



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

(11) BR 112017013411-0 B1



(22) Data do Depósito: 18/12/2015

(45) Data de Concessão: 12/01/2021

(54) Título: PRODUTO DE ENXERTO DE TECIDO, SEU MÉTODO E APARELHO PARA PREPARAÇÃO

(51) Int.Cl.: A61L 27/36; B32B 7/04; A61L 27/14; B32B 9/02; A61F 2/02.

(30) Prioridade Unionista: 22/12/2014 US 62/095,493.

(73) Titular(es): AROA BIOSURGERY LIMITED.

(72) Inventor(es): BRIAN RODERICK WARD; BARNABY CHARLES HOUGH MAY; ANDREW RAYMOND CAMPBELL.

(86) Pedido PCT: PCT NZ2015050215 de 18/12/2015

(87) Publicação PCT: WO 2016/105212 de 30/06/2016

(85) Data do Início da Fase Nacional: 21/06/2017

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a um enxerto de tecido compreendendo duas ou mais camadas de material no qual cada camada compreende matriz extracelular (ECM) ou material polimérico, e no qual as camadas são laminadas juntas por porções de intertravamento de uma camada com porções de outra camada. Em uma concretização, um enxerto de tecido compreende uma primeira camada de material tendo múltiplos entalhes, e uma segunda camada de material tendo múltiplos furos, cada entalhe da primeira camada estando localizado através de um furo na segunda camada, os furos e os entalhes tendo dimensões de modo que os entalhes engatam com uma superfície da segunda camada, e intertravam a primeira camada com a segunda camada. Em concretizações adicionais, um método de preparação de um enxerto de tecido por laminação e intertravamento de duas ou mais camadas, o uso de um enxerto de tecido para substituição ou reparo de um tecido em um humano ou em um animal, e um aparelho compreendendo um molde, um meio de corte de entalhe, um meio de perfuração, e um meio para colocação de entalhes através de perfurações em camadas de um enxerto de tecido.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"PRODUTO DE ENXERTO DE TECIDO, SEU MÉTODO E APARELHO PARA PREPARAÇÃO"**.

CAMPO TÉCNICO

[001] Esta invenção se relaciona a um produto de enxerto de tecido útil na promoção do recrescimento e cura de estruturas de tecido danificado ou adoentado. Mais particularmente, a invenção é direcionada a um produto de enxerto laminado formado de folhas múltiplas de um material biológico e/ou sintético, e a um método para produção do produto.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] Composições de tecidos descelularizados de vertebrados de sangue quente, incluindo humanos, podem ser usadas como materiais de enxerto de tecido. As composições de enxerto de tecido comuns podem ser derivadas da derme, do intestino delgado, da bexiga urinária, cápsula renal, do estômago glandular simples, e da matriz da pança (ver, por exemplo, Patentes dos Estados Unidos 4.902.508, 5.554.389, 6.099.567, 7.087.089, e 8.415.159, os conteúdos das quais são aqui incorporados por referência). Estas composições são conhecidas como matriz extracelular (ECM), e têm um papel importante na provisão do ambiente químico e estrutural ótimo para crescimento e regeneração de tecido. Os suportes de ECM usados para regeneração de tecido são tradicionalmente preparados de tecidos descelularizados humanos e de animal isolados de vários órgãos, e de uma variedade de tecido conectivo animal e fontes de membrana basal. Estes suportes promovem regeneração de tecido, e são bem tolerados imunologicamente.

[003] O enxerto de tecido ideal é um que é o análogo mais próximo possível para tecido nativo. O processamento do tecido é requerido para remover os componentes celulares que, de outro modo, podem causar rejeição e assegurar segurança de doenças transmissí-

veis. Processamento adicional pode ser introduzido para customizar a fabricação do enxerto para atender às exigências específicas do site e para aperfeiçoar a vida útil. Cada etapa de processamento sucessiva tem o potencial de danificar a ECM, alterar a resposta imune, e, conseqüentemente, afetar o processo de remodelagem do tecido. O processamento químico, técnicas de secagem e de esterilização, danificam a ECM e, portanto, afetam o comportamento in vivo de enxertos (1–3). Produtos prontos para uso são favorecidos pelos cirurgiões. Conseqüentemente, enxertos processados minimamente molhados são preferíveis.

[004] Uma limitação de alguns materiais de enxerto de ECM é que a espessura do enxerto é determinada pela espessura da camada de tecido obtida a partir do material fonte. Por exemplo, a espessura da folha de ECM da pança é limitada pela espessura do tecido fonte. Ainda aplicações, tais como reparo de hérnia, enxerto de pele, substituição dural, reparo de tendão, e cirurgia reconstrutiva frequentemente requerem enxertos mais espessos para proporcionar resistência à tensão adequada, desempenho biomecânico, e atividade biológica.

[005] As folhas individuais de tecido de ECM tipicamente têm propriedades mecânicas anisotrópicas que são direcionalmente especificadas pela orientação de fibras de colágeno no interior do tecido. Isto resulta em variabilidade direcional nas propriedades físicas de folhas simples nativas de tecido de ECM. Construtos de enxerto laminados com folhas alternadas tendo orientações de fibra diferentes podem minimizar a variabilidade direcional do construto, e resultam em construtos isotrópicos que são mais fortes em múltiplas direções.

[006] Para customizar os enxertos de ECM para atender às exigências específicas do site, é possível fabricar os produtos de enxerto laminados que compreendem folhas múltiplas de ECM usando técnicas tais como compressão e secagem, reticulação química, sutura, ou

através do uso de adesivos (ver Patentes dos Estados Unidos 5.885.619, 5.955.110, e 8.415.159).

[007] Os produtos de enxerto produzidos usando estas técnicas têm limitações. Onde ar, calor ou liofilização é usado para secar os produtos de enxerto, a ECM é danificada como uma consequência de perda de água. No caso de liofilização, a formação de cristal de gelo conduz à mudanças estruturais do suporte(4). Enquanto que desidratação e compressão foram usadas como um método para fabricar produtos de enxerto laminados, as proteínas de ECM são tipicamente danificadas no processo e, conseqüentemente, induzem uma resposta imunológica exagerada. Uma limitação adicional de produtos desidratados e produtos comprimidos é sua tendência a delaminar após reidratação, durante manuseio cirúrgico, implantação e, subseqüentemente, com o tempo.

[008] Suturas podem ser usadas para superar a tendência dos produtos de enxerto laminados a delaminar. Contudo, as suturas introduzem um material estranho no enxerto, e isto pode conduzir a inflamação, cicatrização e encapsulamento, e não pode ser desejável em algumas situações (5). Por exemplo, a fabricação de um produto de enxerto de ECM laminado usando suturas sintéticas permanentes, tal como Proleno, para fixar as folhas juntas, resultará na substituição da ECM com o tempo, mas as suturas sintéticas não serão remodeladas. Isto não é desejável em aplicações onde o enxerto deve ser completamente substituído pelo tecido do próprio paciente. As suturas permanentes resultam em uma grande probabilidade de infecção, e limitam a capacidade deste tipo de produto em abrir as aplicações de reparo da derme. Os produtos de enxerto que incluem suturas absorvíveis têm uma vida útil limitada em uma apresentação molhada porque as suturas frequentemente se rompem através da hidrólise (6,7). Conseqüentemente, em aplicações que requerem uma alta resistência à tensão

por um período sustentado de tempo, suturas absorvíveis não são adequadas.

[009] Os produtos de enxerto laminados podem também serem compreendidos de folhas de ECM mantidas juntas usando um adesivo. Contudo, a introdução de um adesivo pode criar uma barreira à migração de célula, e pode alterar os mecanismos típicos e cinéticas de remodelagem de ECM.

[0010] Os produtos de enxerto que compreendem folhas quimicamente reticuladas de ECM ligadas juntas são conhecidos por induzir uma resposta de corpo estranho, e têm propriedades biotróficas limitadas.

[0011] Os produtos de enxerto que são exclusivamente compreendidos de uma malha de polímero sintético são conhecidos por proporcionarem resistência de longo prazo e rigidez. Contudo, com o tempo a grande quantidade de material sintético pode causar uma resposta de corpo estranho, e pode resultar em erosão de malha onde a malha pode passar através das camadas de tecido. Os enxertos de material de polímero sintético não têm componente biológico e, portanto, não proporcionam assistência biológica com ferimento e reparo de tecido. Isto pode conduzir a encapsulamento dos enxerto, e aumentar o risco de reações adversas.

[0012] Pode, portanto, ser visto a partir dos problemas e desvantagens associadas com os produtos de enxerto existentes que existe uma necessidade de produtos de enxerto laminados que compreendem ECM e/ou um material de polímero natural ou sintético, e podem ser prontamente cumpridas as exigências biofísicas de uma ampla faixa de sites anatômicos, e não delaminam durante cirurgia ou após implantação. Além disso, um produto de enxerto que permanece intacto em ambas apresentações secas e molhadas, é desejável. Um produto de enxerto laminado que pode ser apresentado em uma forma molha-

da para evitar dano à ECM e reter as propriedades biotróficas, é mais desejável.

[0013] É, portanto, um objetivo da invenção, proporcionar um produto de enxerto de tecido compreendendo duas ou mais camadas de ECM ou material polimérico que superam, pelo menos em parte, um ou mais dos problemas acima mencionados, ou para pelo menos proporcionar uma alternativa útil para produtos ou procedimentos existentes.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0014] A invenção proporciona um produto de enxerto de tecido compreendendo duas ou mais camadas de matriz extracelular (ECM), ou material polimérico sem o uso de qualquer material sintético para retenção das camadas juntas, tais como suturas ou adesivo, desse modo, minimizando o risco de rejeição, inflamação ou encapsulamento indesejáveis.

[0015] Consequentemente, em um primeiro aspecto da invenção, é proporcionado um produto de enxerto de tecido compreendendo duas ou mais camadas de material no qual cada camada compreende matriz extracelular (ECM), ou material polimérico, e no qual as camadas são laminadas juntas por porções de intertravamento de uma camada com porções de outra camada.

[0016] Em certas concretizações da invenção, o produto de enxerto de tecido compreende uma primeira camada de material tendo múltiplos entalhes, e uma segunda camada de material tendo múltiplos furos, cada entalhe da primeira camada estando localizado através do furo na segunda camada, os furos e os entalhes tendo dimensões de modo que os entalhes engatam com uma superfície da segunda camada, e intertravam a primeira camada com a segunda camada.

[0017] O produto de enxerto de tecido pode ter pelo menos uma camada compreendendo ECM, ou pode ter todas as camadas de ma-

terial compreendendo ECM. O produto pode compreender qualquer número adequado de camadas de ECM e/ou material polimérico, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 camadas de ECM e/ou material polimérico. A ECM pode ser formada a partir de própria submucosa da pança de um ruminante. O produto de enxerto de tecido pode ter pelo menos uma camada compreendendo material polimérico, ou pode ter todas as camadas de material compreendendo material polimérico. O material polimérico pode ser um material sintético formado de polipropileno, politetrafluoroetileno, ácido poliglicólico, ácido polilático, poliglicaprona-25, ou poliéster. Alternativamente, o material polimérico pode ser um material natural, tal como uma proteína, polissacarídeo, glicoproteína, proteoglicano, ou glicosaminoglicano. Exemplos podem incluir colágeno, alginato, chitosano, e seda.

[0018] Cada furo da segunda camada pode ter qualquer forma adequada incluindo uma forma substancialmente circular, triangular, quadrada, retangular, de diamante, ou de estrela. Furos de forma circulares tipicamente têm um diâmetro na faixa de 2 a 4 mm. Cada camada tendo múltiplos furos pode ter uma densidade de furos de 0,5 a 15 furos por cm².

[0019] O produto de enxerto de tecido da invenção pode ser uma folha substancialmente plana, ou pode ter uma forma 3-dimensional moldada para se conformar a uma localização a qual o produto é para ser enxertado.

[0020] O produto de enxerto de tecido pode ser molhado ou pode ser secado, por exemplo, por liofilização.

[0021] Em um segundo aspecto, a invenção proporciona um método de preparação de um produto de enxerto de tecido da invenção, compreendendo a etapa de laminação de duas ou mais camadas de material no qual cada camada compreende matriz extracelular (ECM), ou um material polimérico, e no qual as camadas são laminadas juntas

pelas porções de intertravamento de uma camada com porções de outra camada.

[0022] Em algumas concretizações da invenção, o método compreende as etapas:

(i) aplicar uma primeira camada de material tendo múltiplos entalhes a uma segunda camada de material tendo múltiplos furos,

(ii) colocar os entalhes da primeira camada através dos furos na segunda camada, os furos e os entalhes tendo dimensões de modo que os entalhes engatam com uma superfície da segunda camada, e intertravam a primeira camada com a segunda camada.

[0023] Em outro aspecto da invenção, é proporcionado um produto de enxerto de tecido da invenção, compreendendo:

(i) um molde ao qual uma folha de ECM ou material polimérico pode ser sobreposta;

(ii) um meio de corte de entalhe para corte de entalhes em uma folha de ECM ou material polimérico para formar uma folha de entalhe;

(iii) um meio de perfuração para criação de perfurações em uma folha de ECM ou material polimérico para formar uma folha perfurada;

(iv) um meio para empurrar os entalhes da folha de entalhe através das perfurações da folha perfurada para formar o produto de enxerto de tecido.

[0024] Em um aspecto adicional da invenção, é proporcionado o uso de um produto de enxerto da invenção para substituição ou reparo de tecido em um humano ou outro animal.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0025] A Figura 1 é uma representação esquemática de um produto de enxerto de tecido da invenção.

[0026] As Figuras 2A e 2B mostram vistas em corte transversal de

representações esquemáticas dos produtos de enxerto de tecido da invenção.

[0027] A Figura 3 é uma representação esquemática de um exemplo de ferramental usado para preparar um produto de enxerto de tecido da invenção.

[0028] A Figura 4 mostra um processo para preparação de um produto de enxerto de tecido da invenção.

[0029] A Figura 5 é uma representação esquemática de um exemplo de ferramental usado para preparar um produto de enxerto de tecido tridimensional da invenção.

