



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0819960-4 B1



(22) Data do Depósito: 15/02/2008

(45) Data de Concessão: 26/01/2021

(54) Título: DISPOSITIVOS DE REPARO DE TECIDO PREPARADOS A PARTIR DE ESCAMAS DE PEIXE E MÉTODOS PARA PREPARAÇÃO DOS MESMOS

(51) Int.Cl.: C09K 3/00; A61K 8/65; A61L 27/00.

(30) Prioridade Unionista: 09/01/2008 CN 20081002062.0.

(73) Titular(es): BODY ORGAN BIOMEDICAL CORP..

(72) Inventor(es): LAI, HORNG-JI; LIN, CHIEN-CHENG; LIN, SHANG-MING.

(86) Pedido PCT: PCT CN2008070309 de 15/02/2008

(87) Publicação PCT: WO 2009/086743 de 16/07/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 12/07/2010

(57) Resumo: BIOMATERIAL E MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO MESMO É provido um biomaterial preparado a partir de um processo compreendendo a acelularização das escamas do peixe, a desidratação das escamas do peixe até que estas contenham menos que aproximadamente 50% de água, e a trituração das escamas de peixe desidratadas em partículas, cada uma tendo um diâmetro médio menor que aproximadamente 10.000 (Mi)m, onde as partículas trituradas contêm uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja. A invenção também provê um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe por meio de um processo compreendendo submeter as escamas de peixe a um tratamento térmico a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C.

**"DISPOSITIVOS DE REPARO DE TECIDO PREPARADOS A PARTIR DE
ESCAMAS DE PEIXE E MÉTODOS PARA PREPARAÇÃO DOS MESMOS"**

HISTÓRICO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a um biomaterial e
5 método de preparação do mesmo e, particularmente, a um
biomaterial preparado a partir de escamas de peixe para uso no
reparo e implante de tecido.

A engenharia de tecidos que envolve a
incorporação de um biomaterial com propriedades biológicas e/ou
10 farmacêuticas e, mediante o implante em um paciente, estimulará
a angiogênese, a integração do tecido e/ou a remodelagem do
tecido.

O biomaterial é um material sintético e
biocompatível utilizado para construir órgãos artificiais,
15 dispositivos de reabilitação ou próteses e substituição de
tecidos corporais naturais.

Durante décadas, a fibra de colágeno, a
hidroxiapatita (HAP) e o fosfato tricálcico (TCP) são alguns
dos biomateriais com grande biocompatibilidade e segurança para
20 uso no implante de tecido humano. No entanto, esses biomateriais
têm desvantagens, tais como baixa resistência mecânica, risco
de resíduo químico em ligação cruzada e doença transmitida por
animais terrestres.

Portanto, é desejável desenvolver um biomaterial
25 que tenha alta resistência mecânica, baixa possibilidade de
contração de doenças terrestres contagiosas e que seja aplicável
aos reparos ou implantes de tecido.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É um aspecto da invenção prover um biomaterial
tendo uma alta resistência mecânica, baixa possibilidade de
contração de doenças terrestres contagiosas e que seja aplicável

aos reparos ou implantes de tecido.

É um outro aspecto da invenção prover um uso do biomaterial preparado pelo processo descrito acima para reparo e implante de tecidos.

5 Ainda, é outro aspecto da invenção prover os métodos de preparação do biomaterial conforme ilustrado acima.

É um aspecto da invenção prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe por meio de um processo que inclui a acelularização das escamas do peixe; e a trituração das
10 escamas do peixe em partículas, onde cada uma das partículas trituradas contém uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja.

Em uma configuração da invenção, o método para prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe inclui ainda a extrusão das escamas do peixe que é a mistura da
15 matriz e pó semelhantes a esponja sob uma temperatura menor que aproximadamente 200°C para a obtenção de uma forma de flocos, uma
forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica.

É um aspecto da invenção prover um biomaterial
20 preparado a partir de escamas de peixe por meio de um processo em que, antes da etapa de trituração das escamas do peixe, compreendendo ainda uma etapa de desidratação das escamas do peixe. A etapa de desidratação das escamas do peixe é realizada até que estas contenham menos que aproximadamente 50% de água.
25 Compreende ainda uma etapa de limpeza das escamas antes da etapa de desidratação das escamas. A etapa de acelularização das escamas do peixe poderia ser realizada antes da etapa de limpeza das escamas ou realizada antes da etapa de desidratação das escamas.

É outro aspecto da invenção prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe por meio de um processo que compreende ainda uma etapa de separação da matriz e do pó das partículas trituradas.

5 A escama de peixe poderia ter um diâmetro médio menor que 20 cm. Por exemplo, as escamas de peixe podem ter um diâmetro de aproximadamente 10 a 20 cm. Em particular, o material do biomaterial preparado a partir de escamas de peixe ainda mantém a ligação original e a estrutura 3D da escama de peixe. As
10 partículas trituradas poderiam ter um diâmetro médio menor que aproximadamente 10.000 μm , porém não limitado a este valor. As escamas de peixe poderiam ser trituradas em tamanhos menores para uso especial. Por exemplo, o diâmetro médio das partículas trituradas pode ser menor que aproximadamente 10 μm .

15 É um outro aspecto da invenção prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe por meio de um
processo que inclui a acelularização das escamas do peixe; e
extrusão das escamas do peixe para a obtenção de uma forma de
flocos, uma forma de grânulos ou a extrusão em um molde desejado
20 para obtenção de uma forma específica.

No método para prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe, a etapa de extrusão é realizada sob uma temperatura menor que aproximadamente 200°C. Compreende ainda uma etapa de limpeza das escamas antes da etapa de extrusão das
25 escamas. Após a etapa de limpeza das escamas e antes da etapa de extrusão das escamas, compreende ainda uma etapa de desidratação das escamas do peixe. A etapa de desidratação das escamas do peixe é realizada até que estas contenham menos que aproximadamente 50%

de água. A etapa de acelularização das escamas do peixe poderia ser realizada antes da etapa de limpeza das escamas ou realizada antes da etapa de desidratação das escamas. Além disso, compreende uma etapa adicional de embebição das escamas do peixe em água.

5 Essa etapa é opcional e podem ser realizada antes da etapa de extrusão das escamas.

É um outro aspecto da invenção prover um método para a preparação de um biomaterial. O método compreende a desidratação das escamas do peixe acelularizadas até que estas
10 contendam menos que aproximadamente 50% de água, e a trituração das escamas de peixe desidratadas em partículas, cada uma tendo um diâmetro médio menor que aproximadamente 10.000 μm , onde as partículas trituradas contêm uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja. Em uma configuração, as escamas de peixe
15 contêm menos que aproximadamente 25% de água, e as partículas trituradas têm um diâmetro médio menor que aproximadamente 5.000 μm .

É um outro aspecto da invenção prover um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe por meio de um
20 processo que compreende submeter as escamas de peixe a um tratamento térmico a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C.

É ainda outro aspecto da invenção obter o biomaterial a partir de escamas de peixe por meio dos métodos
25 ilustrados acima.

