadas en esta memoria se determinan en un estado seco; por otro lado, las mediciones de permeabilidad, resistencia a extracción de sutura, tiempo de reenrollamiento y tiempo de resorción en vivo de la hoja presentada en esta memoria se determinan en un estado hidratado o al absorber un fluido. El secado de la hoja de membrana se puede lograr fácilmente mediante secado con aire en una cubierta por la noche, o mediante otros métodos cualesquiera, p. ej., secado por congelación, que lleva aproximadamente al mismo estado o similar de sequedad. Se pueden aplicar diferentes métodos o estados de secado para controlar selectivamente el tamaño de poro efectivo de la hoja de membrana, como se describirá con más detalle más adelante. Como se emplea en esta memoria, la expresión "tamaño de poro efectivo" se refiere al diámetro máximo de una molécula, que puede atravesar un poro en la hoja de membrana. El peso molecular de una molécula está relacionado típicamente con su tamaño y así corresponde a un tamaño de poro efectivo específico de la hoja de membrana. Por ejemplo, una hoja de membrana que es permeable a moléculas con un peso molecular no superior a 1x10⁵ Dalton tiene un tamaño de poro efectivo de 5 nanómetros (nm). Preferiblemente, la hoja tiene un tamaño de poro efectivo que va de 1 nm a 4 micrómetros (p. ej., de 1 nm a 4 nm).

- 35 En todavía otro aspecto, esta invención está relacionada con un método para preparar una membrana enrollada espiralmente según la reivindicación 10.

- 40 El método incluye reconstituir fibras biopoliméricas dispersadas en una solución; colocar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de un primer mandril; rotar el primer mandril para orientar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de la circunferencia del mandril para convertir las fibras biopoliméricas reconstituidas sobre el mandril en una membrana tubular; secar la membrana tubular; cortar longitudinalmente la membrana tubular; enrollar la membrana cortada longitudinalmente sobre un segundo mandril que tiene un diámetro más pequeño que el primer mandril de modo que al menos una parte de la membrana se superponga a otra parte de la membrana; insertar la membrana enrollada en una malla tubular; y reticular las fibras biopoliméricas, formando de ese modo una membrana enrollada espiralmente de fibras biopoliméricas orientadas. Las fibras biopoliméricas preferiblemente son fibras de colágeno.

- 45 En incluso otro aspecto, esta invención está relacionada con un método para preparar una membrana enrollada helicoidalmente según la reivindicación 11.

- 50 El método incluye reconstituir fibras biopoliméricas dispersadas en una solución; colocar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de un mandril; rotar el mandril para orientar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de la circunferencia del mandril para convertir las fibras biopoliméricas reconstituidas sobre el mandril en una membrana tubular; secar la membrana tubular; retirar la membrana del mandril; reticular las fibras biopoliméricas; insertar la membrana en un molde de guía de corte; y cortar la membrana, formando de ese modo una membrana enrollada helicoidalmente de fibras biopoliméricas orientadas, que tiene un paso de 2 mm a 40 mm y una anchura de 2 mm a 30 mm. Las fibras biopoliméricas preferiblemente son fibras de colágeno.

- 55 También dentro del alcance de esta invención está una membrana enrollada espiralmente y una membrana enrollada helicoidalmente preparadas respectivamente mediante los métodos descritos anteriormente.

Además, esta invención está relacionada con el uso de una membrana como se ha descrito anteriormente en un método para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado según la reivindicación 14.

5 El método incluye colocar una membrana enrollada espiralmente o una membrana enrollada helicoidalmente de la invención en un fluido para permitir que la membrana se hidrate; desenrollar con una fuerza la membrana hidratada; y llevar la membrana enrollada dentro de las inmediaciones del lugar lesionado, de modo que, al liberar la fuerza, la membrana se reenrolla y envuelve el lugar lesionado.

Aspectos pueden incluir una o más de las siguientes ventajas. La membrana para envolver un tejido cilíndrico lesionado es bioreabsorbible y la tasa de resorción se equilibra con la tasa de curación de heridas del tejido lesionado para impedir complicaciones provocadas por degradación prematura de la membrana, tales como formación de cicatriz. La membrana es semipermeable. Más específicamente, la membrana es únicamente permeable a moléculas más pequeñas que el tamaño de poro efectivo de la membrana, tales como moléculas nutrientes, que por lo tanto pueden atravesar la membrana para llegar al lugar de herida y apoyar la curación de heridas. Mientras tanto la membrana es impermeable a moléculas grandes tales como células fibrogénicas, que usualmente invaden el lugar de herida para formar tejidos cicatrizales no deseables. La membrana es oclusiva a células. Como se acaba de describir, la membrana no permite la infiltración de células fibrogénicas que llegan al lugar de herida e inducen formación de cicatriz. La membrana no se adhiere al tejido reparado. La membrana en su estado hidratado puede restaurar rápidamente su configuración original enrollada cuando se libera de una fuerza que desenrolla la membrana. El tiempo de reenrollamiento puede ser inferior a 1 segundo. Esta característica de reenrollamiento o autoenrollamiento permite una aplicación fácil de la membrana a un tejido lesionado y/o reducción significativa del tiempo de cirugía. Más específicamente, al liberar una fuerza mecánica desenrollante, la membrana en su estado hidratado se autoenrolla para adaptarse a la forma cilíndrica del tejido o el órgano con al menos dos superposiciones de la membrana que se adhieren entre sí para excluir la penetración de células. Debido a sus características de autoenrollamiento y adaptación, a menudo no se necesita suturar la membrana. Si es necesario, por ejemplo, si el tejido lesionado se distorsiona significativamente de su forma cilíndrica original, la membrana se puede suturar al tejido circundante o al tejido epineural para añadir estabilidad. La membrana tiene suficiente resistencia a extracción de sutura para estabilizarse con el tejido circundante. Adicionalmente, se puede usar una membrana enrollada helicoidalmente para envolver un tejido lesionado con una forma cilíndrica distorsionada sin suturar, ya que se adapta a una forma irregular más fácilmente que una membrana enrollada espiralmente. La membrana formada de fibras biopoliméricas orientadas es más resistente a desgarrar, debido a una mayor resistencia mecánica, que la membrana convencional formada de fibras orientadas aleatoriamente.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se presentan en la descripción que sigue. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y de las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

35 La figura 1a es una vista en perspectiva de una membrana enrollada espiralmente.

La figura 1b es una vista en perspectiva de la membrana en la figura 1a en su configuración desenrollada.