[0030] A Figura 6 é um histograma mostrando a integridade de manuseio molhado de matriz de pança de ovino com entalhe e sem entalhe.

[0031] A Figura 7 é um histograma mostrando a integridade de manuseio molhado de matriz de retículo de ovino com entalhe e sem entalhe.

[0032] A Figura 8 é um histograma mostrando a integridade de manuseio molhado de matriz de pericárdio de ovino com entalhe e sem entalhe.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Definições

[0033] O termo "matriz extracelular" (ECM), conforme aqui usado, se refere a tecido de animal ou humano que foi descelularizado, e proporciona uma matriz para integridade estrutural, e uma estrutura para transporte de outros materiais.

[0034] O termo "descelularizado", conforme aqui usado, se refere a remoção de células e seus fragmentos relacionados de uma porção de um tecido ou órgão, por exemplo, de ECM.

[0035] O termo "material polimérico", conforme aqui usado, se refere a grandes moléculas ou macromoléculas compreendendo muitas

subunidades repetidas, e pode ser materiais naturais incluindo, mas não limitados a, polipeptídeos e proteínas (por exemplo, colágeno), polissacarídeos (por exemplo, alginato), e outros biopolímeros, tais como glicoproteínas, ou podem ser materiais sintéticos, incluindo, mas não limitados a, polipropileno, politetrafluoroetileno, ácido poliglicólico, ácido polilático, e poliéster.

[0036] O termo "intertravar" ou "intertravamento", conforme aqui usado, se refere ao engatamento e assentamento juntas de duas ou mais folhas de sobreposição de material.

[0037] O termo "laminado" ou "laminação", conforme aqui usado, se refere à sobreposição de uma folha de material em outra folha de material.

[0038] O termo "folha", conforme aqui usado, se refere a uma seção flexível substancialmente plana de ECM ou material polimérico.

[0039] O termo "camada", conforme aqui usado, se refere a duas ou mais folhas sobrepostas ou adjacentes a e intertravadas entre si.

[0040] O termo "entalhe", conforme aqui usado, se refere a uma seção de uma folha que foi parcialmente cortada de modo que o entalhe permanece fixamente fixado à folha, via uma ponte de conexão.

[0041] O termo "folha de entalhe", conforme aqui usado, se refere a uma folha em que múltiplos entalhes foram cortados.

[0042] O termo "folha perfurada", conforme aqui usado, se refere a uma folha em que múltiplos furos foram perfurados.

[0043] O termo "entalhamento", conforme aqui usado, se refere a um processo de colocação de entalhes de uma folha de entalhe através dos furos de uma folha perfurada.

[0044] O termo "folha entalhada", conforme aqui usado, se refere a uma folha de entalhe onde os entalhes da folha de entalhe foram colocados através dos furos de uma folha perfurada.

Produto de enxerto laminado

[0045] A invenção se relaciona geralmente à laminação de duas ou mais folhas de ECM ou material polimérico, onde as folhas são mantidas juntas por porções de intertravamento de uma folha com porções de outra folha. Embora a invenção não seja restrita a qualquer método particular de intertravamento, a invenção será descrita com referência a um método onde os entalhes em uma ou mais folhas foram colocados através dos furos em outras folhas, de modo que as folhas são intertravadas e mantidas juntas para formar um produto de enxerto laminado. Os produtos de enxerto laminados da invenção proporcionam vantagens sobre outros tipos de produtos laminados, e são úteis em uma variedade de aplicações clínicas e terapêuticas, incluindo reparo de ferida e regeneração de tecido, e incluindo aplicações, tais como hérnia ou ligamento/reparo de tendão onde resistência à tensão adicional é requerida sobre a resistência de uma folha de ECM simples.

[0046] Algumas concretizações da invenção caracterizam folhas laminadas sem o uso de quaisquer materiais adicionais, tais como suturas ou adesivos, ou o uso de etapas de secagem no processo para sua manufatura, que pode afetar adversamente ou tornar o dispositivo inadequado para reparo de ferimento ou de tecido. Estes laminados têm uma maior resistência à tensão do que as folhas individuais. Eles são também perfurados, que facilita a drenagem de fluido, reduzindo o risco de formação de seroma.

[0047] Alguns produtos laminados descritos na técnica anterior que foram laminado sem a adição de outras composições são inadequados para apresentação molhada porque eles tendem a delaminar sob períodos prolongados de hidratação. O produto da presente invenção não se delamina após exposição prolongada à água, e retém sua integridade estrutural.

[0048] Em termos gerais, a invenção é baseada em um método

compreendendo a sobreposição de múltiplas folhas de ECM ou material polimérico, e porções de intertravamento das folhas, para formar um produto de enxerto laminado.

Matriz extracelular

[0049] Matrizes derivadas de ECM para uso na invenção são matrizes biodegradáveis à base de colágeno compreendendo colágenos altamente conservados, glicoproteínas, proteoglicanos, e glicosaminoglicanos em sua configuração natural e concentração natural. Uma matriz colagenosa extracelular para uso nesta invenção é ECM de um vertebrado de sangue quente. A ECM pode ser obtida de várias fontes, por exemplo, tecido gastrointestinal coletado de animais para produção de carne, incluindo porcos, gado e ovelha, ou outros vertebrados de sangue quente. A ECM do vertebrado é um subproduto abundante de operações de produção de carne comercial, e é, desse modo, um material de enxerto de tecido de baixo custo.

[0050] O tecido de ECM adequado para uso na formação dos produtos de enxerto compreende proteínas de ECM naturalmente associadas, glicoproteínas, e outros fatores que são encontrados naturalmente no interior da ECM, dependendo da fonte da ECM. Uma fonte de tecido de ECM é o tecido de pança de um vertebrado de sangue quente.

[0051] O tecido de pança é uma fonte preferida de tecido de ECM para uso nesta invenção. ECM de pança adequada tipicamente compreende a própria-submucosa da pança de um ruminante. Em concretizações particulares da invenção, a própria-submucosa é a partir do rúmen, do retículo, ou do omaso da pança. Estes suportes de tecido tipicamente têm uma superfície luminal contornada. Em uma concretização, o suporte de tecido de ECM pode adicionalmente conter tecido descelularizados, incluindo porções do epitélio, membrana basal, ou tunica muscularis, e combinações destes. Os suportes de tecido po-

dem também compreender uma ou mais proteínas fibrilares, incluindo, mas não limitados a, colágeno I, colágeno III, ou elastina, e combinações destes. Estas folhas são conhecidas por variar em espessura e em definição, dependendo da fonte de espécies de vertebrado.

[0052] Tecido de própria submucosa tipicamente tem uma superfície abluminal e uma superfície luminal. A superfície luminal é a superfície voltada para o lúmen da fonte de órgão e a superfície abluminal voltada para a superfície do tecido de músculo liso. As múltiplas folhas de própria submucosa podem ser sobrepostas com a superfície abluminal que contata a superfície luminal, a superfície luminal que contata a superfície luminal, ou com a superfície abluminal que contata a superfície abluminal de uma folha adjacente de ECM. Todas destas combinações de folhas de sobreposição de CM de alguns ou vertebrados diferentes ou fontes de órgão produzirão um produto de enxerto laminado compreendendo ECM.

[0053] Um método de preparação da ECM para uso de acordo com esta invenção é descrito na Patente dos Estados Unidos No. 8.415.159. Um segmento da pança de vertebrado, de preferência, coletado de espécies de ovino, é submetida a um fluxo osmótico transmural entre dois lados do tecido, tal que as camadas de tecido no interior de toda ou uma porção do tecido são separadas e/ou descelularizadas. O fluxo osmótico transmural pode ser direcionado a partir do lado luminal para o lado abluminal de toda ou uma porção do tecido, ou a partir do lado abluminal ao lado luminal de toda ou uma porção do tecido. Isto pode ser alcançado, por exemplo, por separação do tecido entre uma solução hipertônica e uma solução hipotônica, tal que o fluxo osmótico transmural é direcionado a partir da solução hipotônica para a solução hipertônica. O método pode adicionalmente envolver remoção de toda ou parte de uma camada de tecido incluindo epitélio, membrana basal, ou tunica muscularis, e combinações destes. As so-

luções hipertônicas e hipotônicas podem incluir, por exemplo, água e, opcionalmente, pelo menos um tampão, detergente, ou sal. A solução hipertônica contém uma concentração mais alta de soluto do que a solução hipotônica. Em uma concretização particular, a solução hipertônica compreende NaCl 4 M e a solução hipotônica compreende 0,28% de Triton X-200 e 0,1% de EDTA. Em outra concretização particular, a solução hipotônica compreende 0,1% de SDS. Em ainda outra concretização, a solução hipotônica compreende 0,028% de Triton X-200, 0,1% de EDTA, e 0,1% de SDS. A ECM pode ser armazenada em um estado hidratado ou em um estado desidratado. ECM liofilizado ou ECM secado em ar pode ser re-hidratado ou parcialmente re-hidratado e usado de acordo com esta invenção, sem perda significativa de suas propriedades biotrópicas e mecânicas.

Materiais poliméricos

[0054] Em algumas concretizações da invenção, folhas de material polimérico podem ser incluídas no produto como ou folhas de entalhe ou folhas perfuradas. Por exemplo, resistência adicional ou persistência mais longa podem ser incorporadas no produto por inclusão de um material sintético permanente tecido fino tal como polipropileno (encontrado em malha Prolene e malha Elevate), politetrafluoroetileno (encontrado em malha Gore-Tex), ácido poliglicólico (encontrado em malha Vicryl), ácido polilático (encontrado em malha Paritex progrid), poliglecaprona-25 (encontrada em malha Ultrapro), e poliéster (encontrada na malha Mersilene). Materiais sintéticos, tais como polipropileno, PTFE e poliéster são não ressorvíveis e persistirão indefinitivamente, proporcionando resistência e rigidez de longa duração. Materiais sintéticos, tais como ácido poliglicólico, ácido polilático e poliglecaprona-25 são malhas ressorvíveis, e proporcionarão resistência adicional à curto prazo, mas ressorverão à longo prazo. Alternativamente, o material polimérico pode ser um material natural, ou derivado de um

material natural, tais como proteínas (por exemplo, colágeno), polissacarídeos (por exemplo, alginato), glicoproteínas, ou outros materiais.

[0055] Em outras concretizações, o produto pode compreender folhas de material polimérico somente (isto é, nenhuma folha de ECM).

Método geral para preparação de produtos de enxerto

[0056] Em uma concretização desta invenção, produtos de enxerto laminados são formados de folhas múltiplas sobrepostas ou folhas parcialmente sobrepostas. As dimensões das folhas individuais usadas não são críticas. Um método de formação de produtos de enxerto laminados de ECM e/ou SPM compreende as etapas de colocar um cortador adequadamente moldado (cortador de entalhe) através de uma folha para formar numerosos entalhes através da folha para formar uma "folha de entalhe". A folha de entalhe pode ser uma folha molhada, secada, liofilizada, de reidratação, ou re-hidratada. Uma camada de entalhe pode compreender uma ou mais combinações de folhas de entalhe, que podem ou não podem sobrepor entre si. A camada de entalhe pode também compreender combinações diferentes de tamanhos de entalhe e em padrões variados para aperfeiçoar a resistência através de múltiplas camadas de laminados. A perfuração de uma agulha aguçada ou cega através de uma folha de ECM ou material polimérico para formar numerosas perfurações pequenas através da folha forma uma "folha perfurada". Uma folha perfurada pode ser uma folha molhada, secada, liofilizada, de reidratação, ou re-hidratada. Uma camada perfurada pode compreender uma ou mais combinações de folhas perfuradas, que podem ou não podem sobrepor entre si. A camada de entalhe é pelo menos parcialmente sobreposta na camada perfurada. Neste ponto no método, as camadas podem ser re-hidratadas com um líquido tal como salina isotônica. Os entalhes da camada de entalhe são, em seguida, colocados através das perfurações da camada perfurada usando um pino, haste de impulsão, punção

onador, agulha cega, ou dispositivo similar para intertravar e fixar a camada de entalhe à camada perfurada. Isto forma um produto de enxerto laminado da invenção.

[0057] Referindo-se à Figura 1, um produto de enxerto laminado 1 é mostrado compreendendo uma folha de entalhe 2 e três folhas perfuradas 3. Cada seção 4 mostra onde um entalhe foi cortado a partir da folha de entalhe 2, e foi colocado através das perfurações nas folhas perfuradas 3 para o lado inferior do produto de enxerto 1. Um entalhe simples 5 é representado tendo sido colocado através da folha de entalhe 2. Outros entalhes não são mostrados. A Figura 2A é uma vista em corte transversal de um produto de enxerto laminado. Uma folha de entalhe 2 é mostrada sobreposta nas quatro folhas perfuradas 3. Os entalhes 5 são mostrados tendo sido colocados através das perfurações nas folhas perfuradas 3 a partir da folha de entalhe 2. Cada entalhe 5 permanece fixado à folha de entalhe 2, via uma ponte de conexão 6. Será apreciado que na prática cada entalhe 5 assentará substancialmente plano contra o lado inferior do produto de enxerto 1. Todas as folhas são, portanto, intertravadas e mantidas juntas.

[0058] Em algumas concretizações da invenção, o produto de enxerto laminado consiste essencialmente de tecido de ECM, livre de suturas potencialmente comprometedoras, adesivos e pré-tratamentos químicos, e tem uma grande resistência mecânica e teor de colágeno por cm^2 do que as folhas individuais usadas para formar o produto.

[0059] A quantidade de tecido sobreposto entre folhas adjacentes pode ser variada dependendo do uso pretendido, propriedades desejadas, resistência de laminação requerida, área de superfície requerida, ou tamanho do produto, provido que pelo menos uma porção de cada folha sobrepõe e intertrava com uma porção de outra folha. Os entalhes intertravam e fixam folhas perfuradas às folhas de entalhe em regiões de sobreposição para dar um produto de enxerto laminado.

