



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

|                    |                 |
|--------------------|-----------------|
| DOMANDA NUMERO     | 102001900939093 |
| Data Deposito      | 22/06/2001      |
| Data Pubblicazione | 22/12/2002      |

|                        |            |
|------------------------|------------|
| Priorità               | 60/214,848 |
| Nazione Priorità       | US         |
| Data Deposito Priorità |            |

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|---------|--------|-------------|--------|-------------|
| A       | 61     | L           |        |             |

Titolo

|                                                   |
|---------------------------------------------------|
| TUBI DI COLLAGENE PER LA RIGENERAZIONE DEI NERVI. |
|---------------------------------------------------|

MI 200 1 A 00 1320

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

**"TUBI DI COLLAGENE PER LA RIGENERAZIONE DEI NERVI"**

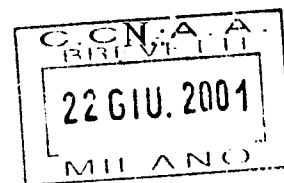
Della ditta: ED. GEISTLICH SÖHNE AG FÜR CHEMISCHE INDUSTRIE

di nazionalità svizzera, con sede a Wolhusen (Svizzera) che nomina quali mandatarî e domiciliatari, anche in via disgiunta fra loro, Dr. Diana Domenighetti, Avv. Vincenzo Bilardo, Dr. Ing. Aldo Petruzzello, Dr. Maria Teresa Marinello, Dr. Ing. Maria Chiara Zavattoni, dell'Ufficio DR. ING. A. RACHELI & C. S.p.A. - Milano - Viale San Michele del Carso, 4.

Inventori: Spector Myron, Schlösser Lothar e Geistlich Peter

Depositata il:

\*\*\*\*\*

DESCRIZIONE**RIFERIMENTO INCROCIATO AD UNA DOMANDA CORRELATA**

La presente domanda rivendica i benefici della domanda provvisoria con protocollo Serial No. 60/214,848, depositata in data 28 giugno 2000.

**CONOSCENZE DI BASE DELL'INVENZIONE****Campo dell'invenzione**

La presente invenzione è relativa al campo della rigenerazione dei nervi.

**Descrizione delle conoscenze tecniche di base**

E' noto che i nervi che hanno subito lesioni possono venire ricollegati mediante metodi di intubulazione in cui le estremità dei nervi vengono inserite in un tubo di silicone che può contenere un copolimero di collagene e glicosamminoglicano a innesto (collagene-GAG o CG) poroso riassorbibile. Anche se questo metodo è stato usato per ricollegare i nervi, l'uso di tubi di silicone non riassorbibili richiede una successiva procedura chirurgica per la rimozione dei tubi.

Al fine di evitare la seconda procedura chirurgica per la rimozione dei tubi di silicone, si sono usati tubi riassorbibili formati da collagene di tipo I di tendine di bovino. I tubi di collagene di tendine di tipo I sono stati fino ad ora formati con pori delle pareti laterali di circa 22 nm (detto "collagene poroso") e diametri dei pori delle pareti laterali minori di 3,8 nm (a cui si fa qualche volta riferimento in modo non corretto come "collagene non poroso"). Questi tubi fatti di collagene di tendine di tipo I vengono formati mediante applicazione di un gel viscoso delle fibre di collagene di tipo I purificate su un mandrino rotante e compressione del materiale a formare delle fibre strettamente impaccate. I tubi vengono reticolati chimicamente e liofilizzati. Uno svantaggio dell'uso di tubi formati come descritto qui sopra a partire da collagene di tendine di tipo I è il fatto che tessuto connettivo e fibroblasti possono penetrare nei pori delle pareti del tubo di collagene di tendine di tipo I, cosa che porta alla formazione di tessuto cicatriziale e impedisce il ricollegamento delle estremità dei nervi. In aggiunta, anche la superficie interna di tubi di collagene di tendine di tipo I formati come descritto qui sopra può impedire il ricollegamento delle estremità dei nervi.

Rimane nel mestiere il bisogno di metodi e strutture migliorati per la rigenerazione e il ricollegamento di nervi che hanno subito lesioni.

### **SOMMARIO DELL'INVENZIONE**

In conformità con la presente invenzione, un tubo per la rigenerazione di nervi con una parete laterale riassorbibile è composto da materiale composto da collagene avente una superficie liscia di barriera compatta esterna in modo tale da inibire l'adesione delle cellule su di esso e da agire da barriera per impedire il passaggio di cellule attraverso di esso. Il tubo ha una superficie interna fibrosa morbida di fronte alla superficie liscia di barriera.

