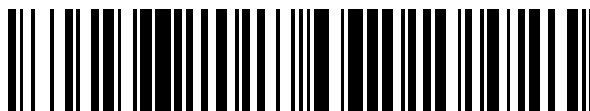


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 929**

51 Int. Cl.:

A61B 17/11 (2006.01)

A61B 17/00 (2006.01)

A61L 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2008 E 08856086 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2015 EP 2221070**

54 Título: **Método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio**

30 Prioridad:

07.12.2007 JP 2007317462

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

28.07.2015

73 Titular/es:

**TOYOBO CO., LTD. (100.0%)
2-8 Dojima Hama 2-chome Kita-ku Osaka-shi
Osaka 530-8230, JP**

72 Inventor/es:

**KAJII, FUMIHIKO;
TANAKA, HIDENORI;
KAWAKATSU, YUTA;
KASHIWABARA, SUSUMU y
SATO, MASAKI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 541 929 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a un método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio mediante el que un nervio periférico cortado o extirpado por accidente u operación quirúrgica, se conecta de nuevo utilizando la elongación de las células del nervio. Más en particular, la presente se refiere a un método en el que se incrementa una estrecha adhesión de un cuerpo tubular que comprende un polímero biodegradable que constituye el tubo inductor de regeneración de nervio con colágeno aplicado sobre la superficie externa del cuerpo tubular, con lo que se mejora la, resistencia, la flexibilidad, etc., iniciales del tubo inductor de regeneración de nervio en su totalidad.

Técnica anterior

15 Existen muchos ejemplos en que un daño del nervio periférico causado por accidente o similar no puede ser completamente restaurado. Existen también muchos ejemplos clínicos en que el nervio periférico debe ser extirpado como resultado de operaciones quirúrgicas en general. En lesiones de nervios periféricos, el injerto de nervio autólogo ha sido el único medio junto con una anastomosis directa. Sin embargo, el resultado de la misma no es siempre satisfactorio sino que la recuperación de la percepción sensorial y la capacidad de locomoción son malas y también se observan repercusiones debidas a una administración errónea. Además, existen muchos pacientes que se quejan no solo de las repercusiones tales como dolor y deficiencias en la percepción sensorial, sino también de la percepción sensorial anómala de la zona afectada o, en particular, dolor.

20 Un intento para la regeneración de un nervio mediante conexión de separaciones del nervio periférico usando un tubo de conexión fabricado con materiales artificiales, ha sido llevado a cabo activamente desde principios de los años 1980. Sin embargo, todos los estudios de conexión de canales usando materiales artificiales sintéticos no absorbentes han dado resultados fallidos. Con el fin de solucionar lo anterior, es necesario considerar situaciones tales que se evite la invasión del tejido conectivo desde el exterior durante la regeneración de haces de nervios, que se necesite el intercambio de sustancias en el interior y en el exterior de los canales o neogénesis de vasos sanguíneos capilares en las paredes del canal, que se necesite una sustancia que actúa como andamio adecuado para el crecimiento de células de Schwann y axones en el canal, y que tras la regeneración, el material utilizado se degrade y sea absorbido. Teniendo en cuenta estas condiciones, se han llevado a cabo a partir de entonces estudios sobre tubos de conexión de nervio artificiales mediante un material biodegradable y absorbible.

30 Con relación a la regeneración del nervio periférico, se han realizado intentos de ampliar la distancia entre los tocones que están capacitados para ser regenerados usando un tubo de silicona según se ha informado de un modelo de tubo de silicona en 1982. Sin embargo, puesto que los nutrientes son incapaces de permear a través de la pared del tubo de silicona, existe el problema de que no se proporcionan suficientes nutrientes a los axones del nervio, por lo que el vaso sanguíneo capilar no se puede producir en silicona y no ha estado disponible ninguna regeneración satisfactoria del nervio incluso cuando se ha usado un tubo de silicona. Además, incluso aunque el nervio pueda ser regenerado, existe el problema de que el tubo de silicona, al ser una sustancia extraña, debe ser retirado de todos modos por medio de una operación quirúrgica adicional, etc.