O biomaterial obtido pelos métodos ilustrados acima mantém a ligação original e a estrutura 3D das escamas de peixe e, portanto, possui uma alta resistência mecânica, baixa

possibilidade de contração de doenças terrestres contagiosas e é aplicável ao reparo ou implante de tecidos.

BREVE DESCRIÇÃO DAS VÁRIAS VISTAS DOS DESENHOS

O sumário acima, bem como a descrição detalhada da invenção a seguir, serão mais bem compreendidos quando lidos com os desenhos anexos. Para fins de ilustração da invenção, são mostrados nos desenhos configurações que são atualmente preferidas. Deve ser entendido, no entanto, que a invenção não está limitada aos arranjos precisos e a às instrumentalidades mostradas.

NOS DESENHOS:

A FIGURA 1A é um fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com a invenção.

15 A FIGURA 1B é outro fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com a invenção.

A FIGURA 1C é um fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com os exemplos 1 e 2 da invenção.

A FIGURA 1D é outro fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com os exemplos 1 e 2 da invenção.

25 A FIGURA 1E é um fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com o exemplo 3 da invenção.

A FIGURA 1F é outro fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com o

exemplo 3 da invenção.

A FIGURA 2A é uma imagem de SEM (microscopia eletrônica de varredura) de cultura 3T3 (célula de fibroblasto) da presente invenção por 5 dias.

5 A FIGURA 2B é uma imagem de SEM de cultura de osteoblastoma da presente invenção por 5 dias.

A FIGURA 3A é uma imagem confocal de cultura 3T3 (célula de fibroblasto) da presente invenção por 5 dias.

10 A FIGURA 3B é uma imagem confocal de cultura de osteoblastoma da presente invenção por 5 dias.

A FIGURA 4 é uma imagem de coloração de H&E de cultura de célula de osteoblastoma da presente invenção por 5 dias.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

15 Será feita referência agora, em detalhes, às presentes configurações da invenção, cujos exemplos são ilustrados nos desenhos anexos.

Com referência à FIGURA 1A, a presente invenção refere-se a um biomaterial preparado a partir de escamas de peixe 9. O biomaterial é preparado por meio de um processo que compreende as etapas de acelularização das escamas do peixe 9 (S10), desidratação das escamas do peixe 9 (S12) até que contenham menos que aproximadamente 50% de água. As escamas de peixe 9 desidratadas são então trituradas (S13) em um produto tendo um tamanho de partícula menor que aproximadamente 10.000 µm. Em uma configuração, as escamas de peixe 9 contêm menos que aproximadamente 25% de água e as partículas trituradas têm um diâmetro médio menor que aproximadamente 5.000 µm.

De acordo com alguns exemplos da invenção, as escamas de peixe 9 podem ser fornecidas frescas na forma resfriada ou congelada. Em um exemplo específico da invenção, as escamas de peixe 9, cada uma tendo um diâmetro médio menor que aproximadamente 20 cm, podem ser selecionadas para a preparação do biomaterial. Primeiro, as escamas de peixe 9 são acelularizadas com um reagente, por exemplo, solução hipotônica, detergente, Triton X-100, SDS (dodecil sulfato de sódio), inibidor de protease, DNase, RNase entre outros, para remover as células das escamas de peixe 9 de modo a evitar que as células residuais afetem os reparos, implantes e a biocompatibilidade dos tecidos. Por exemplo, isso pode causar a resposta imune do hospedeiro contra o biomaterial e a rejeição sem acelularização.

Antes da desidratação das escamas do peixe, as escamas de peixe 9 podem ser limpas por lavagem (S11) em vapor com outros agentes de limpeza, incluindo, entre outros, surfactante, detergente, água quente e solvente polar, tal como etanol, a aproximadamente 60°C. No entanto, a presente invenção não está limitada a qualquer etapa de limpeza em particular. Por exemplo, as escamas de peixe são limpas o suficiente para passar no teste de Lisado de Amebócitos de Limulus (LAL) que é um ensaio para detecção e quantificação de endotoxina bacteriana. Preferencialmente, as escamas de peixe limpas devem ter uma pontuação no teste LAL menor que aproximadamente 1000 Eu/ml.

Com referência à FIGURA 1B, é mostrado outro fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com a invenção. As etapas de preparação do biomaterial são quase as mesmas da FIGURA 1A, exceto pelo fato de

que a etapa de acelularização das escamas do peixe 9 (S10) é realizada após a etapa de limpeza das escamas de peixe 9 (S11). A sequência da etapa de acelularização das escamas do peixe 9 (S10) e a etapa de limpeza das escamas de peixe 9 (S11) são opcionais.

5 De acordo com um exemplo da invenção, as escamas do peixe 9 são desidratadas (S12) por aspersão de ar, em forno, liofilização ou quaisquer outros métodos convencionais de desidratação disponíveis até o momento. Também, as escamas de peixe podem ser desidratadas por embebição em etanol ou outro
10 solvente orgânico polar. As escamas de peixe são desidratadas até que seu teor de água seja menor que aproximadamente 50%, preferencialmente menor que aproximadamente 25%. De acordo com outro exemplo da invenção, as escamas de peixe desidratadas podem ser trituradas em partículas, cada uma tendo um diâmetro médio
15 menor que aproximadamente 10.000 μm , preferencialmente aproximadamente 5000 μm . As partículas trituradas podem conter uma mistura de matriz 14 e pó 15 semelhantes a esponja. Por exemplo, as partículas trituradas podem ser ainda filtradas utilizando um filtro ideal para isolar a matriz e o pó. A etapa de filtração
20 pode ser realizada com a ajuda de um meio vibratório para aumentar o efeito filtrante. Como resultado, as partículas filtradas provêm o biomaterial na forma de pó, ao passo que o filtrado que permanece da etapa de filtração dá origem ao biomaterial na forma de matriz. Ainda, os dispositivos adotados para trituração das
25 escamas do peixe não são limitados ao uso de qualquer triturador em particular, máquina de trituração ou qualquer equipamento utilizado para reduzir o tamanho de partícula das escamas de peixe, uma vez que cada uma das partículas trituradas tem um diâmetro

médio menor que aproximadamente 10.000 μm , preferencialmente menor que aproximadamente 5000 μm .

Esses produtos podem ser ainda processados, por exemplo, por extrusão (S16), filtração, secagem total ou parcial e esterilização para proporcionar biomateriais esterilizados. Em uma configuração preferida, essas etapas podem ser realizadas com ou sem aquecimento. Esses produtos podem ser utilizados em combinação com diversas composições de reparo de tecido conjuntivo ou em combinação com outros princípios ativos ou inativos.