[0060] O termo "intertravamento" ou "intertravar", conforme definido acima, se refere ao modo em que uma ou mais folhas de entalhes fixam uma ou mais folhas perfuradas juntas sem a necessidade de adição de outros materiais, tais como adesivos ou suturas, ou a necessidade de tratamentos, tais como compressão e desidratação. Os produtos formados podem variar no número de camadas e folhas superimpostas em e fixadas em pontos diferentes do produto de enxerto laminado. A estrutura variável dos produtos de enxertos pode proporcionar resistência mecânica intensificada.

[0061] A resistência das folhas intertravadas do produto é dependente principalmente na área de superfície de folhas de sobreposição entalhada e folhas perfuradas, da densidade de fixação, da resistência da ponte de conexão do entalhe, da rigidez e resistência à compressão do entalhe, da resistência dos furos nas folhas perfuradas, e o aperto de ajuste entre os entalhes e perfurações. As camadas de um produto com perfurações menores e entalhes maiores serão fixadas com maior resistência, e, portanto, terão uma probabilidade reduzida de colocação do entalhe. Contudo, as perfurações que são muito pequenas podem impedir colocação simples do entalhe (entalhamento), e podem serem propensas à falha devido ao rasgamento do furo perfurado.

[0062] Em concretizações preferidas da invenção, a folha de entalhe compreende tecido liofilizado, e pode ser hidratada uma vez que sobreposta em uma folha perfurada antes da colocação dos entalhes através da folha perfurada. Contudo, em outras concretizações, a folha de entalhe pode compreender folha molhada, secada, de reidratação, ou re-hidratada, ou combinações destas, provido que a folha de entalhe tem propriedades suficientes para resistir à rasgamento, perfuração ou outra deformação que seria prejudicial ao processo de corte de entalhe e colocação de entalhe, e de modo que os entalhes não de-

formam e deslizem de volta através das perfurações.

[0063] Em algumas concretizações da invenção, a folha perfurada compreende tecido molhado. Contudo, em outras concretizações, a folha perfurada pode compreender folha secada, liofilizada, de reidratação re-hidratada, ou combinações destas, provido que a folha perfurada tem propriedades suficientes para resistir a rasgamento ou outra deformação que seja prejudicial à perfuração do entalhe, colocação do entalhe, ou retenção do entalhe.

Ferramental para preparação de produtos de enxerto

[0064] Em um método típico para preparação de um produto de enxerto da invenção, as folhas usadas para preparar os entalhe e folhas perfuradas da presente invenção são colocadas em um molde. Em uma concretização, as folhas pode ser esticadas e ambas uma direção longitudinal e lateral em um molde de modo a criar tensão na folha para permitir formação ativa de entalhe, perfuração e/ou colocação do entalhe. A folha esticada é puncionada por e colocada sobre pinos aguçados ou pinos cegos ao redor do perímetro do molde para manter tensão na folha esticada. Alternativamente, as folhas podem ser esticadas e colocadas no molde, e a tensão nas folhas mantida usando grampos ou uma prensa, ou outros métodos adequados.

[0065] Guias, tais como hastes, barras, ou dispositivos moldados similares, podem ser passadas através da folha esticada no molde para fixar o tecido esticado ao molde, e para proporcionar um método para alinhamento de quaisquer folhas subsequentes que são adicionadas. Estas guias podem também serem usadas para alinhamento das ferramentas usadas no processo, incluindo as ferramentas usadas para produzir a perfuração e para impulsionar os entalhes. O uso de um molde com guias, desse modo, assegura que os entalhes na folha de entalhe e perfurações nas folhas perfuradas sejam alinhados acima e abaixo entre si, e que o entalhe que atravessa a ferramenta pode

também ser alinhado sobre e guiado através dos furos perfurados.

[0066] Em algumas concretizações, as folhas são colocadas em moldes e presas no lugar usando hastes, barras ou dispositivos moldados similares que podem ser passados através de folhas não esticadas/livres de tensão. Em algumas concretizações, uma folha é colocada em um molde, e é fixada usando métodos incluindo, mas não limitados a, grampos ou uma prensa.

[0067] A composição do molde não é crítica, e pode ser designada em qualquer tamanho ou forma. Em uma concretização, o molde é um bloco de acetal de 16 mm de espessura. O molde contém furos de folga para entalhes, agulhas e pino passarem no molde. A densidade, forma, tamanho, orientação e formato do arranjo de furos de folga, e o tamanho, orientação, forma e formato dos furos de folga podem ser proporcionados ao tipo, espessura e número de folhas e camadas de material, e a aplicação requerida. Em uma concretização, os furos de folga são dispostos em séries horizontalmente e verticalmente alinhadas, e são de 3,1 mm de diâmetro, espaçados em centros de 3,5 mm. Em outra concretização, furos de folga são dispostos em séries afastadas horizontal ou vertical para capacitar uma redução na força requerida para corte do entalhe e/ou para permitir uma alta densidade de entalhes e pontos de fixação.

[0068] Em outra concretização, o molde é produzido de um grupo de hastes de pequeno diâmetro com as extremidades das hastes formando a superfície do molde. Em tal concretização, as pontas da haste se movem para permitir a passagem dos entalhes, agulhas, e/ou pinos. Em outra concretização, o molde é produzido de espuma que se separa para permitir a passagem dos entalhes, agulhas, e/ou pinos. Nestas concretizações, é desnecessário alinhar o molde com o ferramental do processo.

[0069] Em algumas concretizações, o molde tem uma superfície

planar achatada, e é usado para formar produtos de enxerto laminados planares.

[0070] Em um processo típico, uma folha de ECM ou material polimérico é colocada no molde, e entalhes são cortados com um cortador adequadamente formado (cortador de entalhe) para formar uma folha de entalhe. A folha de entalhe é removida e uma nova folha de ECM ou material polimérico é colocada no molde. Alternativamente, uma nova folha é colocada em um molde diferente tendo um furo de folga similar e padrão de guia. A nova folha é perfurada usando uma agulha ou agulhas múltiplas para formar uma folha perfurada. Subsequentemente, uma ou mais folhas de entalhe são sobrepostas a uma camada de uma ou mais folhas perfuradas, e os entalhes da folha de entalhe são atravessados na camada de folhas perfuradas usando um pino não aguçado (extremidade cega), ou pinos múltiplos. Uma vez que os entalhes foram atravessados nos furos das folhas perfuradas, os entalhes tendem a abrir, intertravando, desse modo, a folha de entalhe e folhas perfuradas juntas para formar o produto de enxerto laminado. Os produtos de enxerto podem ser preparados tendo pelo menos duas folhas, mas podem compreender 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais folhas.

[0071] Quando folhas molhadas são usadas, um deslize de separação pode ser empregado entre qualquer das folhas, folhas de entalhe, folhas perfuradas, e os componentes de ferramental. Isto reduz a tensão de superfície que capacita que os componentes de ferramental sejam mais facilmente separados das folhas, e outros componentes de ferramental sem exercer força significativa nas folhas. O deslize de separação é tipicamente produzido de um material flexível delgado, tal como politetrafluoroetileno (PTFE) ou aço inoxidável, que pode ser laminado ou descascado das folhas para removê-lo sem criar uma força significativa nas folhas.

[0072] Uma placa mantida pressionada pode ser usada para fixar o tecido antes do corte do entalhe, perfuração e pressionamento de entalhes através das folhas perfuradas. Em algumas concretizações, os cortadores de entalhe pode ser facas produzidas de tubos de metal aguçados. Em outras concretizações, eles podem ser produzidos de qualquer material que pode ser aguçado em uma lâmina. Os cortadores de entalhe cortam entalhes em uma forma circular, mas podem também serem cortados em qualquer outra forma tal como, mas não limitada a, um quadrado, retângulo, triângulo, ou um triângulo invertido, diamante, estrela, deixando uma ponte de conexão fixada à folha.

[0073] Em algumas concretizações, os entalhes são menores possíveis de modo que as pontas livres projetantes dos entalhes são menos ingerentes. Mas os entalhes devem ter largura suficiente de modo a alcançar uma retenção. Por exemplo, uma folha de entalhe com um tamanho de entalhe de 2,8 mm, espaçado em centros de 3,5 mm, é preferida para preparação de um produto de 5 folhas compreendendo folha de ECM de própria submucosa de pança. A ponte de conexão de cada entalhe é, de preferência, tanto estreita quanto praticável, enquanto que ainda resistindo à operação de atravessamento do entalhe. Para um produto de 5 folhas compreendendo ECM de própria submucosa de pança, uma ponte de conexão de 0,7 mm de largura é ideal. Uma largura menor de entalhes e ponte de conexão pode ser adequada para laminação de um número menor de folhas, ou para folhas mais delgadas, ou para o uso de um entalhamento material mais rígido. Um entalhe maior e largura de ponte de conexão podem ser mais adequados para laminação de um número maior de folhas, folhas mais espessas, materiais mais flexíveis, ou onde a presença de pontas de entalhe livres maiores não é um interesse.

[0074] Em algumas concretizações, folhas de entalhe são criadas por cortes de entalhes usando cortadores de entalhe múltiplos em um

bloco plano. O padrão de cortadores de entalhe equipará os furos de folga no molde. Este bloco de corte de entalhe é alinhado com guias e furos de folga no molde e pressão aplicada ao bloco para cortar entalhes na folha fixada no molde para formar uma folha de entalhe. Uma força enviezante para aplicar pressão pode ser gerada por qualquer número de métodos adequados incluindo força da mão, aplicação de um peso, uma prensa eletrônica, ou uma prensa hidráulica. A operação de corte do entalhe pode ser aplicada múltiplas vezes em folhas grandes para criar uma folha de entalhe maior. Em outras concretizações, os cortadores de entalhe podem ser usados individualmente, dispostos em uma folha flexível, fixados a um braço robótico, ou os entalhes podem ser cortados usando outras ferramentas de corte, tais como, mas não limitadas a, um molde ou laser.

[0075] Em algumas concretizações, a operação de perfuração pode ser efetuada usando uma agulha polida aguçada com um longa conicidade. Para a laminação de um produto de 5 folhas compreendendo folha de ECM de própria submucosa de pança onde uma folha é uma folha de entalhe tendo entalhes de 2,8 mm de largura espaçados em centros de 3,5 mm entre entalhes, e tendo pontes de conexão de 0,7 mm de largura, uma agulha com um diâmetro de 1,2 mm, espaçada com centros de 3,5 mm pode ser usada para perfurar as folhas e criar os furos. Contudo, as agulhas tendo um diâmetro de até e mesmo maior do que 1,8 mm podem produzir intertravamento adequado no produto acabado. Um diâmetro de agulha menor pode ser adequado para intertravamento usando um entalhe de largura menor, ou onde o material de entalhamento é mais flexível.

[0076] Em algumas concretizações, as folhas perfuradas são criadas por puncionamento de uma folha com uma agulha. Agulhas múltiplas podem ser dispostas em um bloco plano. O padrão das agulhas equipará os furos de folga no molde. Em uma maneira similar à

aplicação de força para cortar os entalhes em uma folha para formar uma folha de entalhe, a força é aplicada ao bloco de agulha para perfurar furos pequenos nas folhas.

[0077] O produto laminado é formado por parcialmente ou completamente sobreposição e alinhamento de uma folha de entalhe sobre uma camada de uma ou mais folhas perfuradas, e realizando a operação de entalhamento. Em algumas concretizações, uma folha de entalhe é entalhada no topo de uma ou mais folhas perfuradas. Entalhes e perfurações no entalhe e folhas perfuradas podem ser alinhados por qualquer método adequado incluindo, mas não limitado a, pelo olho, usando guias ou usando um gabarito. O produto de enxerto laminado intertravado é formado por impulso dos entalhes através das perfurações para fixar as camadas e folhas juntas.

[0078] Em algumas concretizações, a operação de entalhamento é efetuada usando um ou mais pinos cegos, arredondados, e/ou não aguçados (pinos atravessados). Para a laminação de um produto de 5 folhas compreendendo ECM de própria submucosa de pança tendo uma folha de entalhe com entalhes de 2,8 mm de largura, espaçados nos centros de pontes de conexão de 3,5 mm, 0,7 mm de largura e perfurações produzidas com agulhas de 1,2 mm de diâmetro, os entalhes podem ser impulsionados através do uso de um pino atravessado de 0,55 mm de diâmetro. Contudo, pinos atravessados até e maiores do que 1 mm de diâmetro produzirão intertravamento adequado.

[0079] Em algumas concretizações, pinos atravessados múltiplos são dispostos em um bloco plano em um padrão que se equipara ao padrão de furos de folga no molde. Este bloco de pino é alinhado com guias e furos de folga no molde, e uma força enviezante é aplicada ao bloco para impulsionar os entalhes da folha de entalhe através de uma ou mais folhas perfuradas, e nos furos de folga, deixando os entalhes nesta posição após os pinos serem retraídos e removidos da folha.

Isto resulta em um produto de enxerto onde os entalhes colocados ancoram as uma ou mais folhas perfuradas à folha de entalhe. A operação de entalhamento pode ser aplicada múltiplas vezes em grandes laminados para criar uma folha laminada maior.

[0080] A Figura 3 é uma representação esquemática de um exemplo de ferramental usado para preparar um produto de enxerto de tecido da invenção. Um molde 11 (em linha tracejada) é mostrado sobreposto com uma folha 12 de ECM ou material polimérico fixado ao molde 11 usando pinos de perímetro de molde 13 para manter tensão na folha 12. Uma placa mantida pressionada 14 e deslize de separação 15 são mostrados presos ao molde 11 com grampos 16. Um bloco de agulha de perfuração 17 (que alternativamente pode ser um bloco do cortador de entalhe, um bloco de agulha de perfuração, ou um bloco de pino atravessado) e um bloco do espaçador 18, podem ser guiados no molde 11 usando hastes de guia 19. As agulhas 20 são mantidas no bloco 17 que se projeta de seu lado inferior. Quando pressão descendente é aplicada ao bloco de agulha de perfuração 17, as agulhas 20 são forçadas para baixo para perfurar a folha 12. O bloco de agulha de perfuração 17 pode ser substituído com um bloco do cortador de entalhe tendo cortadores de entalhe que se projetam de seu lado inferior. Em uma operação similar, quando pressão descendente é aplicada ao bloco do cortador de entalhe, os cortadores de entalhe são forçados para baixo para cortar entalhes em uma folha. Adicionalmente, o bloco de agulha de perfuração 17 pode ao invés ser um bloco de pino atravessado tendo pinos atravessados que se projetam de seu lado inferior. Quando pressão descendente é aplicada ao bloco de pino atravessado, os pinos atravessados são forçados para baixo para impulsionar os entalhes através das perfurações na folha para dar o produto de enxerto laminado intertravado da invenção.