40 Por otra parte, se ha intentado la regeneración del nervio periférico usando un tubo que comprende un polímero biodegradable en lugar de un tubo de silicona. Cuando se utiliza un tubo de regeneración de nervio que comprende un polímero biodegradable, el tubo de regeneración de nervio se degrada gradualmente y es absorbido *in vivo* mediante hidrólisis o por la acción de enzimas después de que el nervio ha sido regenerado, por lo que no se necesita extraerlo por ningún medio tal como una operación quirúrgica adicional.

45 Con relación a un tubo de regeneración de nervio que comprende un polímero biodegradable como tal, existe una descripción, por ejemplo, en el Documento de Patente 1, para un material auxiliar para regeneración de nervio que comprende haces de fibras de colágeno sobre las que se recubre laminina y fibronectina. El Documento de Patente 2, existe una descripción para un tubo de nervio artificial que comprende un cuerpo tubular que comprende material biodegradable y absorbible y, en el lumen del cuerpo tubular, un cuerpo colágeno que tiene espacios de separación y que penetra el cuerpo tubular casi en paralelo con la línea axial de dicho cuerpo tubular donde el espacio de separación se rellena con un gel matriz que contiene colágeno, laminina, etc. En el Documento de Patente 3, existe una descripción de un tubo de nervio artificial que comprende un cuerpo tubular que comprende material biodegradable y absorbible y haces de fibras de colágeno recubiertas con laminina insertadas en el lumen del cuerpo tubular casi en paralelo con la línea axial del cuerpo tubular. En el Documento de Patente 4, existe una descripción de un material de sustrato para la reconstrucción de nervios que tiene una estructura donde están agrupadas fibras que comprenden un material bioabsorbible. En el Documento de Patente 5, existe una descripción para un soporte tal como esponja, tubo o espiral que comprende colágeno. En el Documento de Patente 6 existe una descripción de un soporte que está compuesto por una matriz esponjosa fina que comprende un material biodegradable o un material bioabsorbible y una vía de inducción de biotejido lineal o una vía de inducción de órgano lineal. En el Documento de Patente 7, existe una descripción para un tubo de regeneración de nervio que contiene

una esponja que comprende un material polímero biodegradable y un material de refuerzo que comprende un polímero biodegradable que tiene un período de degradación y absorción más largo que el de dicha esponja, en donde el lado interno del mismo comprende esponja.

- 5 Los tubos de regeneración de nervios son fabricados como tales normalmente de tal manera que se aplica colágeno a la superficie externa del cuerpo tubular, entretejido con fibra ultrafina que comprende el polímero biodegradable, y después se rellena con colágeno en la zona interna del cuerpo tubular. Sin embargo, puesto que la adhesión íntima del colágeno aplicado a la superficie externa del cuerpo tubular con el polímero biodegradable del cuerpo tubular es pobre, existe un problema en relación con la resistencia, la flexibilidad, etc., en su utilización actual.

(Documentos de Patente)

- 10 1. Solicitud de Patente Japonesa Publicada (JP-A) núm. 237139/93
2. WO 98/22155
3. WO 99/63908
4. Solicitud de Patente Japonesa Publicada (JP-A) núm. 2000-325463
5. Solicitud de Patente Japonesa Publicada (JP-A) núm. 2001-70436
15 6. Solicitud de Patente Japonesa Publicada (JP-A) núm. 2002-320630
7. Solicitud de Patente Japonesa Publicada (JP-A) núm. 2003-19196

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un dibujo ilustrativo del método de evaluación de resistencia a la presión.

La Figura 2 es un dibujo ilustrativo de un método de evaluación de la propiedad de recuperación de forma.

- 20 La Figura 3 es un dibujo ilustrativo del método de evaluación de la propiedad de anti-torsión.

La Figura 4 es un dibujo ilustrativo del método de evaluación de resistencia a la exfoliación de película.

La Figura 5 muestra una imagen SEM (50x) del cuerpo tubular del ejemplo.

Descripción de la invención

Problema que resuelve la invención

- 25 La presente invención ha sido creada en vista del estado actual de la técnica anterior como tal, y un objeto de la presente invención consiste en proporcionar un método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio donde se aplica una solución de colágeno sobre la superficie externa del cuerpo tubular entretejida con fibra ultrafina que comprende un polímero biodegradable mientras que el colágeno se rellena en la zona interna del cuerpo tubular, cuyo tubo inductor de regeneración de nervio es excelente en cuanto a resistencia a la presión,
30 propiedad de recuperación de forma, propiedad anti-torsión, resistencia a la exfoliación de película, propiedad de prevención de invasión de tejidos externos, y resistencia contra fugas.

