

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 662 647**

51 Int. Cl.:

A61L 31/14 (2006.01)

A61L 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2008 PCT/EP2008/009139**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2009 WO09056298**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2008 E 08844346 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2214734**

54 Título: **Uso de una biomatriz de colágeno biofuncional regenerativa para tratar defectos viscerales o parietales**

30 Prioridad:

30.10.2007 US 983776 P

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

09.04.2018

73 Titular/es:

**BAXTER INTERNATIONAL INC. (50.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US y
BAXTER HEALTHCARE SA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ODAR, JOHANN;
NISTOR-GALLO, RAYMOND y
CALIARI, LAURA**

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 662 647 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

Uso de una biomatriz de colágeno biofuncional regenerativa para tratar defectos viscerales o parietales

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 Las realizaciones de la presente invención abarcan el uso de una biomatriz de colágeno reconstituida, regenerativa, biofuncional, junto con o sin sellador de fibrina, polietilenglicol u otros materiales, para tratar defectos en una membrana visceral o parietal, tal como para prevenir pérdidas post-quirúrgicas de tejido y fugas de aire.

10 Las pérdidas post-operatorias de tejido y de aire prolongadas son una causa principal de morbilidad después de la resección pulmonar y otros tipos de cirugía de la membrana visceral o parietal y llevan a tiempo de drenaje prolongado que se asocia con dolor e inmovilización. Estas complicaciones conllevan para los pacientes un mayor riesgo de infecciones, hemorragias, adhesiones, neumotórax y fístulas bronquiopleurales y, en consecuencia, una estancia hospitalaria prolongada, lo cual aumenta el coste del cuidado de la salud. Técnicas quirúrgicas que resuelven esta cuestión incluyen el uso de suturas o dispositivos de grapado, con o sin el uso concomitante de selladores quirúrgicos, que han demostrado ser insuficientes y no son capaces de eliminar las pérdidas de tejido o de aire durante la cirugía pulmonar.

15 Se han probado diversos materiales naturales y sintéticos complementarios con diferentes resultados para solucionar las pérdidas de tejido o de aire durante la resección pulmonar. Estos materiales incluyen selladores de fibrina y pegamentos sintéticos. En algunos casos se emplean selladores para reforzar las líneas de sutura o grapa. Sin embargo, han tenido un éxito limitado y no pueden reemplazar una técnica quirúrgica exacta y precisa. Además, la cicatrización interna, la fibrosis y las adhesiones después de la cirugía de membrana parietal o visceral son bien conocidas y son efectos secundarios no deseados de tal cirugía.

20 En consecuencia, existe una gran necesidad de mejores sistemas y técnicas para la regeneración controlada y dirigida de tejido con el fin de tratar o prevenir pérdidas de tejido post-quirúrgicas o post-traumáticas, pérdidas de fluidos (por ejemplo sangre, fluidos serosos, bilis) o pérdidas de aire en tejidos pulmonares, y para promover el proceso de curación y regeneración de tejido tras lesiones quirúrgicas y traumáticas. También son necesarias matrices que no absorban sangre, que soporten el remodelado, la regeneración y el proceso de curación de heridas, que dirijan el crecimiento y el crecimiento interno de las células. Además, existe la necesidad de técnicas que impliquen el reemplazo y la regeneración de vísceras cortadas, como la pleura que cubre el pulmón.

25 Realizaciones de la presente invención proporcionan soluciones para tales necesidades. Aspectos de la presente invención abarcan el uso de una biomatriz de colágeno biofuncional, opcionalmente con un sellador de fibrina, para tratar quirúrgicamente defectos de tejidos y membranas parietales o viscerales después de la resección y para tratar defectos de tejido pulmonar o de una membrana visceral, tal como la pleura visceral, después de la cirugía de resección pulmonar. La efectividad de tales técnicas puede ser demostrada por los resultados de un ensayo animal usando una biomatriz de colágeno para reparar y regenerar defectos viscerales. Esta biomatriz de colágeno proporciona una matriz con una estructura de capa especial e incluye colágeno naturalmente reticulado, puro, de origen equino. La biomatriz puede actuar como sustituta de la membrana visceral o visceralis cortada y posteriormente, durante el proceso de curación, como biomatriz regenerativa para el crecimiento interno de células y la formación de, por ejemplo, una neo-pleura visceral. La biomatriz también puede actuar como un sello efectivo contra pérdidas de fluido, el cual es particularmente ventajoso, ya que la función del órgano o del pulmón mejora enormemente en ausencia de pérdidas de fluido en la membrana visceral. De manera relacionada, las realizaciones abarcan el uso de una biomatriz de colágeno para prevenir pérdidas de fluido post-quirúrgicas en la resección pulmonar u otra cirugía pulmonar o para tratar defectos de una membrana visceral, tal como una membrana pleural.

La EP 0781564A2 describe el uso de una membrana de colágeno que comprende al menos dos capas. La US 2001/0016205A1 describe un laminado de colágeno.

BREVE SUMARIO DE LA INVENCION

45 Realizaciones de la presente invención incluyen una biomatriz de colágeno biofuncional tal como se define en las reivindicaciones, opcionalmente junto con un sellador de fibrina, y su uso para la reparación de la membrana parietal o visceral, tal como para reparación pleural, y para la regeneración de tejido en pacientes que experimentan una cirugía pulmonar, a la vez evitando o inhibiendo pérdidas de tejido, de aire, de fluido y similares persistentes. El uso de selladores quirúrgicos solos o como soportes para líneas de grapas o de sutura generalmente no es efectivo para reducir la incidencia de AAL (Alveolar Air Leaks- pérdidas de aire alveolar) y PAAL (Persistent Alveolar Air Leaks - pérdidas de aire alveolar persistentes). En contraste, realizaciones de la presente invención abarcan el uso de láminas de colágeno como se define en las reivindicaciones aplicadas opcionalmente junto con un sellador de fibrina sobre defectos de tejido, por ejemplo en un pulmón lesionado insuflado, con el propósito de conseguir una aerostasis inmediata y extendida contemporánea y opcionalmente una hemostasis. La formulación de láminas de la

5 biomatriz de colágeno usada para este propósito puede mejorar la función pulmonar durante la respiración. Las fibrillas de colágeno de la biomatriz de colágeno pueden proporcionar una matriz soporte para la sustitución y regeneración y facilitar la migración de fibroblastos y células reparadoras. En algunos casos, esta biomatriz de colágeno se proporciona para el crecimiento interno dirigido y la formación de novo de matriz extracelular con el fin de regenerar membranas parietales y viscerales, por ejemplo para tratar defectos de la membrana visceral del pulmón tras la decorticación pulmonar.

10 La presente invención abarca el uso de una composición en la fabricación de un medicamento para la regeneración de una membrana visceral o parietal en un mamífero. La composición incluye una biomatriz de láminas de colágeno según la presente invención que dirige el crecimiento celular en los intersticios entre las láminas de colágeno de la biomatriz. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede formar una capa esencialmente hermética a los líquidos y al aire entre la superficie de un órgano y una cavidad o tejido adyacente. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede unirse a una membrana visceral o parietal del paciente usando un sellador de fibrina. Opcionalmente, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede acoplarse con un material que comprende polietilenglicol. En algunos casos, la biomatriz no promueve adhesiones con un tejido adyacente después del crecimiento celular dentro de los intersticios de la biomatriz de láminas de colágeno multicapa. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede ser suave y esencialmente no porosa. Opcionalmente, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede ser suave y no porosa. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa es reabsorbida y remodelada en tejido natural. La composición puede proporcionarse o disponerse en forma de kit.

20 En otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan una biomatriz de láminas de colágeno según la presente invención para su uso para inhibir pérdidas post-operatorias en un tejido visceral o parietal. La biomatriz de colágeno puede aplicarse post-operatoriamente tras la resección del tejido parietal o visceral para prevenir o inhibir pérdidas de tejido o de aire. La biomatriz de colágeno puede reclutar fibroblastos y otras células regeneradoras de tejido. La biomatriz de colágeno incluye una biomatriz de colágeno con intersticios entre capas de colágeno para permitir el crecimiento celular entre las capas. La biomatriz de colágeno puede aplicarse junto con un sellador de fibrina. La biomatriz de colágeno junto con un sellador de fibrina puede prevenir o inhibir pérdidas de aire hasta 28 días después de una cirugía pulmonar. El sellador de fibrina puede aplicarse sobre el defecto con la biomatriz de colágeno aplicada sobre o junto con un sellador de fibrina. En algunos casos, las áreas de tejido pulmonar cubiertas con una biomatriz de colágeno se regeneran más rápidamente que áreas del tejido de pulmón cubiertas con un sellador de fibrina.

35 Todavía en otro aspecto, realizaciones de la presente invención abarcan el uso de una composición en la fabricación de un medicamento para la reparación de un defecto de la pleura visceral en un mamífero. La composición incluye una biomatriz de láminas de colágeno según la presente invención. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede dirigir el crecimiento de células en los intersticios entre las capas de colágeno de la biomatriz. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa forma una capa esencialmente hermética a los líquidos y al aire entre una superficie de pulmón exterior y una cavidad pleural. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede unirse a la pleura visceral del paciente usando un sellador de fibrina. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa se acopla con un material que incluye polietilenglicol. Opcionalmente, la biomatriz no puede promover adhesiones con la pleura parietal después del crecimiento celular dentro de los intersticios de la biomatriz de láminas de colágeno multicapa. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa es suave y esencialmente no porosa. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa es suave y no porosa. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede ser reabsorbida y remodelada en tejido natural. En algunos casos, la composición está disponible en forma de kit.

45 En algunos aspectos, realizaciones de la presente invención abarcan una biomatriz de láminas de colágeno según la presente invención para su uso en la inhibición de pérdidas de aire post-operatorias en los pulmones. La biomatriz de colágeno puede aplicarse post-operatoriamente después de la resección pulmonar o de otra cirugía pulmonar para prevenir pérdidas de aire. En algunos casos, la biomatriz de colágeno recluta fibroblastos y otras células regeneradoras de tejido. Opcionalmente, la biomatriz de colágeno puede aplicarse junto con un sellador. En algunos casos, la biomatriz de colágeno junto con un sellador de fibrina previene pérdidas de aire hasta 28 días después de la cirugía. En algunos casos, el sellador de fibrina se aplica sobre el defecto con la biomatriz de colágeno aplicada sobre o junto con el sellador de fibrina. En algunos casos, las áreas del tejido pulmonar cubiertas con la biomatriz de colágeno se regeneran de forma más rápida que aquellas áreas de tejido pulmonar cubiertas con un sellador de fibrina.

55 Para un entendimiento más completo de la naturaleza y ventajas de la presente invención, se debería hacer referencia a la siguiente descripción detallada tomada junto con las figuras adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: ilustra aspectos seleccionados de la anatomía torácica del paciente.

- Figura 2: ilustra aspectos seleccionados de la anatomía torácica del paciente y defectos de tejido y membrana visceral.
- Figura 2A: ilustra aspectos seleccionados de la anatomía torácica del paciente y defectos de tejido y membrana visceral.
- 5 Figura 3: ilustra aspectos de una técnica de tratamiento de defectos de tejido pulmonar y la membrana visceral pleural, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 4: ilustra aspectos de una técnica de tratamiento de defectos de tejido pulmonar y la membrana visceral pleural, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 10 Figura 5: ilustra aspectos de una técnica de tratamiento de defectos de tejido pulmonar y la membrana visceral pleural, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 6: ilustra aspectos de una técnica de tratamiento de defectos de tejido pulmonar y la membrana visceral pleural, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 6A: ilustra aspectos de una técnica de tratamiento de defectos pleurales, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 15 Figura 6B: ilustra aspectos de una biomatriz de colágeno para tratar un defecto de la membrana visceral, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 7: fotografía SEM (microscopio electrónico de exploración) que ilustra la superficie hemética a fluido y aire principalmente no porosa o sin poros de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 20 Figuras 8A y 8B: fotografías tomadas bajo condiciones ESEM (microscopía electrónica de exploración ambiental), lo cual significa condiciones casi naturales en una atmósfera ligeramente húmeda, ilustrando la superficie superior, vista desde el lado de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figuras 9A y 9B: fotografías tomadas bajo condiciones ESEM que ilustran la superficie inferior de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 25 Figura 10: fotografía SEM que ilustra la superficie de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional hidratada de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figuras 11A, 11B y 11C: fotografías tomadas bajo condiciones ESEM (atmósfera húmeda) que ilustran la sección transversal de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 30 Figuras 12A y 12B: fotografías SEM que ilustran la sección transversal de una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional seca de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 13: tejido de pulmón con defectos o pérdidas de tejido y de aire después de la resección de la membrana visceral pleural.
- 35 Figura 14: aplicación de las láminas de colágeno sobre la superficie de una herida, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 15: evaluación de pérdidas de tejido o de aire post-aplicación bajo agua (prueba hidro-neumática) del pulmón, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 16: láminas de colágeno que cubren el tejido pulmonar y proporcionan un cierre hemético a los líquidos y al aire, a la vez que protege la celularidad del tejido, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 40 Figura 17: portaobjetos histológico de defectos de tejido pulmonar sellados con una biomatriz de láminas de colágeno fijada con un sellador de fibrina, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 18: portaobjetos histológico de tejido pulmonar sellado con un sellador de fibrina, mostrando alta afinidad celular, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- 45 Figura 19: portaobjetos histológico de una biomatriz de colágeno (parte inferior de portaobjetos) que sella defectos de tejido de acuerdo con realizaciones de la presente invención.
- Figura 20: fibroblastos reclutados y que crecen dentro de los intersticios de la biomatriz de colágeno de acuerdo con las realizaciones de la presente invención.
- 50 Figura 21: aspecto histológico normal de la membrana visceral pleural sobre la superficie del tejido pulmonar.
- Figura 22: la biomatriz de colágeno remodelada y la membrana visceral regenerada cuatro semanas después del implante, de acuerdo con realizaciones de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

55 Las membranas serosas asociadas con diversos órganos del cuerpo normalmente incluyen una capa visceral y una capa parietal. Las cavidades serosas incluyen la cavidad pericardial, que rodea el corazón, la cavidad pleural, que rodea los pulmones, y la cavidad peritoneal, que rodea muchos órganos abdominales. Las realizaciones de la presente invención abarcan el uso de una biomatriz de colágeno para el tratamiento de tejido y defectos o pérdidas de la membrana parietal o visceral, tales como aquéllos que pueden encontrarse en órganos como el pulmón. El pulmón está rodeado de una membrana visceral pleural, que es un tejido seroso delicado delgado. El daño de la

60 membrana visceral pleural y del tejido pulmonar, por ejemplo, junto con resecciones a diferentes grados (cirugía de resección de pulmón) puede presentar complicaciones amenazadoras para la vida del paciente. Las pérdidas de tejido y de aire postoperatorias son una complicación frecuente después de la resección pulmonar del cáncer de

pulmón u otras patologías del tejido pulmonar, tal como fibrosis y enfisema. Las pérdidas de aire pueden provocar serias complicaciones, como empiema, o prolongar la necesidad de entubación y la hospitalización. La pérdida de aire (por ejemplo, de la superficie suturada o grapada de resecciones de pulmón) es conocida por influir negativamente en la morbilidad y la mortalidad después de la cirugía pulmonar.

5 Membranas viscerales ilustrativas incluyen el peritoneo visceral, la pleura visceral, y el epicardio o pericardio visceral. Como se sugiere antes, las membranas viscerales pueden rodear órganos como el corazón, pulmones, hígado, bazo, vesícula biliar y similares. Membranas parietales ilustrativas incluyen el peritoneo parietal, la pleura parietal y el pericardio parietal. Defectos de tales membranas parietales o viscerales pueden conducir a pérdidas de fluidos no deseadas. Las membranas parietales o viscerales del pulmón, hígado, riñón, bazo y la cavidad torácica y abdominal tienen los mismos o similares esquemas de reacción frente a la curación de heridas por lesiones, resecciones, daño y similares, incluyendo hemostasis, formación de fibrina, fibrina y colágeno del tejido lesionado como guía para la curación de heridas y células reparadoras, invasión de fibroblastos y células reparadoras, reconstrucción de la matriz extracelular/estructura de colágeno y vascularización. La reacción de los fibroblastos y las células reparadoras a las biomatrices de colágeno biofuncional aquí descritas pueden basarse en principios iguales o similares para muchos defectos de las membranas parietales o viscerales, por ejemplo empleando propiedades de la biomatriz de cierta manera, como mediante crecimiento interno dirigido y conducción de fibroblastos y células reparadoras. Las realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para tratar defectos de tejido o de la membrana parietal o visceral, incluyendo técnicas para tratar defectos de la membrana parietal y visceral o pérdidas del pulmón. Normalmente, las membranas viscerales como parte de un tejido u órgano tienen capas de células epiteliales/mesoteliales y otras capas y son significativamente diferentes de otros tipos de tejidos encontrados en el cuerpo. De acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, una biomatriz de colágeno bioactiva multicapa puede usarse para dirigir el crecimiento celular interno y la formación de novo de matriz extracelular en la regeneración y restauración de la membrana visceral, como para la regeneración de la membrana visceral pleural.

25 **Aplicación de biomatriz de colágeno a paciente**

Volviendo ahora a las figuras, la Figura 1 ilustra aspectos relevantes de la anatomía torácica de un paciente. El pulmón 110 del paciente 100 está adyacente a y cubierto por una membrana de pleura visceral 120. Esta membrana de pleura visceral se une directamente al pulmón y está rodeada por una membrana pleural parietal exterior 140, la cual es adyacente a la pared del pecho 150 y delinea el interior de la cavidad torácica. Como se muestra aquí, la pared del pecho 150 incluye las costillas 152 y los músculos intercostales 154.

Juntas, la membrana visceral 120 y la membrana parietal 140 forman el mesotelio. Una cavidad pleural 130, algunas veces referida como espacio intrapleural o interparietal, es la cavidad o espacio entre la membrana pleural visceral 120 y la membrana pleural parietal 140. La capa parietal 140 secreta fluido pleural en la cavidad pleural 130 y el fluido pleural es reabsorbido por la capa visceral 120.

35 La membrana pleural visceral 120 y la membrana pleural parietal 140 tienden continuamente a alejarse una de otra debido a la condición elástica estirada de los pulmones y el mantenimiento de la presión intrapleural dentro de la cavidad pleural 130 es importante para la ventilación pulmonar. Por ejemplo, durante la inspiración existe una presión negativa dentro de la cavidad pleural 130 y durante la expiración existe una presión positiva dentro de la cavidad pleural 130. Si la pleura está comprometida, el aire puede ser succionado en la cavidad pleural 130, la cual puede separar las dos capas pleurales y conducir a un colapso del pulmón. Así, la membrana pleural visceral 120 y la membrana pleural parietal 140 juegan un papel importante en la respiración y pérdidas de aire o defectos en la membrana y el tejido pulmonar pueden representar un riesgo significativo para el paciente.

45 De manera relacionada, el mantenimiento del fluido pleural dentro de la cavidad pleural 130 también es importante para el funcionamiento respiratorio del paciente. El fluido lubrica las superficies de la membrana pleural plana y ayuda a los pulmones a moverse fácilmente en relación con la pared del pecho, por ejemplo reduciendo la fricción entre el pulmón y la superficie interna de la pared del pecho conforme el pulmón se expande y contrae durante la respiración normal. Si la membrana pleural visceral 120 o la membrana pleural parietal 140 están dañadas y se rompe la interfase de fluido, puede producirse un neumotórax.