[0081] A Figura 4 mostra um processo para preparação de um

produto de enxerto de tecido da invenção. As etapas A e B mostram a preparação de uma folha de entalhe. As etapas C e D mostram a preparação de folhas perfuradas. As etapas E e F mostram a construção do produto de enxerto laminado. Um bloco do cortador de entalhe 21 mantém múltiplos cortadores de entalhe 22. As extremidades dos cortadores de entalhe 22 foram cortadas em um ângulo de modo que quando prensadas através da folha 23 de ECM ou material polimérico mantido em uma base 24, cortes semicirculares 25 são produzidos na folha 23. O bloco do cortador de entalhe 21 é elevado para retirar os cortadores de entalhe 22 da folha 23, girado 90° e forçado para baixo para novamente cortar a folha 23. Isto é repetido uma segunda vez de modo que o procedimento de três etapas resulta em entalhes 26 tendo sido cortadas para formar a camada de entalhe 27. Referindo-se à etapa C, um bloco de agulha de perfuração 28 mantendo agulhas 29 é mostrado posicionado acima de três folhas 30 de ECM ou SPM. O bloco de agulha de perfuração 28 é forçado para baixo de modo que múltiplas perfurações 31 são produzidas nas folhas 29 para formar a camada perfurada 32. A camada de entalhe 27 é sobreposta na camada perfurada 32. Um bloco de pino atravessado 33 mantendo múltiplos pinos atravessados 34 é forçado para baixo de modo que os pinos atravessados 34 empurram os entalhes 26 através das perfurações 31 para intertravar a camada perfurada 32 com a camada de entalhe 27, e formar o produto de enxerto laminado 35.

Produtos de enxerto compreendendo folhas múltiplas

[0082] Em algumas concretizações, o produto formado pode compreender folhas de entalhe múltiplas. As folhas podem ser criadas para ter um arranjo de padrão de entalhe que é afastado do padrão de entalhe de outras folhas de entalhe. Isto evita que entalhes em folhas de entalhe diferentes sejam dispostos no topo de cada outro, e entalhes sendo impulsionados através dos furos de entalhe de folhas de entalhe

sobrepostas. Estas folhas de entalhe podem conter perfurações para permitir que os entalhes sejam impulsionados através das folhas de entalhe, e nas folhas perfuradas. As folhas designadas com entalhes e perfurações com padrões diferentes são denominadas "entalhe diferencial/folhas perfuradas".

[0083] Em outras concretizações, uma camada compreendendo uma ou mais folhas de entalhe e/ou entalhe diferencial/folhas perfuradas, pode ser colocada sobre e sob uma camada de uma ou mais folhas perfuradas, efetivamente intercalando uma camada de uma ou mais folhas perfuradas entre camadas de folhas que contêm entalhes. O resultado é um produto mais espesso e mais forte. O produto de enxerto laminado intercalado é formado por impulsão dos entalhes através de perfurações para fixar as camadas para formar um sanduíche. Os entalhes na camada de entalhe de sobreposição são impulsionados através das perfurações a partir do topo, e os entalhes em folhas da camada de entalhe subjacente são impulsionados através de perfurações a partir do fundo. Os entalhes podem ou não podem serem impulsionados através de todas as perfurações, e podem ou não podem serem impulsionados através da folha de entalhe ou diferencialmente entalhe/folha perfurada no lado oposto.

[0084] Referindo-se à Figura 2B, três folhas perfuradas 3 são mostradas intercaladas entre uma folha de entalhe de topo 7 e uma folha de entalhe de fundo 8. Os entalhes 9 da folha de entalhe 8 foram empurrados através das perfurações das folhas perfuradas 3, e os entalhes 10 da folha de entalhe 7 foram também empurrados através das perfurações das folhas perfuradas 3.

[0085] Em um produto intercalado, entalhes em sobreposição e subjacentes de folhas de entalhe e/ou entalhe diferencial/folhas perfuradas, podem ser afastados entre si de modo que os entalhes de lados opostos não entrem em contato. Um produto intercalado em que os

entalhes não são empurrados através de todas as camadas ou folhas proporcionam vantagens em situações onde os entalhes expostos podem causar abrasão do tecido e/ou fricção. Portanto, um dispositivo intercalado é ideal quando a folha de entalhe e/ou entalhe diferencial/folhas perfuradas compreendem materiais sintéticos que são prováveis de serem mais rígidos, e terem um grande potencial de serem abrasivos contra o tecido.

Produto de enxerto pseudoisotrópico

[0086] Em algumas concretizações, um produto de enxerto laminado pseudoisotrópico é preparado de folhas múltiplas de ECM. O termo "pseudoisotrópico", conforme aqui usado, se refere a um material de enxerto de tecido tendo propriedades físicas similares ao longo de cada eixo do material de enxerto. Os produtos de enxerto laminados pseudoisotrópicos da invenção podem ser preparados de folhas individuais de ECM. O material de ECM é tipicamente mais forte em uma direção relativa a outras direções. Isto é frequentemente devido ao alinhamento de fibras de polímero (por exemplo, colágeno) no ECM. O método de preparação dos construtos de enxerto laminados pseudoisotrópicos compreende a sobreposição de pelo menos uma porção de uma primeira folha de entalhe ou folha perfurada, com uma segunda folha de entalhe ou folha perfurada, onde a segunda folha é girada de modo que o eixo longitudinal da primeira folha está em um ângulo relativo ao eixo longitudinal da segunda folha. Folhas adicionais de entalhe ou folhas perfuradas podem ser adicionadas em uma maneira similar para criar um construto de enxerto laminado pseudoisotrópico tendo o número desejado de folhas laminadas.

Produtos de enxerto de grande área

[0087] Os produtos de enxerto de grande área podem ser preparados de acordo com a invenção. Desde que o ECM é obtido do tecido de certos órgãos de animal, existem limitações no tamanho de folhas

de tecido que podem ser usadas para as operações de enxerto. Quando folhas de grande área de tecido de enxerto são requeridas (por exemplo, suturas de grandes ferimentos de queimadura), adesivos, ou outros tipos de tratamentos devem ser usados para criar produtos de enxerto tendo uma área de superfície suficiente. Contudo, as folhas de sobreposição de ECM parcialmente de intertravamento, de acordo com a invenção, capacitam a preparação de produtos de enxerto laminados tendo uma área de superfície maior do que a área de superfície de qualquer folha individual usada para preparar o produto de enxerto.

Produtos de enxerto tridimensionais

[0088] Em algumas concretizações, o produto de enxerto é essencialmente um produto flexível plano, e foi preparado usando um molde planar plano. Em outras concretizações, o produto de enxerto pode ter uma forma tridimensional curvada. A capacidade de formar formas tridimensionais de folhas usando moldes curvados e entalhamento das folhas, de modo que elas retenham sua forma sem ter que introduzir outros materiais ou usar outros tratamentos supera as limitações das tecnologias existentes, e é vantajosa à medida que permite a criação de produtos laminados que se conformam mais intensamente à forma natural de partes do corpo humano. Os produtos de enxerto laminados planos têm uma capacidade limitada de se conformarem a uma forma naturalmente curvada, tal como um implante de mama, e podem ser propensos a formação de dobras ou pregas. Estas pregas podem se tornarem locais de formação de seroma, conduzindo à complicações ou resultados cosméticos mais pobres. Portanto, a capacidade de formar um dispositivo em uma forma conformada tridimensional durante o processo de intertravamento é vantajosa.

[0089] Os produtos de enxerto laminados intertravados de forma tridimensional podem ser formados usando um molde com uma forma

curvada. Os moldes podem também ter bordas escalonadas ou superfícies planas múltiplas dispostas em ângulos diferentes. O molde pode ter furos de folga não perpendiculares para uso com cortadores de entalhe não perpendiculares, agulhas e pinos.

[0090] O entalhe e folhas perfuradas são, de preferência hidratados durante o processo de produção de modo que o tecido pode mais facilmente ser conformado à forma preferida.

[0091] Um molde com furos de folga perpendicular à superfície do molde pode ser usado com um cortador de entalhe individual, cortadores de entalhe em uma folha flexível, cortadores de entalhe em um braço robótico, um laser, ou outras tecnologias. Em outra concretização, um bloco de corte de entalhe pode ser usado com um molde tendo furos de folga que são dispostos não perpendiculares à superfície. Alternativamente, formas tridimensionais podem ser formadas por moldes com superfícies planas múltiplas e um bloco de corte de entalhe que se equipara às superfícies planas individuais. Similarmente, um molde com furos de folga perpendicular à superfície do molde pode ser usado com uma agulha individual, as agulhas em uma folha flexível, uma agulha ou agulhas em um braço robótico, um laser, ou outras tecnologias. Em outra concretização, um bloco de agulha pode ser usado, com um molde tendo furos de folga que são dispostos não perpendiculares à superfície. Alternativamente, formas tridimensionais podem ser formadas por moldes com superfícies planas múltiplas, e um bloco de agulha que se equipara às superfícies planas. Da mesma maneira, um molde com furos de folga perpendiculares à superfície de molde pode ser usado com um pino individual, pinos em uma folha flexível, a pino ou pinos em um braço robótico, ou entalhes podem ser colocados através de perfurações usando outras ferramentas, tais como, mas não limitadas a, uma haste de impulso, puncionador, molde, ou qualquer objeto não aguçado. Em outra concretização, um bloco de

pino pode ser usado, com um molde tendo furos de folga que são dispostos não perpendiculares à superfície. Alternativamente, formas tridimensionais podem ser formadas por moldes com superfícies planas múltiplas e um bloco de pino que se equipara às superfícies planas.

[0092] O produto de enxerto pode ser removido a partir do molde e grampos por força manual, ou excesso de tecido pode ser cortado dos grampos, e o produto pode ser removido do molde. Uma vez que o produto é removido do molde, ele pode ser secado, liofilizado, ou completamente hidratado, ou pode permanecer no mesmo estado de hidratação como quando suportando o processo de laminação, tudo sem risco de delaminação. O produto pode ser ainda manipulado para se adequar à várias aplicações médicas. O produto pode ser esterilizado usando técnicas padrões.

[0093] As propriedades mecânicas do produto podem ser proporcionadas às agulhas de aplicação médica pelo ajuste do número de camadas, folhas no interior das camadas, tipos de folhas no interior das camadas, modificação da forma, ajuste do padrão de entalhamento, tamanho, densidade e forma, seleção de folhas de ECM de fontes variadas de animais e tecido, e a seleção de folhas de SPM.

[0094] As perfurações intensificam as propriedades de remodelagem *in vivo* dos enxertos. As perfurações são acreditadas promoverem contato do tecido de ECM com fluidos endógenos e células (pelo aumento da área de superfície do enxerto implantado). As perfurações também servem como um conduto que permite que o fluido extracelular passe através do enxerto. As perfurações formadas durante a produção do produto de enxerto da invenção aliviarão o acúmulo de fluidos entre as folhas dos construtos de enxerto pela provisão de um conduto através do qual o fluido pode escoar para fora do tecido.

[0095] A Figura 5 mostra um exemplo de ferramental usado para preparar um produto de enxerto de tecido 3D da invenção. A Figura 5A

mostra um molde 36 em um suporte 37. O molde 36 compreende furos de folga múltiplos 38 para recebimento de uma agulha ou pino. Os pinos de fixação 39 são mostrados na borda do molde 36 ao qual uma folha de ECM ou SPM pode ser fixada. A Figura 5B mostra um arranjo alternativo usando agulhas ou pinos. Um molde 40 é mostrado em um suporte 41. Uma folha 42 de ECM ou SPM é mostrada esticada sobre o molde 40 e fixada pela fixação aos pinos de fixação 43. Um bloco de agulha de perfuração 44 (que pode ser substituído por um bloco de pino de impulsionar) é fixado à guia de bloco 45.

Distribuição de materiais bioativos

[0096] Os produtos de enxerto laminado da invenção podem ser usados para distribuir materiais bioativos ao local de enxerto. Os materiais bioativos podem ser endógenos ao ECM usado na preparação de um produto de enxerto, ou podem ser materiais que são incorporados no ECM e/ou camadas de material polimérico durante ou após o processo de manufatura de produto de enxerto. Os materiais bioativos distribuídos ao enxerto site desse modo são conhecidos por serem benéficos para promover função celular, incluindo cura de ferimento e outras funções fisiológicas e farmacológicas desejáveis.

EXEMPLOS

Exemplo 1: Produto laminado básico tendo uma folha de entalhe e quatro folhas perfuradas

[0097] ECM foi preparado de tecido de pança de vertebrado de acordo com o procedimento descrito na US 8.415.159. As folhas de ECM de pança formadas de um segmento de tecido de pança de um vertebrado de sangue quente, referido segmento compreendendo a própria submucosa.

[0098] *Uma folha de entalhe foi preparada de acordo com o seguinte método:* quatro furos de 5 mm de diâmetro foram puncionados em uma folha de ECM liofilizado, usando molde de corte e prensa, em

cada canto de quadrado de 140 mm x 140 mm. Esta folha foi colocada sobre uma placa de acetal plana de 140 mm x 140 mm com hastes de guia de 5 mm de diâmetro posicionadas de cada canto para equiparar os furos cortados na folha de ECM liofilizada, as hastes de guia fixando a posição lateral do ECM na placa. A placa tem uma matriz de 29 linhas por 29 colunas de furos de folga de diâmetro de 3,1 mm posicionados em centros de 3,5 mm em seu centro, resultando em uma seção de perímetro sem furos de ao redor de 20 mm de largura. Esta placa funciona como um molde. Uma placa mantida pressionada com furos de guia para os cortadores de entalhe e se equiparando ao padrão de furos de folga foi colocada no topo da folha de ECM liofilizada. Grampos foram aplicados para fixar o conjunto junto. Uma placa espaçadora de 5 mm de espessura com um tamanho de furo de folga e padrão se equiparando aos furos de haste de guia e aos furos de folga, foi colocada no topo da placa mantida pressionada. Um bloco de corte de entalhe compreendendo um bloco de acetal com cortadores de entalhe de tubo circular de diâmetro de 2,5 mm espaçados em centros de 3,5 mm, se equiparando ao padrão dos furos de folga, foi usado, usando furos de haste de guia no bloco de acetal e os furos de guia do cortador de entalhe para alinhar o bloco de corte de entalhe quando empurrando os cortadores de entalhe através da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e, junto com o espaçador, removido. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. Uma folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura, foi removida do ferramental.