Medios para resolver el problema

- 35 Con el fin de alcanzar el objeto mencionado, el presente inventor ha realizado una extensa investigación respecto a un método con el que se incrementa la adhesión íntima del cuerpo tubular entretejido a partir de la fibra de polímero biodegradable con colágeno aplicado sobre la superficie externa del mismo y, como resultado, se ha encontrado que se puede fabricar un tubo inductor de regeneración de nervio excelente en cuanto a resistencia a la presión, propiedad de recuperación de forma, propiedad anti-torsión, resistencia a exfoliación de película, propiedad de prevención de invasión de tejidos externos y resistencia a fugas, con una alta eficiencia cuando la viscosidad (o concentración) de la solución de colágeno aplicado en primer lugar a la superficie externa del cuerpo tubular es baja
40 y, en la aplicación posterior, la viscosidad (o concentración) de la solución de colágeno se hace que sea más alta que antes con lo que se consigue la presente invención.

- 45 De ese modo, la presente invención consiste en un método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio en el que la superficie externa del cuerpo tubular entretejido con una pluralidad de fibras ultrafinas que comprenden polímero biodegradable, se recubre mediante la aplicación de una solución de colágeno durante varias veces y a continuación se rellena el colágeno en la zona interna del cuerpo tubular antes mencionado, caracterizado porque, la viscosidad de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar sobre la superficie externa del cuerpo tubular está comprendida entre 2 cps y 800 cps, o preferentemente, entre 5 cps y 200 cps.

En la realización preferida del método de la presente invención, la viscosidad de una solución de colágeno que va a

ser aplicada posteriormente se hace que sea alta en comparación con la que se ha aplicado en primer lugar, donde se hace, con preferencia, que la viscosidad sea alta en dos o más etapas. Alternativamente, una solución de colágeno con la viscosidad de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar a la parte externa del cuerpo tubular, se aplica durante varias veces.

- 5 Además, en la realización preferida del método de la presente invención, el polímero biodegradable es al menos un polímero que se elige en el grupo consistente en ácido poliglicólico, ácido poliláctico y copolímero de ácido láctico-caprolactona. La presente invención se refiere también a un tubo inductor de regeneración de nervio que se caracteriza porque se fabrica mediante el método mencionado con anterioridad.

Ventajas de la invención

- 10 En el método de fabricación de la presente invención la viscosidad (o concentración) de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar a la superficie externa del cuerpo tubular entretejido con fibra de polímero biodegradable, se hace que sea baja a efectos de que sea ahora posible proporcionar un tubo inductor de regeneración de nervio en el que el cuerpo tubular que comprende el polímero biodegradable se adhiera de manera uniforme y firmemente al colágeno, y que sea excelente en cuanto a resistencia a la presión, propiedad de recuperación de forma, propiedad anti-torsión, resistencia a exfoliación de película, propiedad de prevención de invasión de tejidos externos y resistencia a fugas.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

- 20 En el método de la presente invención, el tubo inductor de regeneración de nervio se fabrica de una manera tal que se aplica una solución de colágeno durante varias veces a la superficie externa de un cuerpo tubular entretejido con una pluralidad de fibras ultrafinas que comprenden un polímero biodegradable para el recubrimiento, y además se rellena con colágeno el lumen del cuerpo tubular.

- 25 Ejemplos de polímero biodegradable que constituyen el cuerpo tubular incluyen ácido poliláctico, ácido poliglicólico, policaprolactona, un copolímero de ácido láctico-ácido glicólico, un copolímero de ácido láctico-caprolactona, un copolímero de ácido glicólico-caprolactona, polidioxanona y ácido glicólico-ácido trimetilenocarboxílico. En vista de la facilidad de disponibilidad y de manipulación, se prefiere usar ácido poliglicólico, ácido poliláctico o copolímero de ácido láctico-caprolactona, y de forma particularmente preferida, usar ácido poliglicólico. Cada uno de esos polímeros biodegradables puede ser usado de forma única, o se pueden usar dos o más de los mismos en mezcla.