50 Ciertas técnicas de cirugía pulmonar o lesiones pueden conducir a pérdidas de tejido, de aire o fluido-fluido en un pulmón del paciente. Por ejemplo, la membrana pleural visceral 120 puede verse comprometida. Como se indica anteriormente, la integridad de la pleura juega un papel importante en la mecánica de la respiración. Las realizaciones de biomatriz de colágeno aquí descritas, que promueven o dirigen el crecimiento interno en su estructura plano multicapa, son adecuadas para prevenir o tratar tales pérdidas o defectos del pulmón y para mantener o restaurar el fluido de plano y la superficie hemética al gas del pulmón. Debido a la elasticidad de la biomatriz de colágeno, puede acomodarse fácilmente el movimiento del tejido pulmonar conforme el paciente respira.

La Figura 2 proporciona otra vista de la cavidad torácica de un paciente. Como se muestra aquí, el tejido pulmonar 210 está rodeado por la pleura visceral 220, la cual a su vez está rodeada por la pleura parietal 240. La membrana pleural visceral contiene varias capas histológicas. La primera capa incluye una sola capa de células mesoteliales, la segunda capa incluye una capa submesotelial de tejido conectivo suelto, la tercera capa es una capa elástica de lámina elástica externa, la cuarta capa es una capa de tejido conectivo suelto o intersticial conteniendo capilares largos, linfáticos y colágeno, y la quinta capa incluye fibras elásticas de lámina elástica interna y tejido fibroso que contacta el pulmón. La membrana visceral cubre el parénquima o tejido del pulmón y las fisuras interlobulares. La pared del pecho 250 incluye costillas 252 y músculo 24. La Figura 2 también muestra un área de resección o defecto del pulmón 201, quedando expuestos los alveolos o el tejido pulmonar 210, generando así pérdidas de aire pulmonar 202. Tales defectos pueden provocarse durante la cirugía del pulmón, por ejemplo, por un escalpelo del cirujano, o como resultado de una lesión. Conforme la membrana pleural visceral 220 es retirada o comprometida, se establece una comunicación de fluido entre el tejido pulmonar 210 y la cavidad pleural 230. La retirada de la membrana pleural visceral puede conducir a pérdidas según los alveolos se rompen o quedan expuestos en la cavidad pleural. En algunos casos, los bronquiolos dañados también pueden quedar expuestos en la cavidad pleural. Las realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para sellar o disminuir tal comunicación de fluido. Por ejemplo, las pérdidas de fluido 202 pueden cerrarse o cubrirse usando una biomatriz de colágeno.

La Figura 2A proporciona todavía otra vista de la cavidad torácica de un paciente. Como se muestra aquí, el tejido de pulmón 210a está rodeado por la pleura visceral 220a, la cual a su vez está rodeada por la pleura parietal 240a. La pleura visceral contiene varias capas histológicas. La primera capa incluye una sola capa de células mesoteliales, la segunda capa incluye una capa submesotelial de tejido conectivo suelto, la tercera capa es una capa elástica de lámina elástica externa, la cuarta capa es una capa de tejido conectivo suelto o intersticial conteniendo capilares grandes, linfáticos y colágeno y la quinta capa incluye fibras elásticas de lámina elástica interna y tejido fibroso que contacta el pulmón. La pleura visceral cubre el parénquima o tejido pulmonar y las fisuras interlobulares. La pared del pecho 250a incluye costillas 252a y músculo 254a. La Figura 2 A también muestra un área de resección o defecto del pulmón 201a, por el cual tejido de pulmón o alveolo 210a queda expuesto, provocando así pérdidas de aire pulmonar 202a. Tales defectos pueden provocarse durante la cirugía de pulmón, por ejemplo mediante un escalpelo de cirujano, o ser resultado de una lesión. Conforme la pleura visceral 220a es retirada o comprometida, se establece una comunicación de fluido entre el tejido pulmonar 210a y la cavidad pleural 230a. La retirada de la pleura visceral puede conducir a pérdidas según los alveolos se rompen o exponen en la cavidad pleural. En algunos casos, los bronquiolos dañados también pueden quedar expuestos en la cavidad pleural. Realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para sellar o disminuir tal comunicación de fluido. Por ejemplo, las pérdidas de fluido 202a pueden cerrarse o cubrirse con una biomatriz de colágeno.

La Figura 3 ilustra un defecto 305 en la membrana visceral 320. El tejido del pulmón 310 es expuesto a la cavidad pleural 330 y la membrana pleural parietal 340. Como se muestra aquí, la pared del pecho 350 incluye costillas 352 y músculo 354. Existen pérdidas de fluido 302 entre el tejido pulmonar 310 y la cavidad pleural 330. Por ejemplo, puede haber una comunicación de fluido entre los alveolos o bronquiolos expuestos o dañados y la cavidad pleural. Las realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para sellar o disminuir tal comunicación de fluido. Por ejemplo, las pérdidas de fluido o aire 302 pueden cerrarse o cubrirse con una biomatriz de colágeno.

Como se muestra en la Figura 4, una biomatriz de láminas de colágeno 460 puede unirse a la membrana pleural visceral del paciente 420, al tejido pulmonar de superficie 410 o ambos. La biomatriz de colágeno traslapa ligeramente la abertura en la membrana visceral del paciente a la cual está unida. La biomatriz 460 proporciona una barrera entre la superficie del pulmón 410 y la cavidad pleural 430 o la membrana parietal 440, adyacente a la pared del pecho 450. En algunos casos, la atracción natural entre la biomatriz de láminas de colágeno y la membrana visceral o el tejido de la superficie del pulmón puede usarse para unir la biomatriz de láminas de colágeno a la membrana visceral o al tejido superficial del pulmón sin el uso de un sellador, pegamento, sutura o técnica de ajuste a presión. En algunos casos, la biomatriz está pre-hidratada, de manera que, una vez hidratada, las láminas de colágeno pueden cortarse ligeramente más grandes que la abertura quirúrgica en la membrana visceral del paciente. Por ello, las láminas de colágeno pueden traslapar ligeramente la abertura de membrana visceral del paciente a la cual se unen. En una realización, las láminas de colágeno hidratadas se dimensionan para tener un traslape de aproximadamente 0,5 cm a aproximadamente 1 cm con la membrana visceral. La cantidad de traslape puede variar dependiendo de las preferencias y la habilidad del cirujano.

Como se muestra en la Figura 5, una lámina de colágeno o biomatriz 560 puede unirse a la membrana visceral del paciente 520, a tejido del pulmón superficial 510, o ambos usando un sellador de fibrina 570. Ejemplos de sellador de fibrina aprobados para uso quirúrgico incluyen selladores de fibrina TISSUCOL™ y TISSEEL™ (Baxter AG, Viena, Austria). Alternativamente, también puede emplearse un sellador quirúrgico aprobado para uso quirúrgico. El sellador de fibrina o sellador quirúrgico puede aplicarse en una línea continua alrededor de la porción de la lámina de colágeno que traslapa la membrana visceral con el fin de formar un sello hermético al líquido y al aire. La biomatriz de láminas de colágeno puede traslapar ligeramente la abertura de la membrana visceral del paciente a la cual se une. La biomatriz 560, opcionalmente junto con el sellador de fibrina 570, proporciona una barrera entre la superficie del pulmón 510 y la cavidad pleural 530 o la membrana parietal 540, adyacente a la pared del pecho 550. Como se

muestra aquí, la biomatriz es posicionada en o cerca de la superficie del tejido pulmonar y el sellador está dispuesto más profundamente dentro del tejido pulmonar. El sellador puede ayudar a cerrar defectos, por ejemplo contribuyendo a una barrera entre los alveolos o bronquiolos y la cavidad pleural.

5 En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno puede emplearse junto con otros productos. Por ejemplo, después de aplicar la biomatriz de láminas de colágeno al tejido y asegurarla por cualquier medio aquí descrito, puede aplicarse un producto anti-adhesión a la superficie superior o inferior de la biomatriz de láminas de colágeno o a tejidos adyacentes. La Figura 6 ilustra una técnica de reparación para tratar un defecto 605 de la membrana visceral 620 con una lámina de colágeno o biomatriz 660. Opcionalmente, la biomatriz de colágeno 660 puede ser tratada o combinada con un material anti-adhesión 680, tal como polietilenglicol (PEG). Por ejemplo, puede aplicarse PEG a, incorporarse en, acoplarse con o recubrirse sobre una superficie de la biomatriz, y puede operar como una 10 capa separadora entre la biomatriz 660 y el tejido circundante. Cuando la biomatriz es aplicada al paciente, la superficie con PEG puede colocarse mirando hacia la pared del pecho 650. Los fibroblastos que entran de la superficie de pulmón pueden migrar hacia la biomatriz, y el PEG puede prevenir o inhibir la formación de adhesiones entre la superficie del pulmón y la pleura parietal 640 o la pared del pecho. Aquí, puede aplicarse un producto basado en PEG a las superficies superior o inferior o a ambas de la biomatriz de láminas de colágeno, o a tejidos adyacentes. En algunos casos, puede emplearse una biomatriz de colágeno precubierta con PEG. Conforme la biomatriz de láminas de colágeno previene la adhesión dirigiendo la regeneración del tejido, en lugar creando una superficie “resbaladiza”, su acción puede ser complementada utilizando productos que crean temporalmente una superficie “resbaladiza” a la cual las células no se adherirán. En otra realización, puede usarse una biomatriz de 20 láminas de colágeno lista para el uso, la cual ya está recubierta con un producto basado en PEG en una o ambas superficies. Opcionalmente, la biomatriz 660 puede unirse a la pleura visceral del paciente 620, a tejido pulmonar superficial 610 o ambos usando un sellador de fibrina 670. La biomatriz 660, opcionalmente junto con el sellador de fibrina 670, proporciona una barrera entre la superficie pulmonar 610 y la cavidad pleural 630 o la membrana pleural parietal 640, la cual es adyacente a la pared del pecho 650. Una capa de PEG puede proporcionar una capa de separación, que mira hacia la membrana parietal, y también puede proporcionar una superficie resbaladiza que permite el movimiento de las membranas pleurales. Una capa de PEG también puede disolverse y reabsorberse rápidamente. La biomatriz de colágeno puede proporcionar un material regenerativo bioactivo multicapa que dirige el crecimiento interno celular e intensifica la regeneración de una membrana visceral. El sellador, incluyendo opcionalmente fibrinógeno y trombina, puede permitir la fijación, llenar pequeñas aberturas y ayudar a la curación de 25 heridas y a la unión celular y al crecimiento interno en días o semanas. Como se muestra aquí, el sellador mira hacia el tejido lesionado.

En algunos casos, puede aplicarse un producto anti-adhesión a las superficies superiores e inferiores de la biomatriz de láminas de colágeno. La Figura 6A ilustra una técnica de reparación para tratar un defecto 605a en la pleura visceral 620a con tal lámina de colágeno o biomatriz 660a. La pared del pecho 650a incluye costillas 652a y músculo 35 654a. Como se muestra aquí, la biomatriz de colágeno 660a es tratada o combinada con un material anti-adhesión 680a, tal como polietilenglicol (PEG), en un lado de la biomatriz y también se trata o combina con un material anti-adhesión 680b, tal como polietilenglicol (PEG), en el otro lado de la biomatriz. El material anti-adhesión 680a, 680b puede proporcionar una capa separadora entre la biomatriz 660a y el tejido circundante. Cuando la biomatriz es aplicada al paciente, una superficie con PEG puede ser colocada mirando hacia la membrana parietal 640a o la pared del pecho 650a y la otra superficie con PEG puede ser colocada mirando hacia el tejido pulmonar 610a. En algunas realizaciones, el recubrimiento de PEG exterior resbaladizo 680a puede intensificar el movimiento no alterado de la pleura visceralis y parietalis durante la respiración, y también puede ayudar a proporcionar un cierre temporal de lesiones y una capa de separación viscosa. La biomatriz de colágeno 660a puede facilitar el crecimiento interno celular dirigido y la regeneración y reconstrucción intensificada de un tejido normal, sano, por ejemplo 40 restitución ad integrum. El recubrimiento de PEG interior 680a' puede colocarse mirando hacia un tejido pulmonar que tiene pérdidas de aire. El recubrimiento de PEG interior 680a' puede llenar pequeñas aberturas del tejido pulmonar 610a y puede rápidamente ser hidrolizado y reabsorbido, por ejemplo en horas, y permitir la curación de heridas fisiológicas no alteradas en, por ejemplo, días o semanas. Tal biomatriz recubierta de PEG de doble lado facilita un manejo simple, debido a que la biomatriz puede ser aplicada con el lado correcto arriba o hacia abajo. La 50 Figura 6B ilustra una biomatriz de colágeno multicapa ilustrativa 660b con una malla quirúrgica 661b, la cual puede proporcionar estabilidad y mayor capacidad de sutura a la biomatriz. La malla quirúrgica 661b puede incluir cualquiera de diversas telas o paños quirúrgicos y puede incluir materiales tales como polipropileno, poliéster, politetrafluoroetileno y similares.

Antes del uso, las láminas de colágeno seco pueden hidratarse, por ejemplo en una solución salina fisiológica. En una realización, la solución salina fisiológica incluye una solución de cloruro de sodio 0,9%. En otra realización, las 55 láminas de colágeno se hidratan en soluciones conteniendo medicamento o excipientes. El lapso de tiempo necesario para hidratar las láminas de colágeno puede relacionarse con el espesor de las láminas. Las láminas de colágeno pueden hidratarse hasta que sean consistentes en espesor en toda su área. La biomatriz de láminas de colágeno puede ser resistente a la desintegración en agua o en soluciones salinas fisiológicas. En una realización, la lámina de colágeno es hidratada entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 1 hora en solución salina fisiológica. En otra realización, la lámina de colágeno es hidratada entre aproximadamente 1 segundo y 60

aproximadamente 30 minutos en solución salina fisiológica. En otra realización, la lámina de colágeno es hidratada entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 20 minutos en solución salina fisiológica. En otra realización, la lámina de colágeno es hidratada entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 10 minutos en solución salina fisiológica. Todavía en otra realización, la lámina de colágeno es hidratada entre aproximadamente 1 minuto y

5 aproximadamente 6 minutos en solución salina fisiológica. En otra realización, la lámina de colágeno es sumergida en la solución salina fisiológica y se retira inmediatamente. Tal semi-hidratación puede conducir a una mayor adherencia a los tejidos. En otra realización, la lámina de colágeno es hidratada aproximadamente 5 minutos en solución salina fisiológica. En otra realización, la lámina de colágeno no es hidratada antes de la implantación, la cual puede proporcionar adherencia inmediata en aplicación a tejidos e hidratación *in situ*.

10 Las realizaciones de la presente invención abarcan el uso, fabricación o aplicación de biomatrices de láminas de colágeno multicapa, tales como aquéllas descritas en la WO 2004/108179 o WO 2007/137839. Como se indica anteriormente, la biomatriz puede emplearse junto con un sellador de fibrina. En algunos casos, el sellador de fibrina puede ser aplicado a un sitio o ubicación de tratamiento antes de la aplicación de la biomatriz. En algunos casos, el sellador de fibrina y la biomatriz pueden aplicarse juntos. Los selladores de fibrina normalmente incluyen dos

15 componentes activos principales: fibrinógeno y trombina. La trombina ayuda a convertir el fibrinógeno en monómeros de fibrina, los cuales pueden reticularse para formar una matriz de fibrina, la cual puede enlazarse al tejido lesionado, tal como tejido pulmonar, y a las fibrillas de colágeno naturales de la biomatriz de colágeno. Un pegamento de fibrina puede incluir un sellador de fibrina autólogo, derivado del propio suero del paciente. En algunos casos, la biomatriz de colágeno se aplica en combinación con fibrinógeno, seguida por aplicación de trombina. En

20 algunos casos, se aplica el fibrinógeno, seguido por aplicación de la biomatriz de colágeno en combinación con trombina. En algunos casos, la biomatriz de colágeno es aplicada en combinación con fibrinógeno y trombina. El sellador de fibrina puede ser aplicado a una superficie de la biomatriz, por ejemplo en un lado de la biomatriz que mira posteriormente hacia la superficie del pulmón con la aplicación de la biomatriz al paciente. El sellador de fibrina puede ayudar a fijar o adherir la biomatriz al tejido del pulmón del paciente. En algunos casos, el sellador de fibrina

25 puede al menos llenar parcialmente las aberturas entre una superficie rugosa del tejido pulmonar pulmón y la biomatriz. Aquí, el sellador puede facilitar un contacto estrecho entre la biomatriz y la superficie del pulmón y soportar la unión y el crecimiento celular. El sellador de fibrina puede ser aplicado a una biomatriz de colágeno en una capa delgada. El sellador de fibrina también puede proporcionar propiedades barrera, por ejemplo, frente a fluidos y gases.

30 Opcionalmente, una biomatriz de colágeno, o un componente asociado a la biomatriz, tal como una capa de PEG o una capa de sellador de fibrina, puede tratarse con o inducir un agente colorante para permitir a un individuo discernir un lado de la biomatriz del otro. Por ejemplo, un lado de una biomatriz que incluye un sellador de fibrina para la fijación puede tener un agente colorante o tinte tal como azul de metileno. Tales marcadores visuales pueden ayudar al cirujano a determinar cómo aplicar la biomatriz a un paciente. En el ejemplo citado antes, el cirujano podría aplicar

35 la biomatriz de manera que el lado azul mire hacia la superficie del pulmón.

Como parte de un procedimiento quirúrgico, un cirujano u otro profesional del cuidado de la salud puede aplicar un enjuague a la biomatriz. Por ejemplo, un cirujano puede hidratar la biomatriz con una solución salina antes de la aplicación de la biomatriz al tejido del paciente. Sobre la aplicación al paciente, el fluido natural entre la pared de

40 pecho y el pulmón también puede proporcionar hidratación a la biomatriz. En algunos casos, el cirujano puede aplicar la biomatriz al paciente y puede recolocarla y reponerla según sea necesario. Tales técnicas pueden ser facilitadas con una biomatriz adecuadamente hidratada. La hidratación también puede realizarse con soluciones cuando la biomatriz ya está en su sitio.

En otra realización, la lámina de colágeno produce un sello hermético a los líquidos y al aire cuando se une a la pleura visceral autóloga o a la superficie de pulmón con o sin una línea continua de sellador de fibrina o sellador

45 quirúrgico. En otra realización, la lámina de colágeno que traslapa la pleura visceral o la superficie del pulmón puede puntearse con un sellador de fibrina o quirúrgico para unirse a la pleura visceral o a la superficie del pulmón. Una fijación de sello hemético a los líquidos puede ser ventajosa, ya que evita complicaciones asociadas al contacto de los tejidos adyacentes con hemorragias, por ejemplo inducción de formación de adhesión mediante sangrado sin control y exudación de fibrina. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno produce un sello hermético a los

50 líquidos o al aire cuando se une al tejido con una línea continua de sellador de fibrina o quirúrgico. En un ejemplo adicional, la biomatriz de láminas de colágeno que traslapa el tejido puede puntearse con un sellador de fibrina o un sellador quirúrgico para unirla al tejido. Todavía en otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno se une suturándola quirúrgicamente al tejido una vez que se ha posicionado en el sitio de contacto deseado. Si la biomatriz de láminas de colágeno va a ser suturada, pueden usarse técnicas de sutura sin tensión para prevenir la rotura de la

55 lámina. Puede ser deseable sellar líneas de sutura, por ejemplo con un sellador de fibrina. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno es posicionada e implantada de acuerdo con técnicas de ajuste a presión conocidas. En algunas técnicas, la biomatriz de láminas de colágeno es posicionada en el sitio de implantación deseado y sostenida en su lugar por los tejidos circundantes. Así, el injerto permanece en su lugar sin emplear suturas quirúrgicas, sellador de fibrina o pegamento sellador quirúrgico. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de

60 colágeno es posicionada e implantada sin el uso de sellador, pegamento, suturas o técnicas de ajuste a presión. En

esta técnica, la biomatriz de láminas de colágeno es posicionada en el sitio de implantación deseado y sostenida en su lugar mediante la atracción natural o adhesión que se produce entre la biomatriz de láminas de colágeno y el tejido de mamífero. En otro ejemplo, la semi-hidratación de la biomatriz puede intensificar la adherencia al tejido lesionado humedecido. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno puede ser aplicada a un tejido y fijada por cualquiera de los métodos aquí descritos y entonces otra biomatriz de láminas de colágeno puede aplicarse a un tejido adyacente mediante cualquiera de los métodos aquí descritos, resultando así en láminas adyacentes de la biomatriz de láminas de colágeno.