La figura 1c es una vista en perspectiva de la membrana en la figura 1a cuando se aplica para envolver un tejido cilíndrico.

La figura 2a es vista en perspectiva de una membrana enrollada helicoidalmente.

40 La figura 2b es una vista en perspectiva de la membrana en la figura 2a en su configuración desenrollada.

Descripción detallada

La invención está relacionada con una membrana reabsorbible, semipermeable, oclusiva a células, biocompatible, reenrollable para envolver y proteger un tejido lesionado. Una membrana de este tipo se puede implantar alrededor de tejidos u órganos tubulares cilíndricos dañados (p. ej., nervios o tendones periféricos) para protegerlos contra formación de cicatriz y para ayudar a la curación de heridas.

Las figuras 1a y 2a muestran dos membranas ejemplares de esta invención, enrollada espiralmente o enrollada helicoidalmente. Haciendo referencia particularmente a la figura 1a, la membrana de esta invención es una hoja enrollada espiralmente 100 a lo largo de su eje longitudinal "A". La hoja tiene un grosor "t" y una altura "H." Cuando se desenrolla con una fuerza externa, la hoja tiene una longitud "L," como se muestra en la figura 1b. Preferiblemente, la longitud y la altura de la hoja son suficientes para envolver un tejido lesionado con un diámetro de hasta 5 cm y una longitud de hasta 20 cm. Sin embargo, si se necesita también se puede fabricar un tamaño superior al descrito en esta memoria. Haciendo referencia particularmente a la figura 2a, la membrana de esta invención es una hoja enrollada helicoidalmente 200 con un grosor "t" (mostrado en la figura 2b), una altura "h," una anchura "w," un paso "p" y un diámetro interior "d." Cuando se desenrolla con una fuerza externa, la hoja tiene una longitud "l," como se muestra en la figura 2b.

El material preferido para preparar las membranas de la presente invención son fibras de colágeno tipo I debido a su biocompatibilidad y facilidad para acceder a grandes cantidades del material de origen animal. Otros materiales biopoliméricos, que pueden ser naturales o sintéticos, incluyen, aunque sin limitarse a estos, otros tipos de colágeno (p. ej., tipo II a tipo XXI), elastina, fibrina, polisacárido (p. ej., quitosano, ácido alginico, celulosa, y glicosaminoglicano), un análogo sintético de un biopolímero mediante técnicas de ingeniería genética, o una combinación de los mismos.

Para fabricar una membrana a base de colágeno tipo I, primero se prepara una dispersión ácida de fibras de colágeno tipo I con un contenido sólido de aproximadamente el 0,5 al 1,0% (en peso). Se pueden usar ácidos tanto inorgánicos como orgánicos. Sin embargo, se prefieren ácidos orgánicos (p. ej., ácido láctico). Típicamente, una dispersión de colágeno en ácido láctico de 0,05 M a 0,1 M tiene un pH de aproximadamente 2,3 a 2,5. Las fibras de colágeno dispersadas se homogeneizan usando un homegeneizador comercial para desintegrar mecánicamente las fibras en fibrillas más pequeñas. Tras la retirada de burbujas de aire mediante vacío, las fibrillas dispersadas se reconstituyen hasta fibras largas ajustando el pH a aproximadamente 4,7, el punto isoeléctrico del colágeno purificado se prepara por métodos descritos en la patente de EE.UU. 6.391.333.

Las fibras de colágeno reconstituidas se orientan entonces preferencialmente de manera circunferencial sobre un mandril rotatorio que tiene un diámetro exterior definido con una velocidad rotacional preferiblemente superior a 50 RPM, y se secan (p. ej., secado por congelación) mediante métodos bien conocidos en la técnica. Dependiendo de las propiedades deseadas de permeabilidad de la membrana, el secado puede ser secado por congelación o por aire. El secado por aire produce una membrana que permite la permeabilidad de iones o pequeños péptidos (p. ej., los que tienen pesos moleculares inferiores a 2.000), mientras que las membranas secadas por congelación permiten la permeabilidad de moléculas con pesos moleculares que van de 200 a 2.000.000 (p. ej., diversos péptidos, factores de crecimiento y macromoléculas bioactivas con pesos moleculares que van de 200 a 300.000). Propiedades deseadas de permeabilidad de las membranas también se pueden obtener controlando la cantidad de deshidratación de membrana antes del secado por congelación.

Para fabricar la membrana mostrada en la figura 1a, la membrana tubular secada (p. ej., secada por congelación) se retira luego del mandril cortando a lo largo de la dirección longitudinal (p. ej., eje A) usando un escalpelo. La membrana cortada se enrolla luego a lo largo del mismo eje sobre un segundo mandril que tiene un diámetro más pequeño que el mandril original. Como ejemplo, el mandril original tiene un diámetro exterior de 10 mm y el segundo mandril tiene un diámetro exterior de 5 mm. Al enrollar la membrana sobre un mandril más pequeño, se produce una membrana enrollada espiralmente con superposiciones, como se ilustra en la figura 1a.

La membrana enrollada se inserta luego en una malla tubular que tiene un diámetro interior aproximadamente el tamaño del diámetro exterior de la hoja enrollada, y se reticula usando un agente reticulador tal como un aldehído (p. ej., vapor de formaldehído) para fijar y conservar la configuración. También se pueden usar otros agentes reticuladores con suficiente presión de vapor. El agente reticulador sin reaccionar se puede retirar por medio de enjuague con agua. La membrana enjuagada se puede secar de nuevo antes de usar. La malla tubular se puede hacer de materiales poliméricos sintéticos o de acero inoxidable.