[0099] *As folhas perfuradas foram preparadas de acordo com o seguinte método:* Quatro folhas de sobreposição de ECM recente fo-

ram esticadas sobre uma placa de acetal plana tendo as mesmas dimensões, furos e hastes de guia como a placa descrita acima. A placa também tem pinos que se projetam de seus lados que foram usados para fixar as folhas de ECM recente à placa. Um punçador de metal/guia de 5 mm de diâmetro foi colocado em cada furo de haste de guia, através do ECM recente, perfurando o tecido e fixando o tecido no lugar. A deslize de separação de PTFE de 1 mm de espessura foi colocado sobre o ECM fresco. Uma placa mantida pressionada também possuindo uma grade de furos de tamanho e padrão que se equiparam àqueles da haste de guia e furos de folga foi colocada no topo do deslize de PTFE. Grampos foram aplicados para fixar o conjunto junto. Um bloco de agulha de perfuração compreendendo um bloco de acetal com agulhas de máquina de bordar tamanho 11 colocadas em uma grade de padrão se equiparando aos furos de folga, foi usado. O bloco de perfuração também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, usando estes para alinhar o bloco de agulha de perfuração sobre o molde com as agulhas voltadas em direção à força de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de perfuração, grampos, placa mantida pressionada, e deslize de separação de PTFE, foram removidos.

[00100] *O produto de enxerto laminado foi montado pelo seguinte método:* A folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina isotônica. O deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção

à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um construto de enxerto de laminado intertravado de 100 mm x 100 que estava úmido e flexível coma aparência de uma folha áspera espessa. A folha foi subsequentemente liofilizada para produzir um dispositivo de multidobra rígido.

Exemplo 2: Produto laminado tendo duas folhas de entalhe e três folhas perfuradas

[00101] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Duas folhas de entalhe e três folhas perfuradas foram também preparadas conforme descrito no Exemplo 1. O produto laminado foi montado pelo seguinte método: Duas folhas de entalhe foram colocadas no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina isotônica. O deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um produto laminado de 100 mm x 100 mm que estava úmido e flexível tendo a aparência de uma folha

áspera espessa.

Exemplo 3: Produto laminado tendo uma folha de entalhe de polipropileno

[00102] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe foi preparada conforme descrito no Exemplo 1, exceto que a folha usada foi malha de polipropileno. As folhas perfuradas foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. O produto laminado foi preparado pelo seguinte método: A folha de entalhe de polipropileno foi colocada no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina isotônica. O deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido, em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um construto de enxerto de laminado intertravado de 100 mm x 100 mm que estava úmida e muito flexível, com a aparência de uma folha áspera espessa.

Exemplo 4: Produto laminado tendo folhas diferentes

[00103] As folhas de ECM de propria-submucosa foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe de ECM de pança liofilizada foi preparada conforme descrito no Exemplo 1. Quatro folhas perfuradas foram preparadas de acordo com o método do

Exemplo 1; um composto de própria submucosa intestinal pequena, um composto de malha de polipropileno, um composto de pericárdio, e um composto de matriz de cápsula renal. O produto laminado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina isotônica. O deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetato com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um produto laminado de 100 mm x 100 mm que estava úmido e flexível com a aparência de uma folha áspera espessa. A folha de polipropileno foi intercalada no interior do produto, de modo a não dar a aparência de um produto sintético, e reduzir a exposição do material sintético na interface do tecido, enquanto que proporciona os benefícios de resistência e rigidez de material aumentados.

Exemplo 5: Produto laminado tendo séries afastadas de entalhes

[00104] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe de ECM liofilizado foi preparada de acordo com o método do Exemplo 1, exceto que a placa de acetato usada tem os centros de furos de folga disposto em uma treliça hexagonal, cada série consecutiva de furos de folga defasados para assim

fazer, proporcionando um padrão de furo de folga mais denso sobre um arranjo de acondicionamento quadrado de coluna reta. A treliça resultante de furos consiste de 33 séries alternantes entre contendo ou 28 ou 29 furos de folga. A placa tem uma seção de perímetro sem furos de ao redor de 20 mm de largura. Quatro folhas perfuradas de sobreposição de ECM recente foram preparadas de acordo com o método do Exemplo 1. O produto laminado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina isotônica. O deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetato com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixo no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um produto laminado de 100 mm x 100 mm que estava úmido e flexível com a aparência de uma folha áspera espessa. Devido ao padrão de série afastada dos furos de folga, a força requerida para realizar as operações de corte, perfuração e entalhamento do entalhe, foi reduzida.

Exemplo 6: Produto pseudoisotrópico laminado

[00105] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe de ECM liofilizado foi preparada de acordo com o método do Exemplo 1. Quatro folhas perfuradas de so-

sobreposição de ECM recente foram preparadas de acordo com o método do Exemplo 1, exceto que elas foram dispostas com sua fibra de colágeno direccionalmente próxima a 36° , -72° , $+72^{\circ}$ e -36° , relativo a uma folha de entalhe colocada a 0° . O produto pseudoisotrópico laminado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi rehidratada com uma solução salina isotônica. A deslize de separação, placa mantida pressionada, e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixo no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi removido, substituído, e comprimido em uma prensa arbour um adicional de duas vezes. O conjunto foi desmontado. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um produto pseudoisotrópico laminado de 100 mm x 100 mm que estava úmido e flexível com aparência de uma folha áspera espessa. Devido às orientações de fibra variadas das folhas individuais, o produto tem a aparência de um dispositivo pseudoisotrópico com bioquímicas similares em direções planares múltiplas.

Exemplo 7: Produto laminado tendo folhas perfuradas intercaladas entre folhas de entalhe

[00106] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Duas folhas de entalhes de ECM liofilizado foram preparadas de acordo com o método do Exemplo 1. Quatro folhas perfuradas de sobreposição de ECM recente foram preparadas de acordo com o

método do Exemplo 1, exceto que uma folha de entalhe foi colocada com as extremidades livres dos entalhes em um ângulo de 0° na placa de acetal, antes do esticamento das quatro folhas de sobreposição de ECM recente sobre o molde. O resultado foi uma folha perfurada compreendendo quatro camadas de ECM esticadas sobre o molde com entalhes empurrados nas cavidades de furo de folga. O produto intercalado laminado foi montado pelo seguinte método: A segunda folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas com a extremidade livre dos entalhes em um ângulo de 180° relativo à primeira folha de entalhe, guiando os quatro furos de guia abaixo das hastes de guia, para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina. A deslize de separação, placa mantida pressionada e grampos, foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, dispostos em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, mas afastadas 0,5 mm a partir dos centros dos furos de folga, e alinhadas de modo que os pinos foram posicionados adicionalmente distantes a partir da extremidade livre dos entalhes na segunda folha de entalhe, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi retraído, substituído, e comprimido em uma prensa arbour duas vezes adicionalmente. O conjunto foi removido da prensa arbour e invertido.

[00107] Um segundo bloco de pino compreendendo um bloco de acetal com pinos cegos, disposto em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, mas afastadas 0,5 mm a partir dos centros dos furos de folga, e alinhadas de modo que os pinos foram posicionados mais distantes a partir da extremidade livre da primeira folha de

entalhe, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo do molde, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia, para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O conjunto foi removido da prensa arbour, os blocos de pino em seu lado do construto resultante retraídos e removidos, os grampos e placa mantida pressionada removidos, e a deslize de separação removido. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. Isto produziu um 100 mm x 100 mm produto intercalado laminado de 100 mm x 100 mm que estava úmida e muito flexível, com a aparência de uma folha áspera espessa.

Exemplo 8: Produto laminado tendo folhas perfuradas intervaladas entre as folhas de entalhe, mas com entalhes ocultados no interior do produto

[00108] As folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Duas folhas de entalhe de ECM liofilizado foram preparadas, de acordo com o método do Exemplo 1, e de acordo com o mesmo método, exceto que o molde compreendia uma matriz de 20 linhas por 20 colunas de furos de folga de diâmetro de 3,1 mm posicionados em centros de 5,0 mm em seu centro, resultando em uma seção de perímetro sem furos de ao redor de 21 mm de largura. Quatro folhas perfuradas de sobreposição de ECM recente foram preparadas de acordo com o método do Exemplo 1, exceto que uma folha de entalhe foi colocada com as extremidades livres dos entalhes em um ângulo de 0° uma placa de acetato, antes do esticamento das quatro folhas de sobreposição de ECM recente sobre o molde. O resultado foi uma folha perfurada compreendendo quatro camadas de ECM esticadas sobre o molde com entalhes empurrados nas cavidades de furo de folga. O produto intercalado laminado foi montado pelo seguinte método:

[00109] Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetato com

uma matriz de 21 linhas por 21 colunas de pinos cegos, dispostas em uma matriz que se equipara àquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi elevado de baixo do molde, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O conjunto foi removido da prensa arbour, o bloco de pino retraído e removido, os grampos e placa mantida pressionada removidos, e o deslize de separação removido. As extremidades livres dos entalhes da primeira folha de entalhe foram achatadas ao longo do topo da folha perfurada na direção que elas estavam originalmente voltadas.

[00110] A segunda folha de entalhe foi colocada no topo das folhas perfuradas com a extremidade livre dos entalhes em um ângulo de 180° relativo à primeira folha de entalhe, guiando os quatro furos de guia para abaixo das hastes de guia para alinhar. A folha de entalhe foi re-hidratada com uma solução salina. A deslize de separação e placa mantida pressionada foram substituídos. Um bloco do espaçador foi colocado sobre a placa mantida pressionada, e os grampos foram substituídos. Um bloco de pino compreendendo um bloco de acetato com uma matriz de 20 linhas por 20 colunas de pinos cegos, disposta em uma grade que se equipara aquela dos furos de folga, foi usado. O bloco de pino também tem furos de guia que se alinham com as hastes de guia, e foi abaixado no topo da placa mantida pressionada, com os pinos voltados em direção à folha de ECM, usando os furos de guia e hastes de guia para alinhar. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de pino foi retraído e comprimido em uma prensa arbour duas vezes adicionais. O conjunto foi removido a partir da prensa Arbour, e desmontado. O construto foi cortado a partir do molde usando um escalpe. Este produz um construto de enxerto de

laminado intertravado de 100 mm x 100 mm que estava úmido e muito flexível com a aparência de uma folha áspera espessa sem protruções.

Exemplo 9: Produto laminado 3D

[00111] Folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe foi preparada pelo seguinte método: oito furos de diâmetro de 5 mm foram puncionados em uma folha de ECM liofilizado, medindo 140 mm x 240 mm, usando um molde de corte e prensa, quatro abaixo de uma lado nos centros de 10 mm a partir da borda longa, e nos centros de 10 mm, 111,5 mm, 130 mm e 231,5 mm de um lado curto, e quatro abaixo do único lado longo em espelho ao primeiro. Esta folha foi colocada à esquerda sobre uma placa de acetato plana de 140 mm x 140 mm com quatro hastes de guia de 5 mm de diâmetro posicionadas equidistantes entre si em cada canto para equiparar os furos cortados na extremidade esquerda da folha de ECM liofilizada, as hastes de guia fixando a posição do ECM na placa. A placa tem uma matriz de 29 linhas por 29 colunas de furos de folga de diâmetro de 3,1 mm posicionados em centros de 3,5 mm em seu centro, resultando em uma seção de perímetro sem furos ao redor de 20 mm de largura. Esta placa funciona como um molde. Uma placa mantida pressionada com furos de guia para os cortadores de entalhe e equiparando o padrão de furos de folga foi colocada no topo da folha de ECM liofilizada. Grampos foram aplicados para fixar o conjunto juntos. Uma placa espaçadora de 5 mm de espessura com tamanho de furo de folga e padrão se equiparando aos furos de haste de guia, e os furos de folga foram colocados no topo da placa mantida pressionada. Um bloco de corte de entalhe compreendendo um bloco de acetato com cortadores de entalhe de tubo circular de diâmetro de 2,5 mm espaçados em centros de 3,5 mm, se equiparando ao padrão de furos de folga, foi usado, usando furos de haste de guia no bloco de acetato e os

furos de guia do cortador de entalhe para alinhar o bloco de corte de entalhe quando empurrando os cortadores de entalhe através da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa arbour e comprimido. O bloco de corte de entalhe e espaçador foi removido. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. Uma folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura cobrindo ao redor de um quadrado de 100 mm x 100 mm, foi removida a partir do ferramental, em seguida reposicionada de modo que o lado direito da folha estava sobre o molde. Uma folha foi abaixada abaixo das hastes de guia, a placa mantida pressionada posta em posição, o conjunto tornado seguro com grampos e um bloco do espaçador posto em posição. O bloco do cortador de entalhe foi abaixado em posição com a mesma orientação conforme usada quando do corte do lado esquerdo da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e, junto com o espaçador, removido. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. Uma folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura cobrindo ao redor de um retângulo de 100 mm x 200 mm, foi removido do ferramental.

[00112] As folhas perfuradas foram preparadas pelo seguinte método: Uma folha de ECM fresco foi esticada sobre um bloco de acetato vazado semiesférico de diâmetro de 140 mm por 70 mm densamente povoado com furos de 2,0 mm perpendiculares à superfície semiesférica, posicionando a folha de ECM para melhor vantagem de qualquer forma 3D natural que ela possuía. A folha de ECM foi mantida na posi-

ção esticada por uma série de pinos de fixação no lado inferior do bloco. Este bloco tem a função de um molde. Três mais folhas de ECM foram aplicadas, uma de cada vez, da mesma maneira.