En otra realización, la lámina de colágeno se une suturándola quirúrgicamente al tejido lesionado, por ejemplo a la pleura visceral, una vez que se ha posicionado en el sitio de implantación deseado. Esta realización puede emplearse para unir la lámina de colágeno a las membranas pleurales viscerales autólogas del paciente. Si la lámina de colágeno va a ser suturada, pueden usarse técnicas de sutura sin tensión para prevenir rasgar la lámina. Las líneas de sutura pueden ser selladas, por ejemplo con un sellador de fibrina.

En otra realización, la lámina de colágeno es posicionada e implantada de acuerdo con técnicas de ajuste a presión. En esta técnica, la lámina de colágeno es posicionada en el sitio de implantación deseado y sostenida en su lugar mediante la presión interna natural presente en la anatomía. De esta manera, el injerto puede permanecer en su lugar sin el uso de suturas quirúrgicas, sellador de fibrina o pegamento de tejido.

En otra realización, la lámina de colágeno es posicionada e implantada sin el uso de sellador, pegamento, suturas o técnicas de ajuste a presión. En esta técnica, la lámina de colágeno es posicionada en el sitio de implantación deseada y sostenida en su lugar mediante la atracción natural o adhesión que ocurre entre la lámina de colágeno y el tejido lesionado, por ejemplo parénquima.

La lámina de colágeno puede ser utilizada como un injerto de membrana visceral de reemplazo temporal para reparar tejido visceral humano, por ejemplo tejido pleural visceral, debido a una condición congénita, defecto de nacimiento, enfermedad, lesión, remoción de tumor u otro procedimiento quirúrgico que rompe o penetra la membrana visceral de un paciente, o cualquier otra condición que puede beneficiarse de la reparación de la membrana visceral, por ejemplo la pleura visceral. La lámina de colágeno también puede ser utilizada para reparar tejido de la membrana visceral de cualquiera de diversos mamíferos, incluyendo, pero no limitando a, ovejas, monos, caballos, ratas, ratones, humanos, animales de laboratorio u otros mamíferos. Realizaciones de la presente invención están dirigidas adicionalmente a kits que contienen láminas de colágeno e instrucciones para su preparación y uso como membrana visceral de reemplazo.

Los métodos para cubrir el tejido con una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional multicapa pueden realizarse durante el tratamiento de cualquier lesión o defecto de membranas viscerales. En algunos casos, el paso de aplicar la matriz al paciente puede realizarse durante o como parte de una cirugía pulmonar. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede atraer células tales como células reparadoras y células regeneradoras y dirigir su crecimiento interno a lo largo de las capas bioactivas múltiples y a través y sobre la biomatriz de láminas. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede ser reabsorbida y remodelada a tejido natural mediante el crecimiento interior de células. La biomatriz de láminas de colágeno estructurada en capas puede actuar como un andamiaje bioactivo y biofuncional para el crecimiento interno celular *in vivo* y es reemplazada por tejido mamífero con colágeno autólogo estructurado en capas durante la regeneración y restauración. La biomatriz de láminas de colágeno puede ser reabsorbida por el mamífero al que le es implantada. Esta propiedad puede ser intensificada por la biofuncionalidad de las fibras de colágeno reticuladas naturales y la estructura de múltiples capas de la biomatriz de láminas de colágeno, como se muestra en las Figuras 11A-C y 12A-B, por ejemplo.

De acuerdo con algunas realizaciones, la frase "que cubre el tejido con una biomatriz de láminas de colágeno multicapa" significa, en general, que pone el tejido en contacto físico con una biomatriz de láminas de colágeno multicapa. En algunas realizaciones, el contacto del tejido con una biomatriz de láminas de colágeno multicapa resulta en un implante de la lámina. Ejemplos del posicionamiento de la biomatriz de láminas de colágeno multicapa son ilustrados en las Figuras 3-6 y 14. De acuerdo con algunas realizaciones, una biomatriz de colágeno se aplica sobre un defecto (sobrepuesta). De acuerdo con algunas realizaciones, una biomatriz de colágeno se aplica debajo de un defecto (subyacente).

Los productos de biomatriz de colágeno proporcionan muchas propiedades útiles. La interacción quimiotáctica en la cual se acoplan facilita la rápida infiltración de células endoteliales y fibroblastos, que a su vez producen y depositan nuevas fibras autólogas de colágeno en capas; una respuesta inflamatoria linfocítica limitada concomitante en estructuras circundantes promueve la absorción de la biomatriz de colágeno. El colágeno también posee propiedades hemostáticas, las cuales son adecuadas para uso terapéutico. Las plaquetas se depositan por sí mismas sobre la estructura de colágeno, se desintegran y, al hacerlo, liberan factores de coagulación que facilitan la formación de fibrina junto con factores de plasma.

Biomatriz de colágeno

De acuerdo con algunas realizaciones, la frase “biomatriz de láminas de colágeno multicapa” o “biomatriz de colágeno” o “láminas de colágeno” significa una biomatriz (por ejemplo, una matriz de material biocompatible y biofuncional) de fibrillas de colágeno naturales tratadas para eliminar componentes de no colágeno y para formar una lámina de fibrillas de colágeno con una estructura laminar multicapa a un nivel microscópico. Una lámina de colágeno multicapa puede ser de cualquier fuente, tal como origen bovino, ovino, porcino, equino o humano, tratado para eliminar componentes de no colágeno y para formar una lámina de fibrillas de colágeno con las mismas características físicas. Una biomatriz de láminas de colágeno de acuerdo con algunas realizaciones es esencialmente no porosa, como se determina mediante microscopía electrónica de exploración.

De acuerdo con algunas realizaciones, el término “biofuncional” como se usa aquí en el contexto de una biomatriz de láminas multicapa biofuncional significa que la biomatriz consiste en fibrillas de colágeno naturales que son reconocidas y utilizadas por las células de un animal de manera similar a las fibrillas de colágeno naturales del animal. Por ejemplo, sin limitación, tales funciones pueden incluir migración de células de reparación y regeneración a lo largo de fibrillas de colágeno biofuncionales y la estructura multicapa y la deposición de nueva matriz extracelular por las células incluyendo o reemplazando las fibrillas de colágeno biofuncionales.

De acuerdo con algunas realizaciones, la frase “biomatriz que no ocurre de manera natural” como se usa aquí significa una matriz fabricada o un esqueleto que tiene fibrillas de colágeno naturales formada a partir de (i) un material existente en la naturaleza (es decir, material natural) que ha sido tratado o procesado de manera que las fibrillas de colágeno contenidas en el material natural han sido movidas o reposicionadas de su arreglo natural dentro de la estructura de colágeno del material natural; o (ii) un material que no existe en la naturaleza (es decir, un material artificial no natural, tal como un material recombinante) tratado o procesado para manipular el arreglo de las fibrillas de colágeno. Por ejemplo, una biomatriz que no ocurre de manera natural puede formarse a partir de un material de inicio que incluye colágeno que ha sido procesado mecánicamente o químicamente (por ejemplo molido, picado, etc.). Una biomatriz de colágeno que se forma a partir del tratamiento o procesamiento de un material de inicio de manera que conserva la estructura del esqueleto de colágeno que ocurre de manera natural no es una biomatriz que no ocurre de manera natural (por ejemplo, tejido epidérmico tratado para eliminar componentes celulares mientras se conserva la estructura de colágeno que ocurre de manera natural).

En algunas realizaciones, la biomatriz de láminas de colágeno incluye proteínas de tejido conectivo con fibrillas de colágeno. Por ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno puede incluir proteínas de tejido conectivo con fibrillas de colágeno tipo I. Además de tener fibrillas de colágeno, una biomatriz de láminas de colágeno también puede incluir un excipiente, un conservante, un factor de crecimiento o un aditivo que ayuda a la flexibilidad y elasticidad del producto final. Cada capa de fibrillas de colágeno pueden ser esencialmente no porosa. De acuerdo con algunas realizaciones, la frase “esencialmente no porosa” significa que cualquier poro que está presente en una biomatriz de láminas de colágeno como resultado de la precipitación de fibrillas de colágeno para formar una lámina de colágeno están aislados principalmente unos de otros y los poros no están interconectados de manera que atraviesen el espesor de la lámina de colágeno. Las perforaciones mecánicas que crean orificios en la biomatriz de láminas de colágeno no son poros. En algunos casos, el material parece estar esencialmente libre de poros que serían visibles usando un microscopio electrónico de exploración a un aumento de 1500x. Las imágenes de microscopio electrónico de exploración ilustran la naturaleza no porosa de la biomatriz de láminas de colágeno, como en las Figuras 8, 8A-B, 9A-B y 10.

De acuerdo con algunas realizaciones, la lámina de colágeno es reabsorbible por el mamífero al que implanta. Sin aludir a una teoría particular, se piensa que esta propiedad puede ser intensificada por la estructura de la lámina de colágeno. El proceso utilizado para producir la lámina de colágeno de equino forma capas apiladas de fibrillas de colágeno. Entre cada capa hay intersticios donde las células y la vasculatura del paciente pueden migrar y formar tejido de membrana visceral o parietal, tal como tejido de neo-pleura. Cada capa de fibrillas de colágeno puede ser esencialmente no porosa. Los pocos poros que pueden estar presentes están normalmente aislados unos de otros y no se interconectan a través de las múltiples capas de fibrillas de colágeno. La estructura multicapa de la presente invención intensifica las características heméticas a los líquidos y al aire de la lámina de colágeno.

Las realizaciones de biomatriz de láminas de colágeno pueden abarcar una membrana de colágeno multicapa que no ocurre de manera natural con capas de numerosas fibrillas de colágeno entrelazadas multidireccionales. Así, las fibrillas de colágeno pueden arreglarse de forma multi-direccional en un plano y estos planos forman láminas, las cuales crean una estructura multicapa. Una ilustración de una biomatriz de láminas de colágeno seco puede verse en la fotomicrografía (SEM) de la Figura 7, que ilustra la superficie de la biomatriz de láminas de colágeno en la cual las fibrillas de colágeno están incrustadas. Las fibrillas de colágeno son visibles en la superficie de las fotografías de la superficie superior de la biomatriz de láminas de colágeno bajo condiciones ESEM (microscopía electrónica de exploración ambiental), donde una atmósfera ligeramente húmeda proporciona condiciones casi naturales. Como se muestra en las figuras 8A-B, la superficie parece suave y esencialmente no porosa. Las fotografías (ESEM) de la superficie inferior de la biomatriz de láminas de colágeno ilustra la no porosidad esencial de la biomatriz de láminas de colágeno, como se muestra en las Figuras 9A-B. Las fibrillas de colágeno son evidentes.

La orientación única de las fibrillas de colágeno naturales en direcciones bidimensionales en las múltiples capas es la principal responsable de una hermeticidad a los líquidos y al aire, aún por ejemplo bajo presión hidrostática alta, y proporciona gran fuerza con alta elasticidad. Debido a las numerosas capas de fibrillas de colágeno, delgadas, orientadas de manera paralela, de la biomatriz de láminas de colágeno, dicho material es adecuado para reemplazar temporalmente las membranas viscerales o parietales propias del cuerpo con el fin de cerrar el defecto después de la cobertura y proporciona un andamiaje de biomatriz biofuncional para el crecimiento interno celular para formar nuevo tejido y estructuras de colágeno. La estructura multicapa puede intensificar la característica hermética al líquido y al aire de la biomatriz de láminas de colágeno.

Antes de usar las láminas de colágeno para reparar el tejido de membrana visceral de un mamífero, el material de láminas de colágeno seco puede ser hidratado. La Figura 1 es una fotografía SEM que ilustra la superficie de una lámina de colágeno hidratada, donde las fibrillas de colágeno se muestran claramente. La no porosidad esencial de la superficie es evidente a partir de la imagen.

De acuerdo con algunas realizaciones, la biomatriz de láminas de colágeno es esencialmente no porosa y existen intersticios entre las capas de fibrillas de colágeno. La biomatriz de láminas de colágeno puede ser análoga a una pila de papel donde cada página es esencialmente suave y no porosa, con un espacio entre cada papel. Cuando está en su forma seca, los intersticios pueden ser más pronunciados. Los intersticios se reducen cuando la biomatriz de láminas de colágeno se observa bajo condiciones casi naturales en una atmósfera ligeramente húmeda. La reducción de los intersticios de la biomatriz de láminas de colágeno y las características en capas se ilustran en imágenes de secciones transversales de la biomatriz de láminas de colágeno en atmósfera húmeda en las Figuras 11A-C. Las condiciones ESEM húmedas pueden aproximarse a las condiciones naturales. El material revela una estructura a modo de pila de hojas empacadas muy estrechamente juntas. Los intersticios entre las capas de colágeno son evidentes. En comparación, las Figuras 12A-B son fotografías SEM que muestran una lámina de colágeno seca. Son evidentes múltiples capas de colágeno e intersticios entre las capas de colágeno. Además de promover propiedades herméticas al líquido y al aire, las numerosas capas de fibrillas de colágeno delgadas, orientadas en paralelo, de la biomatriz de láminas de colágeno sirven simultáneamente como un andamiaje biofuncional bioequivalente para el crecimiento interno celular para la construcción de novo de tejido propio del cuerpo.

En algunos casos, el cambio en volumen de la biomatriz de láminas de colágeno es pequeño o despreciable cuando se hidrata. La biomatriz de láminas de colágeno retiene esencialmente su tamaño y forma al hidratarse, teniendo excelente estabilidad de forma aún después de la hidratación y sin provocar problemas de hinchamiento o encogimiento tras el contacto con el tejido. Una vez hidratadas e implantadas, las realizaciones de biomatriz de láminas de colágeno pueden no expandirse o contraerse significativamente en área o espesor al grado que se rasguen suturas quirúrgicas o se rompa la fibrina u otros sellos de pegamento biocompatibles que sostengan la biomatriz de láminas de colágeno al tejido del paciente.

En algunos casos, el encogimiento o hinchamiento del área de la biomatriz de láminas de colágeno seca puede variar desde aproximadamente -5% hasta aproximadamente 20% cuando se hidrata completamente. En algún caso, el área de la biomatriz de láminas de colágeno seca puede variar entre aproximadamente -5% hasta aproximadamente 10% cuando se hidrata completamente. Opcionalmente, el área de la biomatriz de láminas de colágeno seca puede variar entre aproximadamente -5% hasta aproximadamente 5% cuando se hidrata completamente. Por ejemplo, el área de la biomatriz de láminas de colágeno seca puede aumentar no más de aproximadamente 4 por ciento cuando se hidrata completamente.

En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 6 veces su espesor seco cuando se hidrata completamente. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 3 veces su espesor seco cuando se hidrata completamente. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente dos veces su espesor cuando se hidrata completamente.

El espesor de la biomatriz de láminas de colágeno puede variar dependiendo de la aplicación particular. Variando la cantidad de material de inicio utilizada para producir un tamaño particular de la biomatriz de láminas de colágeno se puede controlar el espesor de la biomatriz de láminas de colágeno. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno, cuando está en su forma seca, tiene un espesor entre aproximadamente 0,01 mm hasta aproximadamente 3,0 mm. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno tiene un espesor entre aproximadamente 0,02 mm hasta aproximadamente 2,0 mm. En un ejemplo adicional, la biomatriz de láminas de colágeno tiene un espesor entre aproximadamente 0,03 mm hasta aproximadamente 1,5 mm. En otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno tiene un espesor entre aproximadamente 0,05 mm hasta aproximadamente 1 mm. Todavía en otro ejemplo, la biomatriz de láminas de colágeno tiene un espesor de aproximadamente 1,0 mm o menos.

El peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno puede ser dependiente de su espesor deseado. En un ejemplo, el peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno está entre aproximadamente 1 mg/cm² hasta aproximadamente

50 mg/cm². En otro ejemplo, el peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno está entre aproximadamente 1.5 mg/cm² hasta aproximadamente 30 mg/cm². Todavía en otro ejemplo, el peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno está entre aproximadamente 2 mg/cm² hasta aproximadamente 20 mg/cm². En un ejemplo adicional, el peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno está entre aproximadamente 2.5 mg/cm² hasta aproximadamente 15 mg/cm². Por ejemplo, el peso seco de la biomatriz de láminas de colágeno puede estar entre aproximadamente 3 mg/cm² hasta aproximadamente 10 mg/cm².

En algunos casos, el peso de la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 15 veces su peso seco con la hidratación. En otro ejemplo, el peso de la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 10 veces su peso seco con la hidratación. En otro ejemplo, el peso de la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 7 veces su peso seco con la hidratación. Todavía en otro ejemplo, el peso de la biomatriz de láminas de colágeno aumenta hasta aproximadamente 5 veces con la hidratación a partir de su estado seco.

De acuerdo con algunas realizaciones, la biomatriz de láminas de colágeno ventajosamente tiene alta fuerza de tensión, la cual mejora y soporta el manejo de la biomatriz de láminas de colágeno, por ejemplo durante su aplicación quirúrgica, y proporciona una estabilidad mecánica incrementada, por ejemplo después de su implante. De manera adicional, aumentar el espesor de la biomatriz de láminas de colágeno puede aumentar significativamente la fuerza de tensión.

La propensión del material de biomatriz de láminas de colágeno al desgarre bajo presión ejercida puede medirse como su "última carga de tensión" o "última fuerza de tensión", de aquí en adelante referida como "última fuerza de tensión". La última fuerza de tensión de una biomatriz de láminas de colágeno puede determinarse sometiendo a presión una tira de biomatriz de láminas de colágeno de un ancho especificado y determinando la cantidad de presión aplicada que resulta en un fallo (por ejemplo desgarre o ruptura) de la biomatriz de láminas de colágeno. La última fuerza de tensión puede ser cuantificada usando la siguiente ecuación: "Última fuerza de tensión" = fuerza aplicada/ancho de la tira de biomatriz de láminas de colágeno = Newton/cm-tira.

En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno tiene una última fuerza de tensión entre aproximadamente 1 y aproximadamente 30 Newton/cm-tira. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno tiene una última fuerza de tensión entre aproximadamente 1,5 y aproximadamente 15 Newton/cm-tira. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno tiene una última fuerza de tensión entre aproximadamente 2 y aproximadamente 10 Newton/cm-tira. En algunos casos, la biomatriz de láminas de colágeno tiene una última fuerza de tensión entre aproximadamente 3 y aproximadamente 6 Newton/cm-tira. En algunos casos, una biomatriz de láminas de colágeno con una malla quirúrgica integrada, por ejemplo del tipo ilustrado en la Figura 6B, puede tener una última fuerza de tensión de más de 30 Newton/cm-tira.