Em outro exemplo, as escamas de peixe 9 desidratadas podem ser extrudadas, por exemplo, por um tratamento térmico realizado a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C, para produzir o biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica 17. O processo de extrusão também poderia ser realizado a 0°C com as escamas de peixe congeladas. No entanto, a

presente invenção não está limitada ao método acima para a produção do biomaterial nas formas ilustradas acima. Por exemplo, as escamas de peixe também podem ser extrudadas (S16) a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C após a etapa de limpeza (S11) para produzir o biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica 17, sendo fácil realizar a etapa de extrusão depois que as escamas de peixe 9 são desidratadas. Uma etapa adicional (S18) de embebição das escamas do peixe 9 em água é opcionalmente realizada antes do processo de extrusão (S16), porém após a etapa de limpeza (S11). Além disso, em outro exemplo da invenção, os biomateriais na forma de matriz 14 ou pó 15 podem

ser ainda extrudadas (S16) a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C para se converterem no biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica 17. Entretanto, a
5 extrusão descrita acima não está limitada ao uso do tratamento térmico na presente invenção. Os técnicos no assunto também podem utilizar outros tratamentos térmicos, tais como extrusão térmica de qualquer tipo, etapas de prensagem térmica e moldagem para produzir o biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou
10 em uma forma específica.

O biomaterial da invenção contém fatores de reparo de tecido e pode ser fabricado em um material de reparo de tecido para reparo de diversas lesões teciduais e locais com defeito no tecido. Por exemplo, o biomaterial da invenção pode ser
15 preparado para injeção ou inserção em, dentro, sobre ou próximo de locais com defeito ósseo, locais de reparo de cartilagem, locais de reparo alveolar dentário ou em outros locais com defeito em tecido mole. Em outros exemplos, o biomaterial pode ser feito como um curativo para transplante, implante em enxertos cirúrgicos ou
20 implantes a serem introduzidos em, dentro, sobre ou próximo de locais com defeito ósseo, locais de reparo de cartilagem ou em outros locais com defeito no tecido. Assim, a invenção é também aplicável ao implante cirúrgico de tecido conjuntivo com o material de reparo de tecido derivado de escamas de peixe, onde o
25 implante cirúrgico é colocado em um local com defeito no tecido conjuntivo.

Resumindo o que foi acima revelado, a invenção refere-se a um biomaterial na forma de pó e/ou matriz e/ou flocos

preparado a partir de escamas de peixe 9 para uso em diversos reparos de tecido e implantes. Esses produtos derivados de escamas de peixe 9, também aqui denominados como biomateriais na forma de pó, na forma de matriz, na forma de flocos ou como extrusão em um
5 molde desejado para formação da especificação 17, podem conter fatores de reparo de tecido e podem ser ainda processados para produzir diversas formulações e consistências.

A invenção será agora descrita mais detalhadamente com referência aos seguintes exemplos específicos.

10 Exemplo 1: Forma de matriz

Com referência à FIGURA 1C, o processo para a preparação do biomaterial do Exemplo 1 na forma de matriz a partir de escamas de peixe começa com a etapa (S20), onde as escamas de peixe 9 são acelularizadas S20; a seguir, as escamas são limpas
15 (S19) com vapor, por exemplo, até que tenham uma pontuação no teste LAL menor que aproximadamente 1000 Eu/ml. Com referência à FIGURA 1D, é mostrado um fluxograma que ilustra outro processo para a preparação de um biomaterial de acordo com o Exemplo 1 da invenção. Primeiro, as escamas de peixe 9 são limpas (S19), as
20 escamas de peixe limpas teriam uma pontuação no teste LAL menor que aproximadamente 1000 Eu/ml. A seguir, as escamas de peixe 9 são acelularizadas (S20). A sequência da etapa de acelularização das escamas do peixe 9 (S20) e da etapa de limpeza das escamas de peixe 9 (S19) é opcional. O processo passa então para a etapa
25 (S21). Na etapa (S21), as escamas de peixe são desidratadas até que contenham menos que 50% de água. A seguir, na etapa (S22), as escamas de peixe desidratadas são trituradas em partículas, cada uma tendo um diâmetro médio menor que 10000 μm . As partículas

trituras contêm uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja. O processo passa para a etapa (S23). Na etapa (S23), a etapa de filtração é realizada utilizando-se um filtro ideal para separar a matriz da mistura. Assim, o filtrado da etapa de filtração forma a
5 matriz. A matriz contém tecido fibroso que é composto de HAP, TCP e colágeno.

EXEMPLO 2: FORMA EM PÓ

Com referência à FIGURA 1C e à FIGURA 1D, são mostrados fluxogramas que ilustram o processo para a preparação de
10 um biomaterial de acordo com o Exemplo 2 da invenção, o processo para a preparação do biomaterial na forma de pó é semelhante ao processo de obtenção do biomaterial na forma de matriz, exceto a etapa de filtração (S23) que é realizada com um filtro e o biomaterial em forma de partícula triturada inclui o pó filtrado e
15 a matriz deixada no filtro depois que a etapa de filtração (S23) é realizada. Portanto, a forma em pó difere da forma em matriz pelo fato de que a forma em pó tem uma estrutura definida ou mecânica. Deve ser observado que o biomaterial na presente invenção não foi realizado com enzima, então mantém não somente o colágeno e HAP,
20 mas também a ligação e a estrutura 3D originais da escama do peixe. A forma em pó é diferente da forma em matriz e o diâmetro do pó é menor que 5000 μm .

Exemplo 3: Forma de flocos, forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma
25 específica.

Com referência à FIGURA 1E, é mostrado um fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com o Exemplo 3 da invenção para produzir o

biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica. O processo para a preparação do biomaterial a partir de escamas de peixe começa com a etapa (S30) onde as escamas de
5 peixe são acelularizadas e então limpas (S29) até que tenham uma pontuação no teste LAL menor que aproximadamente 1000 Eu/ml.

Com referência à FIGURA 1F, é mostrado outro fluxograma que ilustra um processo para a preparação de um biomaterial de acordo com o Exemplo 3 da invenção para produzir o
10 biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica. O processo para a preparação do biomaterial a partir de escamas de peixe começa com a etapa (S29), onde as escamas de peixe são limpas (S29) até que tenham uma pontuação no teste LAL
15 menor que aproximadamente 1000 Eu/ml; a seguir, as escamas de peixe são acelularizadas (S30). A sequência da etapa de acelularização das escamas do peixe 9 (S30) e a etapa de limpeza das escamas de peixe 9 (S29) são opcionais.

O processo passa então para a etapa (S31). Na
20 etapa (S31), as escamas de peixe são desidratadas até que contenham menos que 25% de água. A seguir, na etapa (S32), as escamas de peixe desidratadas são trituradas em partículas, cada uma tendo um diâmetro médio menor que 5000 μm . As partículas trituradas contêm uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja.
25 O processo passa para a etapa (S33). Na etapa (S33), a etapa de filtração é realizada utilizando um filtro ideal para separar a matriz e o pó da mistura. O processo passa para a etapa (S34) que inclui a extrusão da matriz e do pó. A matriz e o pó podem ser

respectivamente obtidos na etapa de extrusão. Ou seja, na etapa de extrusão, a matriz e o pó podem ser combinados juntos. Além disso, a matriz e o pó podem ser combinados com diferentes percentuais para diferentes finalidades, por exemplo, reparo ósseo ou reparo cutâneo.

Alternativamente, a etapa (S34) pode ser realizada diretamente depois que a etapa de limpeza (S29) é realizada para simplificar o processo geral no processo de preparação do biomaterial. Também, o processo pode incluir as etapas de limpeza e desidratação antes da etapa de extrusão nas escamas de peixe limpas e desidratadas conforme mostrado na FIGURA 1E e na FIGURA 1F.