AS

### **BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI**

La Figura 1 è una vista schematica in elevazione di lato di una membrana che serve a formare un tubo in conformità con una forma di realizzazione della presente invenzione.

La Figura 2 è una vista schematica in elevazione di estremità di un tubo riempito in conformità con una forma di realizzazione della presente invenzione.

La Figura 3 è una vista in elevazione di lato, in parte schematica, di un tubo in conformità con una forma di realizzazione della presente invenzione.

La Figura 4 è una vista schematica in elevazione di estremità di un tubo sovrapposto in conformità con un'altra forma di realizzazione della presente invenzione.

### **DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE**

La presente invenzione mette a disposizione un metodo e una struttura per il ricollegamento e la rigenerazione di nervi che hanno subito lesioni, per esempio nervi spinali periferici. La presente invenzione fa uso di tubi fatti di materiale composto da collagene riassorbibile avente una superficie liscia di barriera compatta esterna per impedire la crescita verso l'interno di tessuto connettivo evitando la formazione di tessuto cicatriziale e consentendo una guarigione non pregiudicata dei nervi lesi.

La superficie di barriera esterna di un tubo secondo la presente invenzione impedisce l'adesione delle cellule su di essa e agisce da barriera ad impedire il passaggio di cellule, come i fibroblasti, attraverso di essa.

La parete laterale di un tubo di nuova concezione in conformità con la presente invenzione ha una superficie interna fibrosa morbida di fronte alla superficie liscia di barriera esterna.

10

In forme di realizzazione preferite della presente invenzione, il tubo dell'invenzione è una miscela di collagene di tipo III e collagene di tipo I, avente per esempio un contenuto di collagene di tipo III di circa dall'1 al 10% in peso e un contenuto di collagene di tipo I di circa dal 90 al 99% in peso. In forme di realizzazione particolarmente preferite, il tubo della presente invenzione ha un contenuto di collagene di tipo III di circa dall'1 al 5% in peso e un contenuto di collagene di tipo I di circa dal 95 al 99% in peso.

In forme di realizzazione preferite, la parete laterale di un tubo secondo la presente invenzione è derivata da un tessuto di membrana di collagene di una fonte bovina, suina o di altro animale.

In forme di realizzazione preferite, il tessuto di membrana è tessuto della membrana peritoneale ricavato da giovani vitelli.

Un materiale adatto per la formazione di tubi secondo la presente invenzione è il Bio-Gide<sup>(R)</sup>, della Ed. Geistlich Söhne AG für Chemische Industrie, la cessionaria della presente invenzione. Il materiale Bio-Gide<sup>(R)</sup> e la sua formazione sono descritti nel brevetto statunitense 5,837,278, qui incorporato mediante la sua citazione.

Il materiale Bio-Gide<sup>(R)</sup> contiene circa dall'1 al 5% di collagene di tipo III e circa dal 95 al 99% di collagene di tipo I.

La Figura 1 mostra un foglio di materiale composto da collagene che serve per la formazione di un tubo secondo la presente invenzione, avente una superficie liscia di barriera compatta esterna 10 e una superficie fibrosa morbida 12 di fronte alla superficie liscia di barriera 10.

10  
12

Si ritiene che la superficie interna fibrosa morbida 12 all'interno di un tubo per la rigenerazione di nervi secondo la presente invenzione faciliti la rigenerazione dei nervi.

La rigenerazione dei nervi può anche venire facilitata mediante il fatto di mettere a disposizione un materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi all'interno di un tubo per la rigenerazione di nervi secondo la presente invenzione. In forme di realizzazione preferite, il materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi è composto da collagene di tipo I, collagene di tipo IV o una loro miscela. Di massima preferenza, il materiale di riempimento è composto da fibre di collagene che hanno una orientazione sostanzialmente longitudinale rispetto all'asse del tubo. La Figura 2 mostra una vista dal fondo di un tubo 14 secondo la presente invenzione contenente un materiale di riempimento 16 composto da fibre di collagene che hanno un'orientazione sostanzialmente longitudinale rispetto al tubo 14.

In forme di realizzazione particolarmente preferite, il materiale di riempimento 16 è una miscela di collagene di tipo I e collagene di tipo IV, di massima preferenza in un rapporto di circa 1:1 in peso.