Las realizaciones de biomatriz de láminas de colágeno pueden tener una fuerza de tensión alta, y todavía permanecer elásticas y flexibles cuando se hidratan. Esta característica permite que una biomatriz de láminas de colágeno se adapte de manera óptima a las condiciones anatómicas (por ejemplo, curvas) existentes en el sitio de contacto.

Cuando está en su estado hidratado, la biomatriz de láminas de colágeno puede moverse fácilmente alrededor. Por ejemplo, la biomatriz puede moverse alrededor del sitio quirúrgico y de manera óptima es modelada y adaptada a la forma y posición del defecto de la membrana parietal o visceral, por ejemplo donde está siendo implantada. Una vez implantada, el injerto de biomatriz de láminas de colágeno permanece suave y puede ser reposicionado si es necesario o deseado. Con el tiempo, las células y vasculatura migran dirigidas a través de las múltiples capas de la biomatriz de láminas de colágeno multicapa, reemplazando eventualmente la biomatriz de láminas de colágeno multicapa con un nuevo tejido y estructuras de colágeno autólogas. Conforme las células migran y la vasculatura se forma dentro de las capas de la biomatriz de láminas de colágeno, el tejido toma la forma de la biomatriz de láminas de colágeno de manera dirigida. Después de la organización celular de la biomatriz de láminas de colágeno con el tejido conectivo recién formado, la formación de adhesión a tejidos adyacentes, por ejemplo a la pleura parietal o la pared del pecho, puede minimizarse.

El colágeno para su uso para fabricar la biomatriz de láminas de colágeno puede obtenerse de cualquier fuente adecuada. Por ejemplo, sin limitación, el colágeno puede ser de origen bovino, ovino, porcino, equino o humano. El colágeno puede ser recolectado a partir de un tejido que ocurre de manera natural, tal como tendón, corium u otro tejido rico en colágeno, o puede ser producido mediante medios genéticos recombinantes. Como se describe más adelante, una realización ilustrativa de la invención utiliza colágeno equino derivado de tendón de Aquiles.

De acuerdo con algunas realizaciones, una biomatriz de colágeno induce fibrillas de colágeno equinas naturales (principalmente colágeno tipo I) precipitadas a partir de tendón de Aquiles equino desmenuzado, purificado. Una biomatriz elástica de forma estable, flexible, puede tener una estructura multicapa hermética a los fluidos y al aire no porosa. En un estado seco, el espesor de biomatriz puede ser aproximadamente 0,1 mm y en un estado húmedo el

espesor de membrana puede ser aproximadamente 0,3 mm.

Una biomatriz de láminas de colágeno multicapa de acuerdo con realizaciones de la presente invención puede incluir una biomatriz multicapa reticulada microscópicamente, natural, colagenosa, con múltiples capas de láminas esencialmente no porosas que incluyen fibrillas de colágeno. Realizaciones de tales biomatrices que no ocurren de manera natural se describen en la solicitud de patente internacional WO 04/108179 y WO 07/137839. Las láminas de colágeno que pueden emplearse de acuerdo con realizaciones de la presente invención son normalmente biofuncionales, bioactivas, mecánicamente estables, elásticas, no porosas, herméticas al aire y herméticas a fluidos, especialmente herméticas a células y sangre, y pueden proporcionar una barrera temporal frente a la distribución no controlada de sangre, fibrinógeno, material necrótico y tejidos dañados. Una capa de separación bioactiva definida entre el tejido visceral y las estructuras anatómicas adyacentes protege así inicialmente el tejido tratado. Una biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede actuar como agente hemostático e inhibir la formación y distribución de bandas de fibrina sin control, como hematomas, los cuales son una de las principales causas de fibrosis y formación de adhesiones, en áreas anatómicas ubicadas a un lado o cerca de membranas viscerales, por ejemplo en la superficie del pulmón.

Una biomatriz colagenosa hermética a fluidos y hermética al gas, primaria, no porosa, elástica, mecánicamente estable, puede aplicarse a un defecto de la membrana visceral. La biomatriz de colágeno puede actuar como un epitelio/mesotelio artificial y cubrir y proteger la superficie visceral o parietal. Esto resulta en el cierre primario del sello de fluido y fugas de aire en la superficie del órgano. Ventajosamente, la aplicación de la biomatriz de colágeno puede proporcionar un sellador mecánico inmediato, que actúa como barrera para fluido o aire. Debido a la estructura en capas de la biomatriz, los fibroblastos o células de curación de heridas, tales como linfocitos o macrófagos, pueden ser dirigidos o se les permite migrar a través de la biomatriz, conduciendo a la producción de colágeno endógeno. Así, la membrana parietal o visceral propia del paciente puede regenerarse o intensificarse, por ejemplo conforme las células de curación de heridas son reemplazadas eventualmente con membrana visceral normal. De esta manera, la biomatriz puede ser remodelada en la membrana visceral propia del cuerpo. Esto puede lograrse con poca o ninguna adhesión o unión, en particular entre el tejido visceral y áreas adyacentes, por ejemplo la superficie del pulmón y la pared del pecho.

De acuerdo con algunas realizaciones, la regeneración de membrana visceral con una biomatriz de colágeno puede reemplazar o aumentar ciertas técnicas quirúrgicas estándares. Por ejemplo, puede realizarse la regeneración de pleura en lugar de un sellado pulmonar, técnicas de coagulación, técnicas de sutura e implantación de otros "biomateriales". Las biomatrices de colágeno biofuncionales pueden emplearse para dirigir un crecimiento celular interno y para la formación de novo intensificada de matriz extracelular en los procesos regenerativos de las membranas viscerales. Una biomatriz de colágeno puede adherirse a la superficie de una herida inicialmente mediante fuerzas adhesivas. Las fibrillas de colágeno naturales de la biomatriz pueden activar la coagulación y la formación local de fibrina, lo cual soporta adicionalmente el cierre de pérdidas y la adherencia de la membrana de colágeno. El colágeno bioactivo puede atraer células de reparación, especialmente fibroblastos. Esto puede ser soportado adicionalmente por la presencia local de fibrina (por ejemplo un sellador de fibrina fisiológico).

Las capas paralelas de una biomatriz multicapa estructurada pueden dirigir el crecimiento interno de fibroblastos y células de reparación a lo largo de las capas. Los crecimientos internos a lo largo de las capas paralelas de la matriz de colágeno son normalmente más rápidos que a través de las capas. La formación de novo de la matriz extracelular con colágeno endógeno también es guiada a través de la línea celular (fibroblasto) hacia arriba. Este proceso conduce al remodelado de la biomatriz a tejido vivo y cierra el defecto visceral, por ejemplo después de ruptura traumática, incisiones quirúrgicas, resección o decorticación. En un proceso de decorticación, la membrana de capa de la superficie del pulmón se elimina.

Así, las realizaciones de la presente invención abarcan técnicas para formar una matriz extracelular multicapa que resulta de una estructura de colágeno de láminas de colágeno. Una biomatriz de colágeno de conducción proporciona crecimiento interno celular dirigido para la regeneración de membranas parietales y viscerales. Tal regeneración conducida de tejido es adecuada para cerrar o reducir pérdidas en el tejido pleural, como fugas de aire pulmonar post-quirúrgicas prolongadas. De hecho, estudios animales han demostrado la eficiencia de una biomatriz de colágeno en la prevención de pérdidas de aire postoperatorias prolongadas en cirugía pulmonar y en la regeneración conducida de membranas viscerales por el crecimiento interno celular dirigido.

De acuerdo con algunas realizaciones, la biomatriz de colágeno de la presente invención es un material impermeable para el propósito de sellado y el contacto entre el colágeno y las células sanguíneas determinan la agregación plaquetaria. Esta interacción con la biomatriz de colágeno induce la liberación de factores de coagulación y la formación de fibrina. La biomatriz de colágeno puede cortarse según sea necesario y adaptarse al defecto visceral. Las realizaciones de la biomatriz de colágeno de la presente invención han demostrado ser exitosas en aspectos macroscópicos de incorporación de injerto, previniendo la fuga de aire temprana y tardía en sujetos post-operatorios, sin reacciones dañinas a estructuras de tejido adyacentes (inflamación, adhesión, fibrosis, necrosis) y en valoración histológica del proceso de incorporación y organización de tejido conectivo. Las

realizaciones de biomatriz de láminas de colágeno multicapa pueden atraer células como células de reparación y células de regeneración. Los materiales de biomatriz pueden dirigir el crecimiento celular sobre la superficie de la biomatriz y proporcionar el crecimiento interno de células de reparación y regeneración. Los materiales de biomatriz pueden ser remodelados a tejido natural después del crecimiento interno y pueden ser reabsorbidos.

- 5 Las composiciones basadas en colágeno estándares son percibidas usualmente como extrañas por el huésped y frecuentemente son encapsuladas. Por tanto, la recelularización y remodelado del tejido anatómico respectivo no ocurre o es imposible, no existe crecimiento interno celular dirigido ni control del proceso de regeneración y el colágeno es meramente tolerado como un implante “biocompatible”. En contraste, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa de acuerdo con las realizaciones de la presente invención actúa como una membrana (por ejemplo, membrana de pleura visceral) que funciona como una capa temporal bioactiva que dirige el crecimiento celular dentro de la biomatriz de láminas de colágeno multicapa y en la superficie de la biomatriz de láminas de colágeno. En lugar de actuar únicamente como barrera contra el crecimiento, como hacen la mayoría de las composiciones anti-adhesión, la biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede ser extremadamente bioactiva y soportar el remodelado de los tejidos. Por ejemplo, semanas después del implante, una biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede estar bien integrada en la estructura anatómica restaurada de los tejidos de la membrana visceral. Adicionalmente, durante y después de la cirugía, la estructura de múltiples capas hermética al fluido (por ejemplo sangre, líquido, aire, gas, bilis, etc.), no porosa, de la membrana de colágeno es capaz de prevenir la distribución no controlada de sangre (por ejemplo, fibrinógeno/fibrina) y de material necrótico de las áreas de la herida pleural, que pueden ser responsables de favorecer condiciones de formación de adhesiones en el periodo de tiempo inicial después de la cirugía (en contraste con las composiciones porosas). La biomatriz de colágeno puede prevenir también el contacto directo entre la superficie visceral y los tejidos adyacentes, tales como la superficie del pulmón y la pleura parietal o la pared del pecho, un área primaria de la formación de cicatriz y fibrosis. Esto contribuye también al remodelado controlado de estructuras anatómicas con la prevención y minimización de la adhesión no controlada y la formación de cicatriz y fibrosis. Tales técnicas pueden emplearse en cualquier mamífero, incluyendo, sin limitación, humanos, perros, gatos, ratones, ratas y similares.

- Además de promover las propiedades herméticas al líquido y al aire, las numerosas capas de fibrillas de colágeno delgadas, orientadas en paralelo, de la lámina de colágeno sirven simultáneamente como andamiaje de biomatriz para el crecimiento interno celular para la construcción de novo de la membrana visceral propia del cuerpo. Sorprendentemente se ha descubierto que la estructura en capas, no porosa, de la lámina de colágeno promueve el crecimiento interno de las células, la vasculatura y la formación de nuevas estructuras de colágeno a través de la lámina de colágeno y en los intersticios que existen entre sus múltiples capas, formando una neo-pleura con una estructura de capa normal de una pleura natural en semanas tras la implantación. Como se describe además aquí, el crecimiento interno de células, la vasculatura y la nueva estructura de colágeno es tan extensa que en semanas post-operación la neo-pleura se vuelve difícil de distinguir de un tejido de pleura visceral previamente existente del paciente. Así, eventualmente el crecimiento interno del injerto puede volverse completamente organizado.

- De acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, un beneficio significativo de usar la lámina de colágeno es el riesgo esencialmente bajo de transmitir una enfermedad a un paciente al cual se implanta. El proceso de fabricación en el que las fibrillas de colágeno son tratadas con ácidos (por ejemplo ácido clorhídrico, ácido acético y similares) y bases, como hidróxido de sodio, para producir la lámina de colágeno actúa beneficiosamente inactivando o reduciendo los niveles infecciosos de bacterias, virus y priones que pueden estar presentes. El tratamiento del biomaterial con ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de etileno (ETO) y similares ha sido reconocido por las agencias gubernamentales como métodos aprobados dentro de las regulaciones de medicamentos y biomateriales para inactivar priones y virus. Tal tratamiento puede, bajo algunas regulaciones, reducir los requerimientos regulatorios para probar la lámina de colágeno en una base lote-por-lote. Así, el tratamiento de las fibrillas de colágeno durante el proceso de fabricación intensifica la seguridad del producto y reduce el riesgo de transmisión de enfermedades a un paciente.

- El material de colágeno que ha sido sometido al proceso de fabricación aquí descrito no es conocido por transmitir patógeno alguno a los pacientes. Así, además del proceso de fabricación, que utiliza colágeno equino, evita además riesgos de transmisión de encefalitis espongiforme, asociada previamente a sustitutos cadavéricos humanos. El uso de colágeno derivado de origen equino, tal como colágeno derivado de tendones de Aquiles equinos, evita los riesgos de transmitir encefalopatía espongiforme transmisible (TSE), la cual también es conocida como encefalopatía espongiforme bovina (BSE) o scrapie. La transmisión de esta enfermedad ha sido asociada con el uso de material biológico obtenido de fuentes rumiantes (por ejemplo material biológico de ganado, cabras, borregos y similares).

- 55 El cambio de volumen de la lámina de colágeno es pequeño o despreciable cuando se hidrata. En contraste, para productos de reemplazo porosos, la lámina de colágeno retiene esencialmente su tamaño y forma al hidratarse, teniendo excelente estabilidad de forma, permaneciendo bioestable aún después de hidratación y sin provocar problemas de hinchamiento o encogimiento en el cuerpo tras la implantación. Una vez hidratada e implantada, la lámina de colágeno no se expande o contrae significativamente en un área o espesor al grado de rasgar suturas

quirúrgicas o romper sellos de pegamento de fibrina que sostengan la lámina de colágeno al tejido del paciente.

El espesor de la lámina de colágeno puede ser controlado variando la cantidad de material de inicio utilizado para producir un tamaño particular de láminas de colágeno. La lámina de colágeno puede esterilizarse con gas con óxido de etileno (ETO) o gas de esterilización similar o por irradiación.

5 Fabricación de la biomatriz de colágeno

De acuerdo con algunas realizaciones, la lámina de colágeno es una biomatriz de fibrillas de colágeno tratada para eliminar componentes celulares y para formar una lámina de fibrillas de colágeno. Durante el proceso de fabricación, por ejemplo como se describe en WO 04/108179 o WO 07/137839, las fibrillas de colágeno se vuelven reticuladas de manera natural según precipitan fuera de la solución para formar una lámina de colágeno. A diferencia de la reticulación de las fibrillas de colágeno con químicos o radiación (por ejemplo radiación ionizante o ultravioleta), permitir la reticulación natural de las fibrillas de colágeno puede asegurar su biofuncionalidad, promover la regeneración acelerada y reducir los tiempos de resorción una vez que la biomatriz de lámina de colágeno entra en contacto con el tejido. La reticulación de las fibrillas de colágeno con químicos o radiación puede resultar en mayores tiempos de resorción, o incluso sin resorción, encapsulación y formación de cicatriz. La reticulación natural de las fibrillas en la biomatriz de láminas de colágeno utilizada en algunas realizaciones se produce por medios naturales similares a los fisiológicos. Principalmente, esta reticulación natural se produce por interacciones no covalentes (por ejemplo interacciones de van der Waals o dipolo-dipolo) o por la formación de enlaces de base de Schiff fácilmente disociables entre las cadenas laterales de aminoácidos de la molécula de colágeno. La reticulación intermolecular de colágeno es responsable de su estabilidad física y química. Un paso clave de la reticulación del colágeno depende de la conversión enzimática de los residuos de lisina e hidroxilisina para dar aldehídos, allisina e hidroxiallisina. Estos grupos aldehído reaccionan espontáneamente con los grupos reactivos amino que resultan de la formación de los componentes de base de Schiff, que contienen productos de aldolcondensación lábiles con enlaces aldimina lábiles (por ejemplo $-\text{CH}=\text{N}-$). Así, las fibrillas del producto pueden disociarse por tratamiento con, por ejemplo, un ácido débil. La reticulación que se deriva del uso de agentes reticulantes químicos puede detectarse a partir de la presencia de porciones reticulantes, covalentemente reticuladas, estables. Comúnmente, esto se consigue empleando un reactivo de base de Schiff (por ejemplo glutaraldehído) para formar productos de reacción de base de Schiff, y entonces estabilizar los enlaces ya sea mediante un re-arreglo de Amadori o en condiciones reductoras. Además, el colágeno puede reticularse con diversos reactivos de carbodiimida bifuncionales. La reticulación que surge del uso de radiación puede detectarse por la presencia de enlaces covalentes estables entre las fibrillas de colágeno, debidas a la reacción de porciones de radicales libres generados durante la irradiación. Por otra parte, las fibrillas del producto de biomatriz son esencialmente no reticuladas, con algún enlace covalente estable, y no se tratan químicamente o con irradiación. Así, cualquier asociación entre las fibrillas en el producto de biomatriz es esencialmente no covalente o fácilmente reversible y no reticulada de manera estable. En el pasado se han venido empleando productos químicos tales como cianamida, glutaraldehído, formaldehído, acrilamida, carbodiimidaciones, diimidatos, bisacrilamidas y similares para reticular químicamente las fibrillas de colágeno. El uso de tales químicos, sin embargo, puede resultar en riesgos de toxicidad asociados al contactar inadvertidamente tejido visceral con químicos residuales en la biomatriz de láminas de colágeno. Por ello, el proceso de precipitación evita los riesgos de toxicidad de los químicos reticulantes y tiempos de reabsorción más largos con la reticulación de las fibrillas de colágeno con químicos o radiación.

En algunos casos, la composición de colágeno precipitada seca resultante forma una biomatriz de láminas de colágeno con una membrana de colágeno multicapa de alto peso molecular, incluyendo numerosas capas de fibrillas de colágeno entrelazadas de manera natural, multi-direccionales bidimensionalmente. La biomatriz de láminas de colágeno puede contener principalmente colágeno tipo I intersticial. La biomatriz de láminas de colágeno puede no tener esencialmente poros y principalmente puede ser hermética a los líquidos y al aire. Pueden realizarse pruebas de difusión inmune con el producto para garantizar la ausencia de proteínas extrañas. La biomatriz de láminas de colágeno puede esterilizarse con gas óxido de etileno (ETO) o un gas de esterilización similar o por irradiación.

Un beneficio significativo del empleo de una biomatriz de láminas de colágeno es el riesgo sustancialmente bajo de transmitir una enfermedad al paciente en contacto con dichas láminas. El proceso de fabricación donde las fibrillas de colágeno son tratadas con ácidos (por ejemplo ácido clorhídrico, ácido acético y similares) y bases, como hidróxido de sodio, para producir la lámina de colágeno actúa beneficiosamente para inactivar o reducir niveles infecciosos de bacterias, virus y priones potencialmente presentes. El tratamiento del biomaterial con ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de etileno (ETO) y similares ha sido reconocido como método aprobado en las regulaciones de medicamentos y biomateriales para inactivar priones y virus. Tal tratamiento puede reducir, bajo algunas regulaciones, los requerimientos regulatorios para ensayar la lámina de colágeno en una base lote por lote. Así, el tratamiento de las fibrillas de colágeno durante el proceso de fabricación intensifica la seguridad del producto y reduce el riesgo de transmisión de enfermedades a un paciente.