[00113] O construto de enxerto de laminado intertravado conformado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe longa foi parcialmente hidratada, até que ela se torna flexível, e foi colocada no topo de e esticada sobre as folhas de ECM molhadas. A operação ao longo de uma série de entalhes com duas agulhas para bordar tamanho 11, cada entalhe foi elevado, uma perfuração foi feita através de quatro camadas de ECM, empurrando a agulha no furo disponível mais próximo no molde, e o entalhe empurrado através da perfuração com um pino cego. As outras séries dentro da área requerida para serem entalhadas foram tratadas do mesmo modo. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. O produto de enxerto laminado estava úmido e flexível, com a aparência de uma folha áspera espessa, e conformado à forma do molde.

Exemplo 10: Produto laminado de ponto único 3D

[00114] Folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe foi preparada pelo seguinte método: oito furos de diâmetro de 5 mm foram puncionados em uma folha de ECM liofilizado, medindo 140 mm x 240 mm usando um molde de corte e prensa, quatro abaixo de um lado nos centros de 10 mm a partir da borda longa e nos centros de 10 mm, 111,5 mm, 130 mm e 231,5 mm de um lado curto, e quatro abaixo do lado único em espelho para o primeiro. Esta folha foi colocado para a esquerda sobre uma placa de acetato plana de 140 mm x 140 mm com quatro hastes de guia de diâmetro de 5 mm posicionadas equidistantes de cada canto para equiparar os furos cortados na extremidade esquerda da folha de ECM liofilizada, as hastes de guia fixando a posição do ECM na placa. A placa tem uma matriz de 29 linhas por 29 colunas de furos de folga de

diâmetro de 3,1 mm posicionados em centros de 3,5 mm em seu centro, resultando em uma seção de perímetro sem furos de ao redor de 20 mm de largura. Esta placa funcionou como um molde. Uma placa mantida pressionada com furos de guia para os cortadores de entalhe e equiparando o padrão de furos de folga foi colocada no topo da folha de ECM liofilizada. Grampos foram aplicados para segurar o conjunto junto. Uma placa espaçadora de espessura de 5 mm com tamanho de furo de folga e padrão se equiparando aos furos de haste de guia e aos furos de folga foi colocada no topo da placa mantida pressionada. Um bloco de corte de entalhe compreendendo um bloco de acetal com cortadores de entalhe de tubo circular de diâmetro de 2,5 mm espaçados em centros de 3,5 mm, equiparando o padrão de furos de folga, foi usado, usando furos de haste de guia no bloco de acetal e os furos de guia do cortador de entalhe, para alinhar o bloco de corte de entalhe quando empurrando os cortadores de entalhe através da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe e espaçador foram removidos. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. A folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura cobrindo ao redor de um quadrado de 100 mm x 100 mm, foi removida a partir do ferramental, em seguida reposicionada de modo que o lado direito da folha estava sobre o molde. A folha foi abaixada abaixo das hastes de guia, a placa mantida pressionada posta em posição, o conjunto tornado seguro com grampos e um bloco do espaçador postos em posição. O bloco do cortador de entalhe foi abaixado em posição com a mesma orientação conforme usada quando do corte do lado esquerdo da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraí-

do e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e, junto com o espaçador, removido. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. Uma folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura cobrindo ao redor de um retângulo de 100 mm x 200 mm, foi removida do ferramental.

[00115] Folhas perfuradas foram preparadas pelo seguinte método: Uma folha de ECM fresco foi esticada sobre um diâmetro de 140 mm por 70 bloco de acetal vazado semiesférico alto povoado com furos de 2,5 mm perpendiculares à superfície semiesférica, e em um padrão que comprova uma série densa de furos, posicionando a folha de ECM para levar melhor vantagem de qualquer forma 3D natural que ela possuía. A folha de ECM foi mantida na posição esticada por uma série de pinos de fixação no lado inferior do bloco. Este bloco tem a função de um molde. Três mais folhas de ECM foram aplicadas, uma de cada vez, na mesma maneira. Um braço robótico foi usado para perfurar as folhas.

[00116] O construto de enxerto de laminado intertravado conformado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe longa foi parcialmente hidratada, até que ela se torna flexível, e foi colocada no topo de e esticada sobre as folhas de ECM molhadas, alinhando os entalhes ao redor do perímetro da área requerida a ser entalhada sobre os furos perfurados. Um braço robótico foi usado para empurrar cada entalhe através da respectiva perfuração usando uma ferramenta de pino cego. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. O produto de enxerto laminado estava úmido e flexível com a aparência de uma folha áspera espessa, e conformado à forma do molde.

Exemplo 11: Produto laminado 3D Multi-ponto

[00117] Folhas de ECM foram preparadas conforme descrito no Exemplo 1. Uma folha de entalhe foi preparada pelo seguinte método: oito furos de diâmetro de 5 mm foram puncionados em uma folha de ECM liofilizado, medindo 140 mm x 240 mm usando um molde de corte e prensa, quatro abaixo de um lado nos centros de 10 mm a partir da borda longa e nos centros de 10 mm, 111,5 mm, 130 mm e 231,5 mm de um lado curto, e quatro abaixo do único lado longo no espelho para o primeiro. Esta folha foi colocada para a esquerda sobre uma placa de acetil plano de 140 mm x 140 mm com quatro hastes de guia de diâmetro de 5 mm posicionadas equidistantes de cada canto para equiparar os furos cortados na extremidade esquerda da folha de ECM liofilizada, as hastes de guia fixando a posição do ECM na placa. A placa tem uma matriz de 29 linhas por 29 colunas de furos de furo de diâmetro de 3,1 mm posicionados em centros de 3,5 mm em seu centro, resultando em uma seção de perímetro sem furos de ao redor de 20 mm de largura. Esta placa funciona como um molde. Uma placa mantida pressionada com furos de guia para os cortadores de entalhe e equiparação do padrão de furos de furo foi colocada no topo da folha de ECM liofilizada. Grampos foram aplicados para segurar o conjunto junto. Uma placa espaçadora de espessura de 5 mm com tamanho de furo de furo e padrão se equiparando aos furos de haste de guia e os furos de furo foram colocados no topo da placa mantida pressionada. Um bloco de corte de entalhe compreendendo um bloco de acetil com cortadores de entalhe de tubo circular de diâmetro de 2,5 mm espaçados em centros de 3,5 mm, equiparação do padrão de furos de furo foi usada, usando furos de haste de guia no bloco de acetil e os furos de guia do cortador de entalhe para alinhar o bloco de corte de entalhe quando empurrando os cortadores de entalhe através da folha de ECM folha. O conjunto foi colocado em uma prensa arbour e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e

removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe e espaçador foram removidos. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. A folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura cobrindo ao redor de um quadrado de 100 mm x 100 mm, foi removida a partir do ferramental, em seguida reposicionada de modo que o lado direito da folha estava acima do molde. A folha foi abaixada abaixo das hastes de guia, a placa mantida pressionada posta em posição, o conjunto tornado seguro com grampos e um bloco do espaçador posto em posição. O bloco do cortador de entalhe foi abaixado em posição com a mesma orientação como usado quando do corte do lado esquerdo da folha de ECM. O conjunto foi colocado em uma prensa Arbour, e foi comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e removido, girado 180 graus, e substituído. O conjunto foi colocado em um prensa Arbour, e comprimido. O bloco de corte de entalhe foi retraído e, junto com o espaçador, removido. O bloco de corte de entalhe foi girado 90 graus, e substituído. A folha de entalhe assim formada, com entalhes de ao redor de 2,8 mm de largura que cobre ao redor do retângulo de 100 mm x 200 mm, foi removida do ferramental.

[00118] As folhas perfuradas foram preparadas pelo seguinte método: Uma folha de ECM fresco foi esticada sobre um diâmetro de 140 mm por 70 de bloco de acetal vazado semiesférico alto povoado com seções de furos de 2,5 mm que foram paralelos entre si, e em um padrão que comprova uma série densa de furos, posicionando a folha de ECM para levar a melhor vantagem de qualquer forma 3D natural que ela possua. A folha de ECM foi mantida na posição esticada por uma série de pinos de fixação no lado de baixo do bloco. O bloco tem a função de um molde. Três mais folhas de ECM foram aplicadas, uma de cada vez, na mesma maneira. Um braço robótico foi usado para

perfurar as folhas. O molde foi indexado em um suporte, e um bloco de agulha contendo 56 agulhas de bordar de tamanho 11 foi aplicado ao ECM molhado, em duas posições, em cada índice resultando no ECM tornando-se perfurado com padrão regular sobre a área a ser entalhada.

[00119] O construto de enxerto de laminado intertravado conformado foi montado pelo seguinte método: A folha de entalhe longa foi parcialmente hidratada, até que ela se torne flexível, e foi colocada no topo de e esticada sobre as folhas de ECM molhadas, alinhando os entalhes ao redor do perímetro da área requerida para ser entalhada sobre os furos perfurados. O molde foi indexado em um suporte, e um bloco de pino contendo 56 pinos cegos dispostos no mesmo padrão como para os furos no molde foi aplicado ao ECM molhado, em duas posições, em cada índice resultando na ECM tornando-se entalhada sobre a área a ser entalhada. Um escalpe foi usado para cortar o dispositivo distante do molde. O produto de enxerto de laminado estava úmido e flexível com a aparência de uma folha áspera espessa, e conformada à forma do molde.

Exemplo 12: Teste de integridade de manuseio molhado de laminado de matriz de pança de ovino entalhado e laminados não entalhados equivalentes

[00120] Um laminado entalhado liofilizado compreendendo uma folha de entalhe e duas folhas perfuradas foi preparado de acordo com o Exemplo 1, e liofilizado. Um laminado de 3 dobras não entalhadas equivalentes foi preparado por laminação, de acordo com o método de Floden et al. (8). Matriz de pança de ovino foi preparada de acordo com o procedimento descrito na US 8.415.159. Uma camada de matriz de pança de ovino molhada foi colocada em uma superfície plana com a superfície abluminal voltada para cima. Uma segunda camada foi colocada no topo da primeira camada, com a superfície abluminal lisa

voltada para baixo, contatando a primeira camada. Uma terceira camada foi colocada no topo da segunda camada, com a superfície abluminal lisa voltada para cima. Pressão foi aplicada para remover quaisquer vazios entre as camadas. O laminado de três dobras foi, em seguida, liofilizado para criar um laminado de três camadas.

[00121] Para comparar a resistência de laminação dos laminados com entalhe e sem entalhe equivalentes, um teste de simulação de manuseio molhado foi realizado. De ambos os laminados com entalhe e sem entalhe foram cortados amostras de 4 cm x 4 cm antes do teste de manuseio molhado. O tamanho de amostra final para teste de cada um dos laminados foi cinco (n=5). Dez pratos *petri* foram cada enchido com 20 mL de 1 x PBS. No ponto de tempo T=0 horas, um laminado de 4 cm x 4cm (entalhado ou não entalhado) foi introduzido em um prato *petri*, e permitido re-hidratar totalmente em 1 x PBS após o teste de manuseio molhado. Após reidratação, o laminado foi captado em um canto com fórceps e sacudido por cinco segundos usando um movimento lado a lado. O laminado foi, em seguida, reintroduzido ao PBS e dobrado em quartos. Enquanto ainda dobrado, o laminado foi, em seguida, jogado de uma altura de 20 cm na tampa do prato *petri*. O laminado foi, em seguida, reintroduzido no PBS e sacudido para um adicional de 5 segundos. Na conclusão do teste, a extensão que as amostras foram delaminadas foi avaliada. A delaminação foi definida como 'mais do que 50% de qualquer camada torna-se destacada da camada oposta'. As amostras que delaminam após a simulação de manuseio molhado se classificam como 'falha'. O teste de simulação de manuseio molhado foi efetuado nos tempos T=0 horas, T=12 horas e 24 horas. Os laminados permaneceram submersos e hidratados em PBS pela duração do teste. Os resultados do teste de simulação de manuseio molhado são mostrados na Figura 6.

Exemplo 13: Teste de simulação de manuseio molhado de laminados

entalhados de retículo de ovino e laminados não entalhados equivalentes

[00122] ECM de retículo ovino foi preparado conforme segue. O tecido de retículo ovino foi proveniente de ovelha de mens do que 1 ano de idade. A camada de músculo foi fisicamente separada a partir do tecido, e descartada. O tecido remanescente (aprox. 1500 g) foi incubado em 0,1% de Triton TX-100 (10 L), com osculação à temperatura ambiente por quatro horas. A solução foi descartada. O tecido foi incubado em uma solução compreendendo 0,1% de TX-100, 0,3% de TRIS, e 0,15% de EDTA (10 L) por 18 horas à temperatura ambiente. A solução foi descartada. O tecido foi finalmente enxaguado em água purificada (10 L) por 10 min, três vezes à temperatura ambiente, com oscilação. O material descelularizado foi liofilizado conforme requerido. Um laminado liofilizado entalhado compreendendo uma folha de entalhe e duas folhas perfuradas foi preparado de acordo com o Exemplo 1, e liofilizado. Um laminado de 3 dobras não entalhado equivalente foi preparado de acordo com o Exemplo 12. O teste de simulação de manuseio molhado foi conduzido de acordo com o Exemplo 12, para comparar a resistência de laminação dos laminados com entalhe e sem entalhe equivalente. Os resultados para ambos laminados de ECM de retículo de ovino com entalhe e sem entalhe são mostrados na Figura 7. Os laminados de retículo de ovino não permanecem intatos após manuseio inicial (T=0).

Exemplo 14: Testes de integridade de manuseio molhado de laminados entalhados de pericárdio de ovino e laminados não entalhados equivalentes

[00123] ECM de pericárdio ovino foi preparado para laminação conforme segue. O pericárdio ovino foi proveniente de ovelha de menos do que 1 ano de idade. O saco pericardial foi dissecado do coração e pulmões, e congelado para auxiliar a remoção de gordura do tecido.