Il materiale di riempimento 16 può per di più contenere altri ingredienti che servono per promuovere la crescita dei nervi, come stimolanti della crescita dei nervi (per esempio la laminina), fattore di crescita dei nervi - nerve growth factor (NGF), o simili, o loro miscele.

In conformità con una forma di realizzazione, un tubo per la rigenerazione di nervi in conformità con la presente invenzione viene prodotto in un metodo nel quale viene messo a disposizione un foglio di materiale composto da collagene come descritto più su, come il Bio-Gide<sup>(R)</sup>, e tale foglio viene sagomato a dare un

*Handwritten signature*

tubo. In una forma di realizzazione, due orli laterali opposti 18 e 20 del foglio di materiale vengono riuniti a formare il tubo 14 come è mostrato in Figura 3. I due orli laterali opposti 18 e 20 possono venire congiunti per mezzo di qualsiasi metodo adatto per formare il tubo, come mediante l'utilizzo di suture riassorbibili 22 come è mostrato in Figura 3, fatte di fili biodegradabili, per esempio composti da collagene, polilattide, poliglicolide o simili. In alternativa, si può usare un adesivo accettabile dal punto di vista medico, come colla di fibrina, amido o sospensione di collagene.

Facendo di nuovo riferimento alla Figura 2, il materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi 16 può venire iniettato nel tubo 14 dopo la formazione del tubo 14.

In alternativa, il materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi può venire formato e crioessiccato a formare una spugna di collagene, tagliato a dare un cilindro rotondo avente un diametro circa uguale al diametro interno del tubo 14. Il cilindro di spugna può poi venire compresso e introdotto nel tubo dopo la formazione del tubo 14.

In ancora un'altra forma di realizzazione, una sospensione del materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi può venire applicata alla superficie fibrosa 12 di un foglio di materiale composto da collagene come mostrato in Figura 1, prima della formazione del tubo. Il tubo può poi venire formato mediante il fatto di arrotolare il foglio di membrana con la sospensione di materiale di riempimento attaccata alla superficie fibrosa in modo tale da formare il tubo con il riempimento al suo interno in una sola fase. I due bordi laterali possono venire congiunti insieme per mezzo di suture, adesivi, oppure la sospensione di materiale di riempimento può agire da adesivo.

Nella forma di realizzazione mostrata in Figura 4, i due orli laterali opposti 18' e 20' vengono sovrapposti a formare il tubo 14'. Gli orli sovrapposti 18' e 20' possono venire congiunti per mezzo di suture o adesivo 24 come è mostrato in Figura 4. In alternativa, il materiale che promuove la crescita dei nervi può servire da adesivo per unire gli orli laterali opposti e formare il tubo.

Quando il materiale di riempimento che promuove la crescita dei nervi viene messo a disposizione nella forma di una sospensione per il riempimento del tubo, i tubi riempiti vengono crioessiccati per essere messi in magazzino prima dell'uso in campo chirurgico.

Come alternativa alla formazione dei tubi della presente invenzione direttamente a partire da un materiale di membrana come il Bio-Gide<sup>(R)</sup>, la parete laterale della tubatura secondo la presente invenzione può venire formata a partire da una sospensione di collagene in modo tale da fornire una superficie liscia di barriera compatta esterna e una superficie fibrosa interna di fronte alla superficie liscia di barriera come descritto più su. Il materiale può poi venire crioessiccato a formare dei tubi in conformità con la presente invenzione. Durante l'uso, le estremità dei nervi vengono inserite nelle estremità aperte 26 e 28 di un tubo 14 in conformità con la presente invenzione per facilitare il ricollegamento delle estremità dei nervi.

La presente invenzione viene illustrata per mezzo degli esempi che seguono che non sono da intendersi come limitativi.

#### Esempio 1

Dei tubi vengono formati a partire da membrane Bio-Gide<sup>(R)</sup>, con un diametro interno di circa 0,5-5 mm e una lunghezza di circa 10-100 mm. Gli orli dei tubi vengono congiunti mediante sutura o con adesivo.