Adicionalmente, las realizaciones abarcan el uso de una biomatriz de láminas de colágeno multicapa en la fabricación de un medicamento, es decir, un material médicamente aplicable, para tratar un trastorno, tal como, por

ejemplo, lesiones, cirugías o enfermedades basadas en patógenos, en un mamífero caracterizado por un defecto en la membrana visceral o tejido circundante.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, la lámina de colágeno puede producirse a partir de suspensiones de fibrillas de colágeno de alto peso molecular mediante un proceso de secado controlado. La precipitación gradual de la suspensión de fibrillas de colágeno resulta de la evaporación de agua y elevación de pH simultáneamente. El proceso de secado controlado resulta en una construcción multicapa de una lámina de colágeno que puede ser implantada por un cirujano. La construcción de láminas de colágeno de múltiples capas proporciona diversas propiedades beneficiosas en un sustituto pleural y como biomatriz para la regeneración de tejido pleural vivo.

10 En una realización, el proceso para producir la lámina de colágeno elimina todos los componentes celulares que producen una lámina de colágeno de fibrillas de colágeno que incluye principalmente componentes acelulares.

15 Empleando procedimientos establecidos en la química del colágeno, el tejido que contiene colágeno puede usarse como material de partida para la preparación de la lámina de colágeno. En una realización, se emplean tendones, como tendones de Aquiles, como material de partida. En una realización adicional, los tendones de Aquiles se emplean como material de partida. De acuerdo con algunas realizaciones, el colágeno puede obtenerse de cualquiera de diversos animales, incluyendo sin limitación ovejas, monos, vacas, caballos, ratas, ratones, humanos o animales de laboratorio. Así, el colágeno puede derivarse de una fuente bovina, porcina, equina, ovina, de primate, de roedor o humana, por ejemplo.

20 En una realización, el material de partida, por ejemplo, tendones de Aquiles equinos, primero se muele y se trata durante al menos una hora con hidróxido de sodio 1N, neutralizando con ácido clorhídrico. El material de partida de colágeno se trata en condiciones ácidas a pH 2. El ácido utilizado puede ser ácido clorhídrico, ácido acético o similares. Subsecuentemente, las proteínas no colagenosas y los enlaces reticulados intermoleculares presentes en el material de partida son degradados enzimáticamente con pepsina para formar una suspensión de colágeno. Entonces la suspensión se neutraliza. En una realización, la suspensión se neutraliza a un pH entre aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0. En otra realización, la suspensión se neutraliza a aproximadamente 25 pH 7. La suspensión de colágeno se centrifuga, el sobrenadante se retira y el precipitado se resuspende en ácido acético a aproximadamente pH 2-4,5. Con ello se eliminan con éxito las proteínas no colagenosas de la suspensión de colágeno. La repetición de los pasos antes descritos puede realizarse cuanto sea necesario para eliminar las proteínas no colagenosas residuales del precipitado.

30 Un resultado sorprendente del proceso de producción de la lámina de colágeno equino es que se consigue el aumento controlado del pH de la suspensión de colágeno en ácido acético por la eliminación específica de agua por evaporación durante un periodo largo de tiempo, por ejemplo 24 horas. El citado aumento de pH provoca la precipitación de las fibrillas de colágeno entrelazadas multi-direccionales en capas de dirección bidimensional que forman una construcción multicapa de láminas de colágeno equino. En una realización, el proceso se lleva a cabo en un horno de secado a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 55°C, equipado para eliminar 35 el vapor y para la neutralización simultánea del vapor de ácido acético. En otra realización, el proceso se lleva a cabo en un horno de secado a una temperatura de aproximadamente 30°C a aproximadamente 45°C.

40 Se puede considerar que la lámina de colágeno equino que resulta del proceso de producción está en su forma seca cuando no se detecta pérdida de agua adicional o ésta es despreciable. El contenido de agua de la "forma seca" de la lámina de colágeno equino está normalmente entre aproximadamente un 2% y aproximadamente un 18% en peso. El contenido de agua residual relativamente alto presente en la "forma seca" de la lámina de colágeno equino previene o restringe la desnaturalización de las moléculas de colágeno que comprenden la lámina de colágeno equino.

45 El proceso antes descrito es responsable de la precipitación de las fibrillas de colágeno de la suspensión debido a que los componentes de baja solubilidad se desechan al inicio del proceso a un aumento de pH bajo. Esta técnica resulta en una precipitación de fibrillas de colágeno durante la evaporación de agua y en la elevación de pH simultánea.

50 Los procesos utilizados para producir una biomatriz de láminas de colágeno pueden formar capas apiladas de fibrillas de colágeno. Entre cada capa de fibrillas de colágeno existen intersticios donde las células y la vasculatura del paciente pueden migrar y formar nuevas estructuras de colágeno y tejido de conformación natural. Es una propiedad beneficiosa de algunas realizaciones que las fibras de colágeno naturales biofuncionales y la estructura en capas y no porosa de la biomatriz de láminas de colágeno promuevan el crecimiento interno de células, vasculatura y la formación de nuevas estructuras de colágeno a través de la biomatriz de láminas de colágeno y en 55 los intersticios que existen entre sus múltiples capas. En comparación con un crecimiento interno celular no controlado, no guiado, aleatorio, en la herida o defecto, el crecimiento interno y la regeneración dirigidos de acuerdo con realizaciones del método puede inhibir o prevenir la formación de adhesiones y fibrosis. Así, el dolor y las complicaciones asociadas con las adhesiones y la fibrosis pueden evitarse.

De acuerdo con algunas realizaciones, el proceso de purificación para producir la lámina de colágeno equino comienza con al menos una hora de tratamiento en una solución de hidróxido de sodio del material de partida de tendones, seguido por neutralización en ácido clorhídrico. Entonces se emplea pepsina para romper los tendones. El colágeno coloidal así producido precipita como fibrillas. El secado y la esterilización con gas produce entonces láminas de colágeno equino con 5,6 mg de fibrillas de colágeno natural por centímetro cuadrado. No se adiciona nada más y no se realiza ningún método artificial para la reticulación (es decir, que involucre químicos o radiación). Las pruebas de inmunodifusión aseguran que no hay presente ninguna proteína extraña. Una lámina de colágeno equino puede hacerse de fibrillas de colágeno equino natural (principalmente colágeno tipo I intersticial). Un centímetro cuadrado del material puede contener 5,6 miligramos de fibrillas de colágeno sin componentes celulares. Puede emplearse un pegamento de fibrina, tal como Tissucol™ Duo S (Baxter), para unir los injertos a la membrana visceral o a la superficie de exterior de la herida. Este kit de pegamento de componente dual biológico incluye una jeringa pre-cargada conteniendo proteínas de plasma humano, fibrinógeno, factor de coagulación XIII, fibronectina de plasma y aprotinina, y otra jeringa pre-cargada conteniendo trombina y cloruro de calcio.

Animales experimentales

El siguiente ejemplo presenta los resultados de experimentos en cerdos para evaluar una lámina de colágeno en relación a su conveniencia como sustituto de pleura visceral para reparar defectos de la pleura visceral y como biomatriz para la regeneración de pleura visceral. Para los experimentos se usaron 5 cerdos Landrace de alrededor de 35 kg de peso. Los estudios animales fueron realizados después de la aprobación formal por las autoridades del Ethic Committee of the Catholic University italiano. La selección de esta especie y su peso se debe a la similitud del parénquima pulmonar porcino con el humano. Las dimensiones de los animales permite usar la instrumentación quirúrgica normalmente usada en humanos y actúa como un modelo animal ideal para sujetos humanos. Antes de la cirugía, los animales fueron preparados en la "Laboratory animal facility of Holy Heart University (Roma)" durante un periodo de 5 días. El día de la intervención, el animal se sometió a anestesia general por el siguiente procedimiento:

Anestesia:

Preanestesia por inyección intramuscular de: atropina 0,02 mg/kg + Ketamina 15 mg/kg + Diazepam 0,1 mg/kg; inducción con máscara para anestesia con O₂ y vapores de isoflurano 2%; intubación endotraqueal y mantenimiento con O₂ y vapores de isoflurano 1,5%; relajación muscular con bromuro de pancuronio (0,1 mg/kg e.v.).

Procedimiento quirúrgico:

Después de la inducción de anestesia, los animales fueron mantenidos en decubitus lateral y se les realizó una toracotomía lateral en el cuarto espacio intercostal. Se dañó la pleura visceral para obtener sangrado y pérdida de aire, como se indica en la Figura 13. Una pieza de la biomatriz de colágeno (midiendo 3,5 x 2,5 cm) fue cortada entonces a tamaño y se sumergió durante 5 minutos en una solución salina al 0,9% estéril y se aplicó a la pleura visceral dañada, como se muestra en la Figura 14. Para cerrar el defecto, el injerto fue plegado a su alrededor bajo los bordes enteros pleurales y se selló con un sellador de fibrina para mantenerlo en su lugar y para asegurar un cierre hermético al agua o a fluidos. La biomatriz de colágeno incluye fibrillas de colágeno equino naturales (5,6 mg/cm²) purificadas de tendón de Aquiles equino desmenuzado y el sellador de fibrina incluye Tissucol^{MR} Duo S (Baxter).

Para detectar cualquier pérdida de aire post-aplicación, el poder aerostático de la biomatriz de colágeno se evaluó mediante una prueba hidroneumática, como se muestra en la Figura 15. El pulmón fue cubierto con una solución salina y fue insuflado por el anestesiólogo. En ausencia de pérdidas de aire, el drenaje de agua se eliminó antes de que los animales se despertaran. En caso de pérdida de aire, el drenaje de agua fue conectado a un sistema de medición de la fuga. Como se muestra en la Figura 16, la lámina de colágeno cubre el tejido pulmonar y proporciona un cierre hermético al agua o al aire a la vez que protege la celularidad del tejido.

La toracotomía fue suturada en capas con hilo absorbible y la piel suturada con seda. Se despertó a los animales y se observaron en la instalación de animales de laboratorio durante 7, 15, 21 y 28 días, durante los cuales se valoró la entidad de la posible pérdida de aire.

Se prolongó la terapia con analgésicos post-operatoria (Ketoprofene, Findol 10%, 0,3 ml/10 kg/día, intramuscular) y antibiótico (enrofloxacin 2,5 mg/kg/día i.m.) durante 7 días. A los animales se les dio alimento mixto convencional, ya que el drenaje no interfería con las funciones fisiológicas. Cada día se controló la salud del animal. En el día VIII, XVI, XXII y XXIX, los animales se sometieron nuevamente a anestesia general por intubación bronquial y se realizó una nueva retorcotomía en el quinto espacio intercostal mediante incisión cutánea a lo largo del espacio intercostal. Después de la incisión en el músculo intercostal, se dispusieron un retractor costal (Finocchietto) y un retractor abdominal autostático en su lugar. Después de la abertura del espacio pleural, el lóbulo o el pulmón entero, previamente tratado con la biomatriz de colágeno, se retiró removido. La toracotomía fue suturada con Vicryl 2 y la piel con seda 1. Al final de los procedimientos, el animal, todavía bajo anestesia general, fue sometido a eutanasia

con Tanax E.V. (3 ml/10 kg).

Resultados:

5 Durante los periodos de anestesia, cirugía y de seguimiento postoperatorio no se produjeron acontecimientos extraordinarios excepto en dos animales. Ninguno de los animales presentaba signos de inflamación o problemas en la curación de las heridas. No se observó ninguna fuga de aire persistente a corto o largo plazo después de la cirugía, como indican los datos. La biomatriz fue remodelada en una membrana visceral similar a la pleura, suave y plana, sin signos de adhesiones clínicamente relevantes o fibrosis.

Portaobjetos histológicos: Semana 2

10 La figura 17 muestra un portaobjetos histológico de tejido de pulmón sellado con una biomatriz de láminas de colágeno junto con un sellador de fibrina, de acuerdo con realizaciones de la presente invención. La Figura 18 muestra un portaobjetos histológico de tejido de pulmón sellado con un sellador de fibrina, mostrando una alta afinidad celular, de acuerdo con realizaciones de la presente invención. La Figura 19 muestra un portaobjetos histológico de una biomatriz de colágeno (parte inferior de portaobjetos) que sella tejido pulmonar y, dentro de la biomatriz de colágeno, las células están colonizando y promoviendo el crecimiento de tejido. La Figura 20
15 proporciona un detalle de la Figura 19, mostrando los fibroblastos resultantes y en crecimiento dentro de los intersticios de la biomatriz de colágeno.

Portaobjetos histológico: Semana 4

20 La Figura 21 muestra la biomatriz de colágeno remodelada cuatro semanas después de la implantación. La estructura lamelar original de la biomatriz de colágeno es remodelada en tejido autólogo lamelar. La síntesis de colágeno endógena genera una neo-pleura que tiene la misma estructura lamelar, paralela, que la pleura visceral normal. Como resultado de la estructura paralela de la biomatriz de colágeno, las capas de colágeno sintetizadas endógenas tienen también una estructura lamelar, paralela. No es evidente ninguna reacción inflamatoria en la línea de límite entre la biomatriz remodelada/neo-pleura y el tejido de pulmón. La Parte A ilustra la estructura alveolar y la Parte B ilustra la biomatriz/neo-pleura remodelada con una estructura de colágeno lamelar que incluye células de
25 reparación (principalmente fibroblastos) y vasos sanguíneos.

La Figura 22 muestra un aspecto histológico normal de la pleura visceral en la superficie del pulmón. La Parte A ilustra estructura alveolar y la Parte B ilustra la pleura visceralis con una estructura de colágeno lamelar incluyendo fibroblastos de células y vasos sanguíneos.

30 Como se demuestra con estos experimentos, puede disponerse una biomatriz de láminas de colágeno biofuncional sobre los bordes de un defecto quirúrgicamente producido en la pleura visceral y en la parte superior de la superficie pulmonar exterior con el fin de dirigir el crecimiento interno celular y la regeneración de tejido de control, previniendo así la adhesión del tejido de la herida de regeneración a la pleura parietal y la pared de pecho. Los bordes de la biomatriz de láminas de colágeno biofuncional pueden asegurarse por partes a la pleura visceral cerca del defecto. La estructura de la superficie de la biomatriz puede ser no porosa y formar una barrera hermética a los fluidos y al
35 aire temporal, mecánicamente estable, entre la superficie exterior del pulmón y la cavidad pleural. Los fibroblastos pleurales pueden invadir la biomatriz y esparcirse siguiendo un crecimiento interno longitudinal dirigido a lo largo de las estructuras multicapa paralelas, creciendo en la biomatriz de láminas de colágeno, según se dirige mediante la estructura multicapa. La biomatriz de láminas de colágeno multicapa puede integrarse por completo. Las células de reparación de tejido pleural pueden infiltrar la estructura multicapa de la biomatriz de colágeno.

40

Reivindicaciones

- 5 1. Colágeno para su uso en un método para tratar un trastorno en un paciente caracterizado por un defecto de una membrana visceral o parietal y para prevenir la formación de adhesiones post-quirúrgica o post-traumática sobre la superficie de un tejido en dicho paciente, comprendiendo el paso de administrar dicha biomatriz al defecto, donde el colágeno está presente como una biomatriz de lámina de colágeno multicapa,
 - que dirige el crecimiento celular dentro de los intersticios de la biomatriz de lámina de colágeno multicapa,
 - donde la biomatriz de lámina de colágeno es una biomatriz de lámina de colágeno multicapa no producida naturalmente de fibrillas de colágeno que no están reticuladas por sustancias químicas o radiación.
- 10 2. Colágeno para su uso según la reivindicación 1, donde la biomatriz de lámina delgada de colágeno multicapa forma una capa esencialmente hermética a los líquidos y al aire entre el defecto visceral o parietal y un tejido adyacente.
- 15 3. Colágeno para su uso según la reivindicación 1, donde el paso de administración comprende uno o más métodos seleccionados del grupo consistente en: unir la biomatriz de lámina de colágeno multicapa al defecto visceral o parietal con un sellador de fibrina, unir la biomatriz de lámina de colágeno multicapa al defecto visceral o parietal con un sellador quirúrgico, unir la biomatriz de lámina de colágeno multicapa al defecto visceral o parietal con suturas quirúrgicas, utilizar técnicas de ajuste a presión y utilizar la adhesión natural entre la biomatriz de lámina de colágeno multicapa y el defecto visceral o parietal.
- 20 4. Colágeno para su uso según la reivindicación 3, donde la biomatriz de lámina de colágeno multicapa se une al defecto visceral o parietal del paciente utilizando un sellador de fibrina.
5. Colágeno para su uso según la reivindicación 1, donde la biomatriz de lámina de colágeno multicapa se une con un material que comprende polietilenglicol.
- 25 6. Uso de una composición de colágeno en la fabricación de un medicamento para la reparación de un defecto visceral o parietal en un mamífero donde la composición de colágeno se proporciona microscópicamente como una biomatriz de lámina de colágeno multicapa según la reivindicación 1.
7. Uso según la reivindicación 6, donde composición de colágeno está disponible en forma de kit.
8. Colágeno para su uso según la reivindicación 1, para su uso en la inhibición de pérdidas post-quirúrgicas en un tejido visceral o parietal, donde la biomatriz de colágeno se aplica post-quirúrgicamente tras la resección del tejido visceral o parietal para prevenir pérdidas de tejido o de aire.
- 30 9. Colágeno para su uso según la reivindicación 8, donde la biomatriz de colágeno comprende una biomatriz de colágeno con intersticios entre las capas de colágeno para permitir el crecimiento celular entre las capas.
10. Colágeno para su uso según la reivindicación 8, donde la biomatriz de colágeno se aplica junto con un sellante de fibrina.
- 35 11. Colágeno para su uso según la reivindicación 10, donde el sellante de fibrina se aplica sobre el defecto con la biomatriz de colágeno aplicada sobre o conjuntamente con el sellante de fibrina.