Para fabricar la membrana mostrada en la figura 2a, la membrana tubular secada descrita anteriormente (p. ej., secada por congelación) se retira del mandril y se reinserta en un molde de corte tal como un tubo de guía que tiene una guía de corte helicoidal. La membrana tubular, se corta luego a lo largo de la guía para producir una membrana enrollada helicoidalmente con un paso definido (como se muestra en la figura 2a) ya sea antes o después de la etapa de reticulación descrita anteriormente. El tamaño de las holguras entre unidades vecinas de la membrana se puede controlar para que vaya desde sustancialmente cero, p. ej., 0,001 mm, a aproximadamente 10 mm. Como alternativa o adicionalmente, la membrana helicoidal así formada descrita anteriormente se puede desplegar y reenrollar sobre un segundo mandril que tiene un diámetro más pequeño que el mandril original. Al reenrollar la membrana sobre un mandril más pequeño, se pueden eliminar las holguras formadas al cortar y/o se pueden crear superposiciones entre unidades vecinas.

Es de particular importancia crear una membrana enrollada espiralmente o una enrollada helicoidalmente de esta invención a partir de una membrana tubular en lugar de una hoja plana. Sin pretender estar limitado por la teoría, la configuración inicial enrollada de una membrana tubular permite una fijación permanente de la geometría enrollada de las membranas de esta invención. Adicionalmente, cuando se empieza con una membrana tubular orientada, la orientación inicial de las fibras biopoliméricas a lo largo de la dirección circunferencial de la membrana tubular fortalece además una fijación permanente de la geometría enrollada. Por el contrario, una membrana enrollada hecha de una hoja más plana con el tiempo se relajaría lentamente a la configuración desenrollada abierta. Una fijación permanente de la geometría inicialmente enrollada permite la característica de reenrollamiento de las membranas de la invención. En particular, las membranas de esta invención se pueden restaurar automáticamente a una geometría semejante a un tubo por una fuerza compresiva hacia dentro.

La cantidad de reticulación determina la estabilidad en vivo de la membrana. Dependiendo de los requisitos funcionales en vivo, la cantidad de reticulación se puede controlar en consecuencia. Más específicamente, la cantidad de reticulación en la fase de disolución se puede controlar mediante agente reticulador, concentración, temperatura, pH y tiempo de reticulación. La reticulación en vapor se puede controlar mediante presión de vapor,

temperatura y tiempo de reticulación. La estabilidad en vivo depende de la naturaleza de la reticulación formada por diversos agentes reticuladores. Generalmente, el glutaraldehído forma reticulación más estable que el formaldehído y la carbodiimida. Así, se ha usado glutaraldehído para reticular tejido de válvulas cardiacas para tener durabilidad en vivo, y a menudo se ha usado formaldehído para reticular implantes reabsorbibles.

- 5 La cantidad de reticulación se puede determinar mediante métodos bien conocidos en la técnica tales como monitorizando la temperatura de contracción hidrotérmica. En otras palabras, la temperatura de contracción hidrotérmica de una membrana reticulada está correlacionada con el tiempo de resorción de en vivo. Por ejemplo, usando vapor de formaldehído como agente reticulador, como se describe en el documento de Yuen et al., Trans Seis World Biomaterials Congress, página 222 (2000), la temperatura de contracción hidrotérmica de la membrana así formada está en el intervalo de aproximadamente 48°C a aproximadamente 70°C correspondiente a un tiempo de resorción en vivo en el intervalo de 2 a 12 meses.

Las membranas de esta invención, como se ejemplifican en las figuras 1a y 2a se pueden usar para envolver un tejido cilíndrico tal como un nervio o tendón. Particularmente, cuando se usa la membrana como se muestra en la figura 1a para envolver un tejido lesionado, una membrana de tamaño apropiado se hidrata en primer lugar en una solución acuosa. Preferiblemente, la longitud "L" de la membrana es aproximadamente de 1,2 a 1,5 veces la circunferencia del tejido objetivo y la dimensión de la hoja a lo largo de la dirección longitudinal se extiende al menos 0,5 cm más allá de cada uno de los extremos del lugar lesionado. El implante hidratado se desenrolla luego mecánicamente, p. ej., a mano, hasta una configuración abierta como se muestra en la figura 1b. La hoja de membrana abierta 100 se acerca luego al lugar lesionado, p. ej., se coloca alrededor del tejido lesionado. Al liberar la fuerza externa, la hoja de membrana abierta se rebobina automáticamente y se adapta a la forma del tejido lesionado, formando una funda protectora, como se muestra en la figura 1c (en la que el tejido envuelto está etiquetado con el número 110). Como también se ilustra en la figura 1c, las superposiciones de la membrana 100 se adhieren de cerca entre sí de manera que la membrana se puede dejar in situ sin sutura. Si es necesario, la membrana se puede suturar al tejido circundante o al tejido de epineurio para tener estabilidad. De manera similar, cuando se aplica la membrana mostrada en la figura 2a a un tejido lesionado, la membrana de un tamaño apropiado (p. ej., "d" equivalente al diámetro exterior, o más pequeño que este, del tejido lesionado) se hidrata primero en una solución acuosa. La membrana hidratada se desenrolla luego a una configuración abierta desde un extremo como se muestra en la figura 2b. La hoja de membrana abierta 200 se coloca luego alrededor del tejido lesionado. Al liberar la fuerza externa, la hoja abierta se rebobina automáticamente a su configuración enrollada para cubrir una sección del nervio lesionado. El proceso de apertura y autoenrollado descrito anteriormente se puede repetir hasta que se envuelvan todos los lugares lesionados del tejido. Si es necesario, la membrana se puede suturar al tejido circundante para añadir estabilidad. Para impedir la penetración de células fibrogénicas a través de las holguras entre unidades vecinas de la membrana helicoidal, las holguras se pueden cerrar mediante sutura.

Sin elaboración adicional, se cree que la descripción anterior ha permitido adecuadamente la presente invención.