Dessa forma, as escamas de peixe desidratadas, as escamas de peixe limpas sem desidratação ou os biomateriais derivados das escamas de peixe na forma de matriz ou pó, são extrudadas para produzir o biomaterial na forma de flocos, na forma de grânulos ou como extrusão em um molde desejado para obtenção de uma forma específica. O biomaterial derivado da escama de peixe inteira ou das escamas de peixe com diferentes tipos, previamente prensadas a frio com uma pressão maior que 100 g em 2,5 cm³, preferencialmente, mais que 1 kg em 2,5 cm³, é submetido à prensagem a quente realizada a uma temperatura menor que aproximadamente 200°C em um molde desejado.

A temperatura na etapa de extrusão é somente um exemplo não limitativo. Por exemplo, as escamas de peixe podem ser extrudadas de -18°C a 4°C, 30°C a 60°C, menor que aproximadamente 200°C. Ainda, o tempo do processo de extrusão é diferente com uma pressão diferente. A ligação cruzada dos biomateriais pode ser

realizada fisicamente por aquecimento ou quimicamente adicionando-se um agente de ligação cruzada, por exemplo, glutaraldeído, EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida) a uma concentração ideal antes da extrusão se realizada. O agente de ligação cruzada
5 é reativo com o grupo amins ou outro grupo reagente nos biomateriais.

Durante a etapa de acelularização das escamas do peixe, somente a maior parte da albumina e alguns glicosaminoglicanos são removidos, o colágeno, a elastina e a
10 maior parte dos glicosaminoglicanos são residuais na matriz extracelular da estrutura original; portanto, o biomaterial acelularizado pode oferecer a estrutura para que as células se movam para dentro e possuem boa biocompatibilidade.

A FIGURA 2A é uma imagem de SEM de cultura 3T3 (célula de fibroblasto 22) com o biomaterial 20 descrito na presente invenção por 5 dias. A FIGURA 2B é uma imagem de SEM de
15 cultura de osteoblastoma 24 com o biomaterial 20 descrito na presente invenção por 5 dias. Essas imagens mostram que as células (fibroblasto 22 ou osteoblastoma 24) podem crescer bem no
20 biomaterial 20 descrito na presente invenção.

A FIGURA 3A é uma imagem confocal de cultura 3T3 (célula de fibroblasto) da presente invenção por 5 dias. A FIGURA 3B é uma imagem confocal de cultura de osteoblastoma da presente invenção por 5 dias. Essas imagens mostram que as células
25 (fibroblasto ou osteoblastoma) podem crescer bem na presente invenção.

A FIGURA 4 é uma imagem de coloração de H&E de cultura de célula de osteoblastoma 24 com o biomaterial 20

descrito na presente invenção por 5 dias. Essas imagens mostram que a célula de osteoblastoma 24 pode crescer bem no biomaterial 20 descrito na presente invenção.

Outras configurações da invenção ficarão evidentes aos técnicos no assunto a partir da consideração da especificação e da prática da invenção aqui descrita. O objetivo é que a especificação e os exemplos sejam considerados somente como exemplares, sendo o real escopo e o espírito da invenção indicados pelas seguintes reivindicações.

10 Será apreciado pelos técnicos no assunto que as configurações descritas acima podem ser alteradas sem sair do amplo conceito inventivo. Portanto, deve ficar entendido, que a presente invenção não está limitada às configurações particulares reveladas, mas sim pretende abranger modificações dentro do
15 espírito e do escopo da presente invenção conforme definido pelas reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para preparar um dispositivo de reparo de tecido a partir de escamas **caracterizado** por compreender as etapas de:

triturar as escamas de peixe em diversas partículas trituradas, em que as partículas trituradas contêm uma mistura de matriz e pó semelhantes a esponja;

acelularizar as escamas de peixe para remover a maior parte da albumina e poucos glicosaminoglicanos antes ou após da trituração das escamas de peixe; e

limpar as escamas de peixe até que o valor de LAL do referido dispositivo de reparo de tecido seja menor que 1000 Eu/ml.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de extrusão da matriz e pó semelhantes a esponja a uma temperatura menor que 200°C ou em um molde desejado para a obtenção de uma forma de flocos, uma forma de grânulos ou uma forma específica após a trituração das escamas de peixe.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por a etapa de desidratação das escamas de peixe ser realizada desidratando-se as escamas de peixe até que contenham menos de 50% de água.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por compreender ainda uma etapa de limpeza das escamas de peixe antes da desidratação das referidas escamas de peixe.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** por a etapa de acelularização das escamas de peixe ser realizada antes da etapa de limpeza das referidas escamas de peixe.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por a etapa de acelularização das escamas de peixe ser realizada antes da etapa de desidratação das referidas escamas de peixe.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de separação da matriz e do pó das partículas trituradas.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por a etapa de trituração compreender a trituração das escamas de peixe em diversas partículas trituradas até que tenham um diâmetro médio menor que 10.000 µm.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por a etapa de trituração compreender a trituração das escamas de peixe em diversas partículas trituradas, em que as referidas escamas possuem um diâmetro médio menor que 20 cm.

10. Método para preparar um dispositivo de reparo de tecido a partir de escamas de peixe **caracterizado** por compreender as etapas de:

acelularizar uma escama de peixe para remover a maior parte da albumina e poucos glicosaminoglicanos; e

extrusão das escamas de peixe em um molde desejado para a obtenção de uma forma de flocos, uma forma de grânulos ou uma forma específica após acelularizar as escamas de peixe.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** por a extrusão ser realizada a uma temperatura menor que 200°C.

12. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de

limpeza das escamas de peixe antes da extrusão das referidas escamas de peixe.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de desidratação das escamas de peixe após a limpeza das referidas escamas, porém antes da extrusão das referidas escamas de peixe.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** por a etapa de desidratação das escamas de peixe compreender a desidratação das referidas escamas de peixe até que contenham menos de 50% de água.

15. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** por a etapa de acelularização das escamas de peixe ser realizada antes da etapa de desidratação das referidas escamas de peixe.

16. Método, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** por a etapa de acelularização das escamas de peixe ser realizada antes da etapa de limpeza das referidas escamas de peixe.

17. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de embeber as escamas de peixe em água antes da extrusão das referidas escamas de peixe.

18. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** por a etapa de extrusão das escamas de peixe ser realizada para a obtenção da forma de flocos, em que as escamas de peixe possuem um diâmetro médio menor que 20 cm.

19. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** por compreender adicionalmente uma etapa de limpeza das escamas de peixe até que um valor de LAL do

referido dispositivo de reparo de tecido seja menor que 1000 Eu/ml.

20. Dispositivo de reparo de tecido preparado a partir das escamas de peixe **caracterizado** por compreender uma mistura de tecido fibroso e pó preparados pela trituração das escamas de peixe acelularizadas, em que a maior parte da albumina e poucos glicosaminoglicanos são removidos e a característica do dispositivo de reparo de tecido é um valor de LAL menor que 1000 Eu/mL.

21. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 20, **caracterizado** por as escamas de peixe possuírem um diâmetro médio menor que 20 cm.

22. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 20, **caracterizado** por a mistura das formas de tecido fibroso e em pó possuírem um diâmetro médio menor que 10.000 µm.

23. Dispositivo de reparo de tecido preparado a partir de escamas de peixe pelo método conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 19 **caracterizado** por compreender uma forma de flocos preparada por extrusão de pelo menos uma escama de peixe.

24. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado** por ser adicionado à etapa do processo de extrusão um reagente de ligação cruzada.

25. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado** por o referido dispositivo de reparo de tecido possuir uma característica de valor de LAL menor que 1000 Eu/mL.

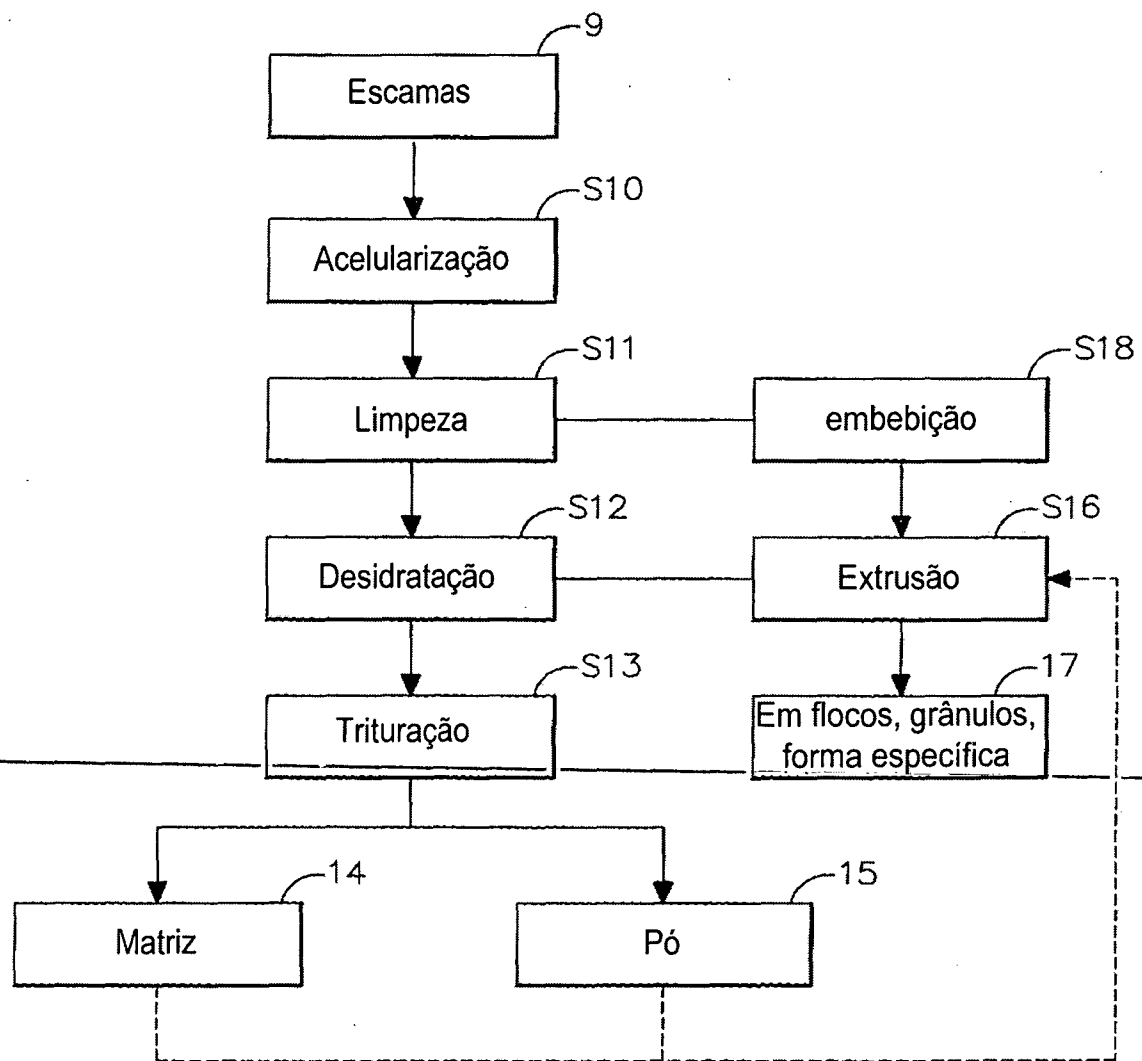


Fig. 1a

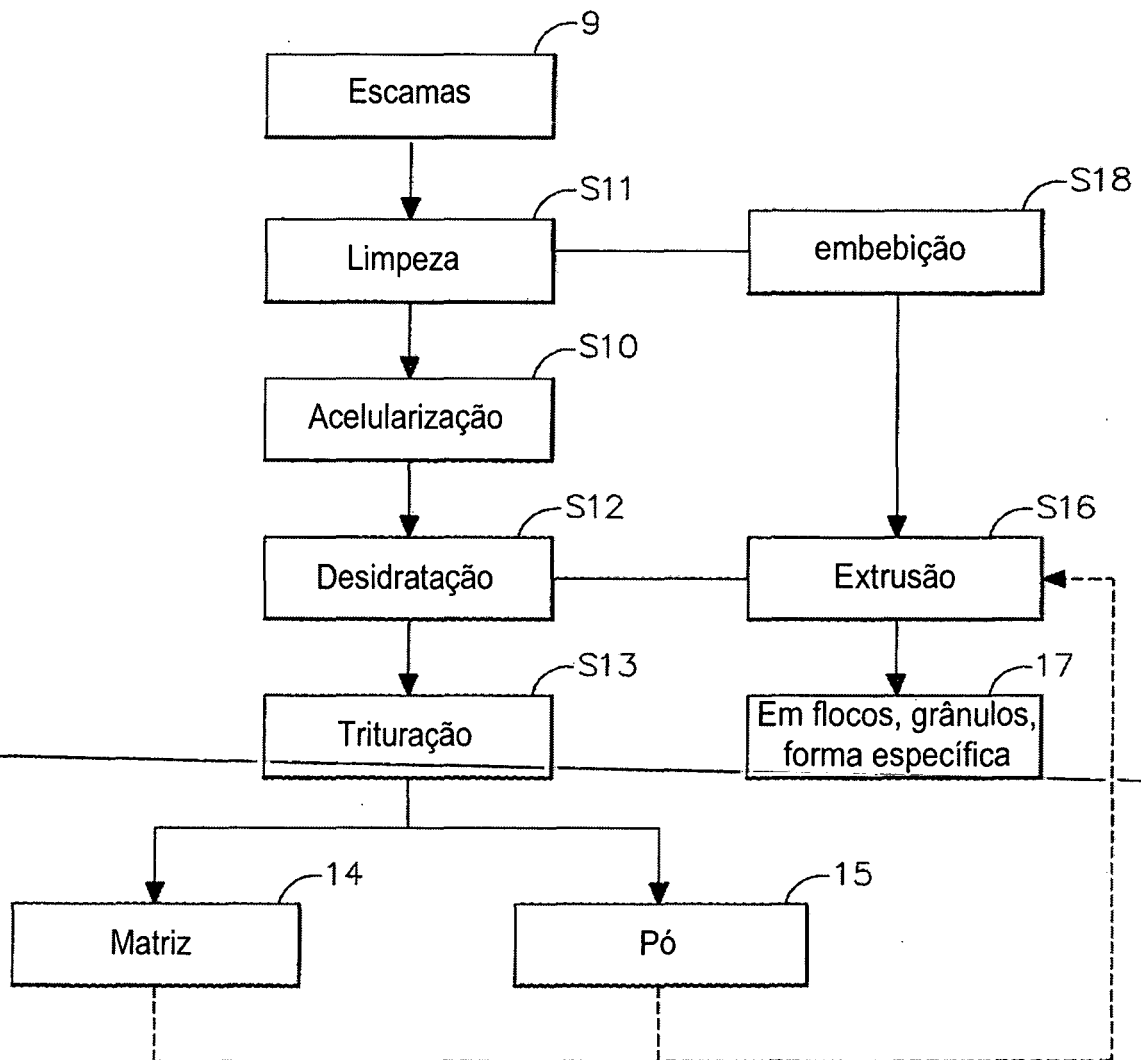


Fig. 1b

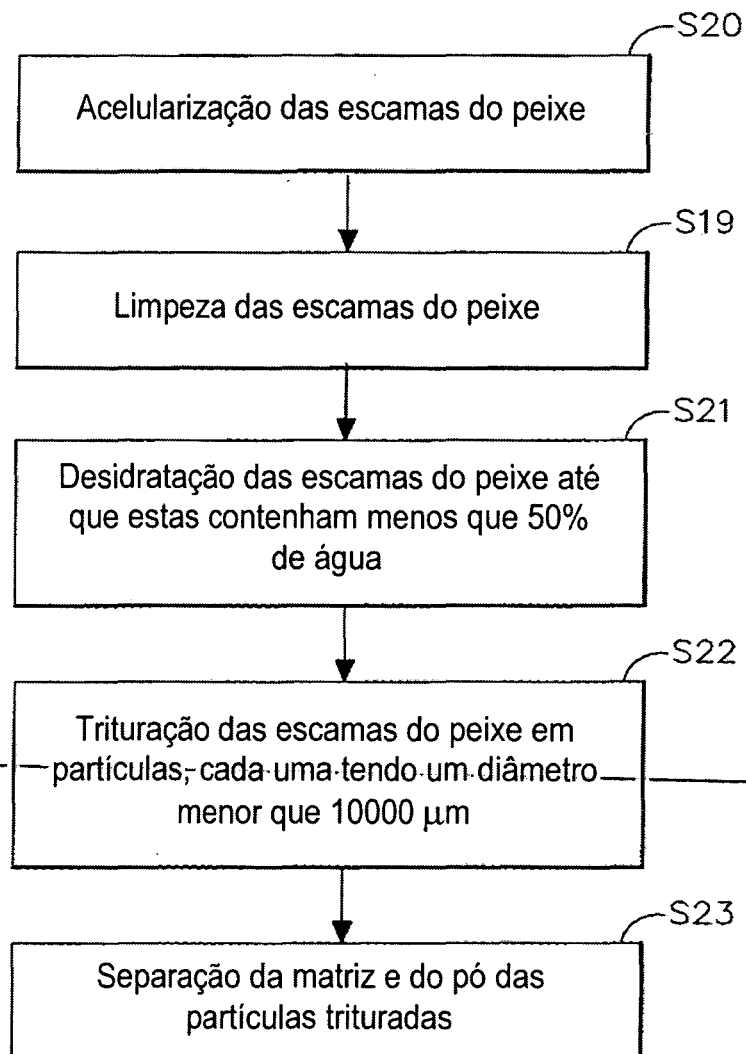