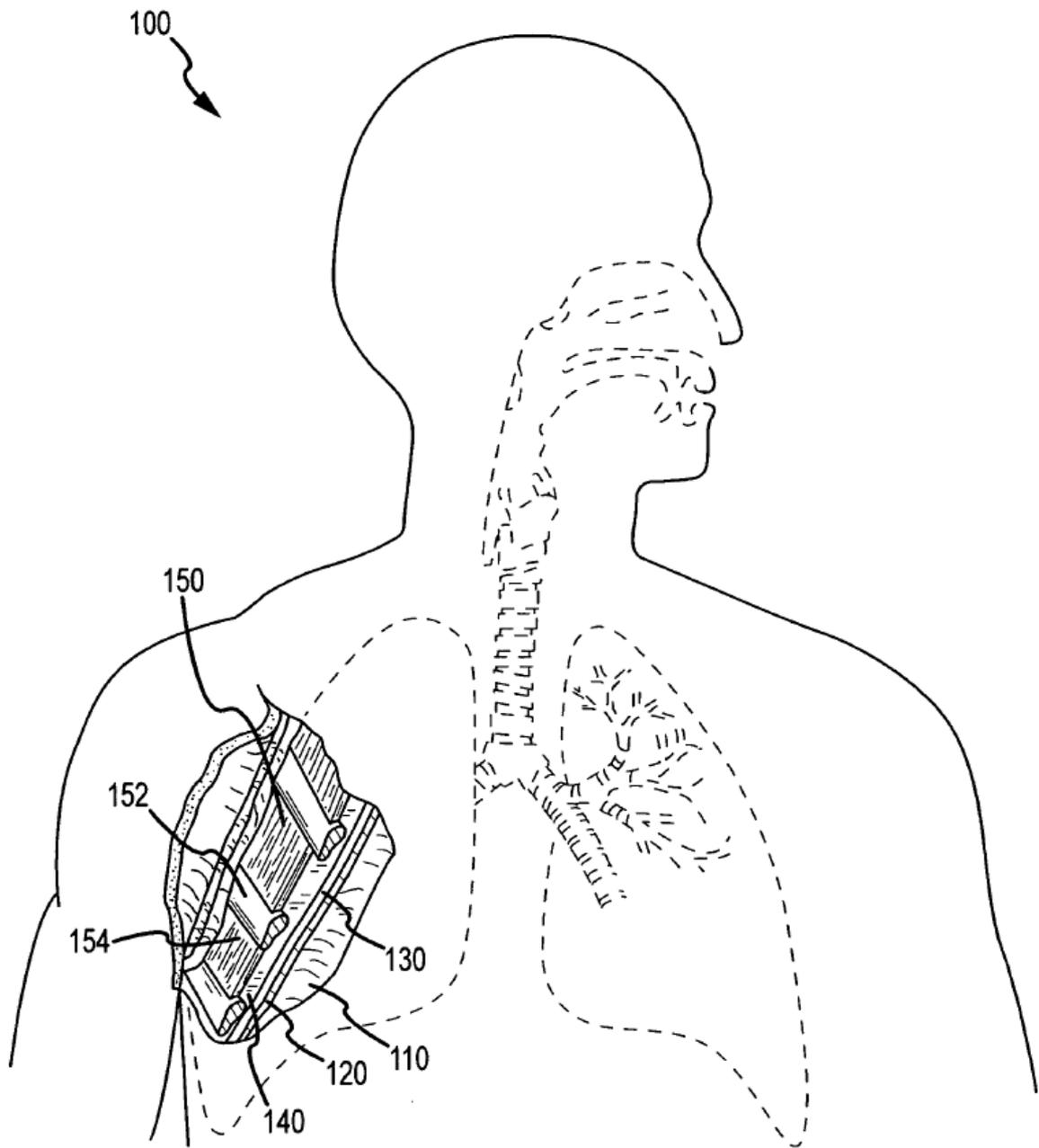


FIG.1

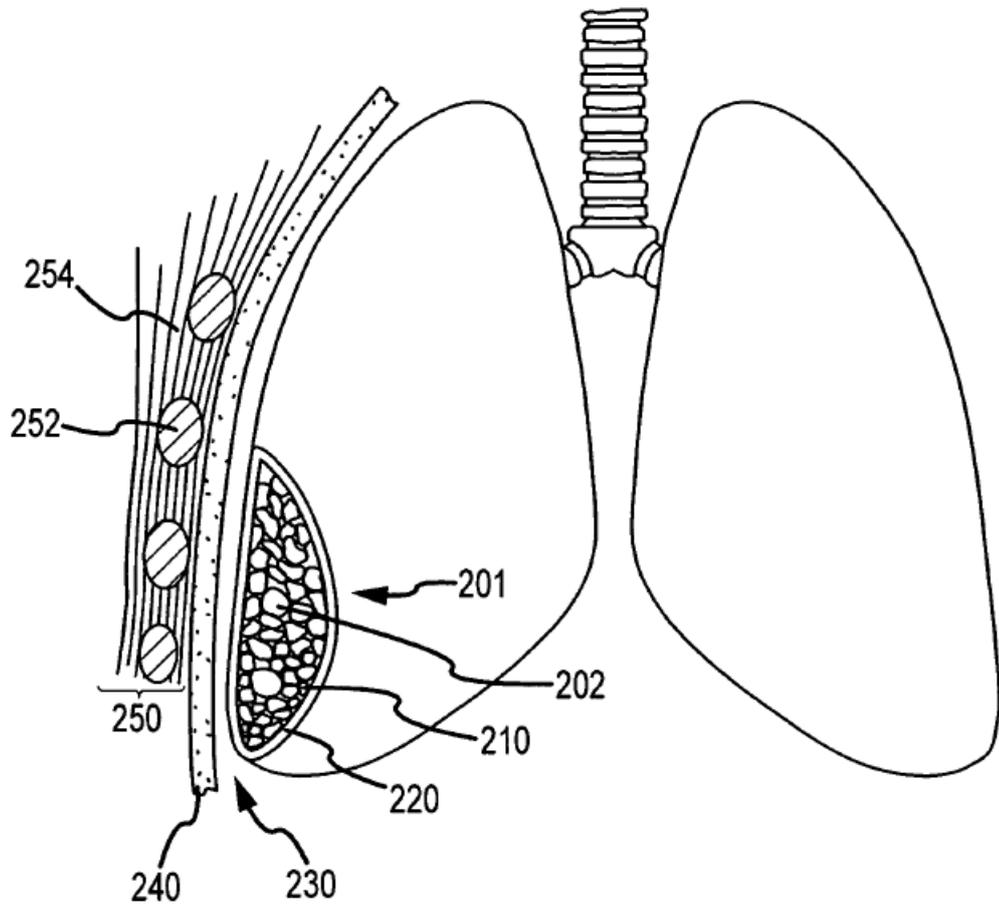


FIG.2

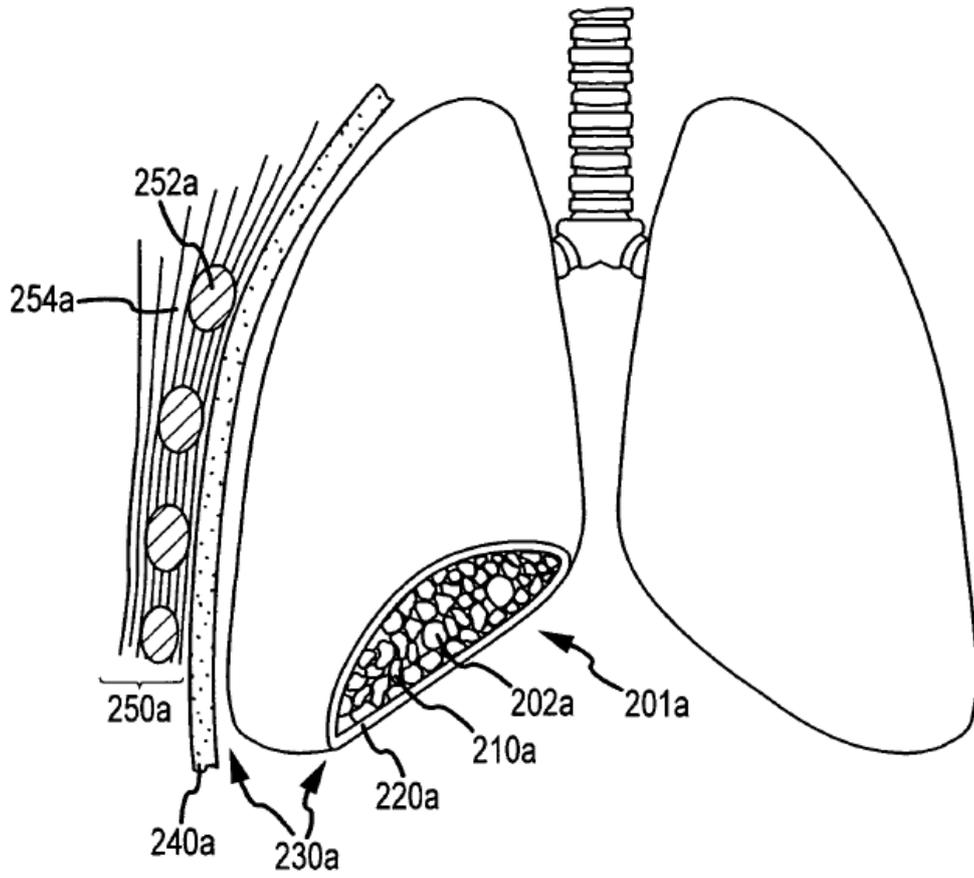


FIG.2A

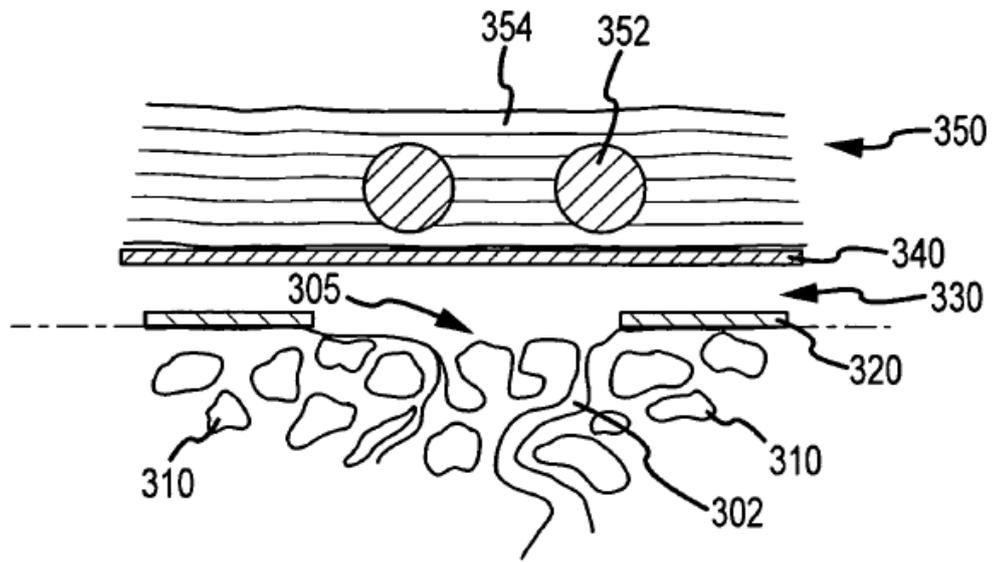


FIG.3

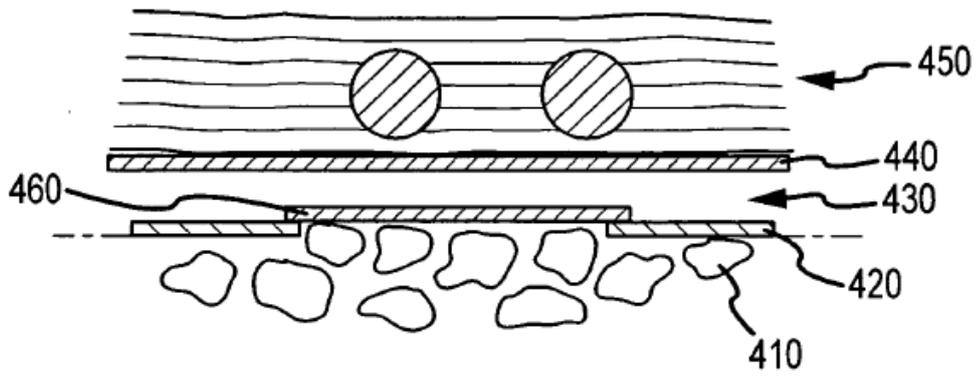


FIG.4

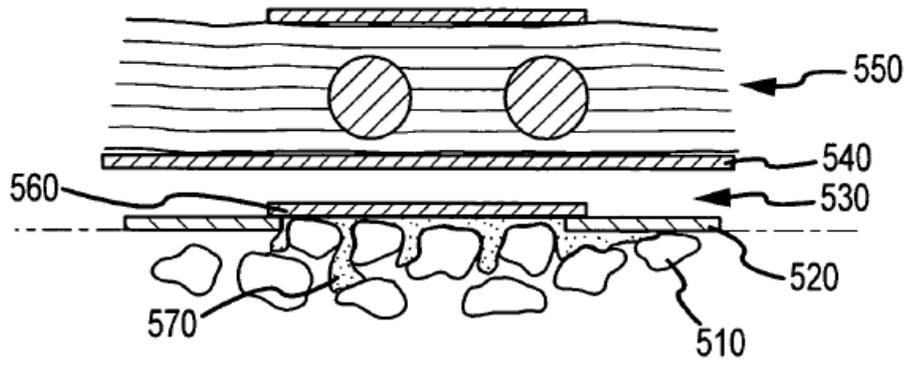


FIG.5

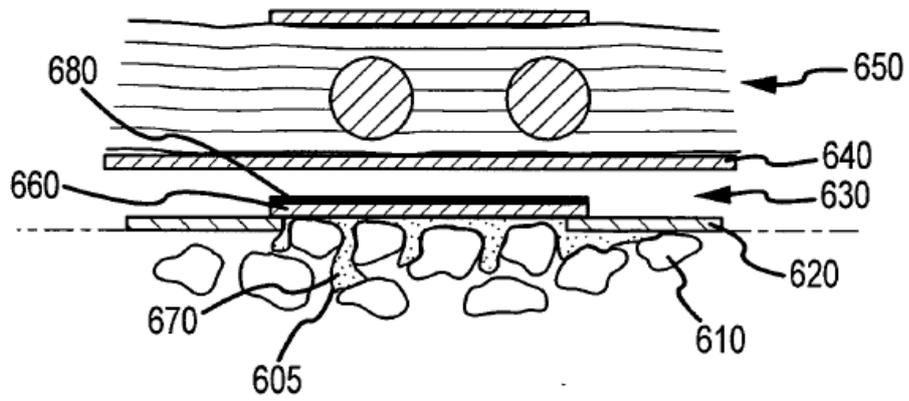


FIG.6

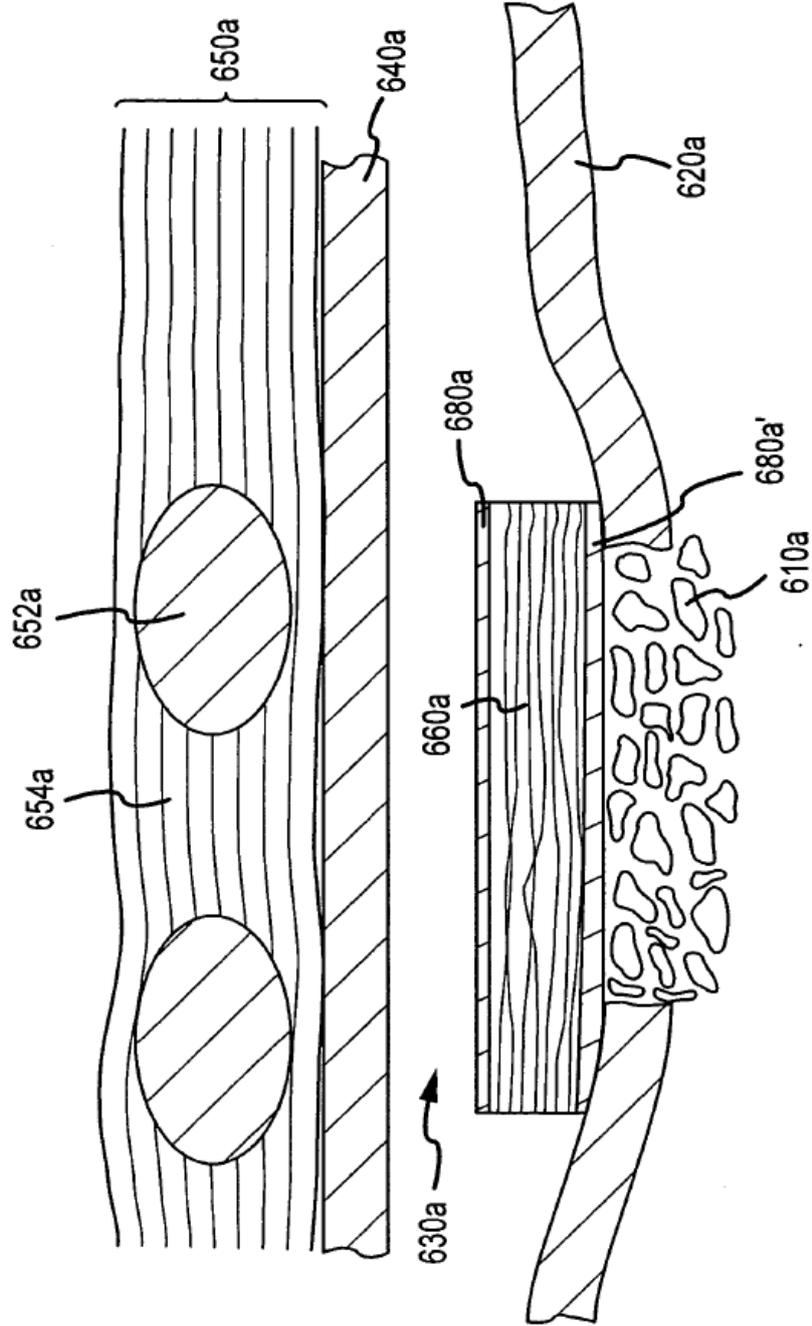


FIG.6A



FIG.6B