35 **Preparación de fibras de colágeno**

Se limpió tendón flexor bovino eliminando grasa y fascia, y se lavó con agua. El tendón lavado se congeló y desmenuzó hasta rebanas de 0,5 mm con una rebanadora de carne. Posteriormente se extrajo un kilogramo del tendón húmedo rebanado con 5 L de agua destilada y con 5 L de HCl 0,2 N/Na₂SO₄ 0,5 M a temperatura ambiente durante 24 horas, los extractos se descartaron. El ácido residual en el tendón se eliminó lavando con 5 L de solución de Na₂SO₄ 0,5 M. El tendón se extrajo de nuevo con 5 L de solución de NaOH 0,75 M/Na₂SO₄ 1,0 M a temperatura ambiente durante 24 horas. El extracto también se descartó. La base residual se neutralizó con una solución de HCl 0,1 N a pH 5, seguido por varios lavados con agua destilada para eliminar las sales residuales en el tendón purificado. El tendón se desengrasó luego a 25°C bajo agitación constante con isopropanol con 5 veces el volumen del tendón durante 8 horas y un volumen igual al del tendón por la noche. El tendón desengrasado se secó al aire luego y se almacenó a temperatura ambiente hasta un procesamiento adicional.

Preparación de dispersión de fibras de colágeno

Se pesó una alícuota de fibras de colágeno purificadas insolubles y se dispersaron en ácido láctico 0,07 M, homogeneizado con un Homogeneizador Silverson (East Longmeadow, MA), y se filtró con un filtro de acero inoxidable de 30 mesh para obtener una dispersión con 0,7% (peso-volumen) de colágeno. La dispersión se desaireó en vacío para eliminar el aire atrapado en la dispersión y se almacenó a 4°C hasta ser usada.

Preparación de un implante enrollado espiralmente de envoltorio de tejido

Las fibras de colágeno dispersadas en ácido preparadas en el Ejemplo 2 se reconstituyeron añadiendo 0,3% de NH₄OH para ajustar el pH de la dispersión al punto isoelectrico del colágeno (pH 4,5-5,0). Las fibras reconstituidas se vertieron en un dispositivo de fabricación que se preparó con la inserción de un mandril de 5 mm, 10 mm, 15 mm, 20 mm o 30 mm de diámetro. Las fibras se distribuyeron uniformemente a lo largo del mandril. Se hizo rotar lentamente el mandril a aproximadamente 50-100 rpm para devanar firmemente las fibras alrededor de él. Las fibras sobre el mandril se retiraron del dispositivo de fabricación y luego se insertaron en un dispositivo de precisión de deshidratación para la retirada del exceso de solución y controlar el grosor y la densidad de la pared tubular. La

deshidratación del dispositivo tuvo como resultado mayor densidad de pared del dispositivo y menor tamaño de poro (es decir, el espacio entre fibras), controlando de ese modo la permeabilidad de la pared. El exceso de solución se retiró comprimiendo las fibras hidratadas sobre el mandril rotatorio contra dos placas que controlan con precisión el grosor de la pared de la membrana.

- 5 Las fibras de colágeno parcialmente deshidratadas se secaron por congelación a -10°C durante 24 horas y a 20°C durante 16 horas a una presión inferior a 26,66 Pa (200 millitorr) usando un Virtis Freeze Dryer (Gardiner, NY). La matriz tubular secada por congelación se retiró del mandril y se hizo un corte a lo largo de la dirección longitudinal del tubo. El tubo abierto se enrolló entonces alrededor de un mandril más pequeño formando una hoja enrollada. La hoja enrollada se insertó en una malla tubular que tenía un diámetro ligeramente mayor que el diámetro de la hoja enrollada. La matriz de hoja enrollada se reticuló entonces químicamente con vapor de formaldehído a una humedad de 90-95% durante 3-6 horas para estabilizar la hoja en su configuración enrollada y controlar su estabilidad en vivo. La matriz reticulada se enjuagó en agua y se secó al aire o por congelación. Un ejemplo del dispositivo de implante así formado se muestra en la figura 1a.

Preparación de un implante enrollado helicoidalmente de envoltorio de tejido

- 15 Las fibras de colágeno dispersadas en ácido preparadas en el Ejemplo 2 se reconstituyeron añadiendo 0,3% de NH_4OH para ajustar el pH de la dispersión al punto isoelectrónico del colágeno (pH 4,5-5,0). Las fibras reconstituidas se vertieron en un dispositivo de fabricación que se preparó con la inserción de un mandril de 5 mm, 10 mm, 15 mm, 20 mm o 30 mm de diámetro. Las fibras se distribuyeron uniformemente a lo largo del mandril. Se hizo rotar lentamente el mandril a aproximadamente 50-100 rpm para devanar firmemente las fibras alrededor de él. Las fibras sobre el mandril se retiraron del dispositivo de fabricación y luego se insertaron en un dispositivo de precisión de deshidratación para la retirada del exceso de solución y controlar el grosor y la densidad de la pared tubular. La deshidratación del dispositivo tuvo como resultado mayor densidad de pared del dispositivo y menor tamaño de poro (es decir, el espacio entre fibras), controlando de ese modo la permeabilidad de la pared. El exceso de solución se retiró comprimiendo las fibras hidratadas sobre el mandril rotatorio contra dos placas que controlan con precisión el grosor de la pared de la membrana.

- 25 Las fibras de colágeno parcialmente deshidratadas se secaron por congelación a -10°C durante 24 horas y a 20°C durante 16 horas a una presión inferior a 26,66 Pa (200 millitorr) usando un Virtis Freeze Dryer (Gardiner, NY). La matriz tubular secada por congelación se retiró del mandril y la membrana tubular se reticuló entonces químicamente con vapor de formaldehído a una humedad de 90-95% durante 3-6 horas para estabilizar la configuración tubular y controlar su estabilidad en vivo. La matriz reticulada se enjuagó en agua y se secó al aire o por congelación. La membrana tubular secada se insertó luego en una guía de corte. La membrana se cortó a lo largo de la línea de guía para producir una cinta de hoja enrollada helicoidalmente. Un ejemplo del dispositivo de implante así formado se muestra en la figura 2a.