Após descongelamento, o tecido foi então limpo e de-epitelializado de acordo com o Exemplo 13. Um laminado de pericárdio liofilizado compreendendo uma folha de entalhe e duas folhas perfuradas foi preparado de acordo com o Exemplo 1 e liofilizado. Um laminado de 3 dobras equivalente não entalhado foi preparado de acordo com o Exemplo 12. Notavelmente, a geometria do pericárdio significa dispositivos menores do que aqueles dos Exemplos 1 e 12. Ambos laminados foram cortados em laminados de 2 cm x 2 cm antes do teste de manuseio molhado. O tamanho da amostra final para cada tipo de laminado foi quatro (n=4). O teste de simulação de manuseio molhado foi conduzido de acordo com o Exemplo 12. Os resultados são mostrados na Figura 8.

[00124] Embora a invenção tenha sido descrita por meio de exemplo, deve ser apreciado que variações e modificações podem ser feitas sem fugir do escopo da invenção conforme definida nas reivindicações. Além disso, onde equivalentes conhecidos existem para características específicas, tais equivalentes são incorporados como se especificamente referidos neste relatório descritivo.

REFERÊNCIAS

- [00125] 1. Schenke-Layland K, Xie J, Heydarkhan-Hagvall S, Hamm-Alvarez SF, Stock UA, Brockbank KGM, et al. Optimized Preservation of ECM in Cardiac Tissues: Implications for Long-Term Graft Durability. *Ann Thorac Surg*. 2007 May;83(5):1641–50.
- [00126] 2. Schenke-Layland K, Madershahian N, Riemann I, Starcher B, Halbhuber K-J, König K, et al. Impact of Cryopreservation on ECM Structures of Heart Valve Leaflets. *Ann Thorac Surg*. 2006 Mar;81(3):918–26.
- [00127] 3. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011 Apr;32(12):3233–43.

- [00128] 4. Davidenko N, Gibb T, Schuster C, Best SM, Campbell JJ, Watson CJ, et al. Biomimetic collagen scaffolds with anisotropic pore architecture. *Acta Biomater*. 2012 Feb;8(2):667–76.
- [00129] 5. Konstantinovic ML, Lagae P, Zheng F, Verbeken EK, De Ridder D, Deprest JA. Comparison of host response to polypropylene and non-cross-linked porcine small intestine serosal-derived collagen implants in a rat model. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2005;112(11):1554–60.
- [00130] 6. Chu CC. The effect of pH on the in vitro degradation of poly(glycolide lactide) copolymer absorbable sutures. *J Biomed Mater Res*. 1982;16(2):117–24.
- [00131] 7. Chu CC. A comparison of the effect of pH on the biodegradation of two synthetic absorbable sutures. *Ann Surg*. 1982 Jan;195(1):55–9.
- [00132] 8. Floden EW, Malak SF, Basil-Jones MM, Negron L, Fisher JN, Lun S, Dempsey SG, Haverkamp RG, Ward BR and May BC (2010). Biophysical characterization of ovine forestomach extracellular matrix biomaterials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 96(1): 67-75.

REIVINDICAÇÕES

1. Produto de enxerto de tecido (1), caracterizado pelo fato de que compreende duas ou mais folhas de material, em que cada folha compreende matriz extracelular (ECM) ou material polimérico, e em que as folhas são laminadas juntas por porções de intertravamento de uma folha com porções de outra folha,

sendo que uma primeira folha (2, 7) apresenta múltiplos entalhes (5, 10) e uma segunda folha (3) apresenta múltiplos furos, cada entalhe (5, 10) da primeira folha estando localizado através de um furo na segunda folha (3), para intertravar a primeira folha com a segunda folha (3).

2. Produto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os furos e os entalhes são dimensionados de modo que os entalhes (5) engatam com uma superfície da segunda folha.

3. Produto de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que cada entalhe (5, 10) compreende uma seção da primeira folha que é cortada da primeira folha (2, 7) e permanece conectada (6) à primeira folha (2, 7).

4. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que compreende ainda uma terceira folha (3) posicionada entre a primeira folha (2, 7) e a segunda folha (3, 8), a terceira folha tendo múltiplos furos alinhados com furos da segunda folha;

sendo que os entalhes da primeira folha se estendem através dos furos na terceira folha para intertravar a primeira folha com as segunda e terceira folhas.

5. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que compreende ainda uma terceira folha (8), a terceira folha tendo múltiplos entalhes (9) alinhados com os furos da segunda folha (3);

sendo que os entalhes da terceira folha se estendem através dos furos na segunda folha para intertravar a terceira folha com a segunda folha.

6. Produto de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que cada entalhe (10) da primeira folha (7) é intertravado com a terceira folha (8) e cada entalhe (9) da terceira folha é intertravado com a primeira folha (7).

7. Produto de acordo com a reivindicação 5 ou 6, caracterizado pelo fato de que a terceira folha (8) compreende múltiplos entalhes (9) e a primeira folha (7) compreende múltiplos furos,

sendo que os entalhes (10) da primeira folha (7) são afastados pelos entalhes da terceira folha.

8. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que pelo menos uma folha compreende ECM.

9. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que compreende um total de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 folhas de ECM e/ou material polimérico.

10. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o ECM é formado a partir da própria-submucosa do pré-estômago de um ruminante.

11. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que pelo menos uma folha compreende um material polimérico sintético, tal como polipropileno, politetrafluoroetileno, ácido poliglicólico, ácido polilático, poliglecaprona-25, ou poliéster; ou um material polimérico natural, tal como uma proteína, polissacarídeo, glicoproteína, proteoglicano, ou glicosaminoglicano.

12. Produto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que é uma folha substancial-

mente plana ou apresenta uma forma 3-dimensional moldada para se conformar a uma localização a qual o produto é para ser enxertado.

13. Método para preparação de um produto de enxerto de tecido como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de laminar duas ou mais folhas de material juntas intertravando porções de uma folha com porções de outra folha, em que cada folha compreende matriz extracelular (ECM) ou material polimérico, o método compreendendo as etapas de:

(i) colocar uma primeira folha (2, 7) de material tendo múltiplos entalhes (5, 10) sobre uma segunda folha (3) tendo múltiplos furos,

(ii) empurrar os entalhes da primeira folha através dos furos na segunda folha, os furos e os entalhes tendo dimensões de modo que os entalhes engatam com uma superfície da segunda folha e intertravam a primeira folha com a segunda folha.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que as folhas são folhas secas de ECM e/ou material polimérico.

15. Aparelho para preparação de um produto de enxerto de tecido como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) um molde ao qual uma folha de ECM ou material polimérico pode ser sobreposto;

(ii) um meio de corte de entalhe para corte dos entalhes em uma folha de ECM ou material polimérico para formar uma folha de entalhe;

(iii) um meio de perfuração para criar perfurações em uma folha de ECM ou material polimérico para formar uma folha perfurada;

(iv) um meio para empurrar os entalhes da folha de entalhe

através das perfurações da folha perfurada para intertravar a folha de entalhe e a folha de perfuração para formar o produto de enxerto de tecido.