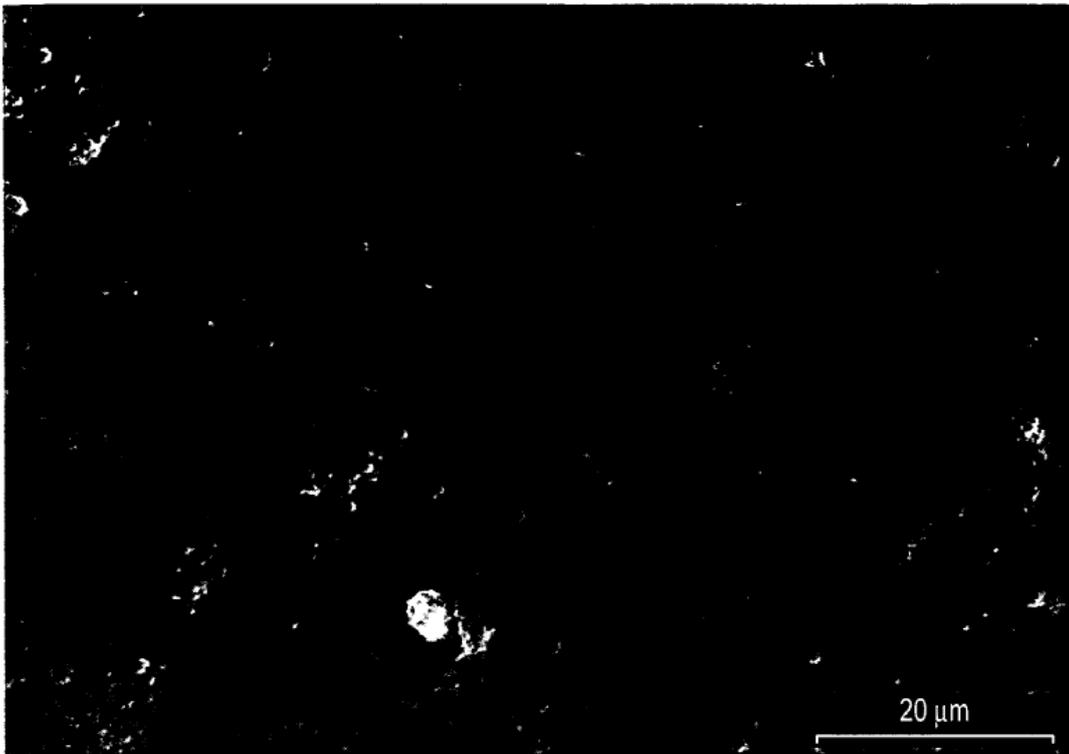


FIG.7

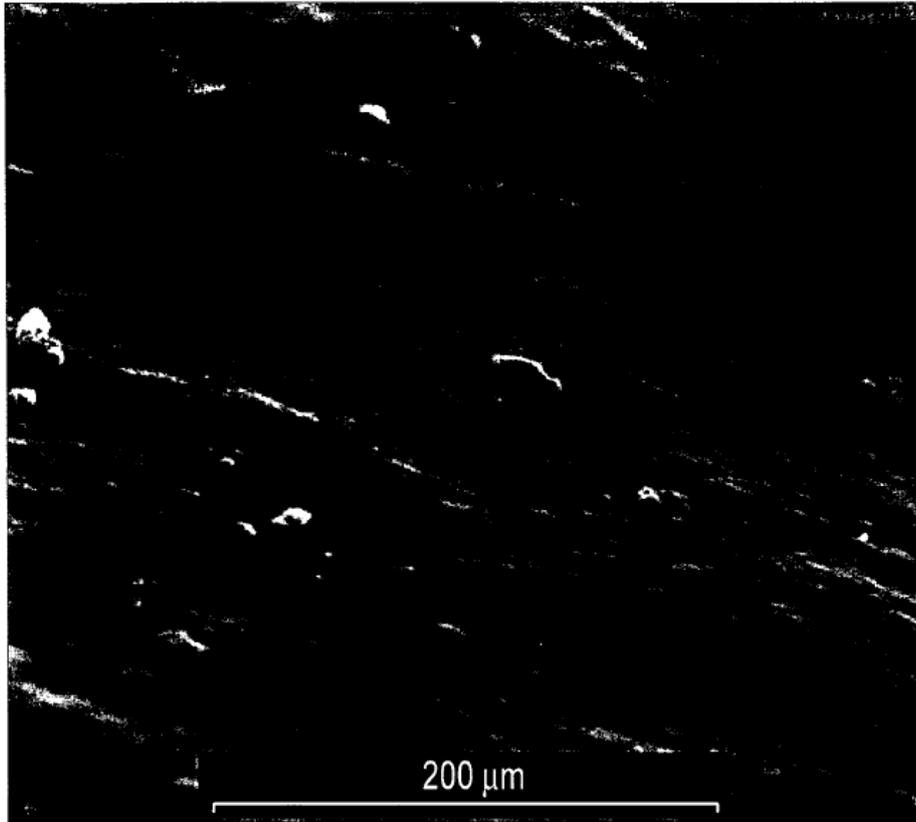


FIG.8A

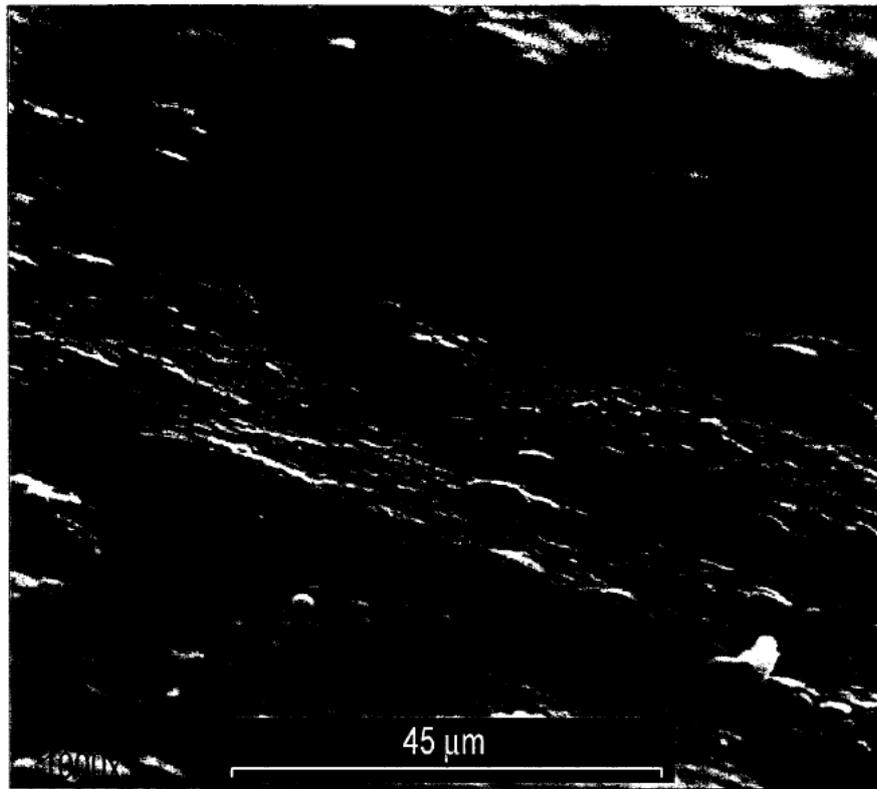


FIG.8B

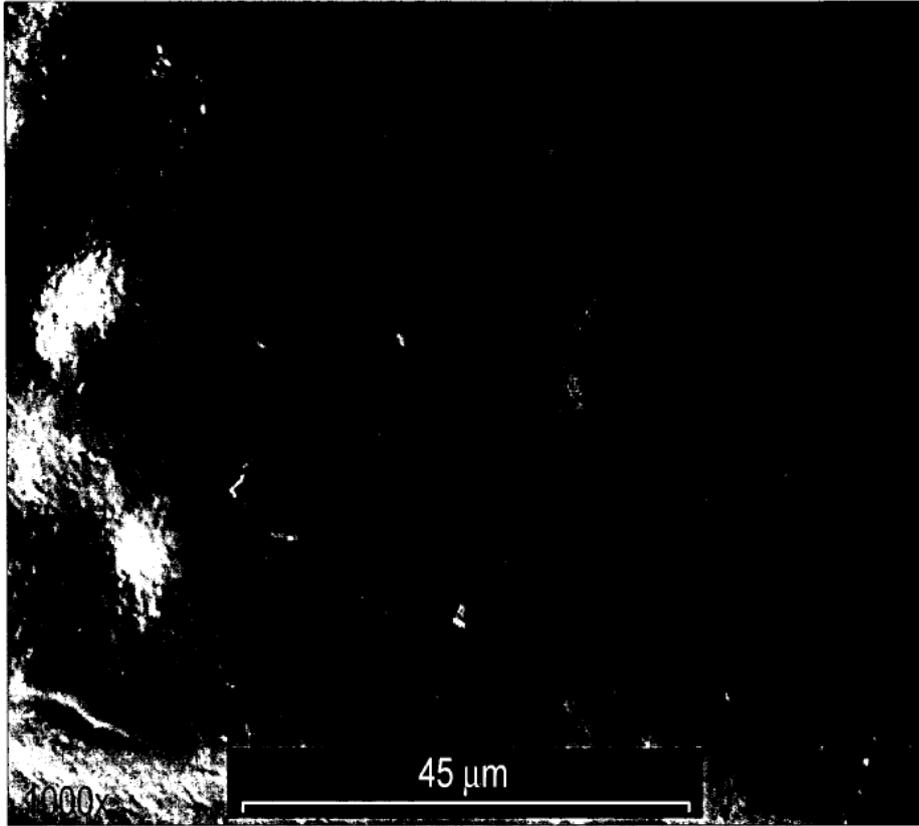


FIG.9A

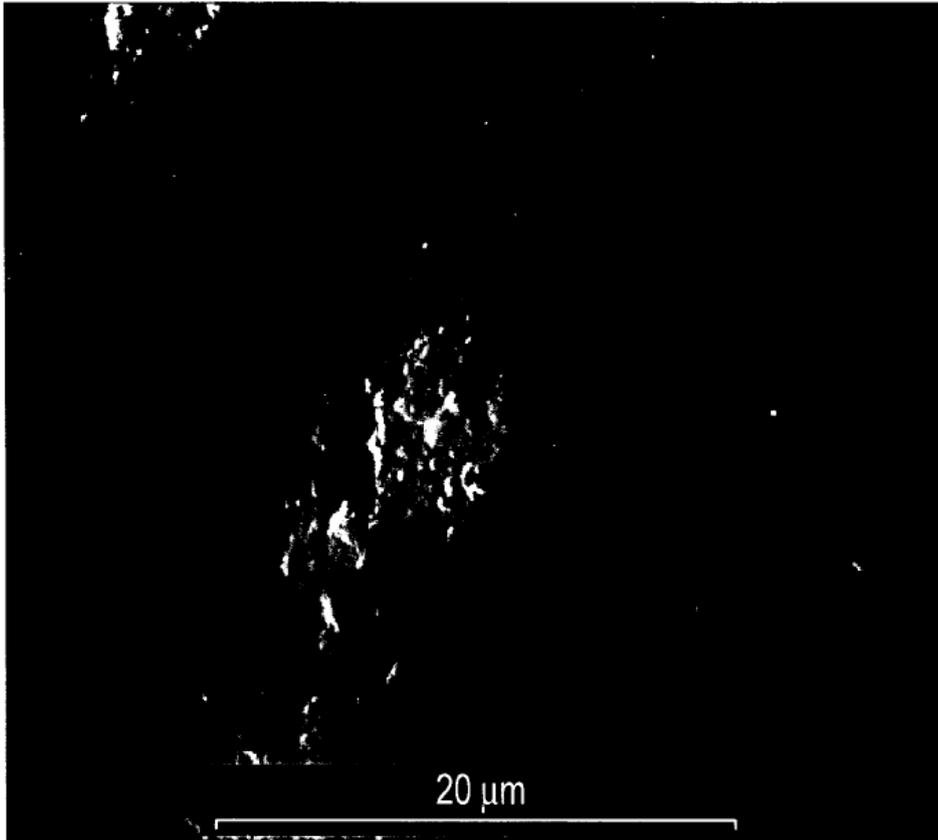


FIG.9B

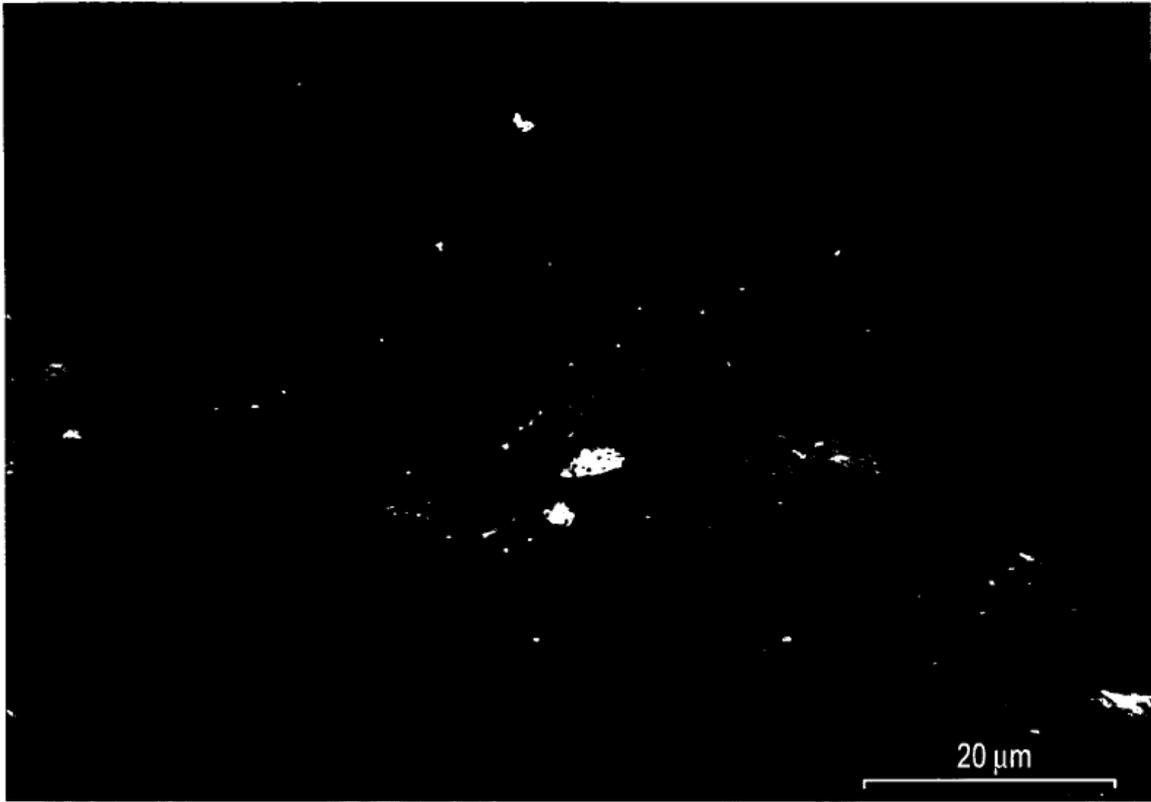


FIG.10

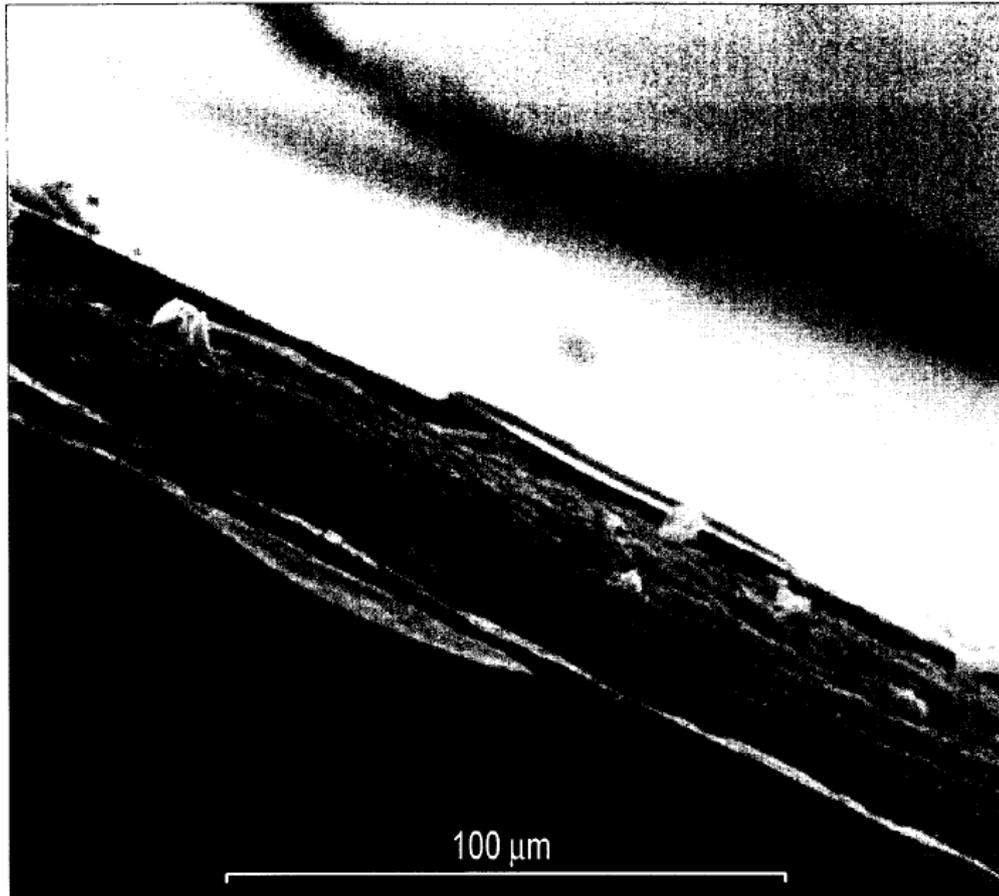


FIG.11A

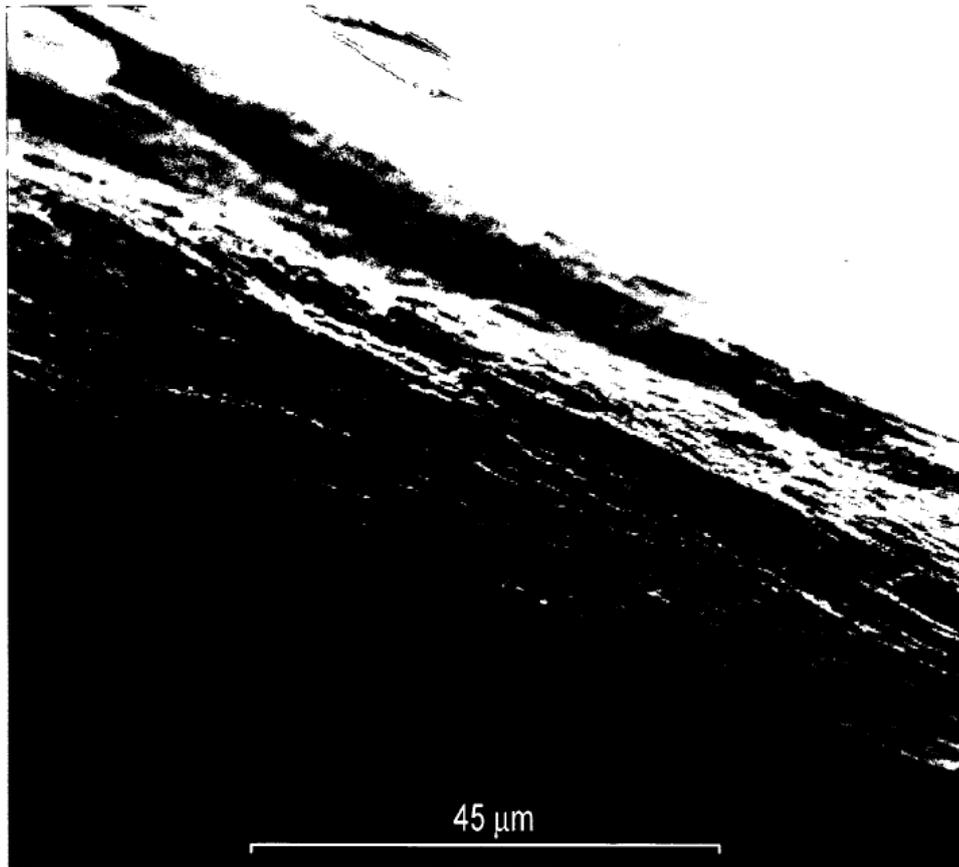


FIG.11B