Caracterización de implantes de envoltorio de tejido

- 35 Se evaluaron características fisicoquímicas y mecánicas de implantes de envoltorio de tejido preparados en los Ejemplos 3 y 4 en los siguientes aspectos:

i) Temperatura de contracción hidrotérmica

- 40 La temperatura de contracción hidrotérmica (T_s) se determinó mediante una medición de la temperatura de transición térmica de la matriz de colágeno hidratado. Primero se cortó una muestra hasta un diámetro de 0,25 mm y luego se colocó en una vasija de aluminio. La muestra se hidrató luego con 15 μl de salino tampón de fosfato y se selló la vasija. Se determinó T_s usando un calorímetro de escaneo diferencial (DSC) de Mettler Toledo con un consumo calórico de 5°C por minuto. La temperatura de transición térmica se define como la temperatura inicial por extrapolación a la línea de referencia del aumento más rápido en el exceso de capacidad calorífica como función de la curva de temperatura.

ii) Evaluación de estabilidad en vivo

- 45 La estabilidad y la capacidad de resorción en vivo de una membrana de implante de envoltorio de tejido se determinaron mediante el siguiente experimento: En ratas se implantaron subcutáneamente materiales de membrana de colágeno con diferentes temperaturas de contracción. En momentos predeterminados se sacrificaron las ratas y mediante medios histológicos se determinó la cantidad que quedó de implantes de colágeno residual. El tiempo total de resorción de cada material de membrana se obtuvo por extrapolación de la cantidad residual de colágeno como función del tiempo a un valor en el que la zona ocupada por el colágeno residual de implante era inferior al 2%. El tiempo total de resorción y la temperatura de contracción hidrotérmica de las membranas tiene un relación lineal (Yuen, et al., Trans Soc. Biomaterials, 2000)

- 55 Sobre la base de la relación, se puede seleccionar un material de matriz de membrana para cierta estabilidad en vivo, sobre la base de su temperatura de contracción hidrotérmica. Por ejemplo, si la estabilidad en vivo deseada es de 4-6 meses, será adecuada una temperatura de contracción hidrotérmica del implante de envoltorio de tejido en el intervalo $50-55^{\circ}\text{C}$.

iii) Densidad aparente

Mediante un método gravimétrico se determinó la densidad aparente de un implante seco de envoltorio de tejido. Primero se secó el implante en vacío durante 24 horas y se registró el peso seco. Entonces con un micrómetro se midieron las dimensiones (longitud, grosor y anchura) del implante. Así, la densidad fue una medida de la cantidad de colágeno por unidad de volumen de implante y se representó en g/cm³.

iv) Resistencia a extracción de sutura

La resistencia a extracción de sutura se determinó de la siguiente manera: El implante se cortó a un tamaño de 20 mm x 5 mm y se empapó en PBS con pH 7,4 a 25°C durante aproximadamente 5 minutos. Se colocó una sutura (3-0 seda negra trenzada, taper SH-1, Ethicon, Somerville, NJ) a través del lado de membrana de 20 mm a aproximadamente 3 mm del canto. La sutura se ató con un nudo, se aseguró al adaptador de gancho del probador de tracción, se sujetó y se tiró de ella a una velocidad de 2,54 cm/minuto hasta que se extrajo la sutura y se registró la resistencia a extracción.

v) Recuperación de la geometría enrollada desde una configuración mecánicamente distorsionada

Se distorsionó mecánicamente un implante hidratado de envoltorio de tejido desde su geometría enrollada a su geometría de hoja abierta. Entonces se liberó la fuerza externa y se registró el tiempo necesario desde la geometría abierta a la geometría enrollada.

vi) Permeabilidad

Un disco con diámetro de 2 cm cortado de una membrana de esta invención se insertó en una cámara de dos compartimentos que contenía salino con tampón de fosfato (PBS). A un compartimento se añadió un volumen fijo de PBS que contenía 50 µg de diversos tamaños de péptido y moléculas de proteínas por mL. Se dejó que la solución de ambos compartimentos se equilibrara durante 24 horas. Entonces se realizó un ensayo colorimétrico para determinar la cantidad de péptido o moléculas de proteínas en el compartimento que inicialmente solo contenía PBS.

Los resultados de los estudios de caracterización se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Temperatura de contracción hidrotérmica (°C)	51,4 ± 0,6
Estabilidad en vivo (meses)	4-5
Densidad aparente (g/cm ³)	0,43 ± 0,07
Resistencia a extracción de sutura (g)	246 ± 24
Tiempo de reenrollado hacia dentro (segundos)	<1
Permeabilidad a anhídrido carbónico MW = 29.000 (%)	4,2 ± 0,9

Evaluaciones in vitro y en vivo

i) Estudio de cultivo celular in vitro:

Se cultivaron fibroblastos 3T3 (ATCC) (2x10⁶ células en 200 µl) en la parte superior de la membrana de envoltorio de tejido. Cada membrana se cortó en círculos de 1 cm para encajar en insertos Millipore Millicell en una placa de cultivo celular de 24 pocillos. Cada Millicell se prehumedeció según las instrucciones del paquete y cada membrana se incubó en medio durante 24 horas en el inserto antes de la siembra celular. La cosecha fue a las 24 horas y 48 horas por duplicado. Las membranas en la Millicell se cortaron circunferencialmente y se dejaron conectadas a las matrices de membrana. Tras la fijación de formalina, cada matriz se cortó por el centro y ambos lados cortados se incrustaron con H&E para mostrar las células. Se examinaron rebanadas mediante microscopía óptica y se fotografiaron los resultados.