### Esempio 2

Una massa di collagene di tipo I di tipo gel viene prodotta a partire da cottenne di maiale come segue. Cottenne di maiale vengono spezzettate in pezzi delle dimensioni massime di  $1\text{ cm}^3$ . Dalle cottenne di maiale viene rimossa l'acqua con un solvente organico solubile in acqua, e il solvente viene lasciato evaporare. I pezzi di cotenna essiccata vengono sgrassati con solvente costituito da idrocarburo liquido. Il solvente costituito da idrocarburo liquido viene rimosso e i pezzi secchi di cotenna vengono lasciati assorbire acqua. I pezzi di cotenna idratati vengono trattati con idrossido di sodio 1N e lavati. I pezzi di cotenna vengono trattati con una soluzione 0,04 N di acido cloridrico e lavati di nuovo. Il materiale trattato in questo modo viene macinato in un mulino per colloidali a dare una sospensione liquida omogeneizzata contenente circa l'1,5% di collagene. La sospensione viene posta in una siringa di iniezione e tubi formati in conformità con l'esempio 1 vengono riempiti con la sospensione. I tubi riempiti vengono congelati per 24 ore a  $-20^{\circ}\text{C}$  e vengono crioessiccati per 72 ore ad una pressione minore di 1 mbar.

### Esempio 3

Un materiale di riempimento composto dal 50% di collagene di tipo I e dal 50% di collagene di tipo IV viene preparato come segue. Una sospensione all'1,5% di collagene di tipo I viene preparata a partire da cottenne di maiale come descritto nell'esempio 2. Collagene di tipo IV disponibile in commercio viene miscelato con acqua in un frullatore a dare una sospensione all'1,5%. Le sospensioni di collagene di tipo I e di collagene di tipo IV vengono miscelate insieme in quantità uguali. Le sospensioni miscelate vengono poste in una siringa di iniezione e tubi formati in conformità con l'esempio 1 vengono riempiti con la miscela delle sospensioni. I

tubi vengono congelati per 24 ore a  $-20^{\circ}\text{C}$  e crioessiccati per 72 ore ad una pressione minore di 1 mbar.

#### Esempio 4

Una sospensione secondo l'esempio 2 o una sospensione mista secondo l'esempio 3 viene applicata al lato fibroso di fogli di Bio-Gide<sup>(R)</sup> e i fogli vengono arrotolati in modo tale da sovrapporre gli orli laterali dei fogli e a chiudere all'interno la sospensione collegando e unendo gli orli laterali in una sola fase. I tubi riempiti in questo modo vengono poi congelati per 24 ore a  $-20^{\circ}\text{C}$  e crioessiccati per 72 ore ad una pressione minore di 1 mbar.



### RIVENDICAZIONI

1. Un tubo per la rigenerazione di nervi con una parete laterale riassorbibile composta da materiale composto da collagene, la parete laterale avendo una superficie liscia di barriera compatta esterna in modo tale di inibire l'adesione delle cellule su di essa e da agire da barriera per impedire il passaggio di cellule attraverso di essa, la parete laterale del tubo avendo per di più una superficie interna fibrosa di fronte alla superficie liscia di barriera.

2. Il tubo della rivendicazione 1 nel quale la detta parete laterale è composta da una miscela di collagene di tipo III e di tipo I.

3. Il tubo della rivendicazione 2 nel quale la detta miscela contiene circa dall'1 al 10% di collagene di tipo III e circa dal 90 al 99% di collagene di tipo I.

4. Il tubo della rivendicazione 3 nel quale la detta miscela contiene circa dall'1 al 5% di collagene di tipo III e circa dal 95 al 99% di collagene di tipo I.

5. Il tubo della rivendicazione 1 nel quale è contenuto un materiale di riempimento composto da collagene di tipo I, collagene di tipo IV o una loro miscela.

6. Il tubo della rivendicazione 5 nel quale il materiale di riempimento è composto da fibre di collagene aventi un'orientazione sostanzialmente longitudinale rispetto al detto tubo.

7. Il tubo della rivendicazione 5 nel quale il detto materiale di riempimento è una miscela di collagene di tipo I e di collagene di tipo IV.

8. Il tubo della rivendicazione 7 nel quale il collagene di tipo I e il collagene di tipo IV del detto materiale di riempimento sono in un rapporto di circa 1:1 in peso.



9. Il tubo della rivendicazione 5 nel quale il detto materiale di riempimento include per di più uno stimolante della crescita dei nervi, un fattore di crescita dei nervi o una loro miscela.

10. Il tubo della rivendicazione 9 nel quale il detto materiale di riempimento contiene laminina come stimolante della crescita dei nervi.