Fig. 1c

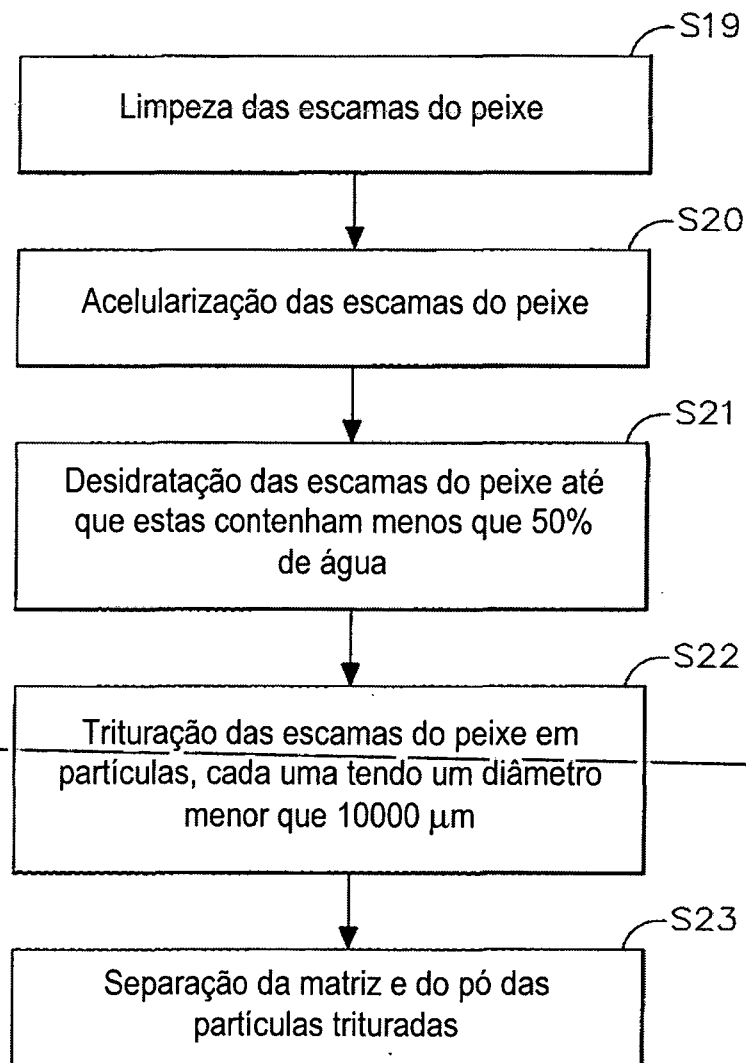


Fig. 1d

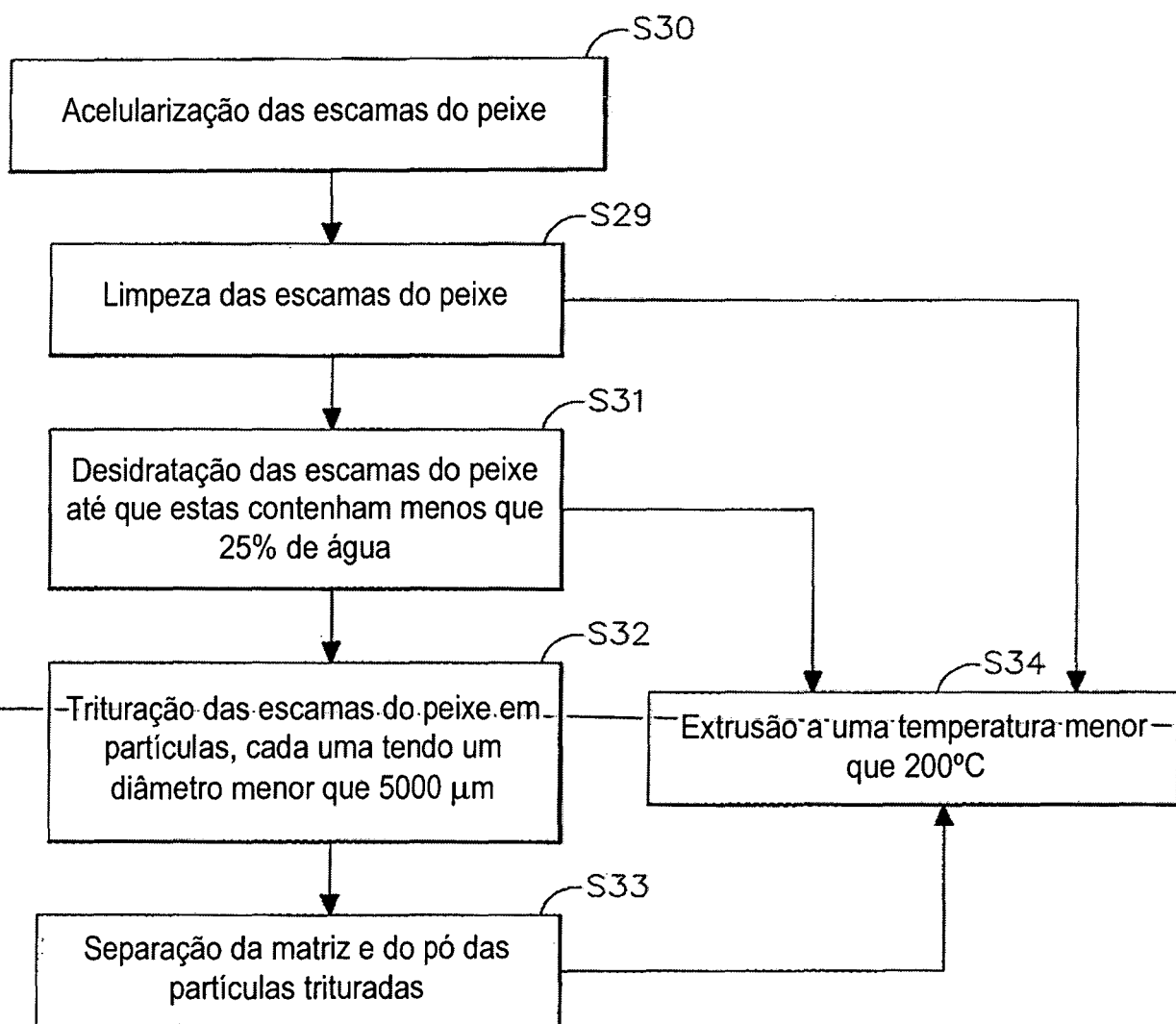


Fig. 1e

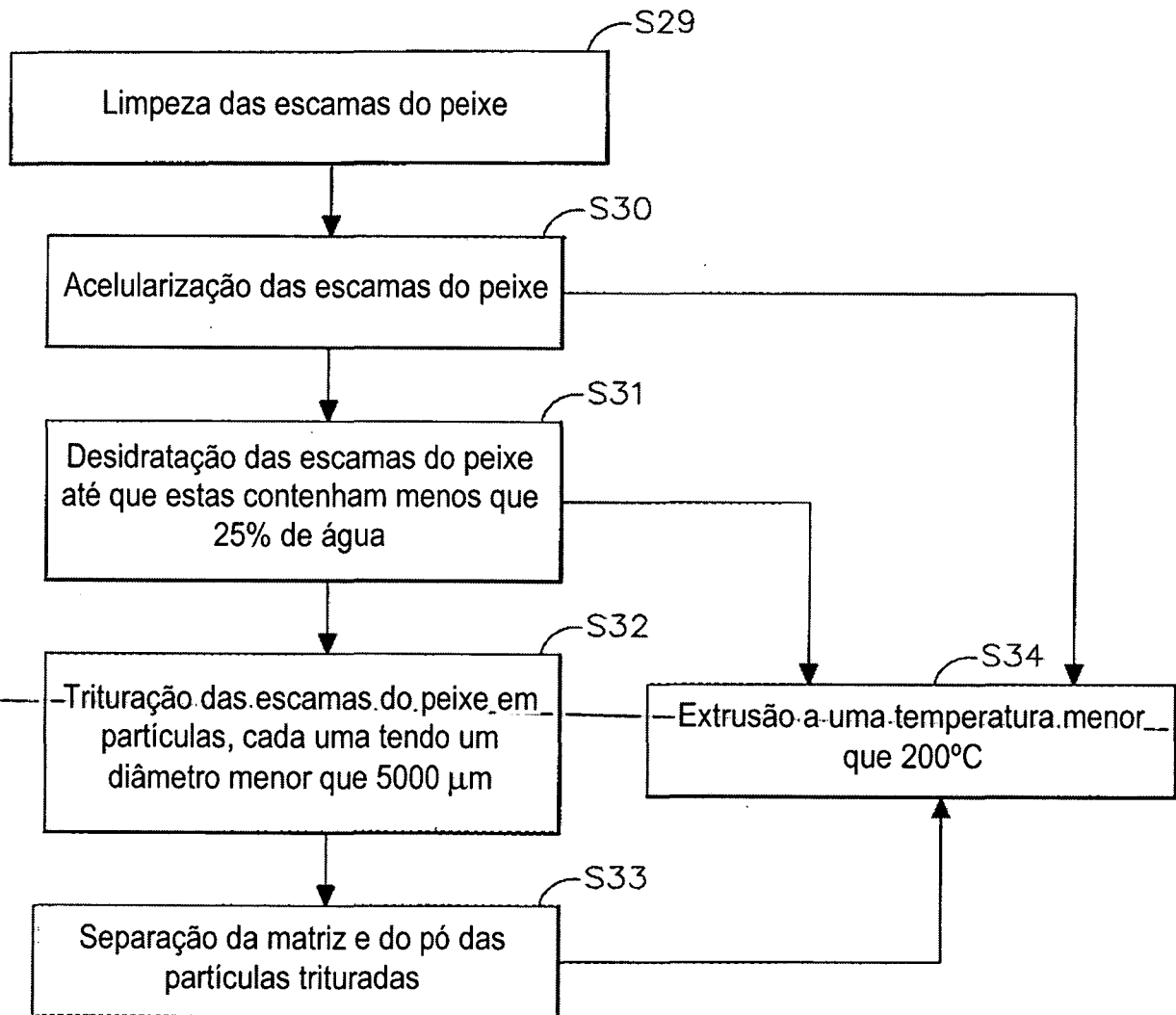


Fig. 1f

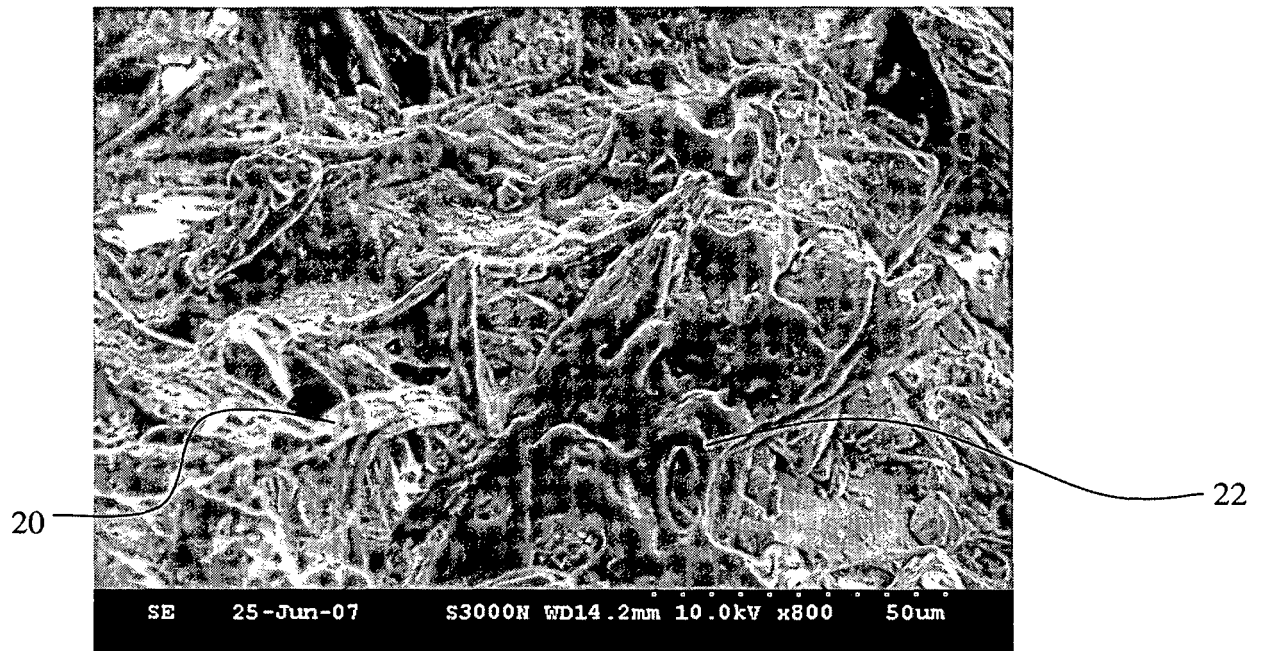


Fig. 2a

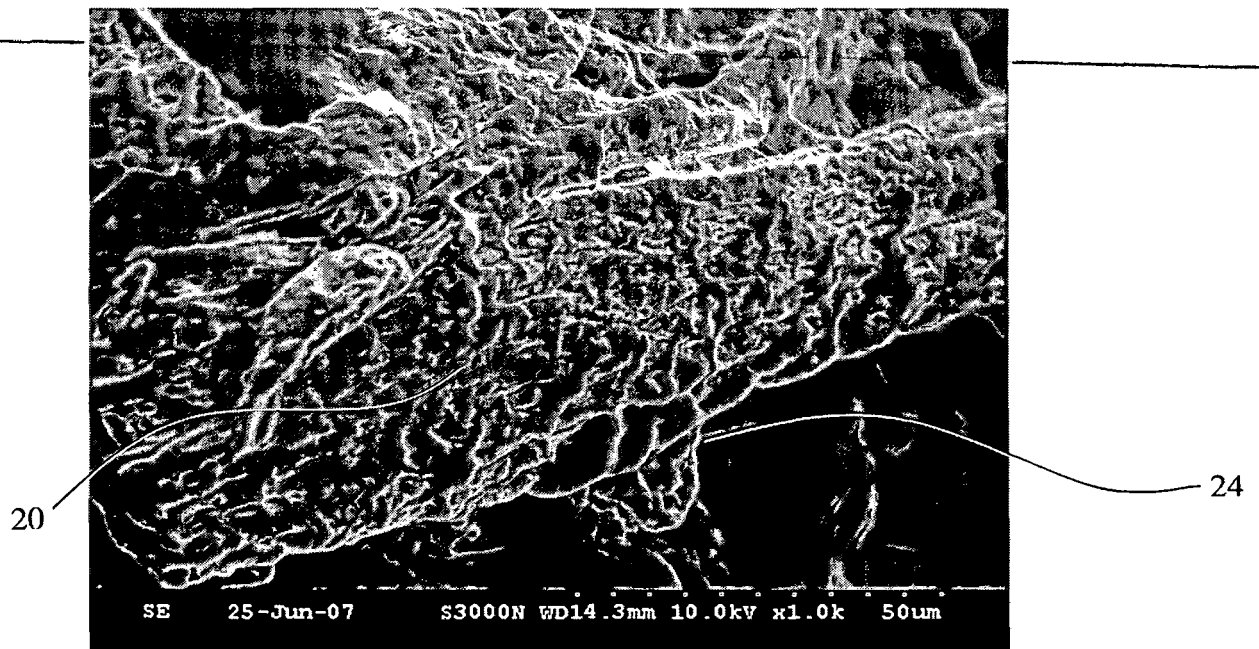


Fig. 2b

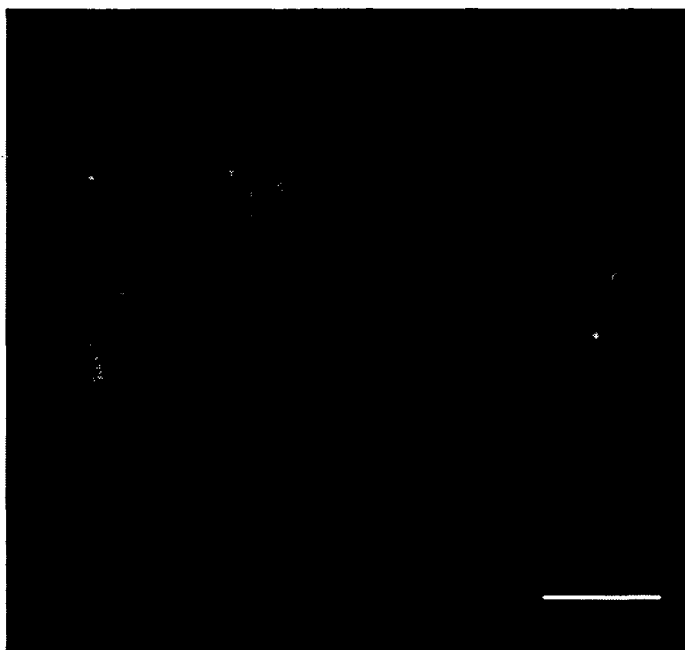


Fig. 3a



Fig. 3b



Fig. 4