Los resultados del estudio in vitro mostraron que los fibroblastos 3T3 crecían únicamente en la superficie de la matriz de membrana. Mediante incubación 48 horas, las capas de células se habían desconectado de la matriz sin importar en qué lado de la superficie se sembraron las células. Esto indicaba que la membrana de envoltorio de tejido era inesperadamente impermeable a células y podría tener una propiedad no adherente inherente. Esta observación es coherente con la estructura oclusiva a células de membrana de envoltorio de tejido.

ii) Estudio de implantación en vivo:

La membrana de envoltorio de tejido se implantó como sustituto de duramadre en un conejo modelo para evaluar la potencial adhesión de la membrana al tejido circundante y las características de resorción y de crecimiento de tejido nuevo. Se sedaron intramuscularmente conejos Blancos de Nueva Zelanda machos (3-4 kg) con “mezcla para conejo” de 0,5 cc/kg (Ketamina: 5cm³ de 100 mg/ml, Zilazina: 8 cm³ de 20 mg/ml, Acepromazina: 2 cm³ de 100 mg/ml), y se mantuvieron con isoflurano (5% de isoflurano, 3% de oxígeno) por medio de tubo endotraqueal. Se colocaron animales en una almohadilla calentadora y se conectaron a sondas EKG. Se rasuraron cueros cabelludos y se lavaron con Betadine. En condiciones asépticas, se hizo una incisión en línea media sobre el cuero cabelludo con una hoja de escalpelo número 11 y se expuso el cráneo usando un periostótomo. Se marcó la zona inmediatamente anterior a la sutura coronal en el aspecto lateral derecho del cráneo y se usó una herramienta Dremel con una fresa de 1 mm instalada para taladrar cuidadosamente una sección ovalada del hueso subyacente para exponer la duramadre. Se usaron unas pinzas gubias pequeñas para retirar los últimos fragmentos de hueso y con una pequeña espátula el hueso se separó de la duramadre, se retiró y se colocó en salino. El defecto se limpió con salino y gasa, se inspeccionó y se retiraron fragmentos de hueso. Se taladraron orificios (2-3) en el colgajo óseo y en la zona adyacente del cráneo para la posterior conexión del colgajo óseo. Usando sutura 7-0 (Deknatel) con una aguja de 0,9525 mm (3/8 pulgada) se enganchó la duramadre y se levantó del cerebro. Se usó una pequeña tijera de iris para abrir un defecto cuadrado de 8 mm x 8 mm en la duramadre.

Se empapó membrana de envoltorio de tejido en salino estéril durante 5 minutos y se adecuó para que encajara en el lugar y se colocó sobre el defecto dural con una superposición aproximada de 3 mm de la duramadre nativa de una forma superpuesta, y no se suturó en el sitio.

La implantación en vivo de la membrana de envoltorio exhibió muy poca adhesión al hueso (puntuación 1,25) comparada con lo normal (2,0) 12 semanas tras el momento de implantación. Los implantes eran claramente visibles y bien integrados en la periferia de la duramadre nativa. Inesperadamente, no hubo adhesión al córtex del cerebro (puntuación 0,0). El implante y la duramadre nativa parecían continuos, con el implante/regeneración de apariencia similar a la duramadre nativa. Los resultados indicaron que este implante proporcionaba una cubierta protectora del córtex y era biocompatible ya que se integró con la duramadre nativa y puede haber promovido la regeneración de duramadre.

Cuando los implantes se retiraron de los lugres quirúrgicos y se tiró de ellos entre dos parejas de fórceps, la membrana de envoltorio de tejido tenía similar fortaleza que la duramadre normal (puntuación 2,0 para la normal vs. 2,8 para membrana de envoltorio). Visualmente se hicieron clasificaciones de fortaleza cuando se separó cada implante para obtener semicuantitativamente la fortaleza relativa de cada implante.

Se estimó la resorción y la regeneración sobre la base de la cantidad de degradación de colágeno de implante y la deposición de colágeno sintetizado. Una estimación semicuantitativa de la tasa de resorción y la tasa de regeneración de tejido nuevo de los implantes de envoltorio de tejido sobre la base de análisis histológico y la observación total mostraron que la membrana de envoltorio de tejido tenía un equilibrio entre tasa de resorción y tasa de regeneración de tejido nuevo. En cualquier momento durante el curso del experimento se mantuvo la cantidad total de colágeno. El colágeno depositado recientemente no provoca ningún problema de adhesión, lo que sugiere que el tejido era funcional en lugar de tejido fibroso o cicatricial que a menudo ocurre como resultado de reacción a inflamación o reacción a cuerpo extraño hacia el implante. Adicionalmente, el complejo implante-tejido nuevo tenía una resistencia a extracción, es decir, tiene una fortaleza mecánica relativamente alta.

Evaluación en vivo de un implante de envoltorio de tendón enrollado espiralmente como hoja protectora para reparación de tendón

En el estudio se usaron un total de 7 conejos Blancos de Nueva Zelanda machos adultos (4,0-4,5 kg). Se sometieron a cirugía de reparación de tendón veinte dedos de patas delanteras. La anestesia para todos los procedimientos consistió en una inducción con inyección intramuscular de una combinación de ketamina, medetomidina, butorfanol, seguida por mantenimiento de anestesia general usando isoflurano. Todas las cirugías se realizaron usando técnicas asépticas.

Tras la anestesia general, la pata delantera derecha o ambas patas delanteras del conejo se rasuraron y se prepararon con solución de betadine. Se incidieron las superficies flexoras de los dedos segundo y cuarto de las patas delanteras sobre las falanges basal y media. Con disección afilada, se identificaron las fundas de tendón flexor de los dedos y se abrieron mediante una incisión anterolateral. Se identificaron tendones flexores profundos de los dedos de las manos entre las poleas anulares primera y segunda, se elevaron de entre los deslizantes del flexor superficial de los dedos, y se dividieron transversalmente con un escalpelo afilado. Entonces se reparó el tendón mediante sutura monofilamento no absorbible 7-0.

Los animales se dividieron en tres grupos. En el Grupo 1 (n=7 dedos), con un envoltorio de tendón enrollado espiralmente, 1 cm de longitud (es decir, la altura H en la figura 1a), se envolvió circunferencialmente alrededor del tendón reparado en lugar de su funda dañada y los extremos del envoltorio se suturaron entre sí con nilón 8-0. En el Grupo 2 (n=6 dedos), tras la reparación de tendón no se aplicó hoja protectora de tendón, como control. En el Grupo 3 (n=7 dedos), el tendón no se dividió ni reparó, como grupo normal. Tras la reparación de tendón, se cerró la herida con sutura Vicryl 3-0. Las patas no se inmovilizaron ni se vendaron. Tras tres semanas, se midió la flexión de

articulación de los dedos. Como se indica con los resultados mostrados en la Tabla 2 a continuación, el envoltorio de tendón ayudó inesperadamente a minimizar la adhesión entre el tendón lesionado y los tejidos circundantes.