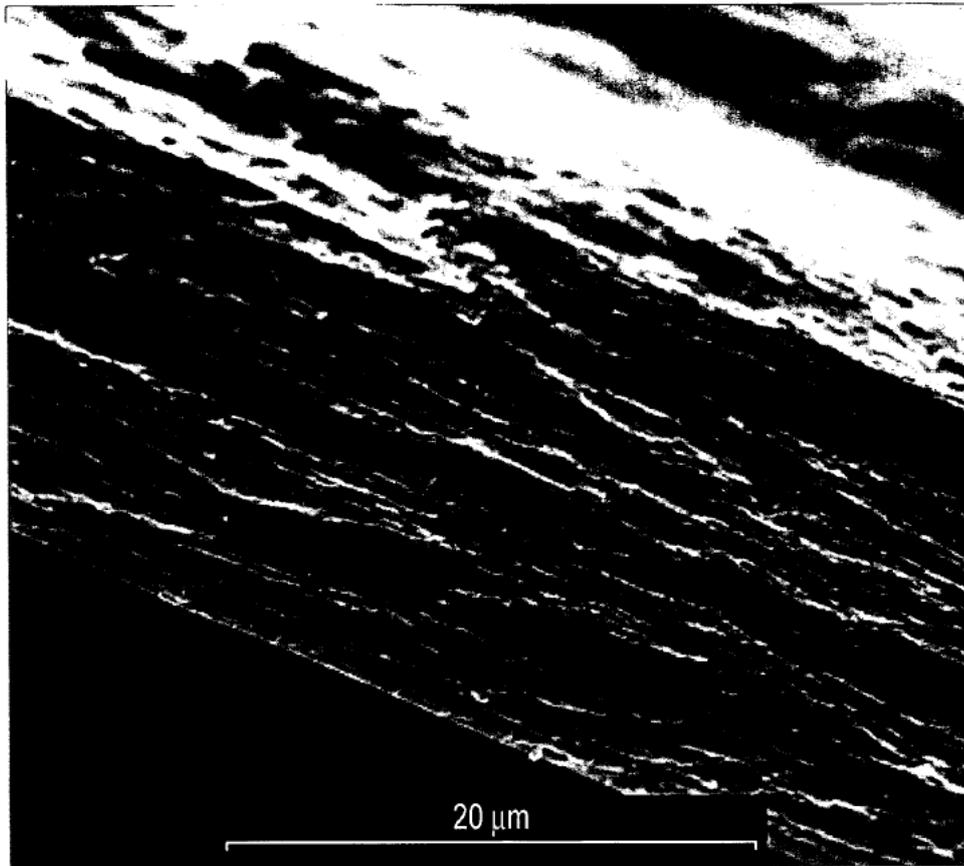


FIG.11C

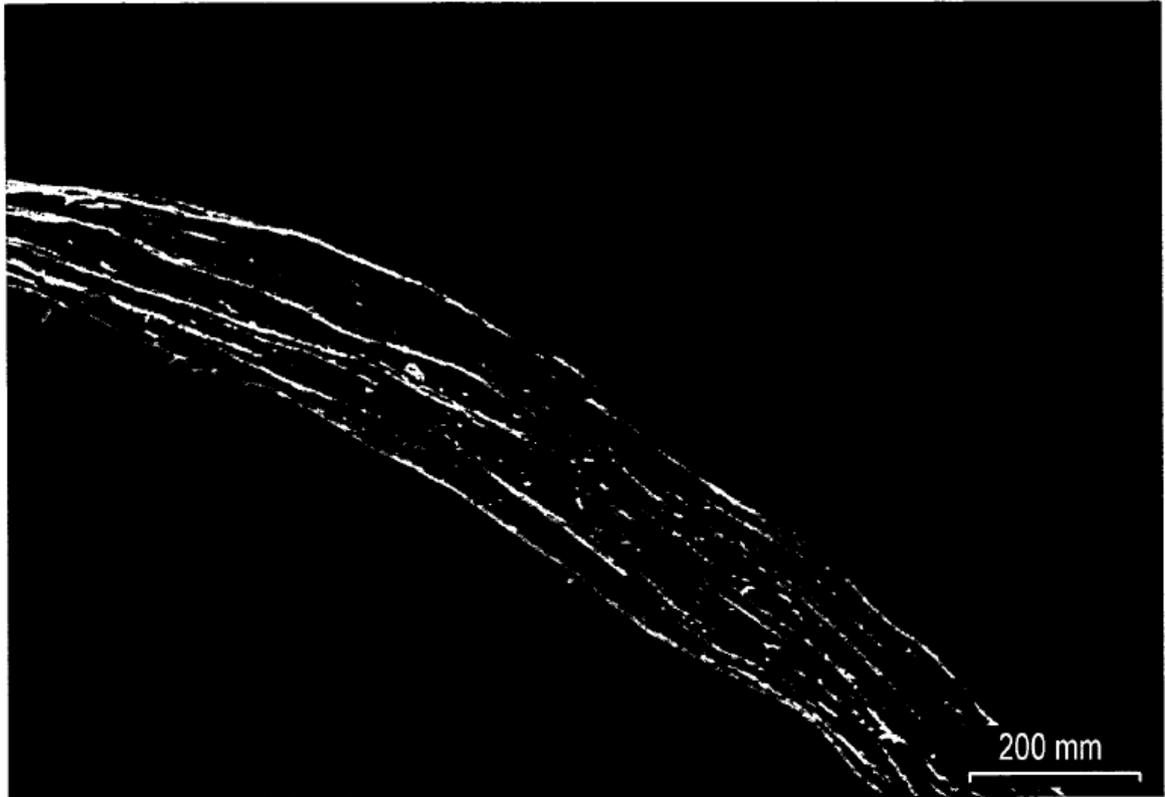


FIG.12A

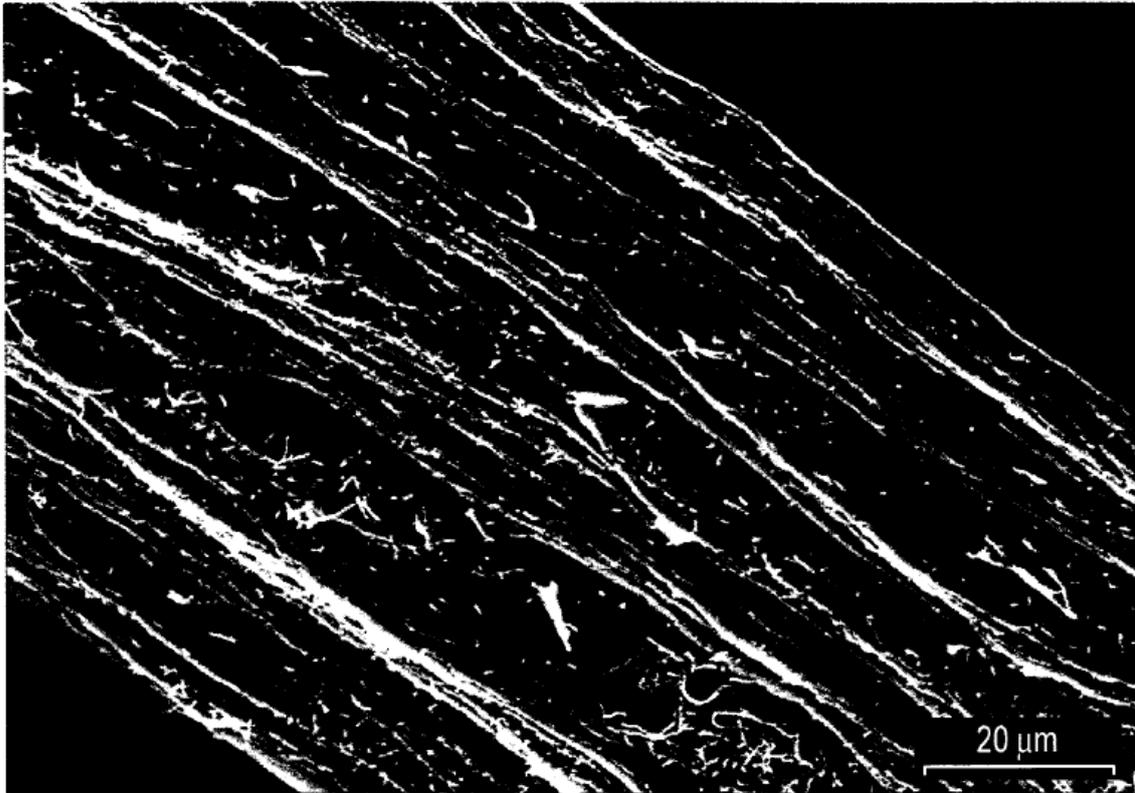


FIG.12B

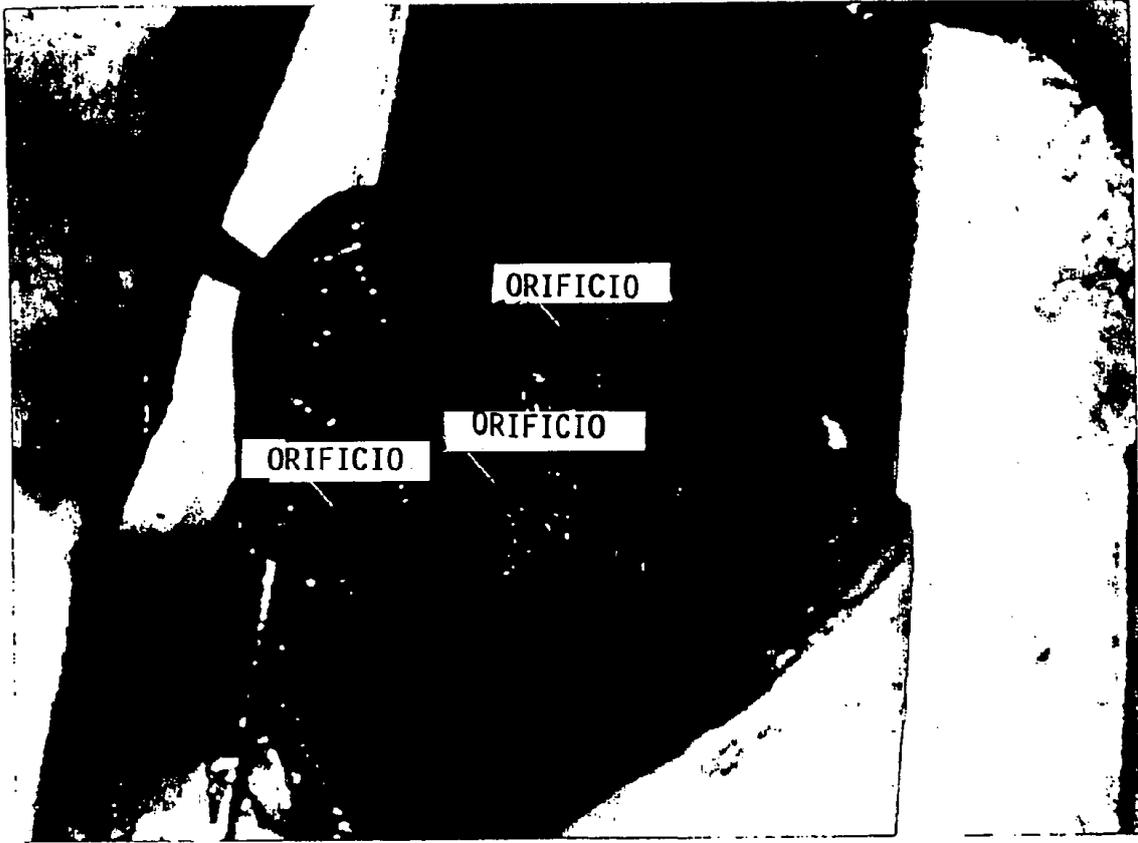


FIG.13

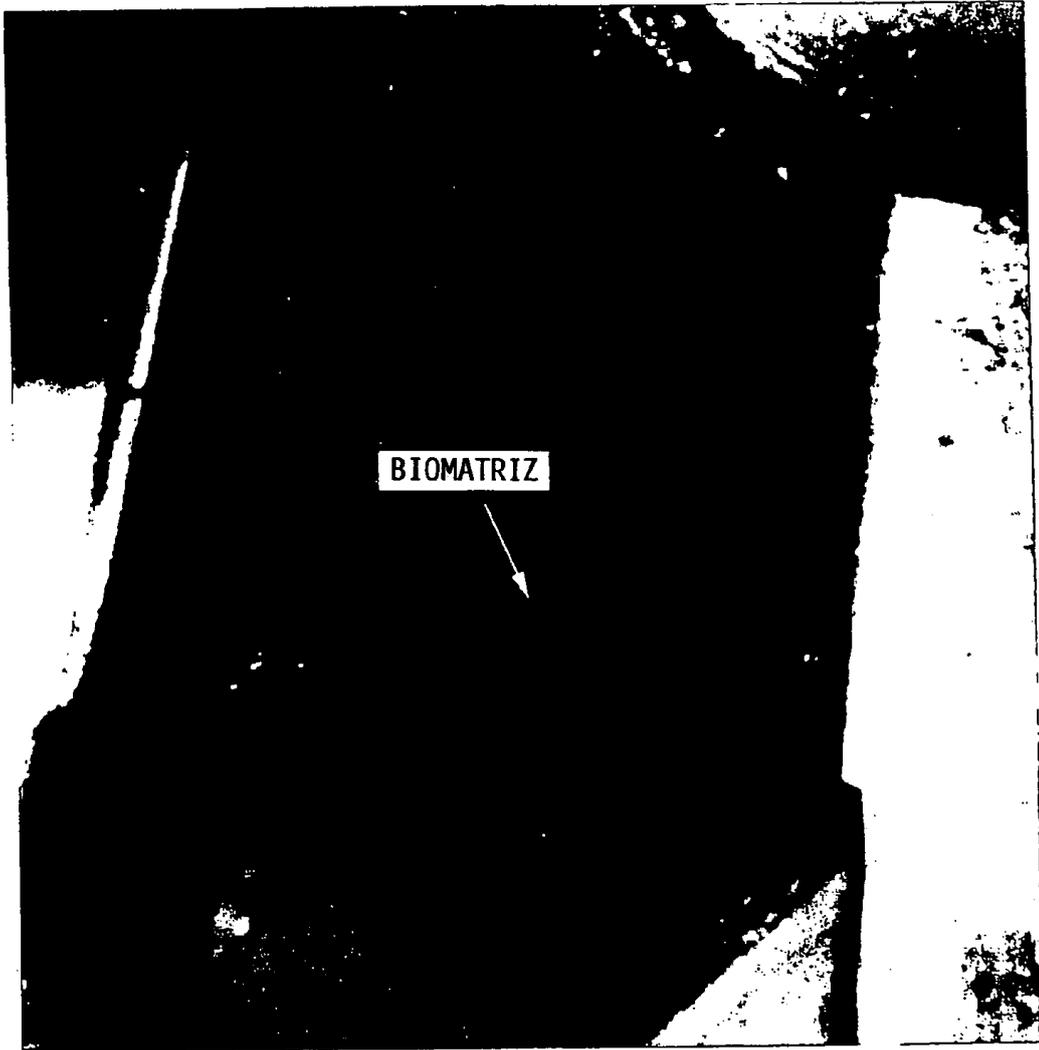


FIG.14



FIG.15



FIG.16



FIG.17



FIG.18



FIG.19



FIG.20

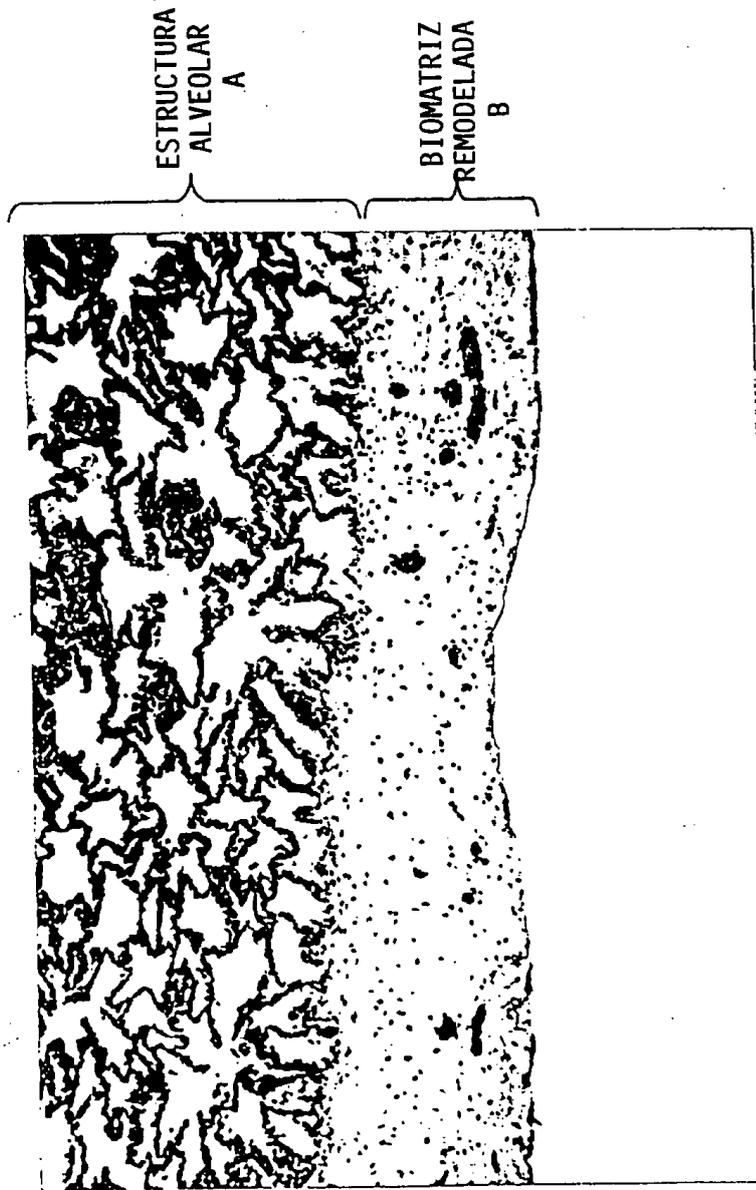


FIG.21

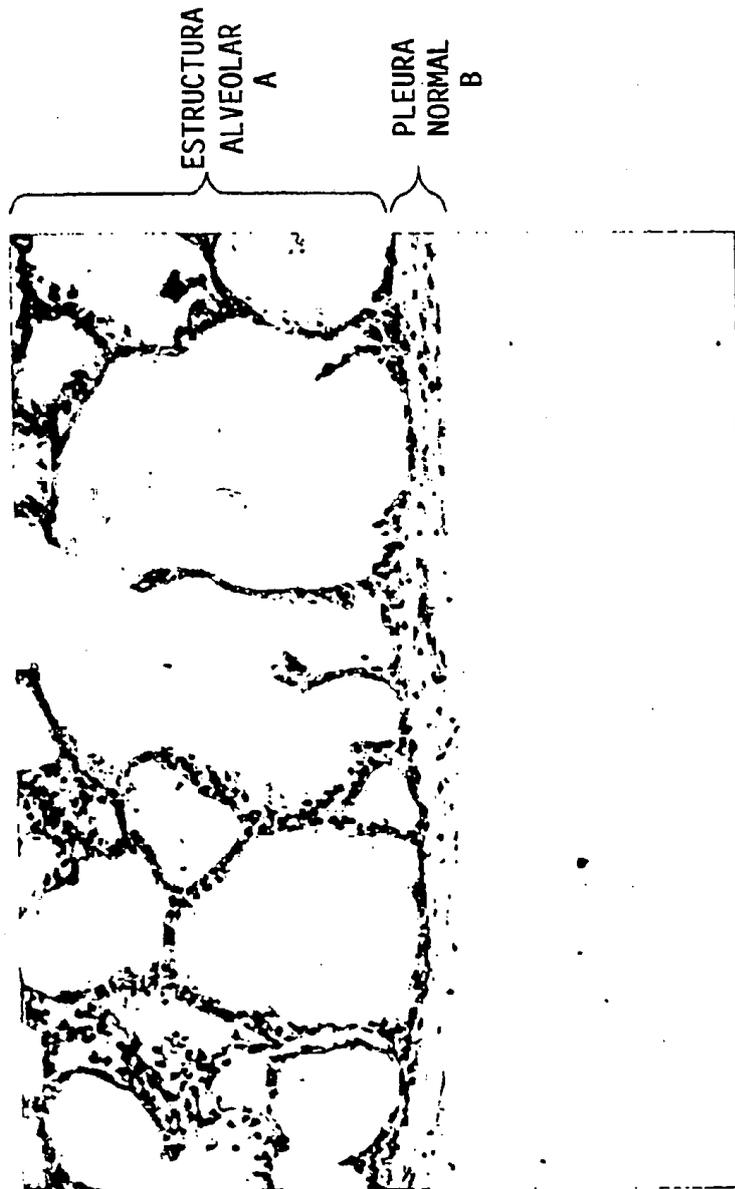


FIG.22