11. Il tubo della rivendicazione 1 nel quale la detta parete laterale è derivata da tessuto di membrana di collagene.

12. Il tubo della rivendicazione 11 nel quale il detto tessuto di membrana è tessuto peritoneale.

13. Un tubo per la rigenerazione di nervi con una parete laterale comprendente materiale composto da collagene derivato da tessuto di membrana di collagene.

14. Il tubo della rivendicazione 13 nel quale il detto tessuto di membrana di collagene è tessuto di membrana peritoneale.

15. Un metodo per la produzione di un tubo per la rigenerazione di nervi come rivendicato nella rivendicazione 1 comprendente le operazioni di:

a) messa a disposizione di un foglio di materiale composto da collagene avente una superficie liscia di barriera compatta esterna così da inibire l'adesione delle cellule su di essa e da agire da barriera per impedire il passaggio di cellule attraverso di essa, e una superficie fibrosa di fronte alla superficie liscia di barriera; e

b) formazione a partire dal detto foglio di un tubo avente una parete laterale con la detta superficie liscia di barriera compatta esterna orientata verso l'esterno, la detta parete laterale avendo una superficie interna composta dalla detta superficie fibrosa che sta di fronte alla detta superficie liscia di barriera.



16. Il metodo della rivendicazione 15 nel quale il detto foglio di materiale composto da collagene ha due orli laterali opposti e i due orli laterali opposti del detto foglio vengono portati insieme a formare il detto tubo a partire dal detto foglio.

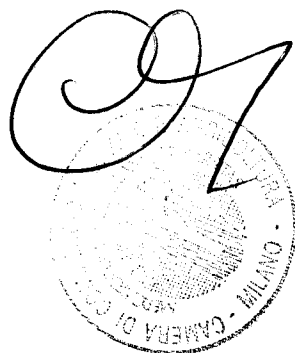
17. Il metodo della rivendicazione 16 nel quale è ulteriormente inclusa una fase di congiunzione dei due detti orli laterali insieme a formare il detto tubo a partire dal detto foglio.

18. Il metodo della rivendicazione 17 nel quale i due orli laterali vengono uniti insieme per mezzo di suture o di adesivo.

19. Il metodo della rivendicazione 15 nel quale il detto foglio viene sagomato a dare il detto tubo con un materiale di riempimento nel detto tubo composto da collagene di tipo I, collagene di tipo IV o una loro miscela.

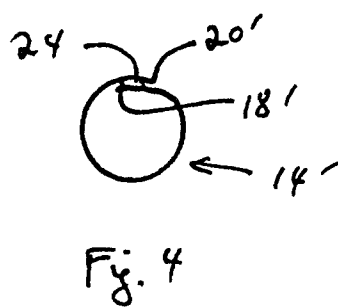
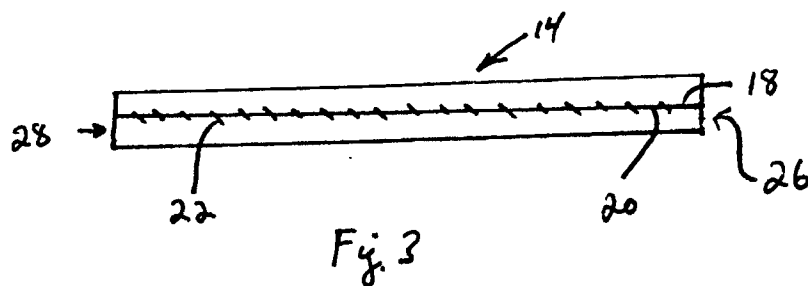
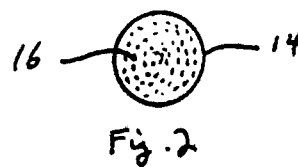
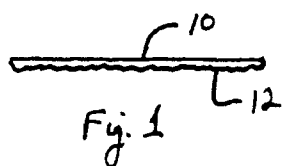
20. Il metodo della rivendicazione 15 nel quale il detto foglio ha due lati opposti che vengono sovrapposti a formare il detto tubo.

21. Il metodo della rivendicazione 20 nel quale il detto foglio viene sagomato a dare il detto tubo con un materiale di riempimento nel detto tubo composto da collagene di tipo I, collagene di tipo IV o una loro miscela.



RACHELI & C. SpA  
Aldo Petruzzello

Handwritten signature of Aldo Petruzzello.



MI 200 1 A 00 1320



RACHELI & C. SpA  
Aldo Petruzzello

*[Handwritten signature]*