Tabla 2

	Grupo 2 (n=6)	Grupo 1 (n=7)	Grupo 3 (n=7)
Articulación interfalángica proximal	$6,5^{\circ} \pm 1,64^{\circ}$	$12^{\circ} \pm 2,52^{\circ}$	$11,17^{\circ} \pm 4,40^{\circ}$
Articulación metacarpofalángica	$11,0^{\circ} \pm 1,94^{\circ}$	$18,17^{\circ} \pm 4,96^{\circ}$	$23,5^{\circ} \pm 11,13^{\circ}$

REIVINDICACIONES

1. Una membrana para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado, la membrana comprende:
- 5 una hoja de una matriz porosa formada de fibras biopoliméricas reticuladas que se orientan circunferencialmente alrededor de un mandril durante la fabricación de la hoja, la hoja se enrolla espiralmente de modo que al menos una parte se superpone a otra parte de la hoja y, al absorber un fluido, las partes superpuestas se adhieren de cerca entre sí para prohibir la penetración celular,
- 10 en donde la hoja es reenrollable, reabsorbible, semipermeable, y oclusiva a células; y la hoja tiene un grosor de 0,05 mm a 1 mm, una densidad de 0,05 g/cm³ a 0,8 g/cm³, una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 2x10⁶ Daltons, una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 1 kg, un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 5 segundos, y un tiempo de resorción en vivo de 2 meses a 12 meses.
2. La membrana de la reivindicación 1, en donde las fibras biopoliméricas son fibras de colágeno.
3. La membrana de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la hoja tiene un grosor de 0,1 mm a 0,4 mm, una densidad de 0,2 g/cm³ a 0,8 g/cm³, una altura de 2 cm a 5 cm, una longitud de 0,4 cm a 4 cm, una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 7x10⁴ Daltons, una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 0,7 kg, un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 1 segundo, y un tiempo de resorción en vivo de 4 meses to 9 meses.
- 15 4. La membrana de cualquier reivindicación anterior, que comprende además un agente bioactivo.
5. La membrana de cualquier reivindicación anterior, en donde la hoja tiene una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 1x10⁵ Daltons.
- 20 6. La membrana de cualquier reivindicación anterior, en donde la dimensión de la hoja a lo largo de la dirección circunferencial es inferior a dos veces la circunferencia del tejido que tiene el lugar lesionado; y/o
- en donde la dimensión de la hoja a lo largo de la dirección longitudinal se extiende al menos 0,5 cm más allá de cada uno de los extremos del lugar lesionado.
- 25 7. Una membrana para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado, la membrana comprende:
- una hoja de una matriz porosa formada de fibras biopoliméricas reticuladas que se orientan circunferencialmente alrededor de un mandril durante la fabricación de la hoja, la hoja se enrolla helicoidalmente para formar una hélice que tiene un paso de 2 mm a 40 mm y un diámetro interior de 1 mm a 50 mm,
- 30 en donde la hoja es reenrollable, reabsorbible, semipermeable, y oclusiva a células; y la hoja tiene un grosor de 0,05 mm a 1 mm, una densidad de 0,05 g/cm³ a 0,8 g/cm³, una anchura de 2 mm a 30 mm, una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 2x10⁶ Daltons, una resistencia a extracción de sutura de 0,1 kg a 1 kg, un tiempo de reenrollamiento de 0,1 segundos a 5 segundos, y un tiempo de resorción en vivo de 2 meses a 12 meses.
- 35 8. La membrana de la reivindicación 7,
- en donde las fibras biopoliméricas son fibras de colágeno.
9. La membrana de las reivindicaciones 7 o 8, que comprende además un agente bioactivo; y/o en donde la hoja tiene una permeabilidad a moléculas que tienen pesos moleculares no superiores a 1x10⁵ Daltons.
- 40 10. Un método para preparar una membrana enrollada espiralmente, el método comprende: reconstituir fibras biopoliméricas dispersadas en una solución;
- colocar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de un primer mandril;
- rotar el primer mandril para orientar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de la circunferencia del mandril para convertir las fibras biopoliméricas reconstituidas sobre el mandril hasta una membrana tubular;
- secar la membrana tubular;
- 45 cortar longitudinalmente la membrana tubular;
- enrollar la membrana cortada longitudinalmente sobre un segundo mandril que tiene un diámetro más pequeño que el primer mandril de modo que al menos una parte de la membrana se superponga a otra parte de la membrana;
- insertar la membrana enrollada en una malla tubular; y

reticular las fibras biopoliméricas, formando de ese modo una membrana enrollada espiralmente de fibras biopoliméricas orientadas, y en donde las fibras biopoliméricas opcionalmente son fibras de colágeno.

11. Un método para preparar una membrana enrollada helicoidalmente, el método comprende:

reconstituir fibras biopoliméricas dispersadas en una solución;

5 colocar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de un mandril;

rotar el mandril para orientar las fibras biopoliméricas reconstituidas alrededor de la circunferencia del mandril para convertir las fibras biopoliméricas reconstituidas sobre el mandril hasta una membrana tubular;

secar la membrana tubular;

retirar la membrana del mandril;

10 reticular las fibras biopoliméricas;

insertar la membrana en un molde de guía de corte; y

cortar la membrana, formando de ese modo una membrana enrollada helicoidalmente de fibras biopoliméricas orientadas, que tiene un paso de 2 mm a 40 mm y una anchura de 2 mm a 30 mm, y en donde las fibras biopoliméricas opcionalmente son fibras de colágeno.

15 12. La membrana enrollada espiralmente preparada mediante el método de la reivindicación 10.

13. La membrana enrollada helicoidalmente preparada mediante el método de la reivindicación 11.

14. Uso de una membrana de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en un método para envolver y proteger un tejido cilíndrico que tiene un lugar lesionado, en el que el método comprende:

20 colocar la membrana de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en un fluido para permitir que la membrana se hidrate;

desenrollar con una fuerza la membrana hidratada; y

llevar la membrana enrollada a las proximidades del lugar lesionado, de modo que, al liberar la fuerza, la membrana se reenrolla y envuelve el lugar lesionado.