FIG. 1

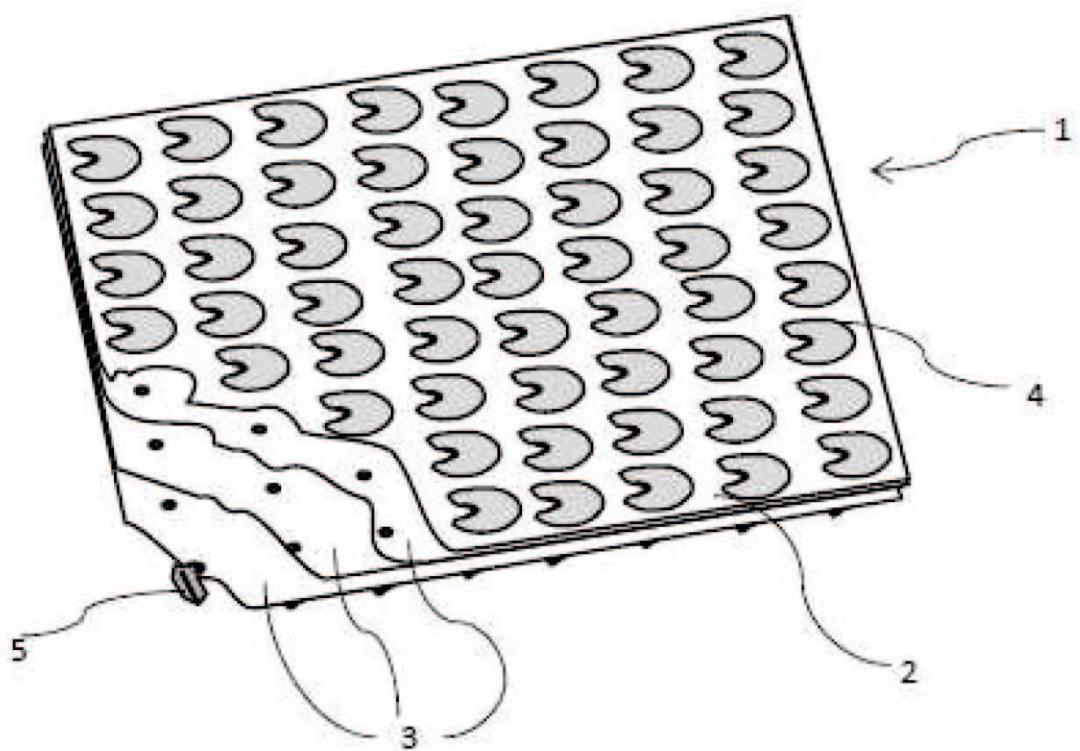


FIG. 2

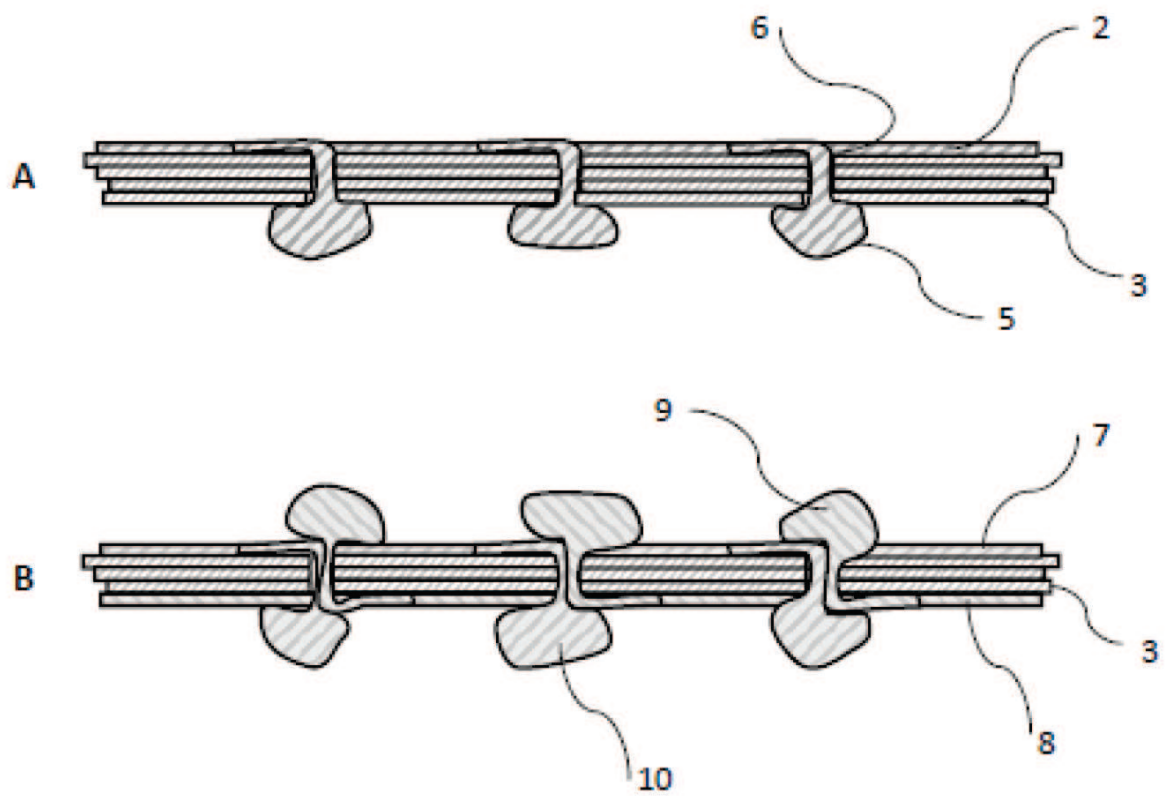


FIG. 3

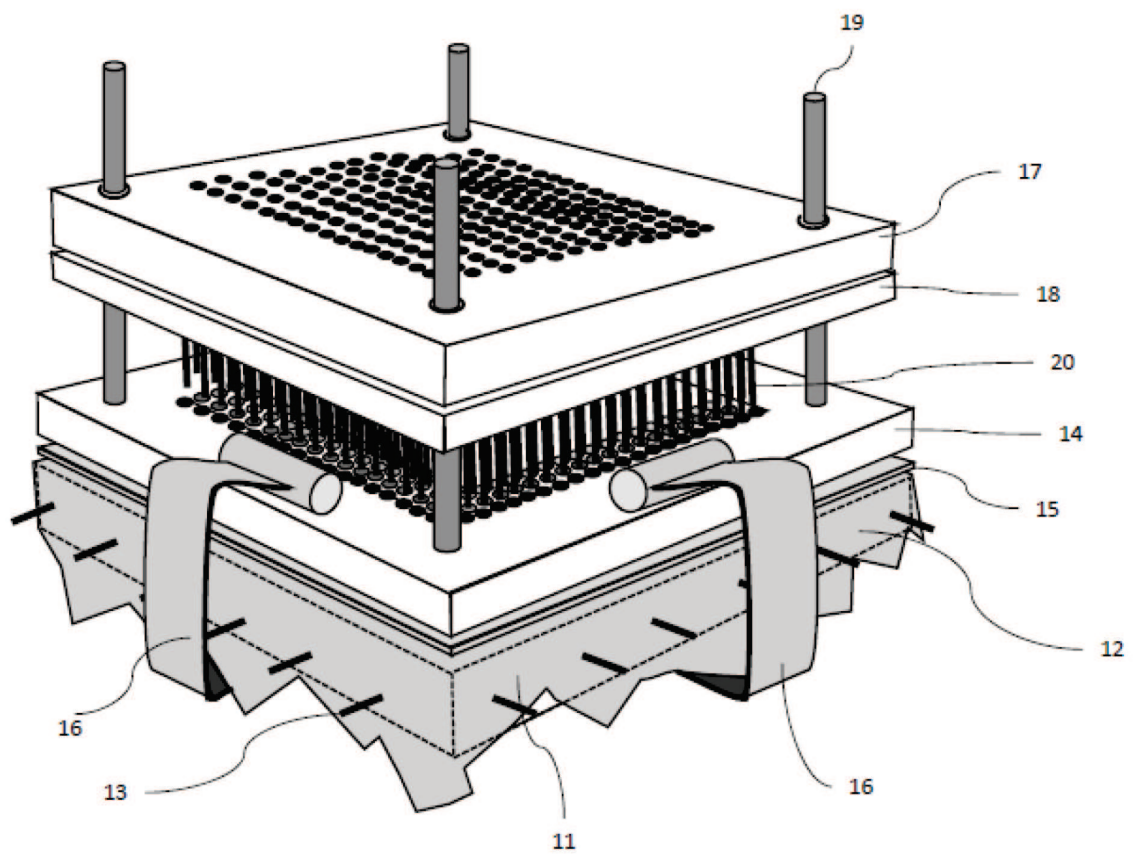


FIG. 4

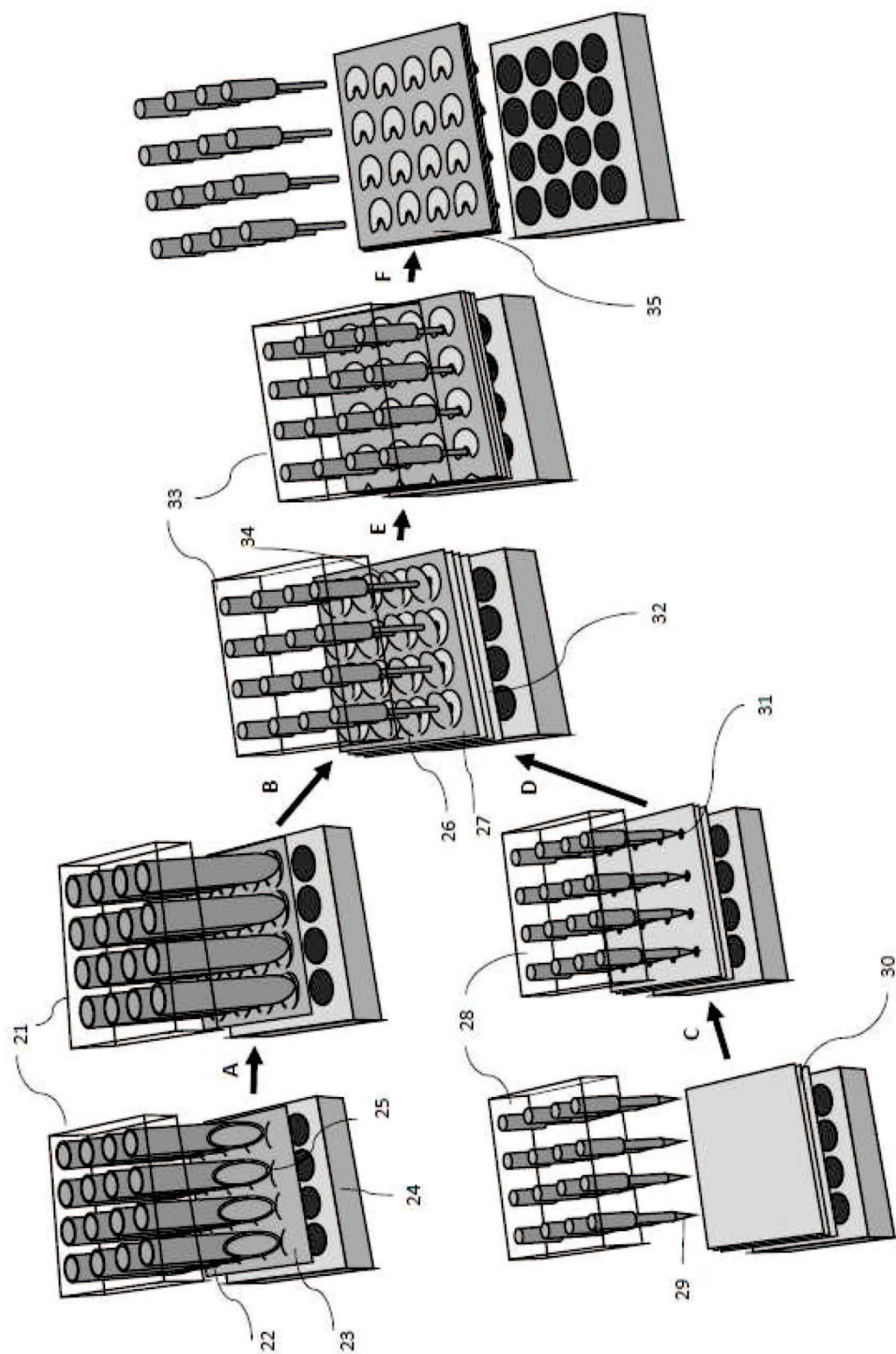


FIG. 5

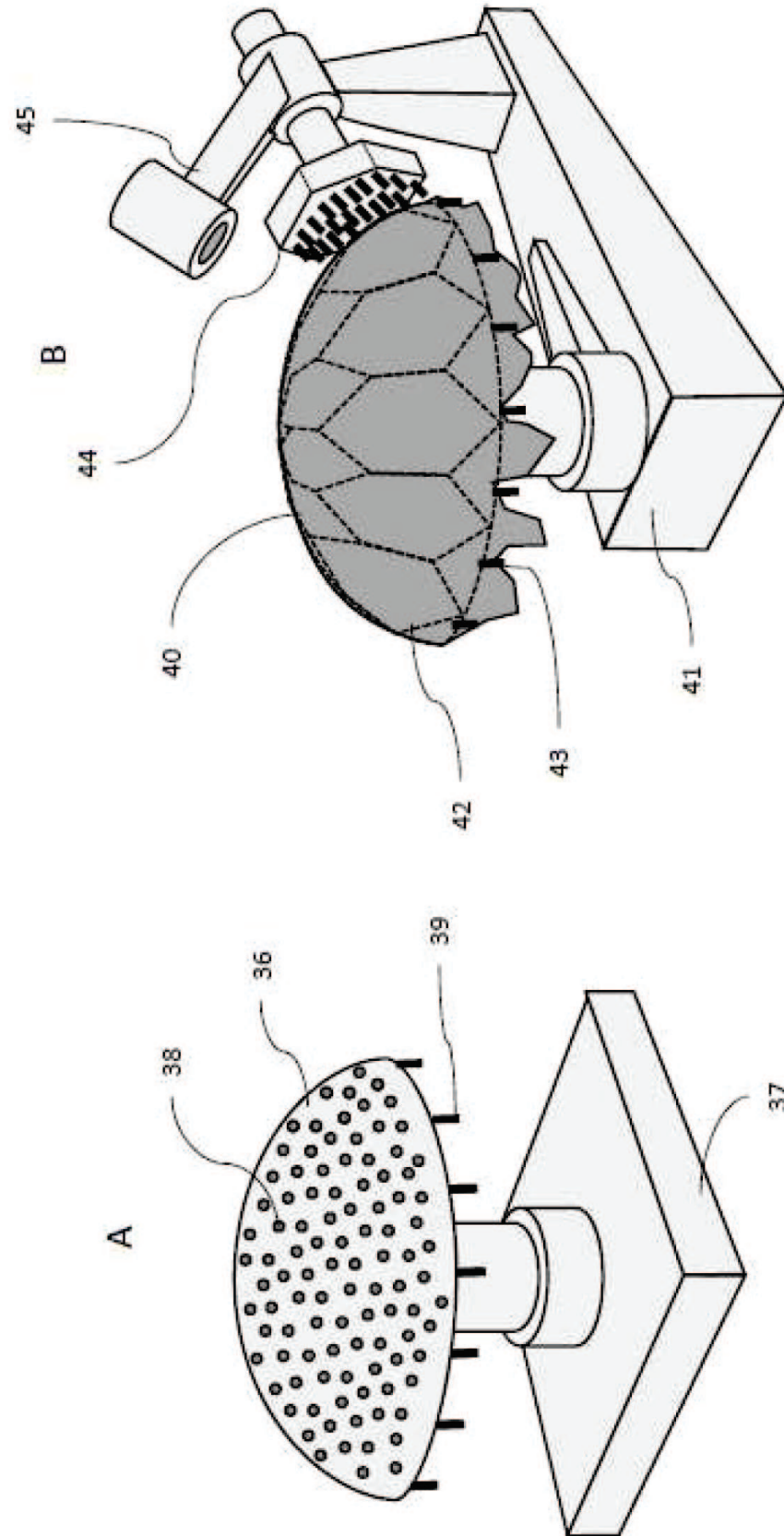


FIG. 6

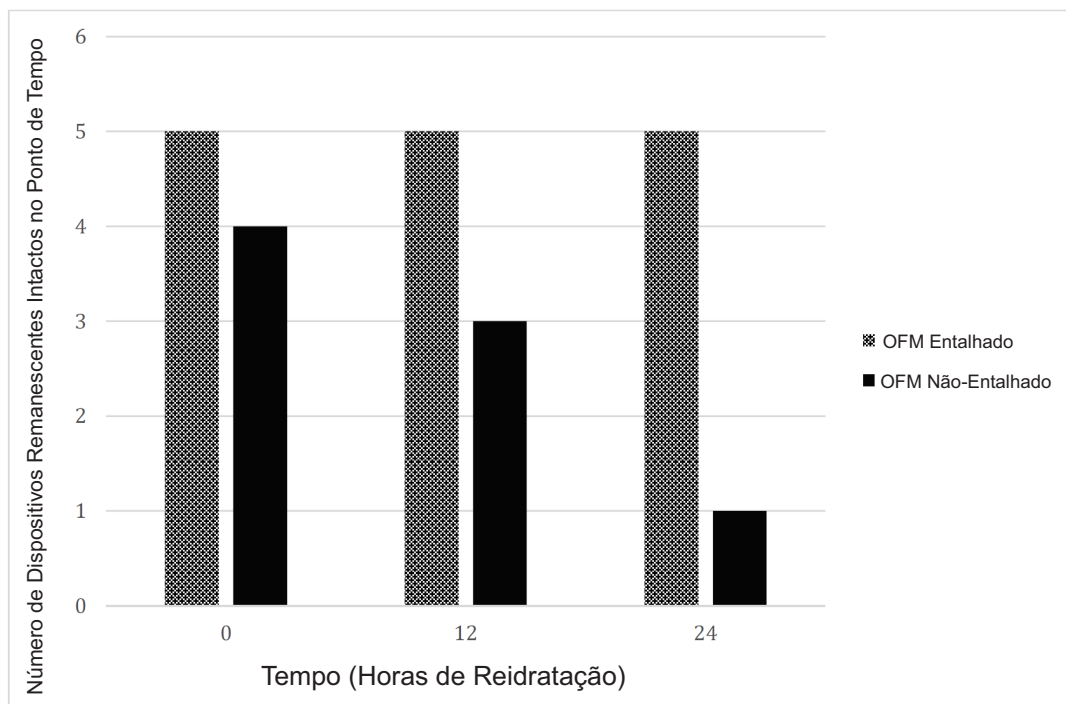


FIG. 7

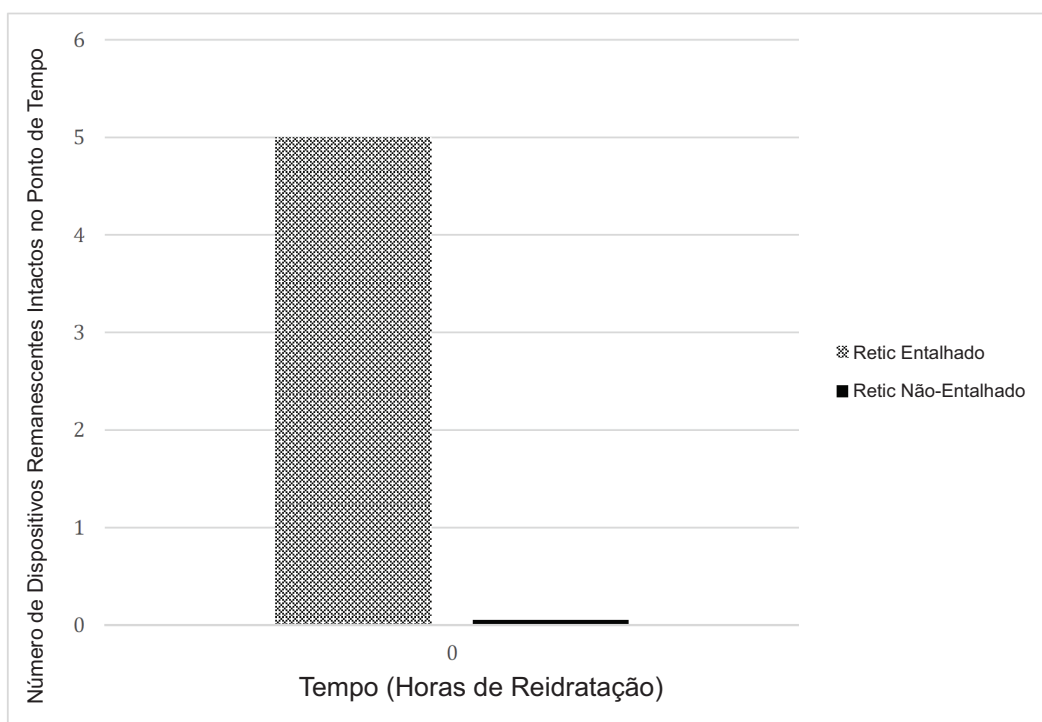


FIG. 8