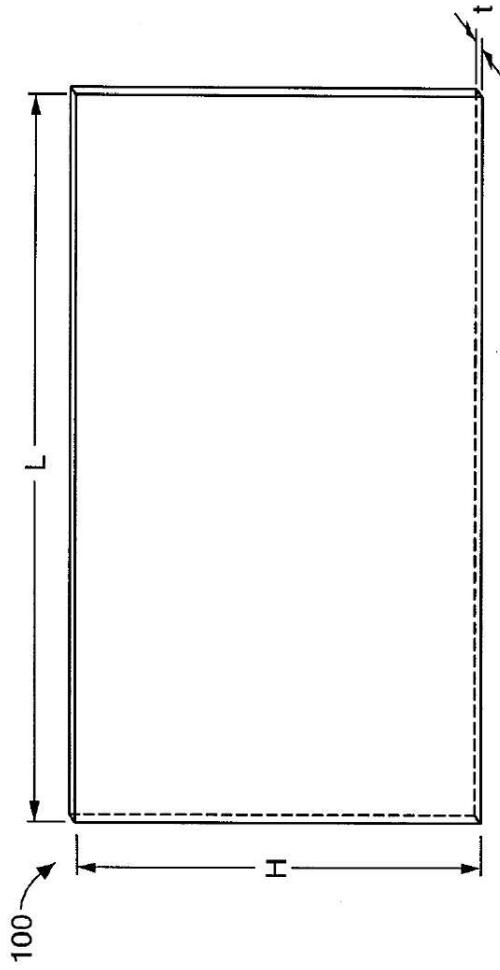


FIG. 1b

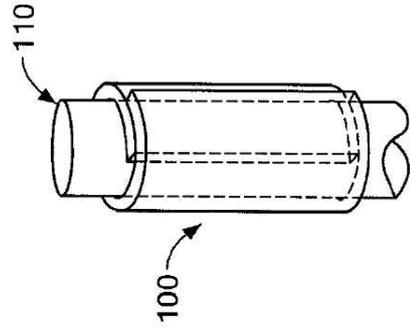


FIG. 1c

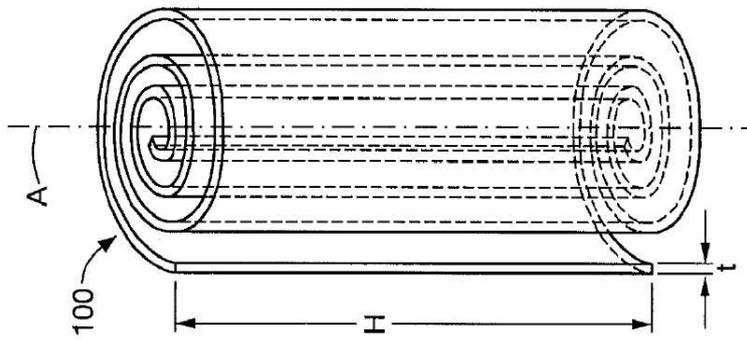


FIG. 1a

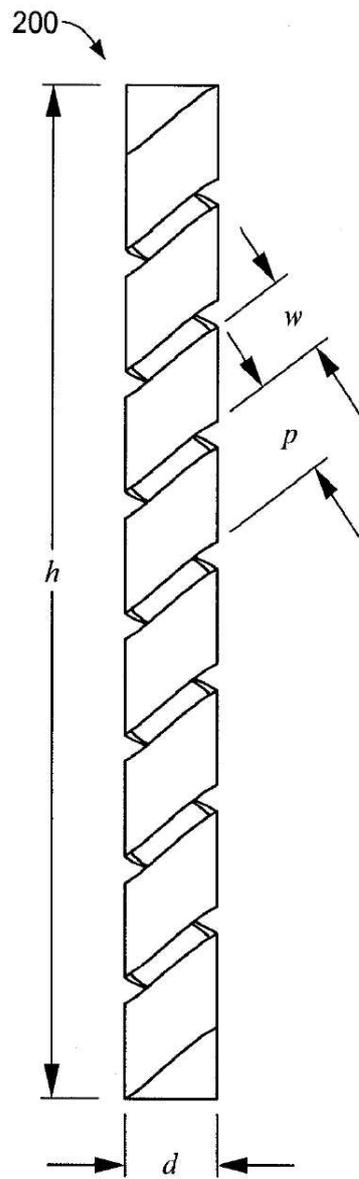


FIG. 2a

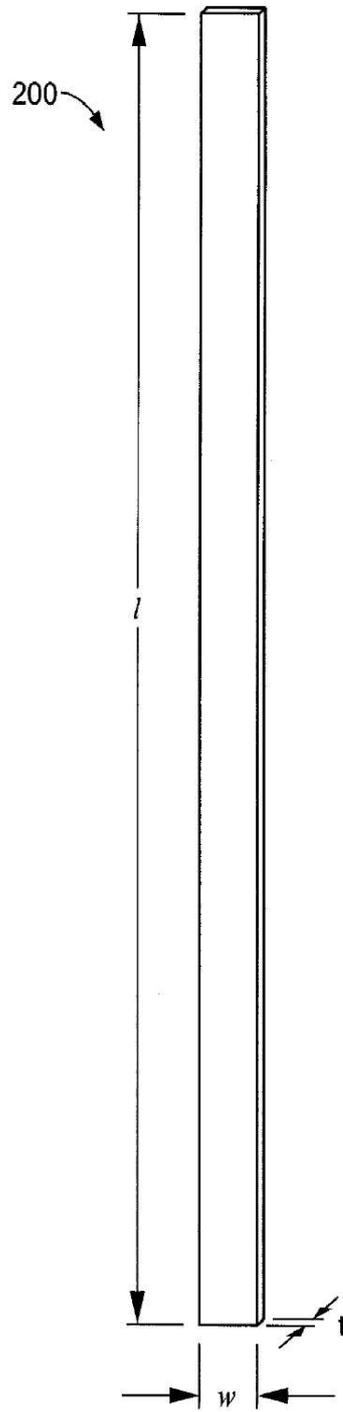


FIG. 2b