- 30 En la presente invención, el diámetro de la fibra ultrafina que comprende el polímero biodegradable es de 1 a 50 μm . Cuando el diámetro de la fibra es demasiado pequeño, la distancia de fibra resulta ser densa, con lo que puede ocurrir que el colágeno sea fuertemente permeado en el cuerpo tubular o que disminuya la flexibilidad del cuerpo tubular. Por el contrario, cuando el diámetro de la fibra es demasiado grande, la cantidad de colágeno retenida resulta ser pequeña, con lo que puede ocurrir que la velocidad de crecimiento del nervio no se incremente o que la resistencia del cuerpo tubular resulte insuficiente. Más en particular, el diámetro de la fibra ultrafina es de 3 a 40 μm , y más preferiblemente de 6 a 30 μm .

- 35 En la formación del cuerpo tubular, se prefiere que desde 5 hasta 60 de las fibras ultrafinas que comprenden el polímero biodegradable y que tienen el diámetro de fibra anterior mencionado, sean agrupadas y alternativamente entretejidas a modo de urdimbres y tramas. Cuando el número de fibras ultrafinas que van a ser agrupadas es demasiado pequeño, puede ocurrir que la resistencia del cuerpo tubular resulte ser insuficiente o que no se pueda asegurar una cantidad retenida suficiente de colágeno. Por el contrario, cuando el número de fibras ultrafinas que van a ser agrupadas son demasiadas, puede ocurrir que no se pueda preparar un cuerpo tubular de diámetro fino o que no se pueda asegurar la flexibilidad del cuerpo tubular. Más preferiblemente, el número de fibras ultrafinas es de 10 a 50, y más preferiblemente de 20 a 40.

- 45 Cuando se forma un cuerpo tubular mediante un entretejido alterno de los haces de fibras ultrafinas, se prefiere que el tamaño de poro de la red sea de alrededor de 5 a 300 μm y más preferiblemente de 10 a 200 μm . Cuando el tamaño de poro de la red es demasiado pequeño, puede ocurrir que el crecimiento de las células y de los tejidos se vea inhibido a causa de la rebaja de invasión del vaso sanguíneo capilar o debido a la rebaja de permeabilidad al agua. Cuando sea mayor de 300 μm , la invasión de los tejidos resulta ser excesiva con lo que se puede inhibir el crecimiento de las células y de los tejidos.

- 50 Se prefiere que, aunque el diámetro interno y el diámetro externo del cuerpo tubular se decidan de modo que sean acordes con el tamaño del nervio al que se van a conectar, y cuando se tomen en consideración los costes de producción y la limitación de tiempo, se prefiere que se preparen previamente muchas clases de cuerpos tubulares donde los tamaños sean variados. Aunque el tamaño del cuerpo tubular depende del sitio del nervio que va a ser regenerado y de la resistencia necesaria, resulta habitual que el diámetro interno sea de 0,1 a 20 mm, el diámetro externo sea de 0,15 a 25 mm, el espesor de pared sea de 0,05 a 5 mm, y la longitud sea de 1,0 a 150 mm. Cuando el espesor de pared es demasiado grueso, puede obstaculizar la regeneración de los biotejidos, mientras que, cuando es demasiado delgado, la degradación y la absorción del cuerpo tubular son demasiado rápidas con lo que no se puede mantener la forma hasta que acabe la regeneración del nervio. Además, cuando el diámetro interno del

nervio al que va a ser conectado es demasiado grande, existe la posibilidad de que no se pueda hacer el alargamiento del nervio de forma apropiada.

En la presente invención, la superficie externa del cuerpo tubular se recubre por aplicación de una solución de colágeno durante varias veces mediante un método que es conocido por los expertos en la materia, mientras que la zona interna (lumen) del cuerpo tubular se rellena cargando colágeno en el mismo. Con relación al colágeno que se va a usar para su aplicación a la superficie externa del cuerpo tubular y para rellenar el interior del cuerpo tubular, se puede usar colágeno que haya sido utilizado convencionalmente como andamio para regeneración de nervios. Ejemplos del mismo incluyen colágeno de tipo I, colágeno de tipo III, y colágeno de tipo IV y similares, y cada uno de ellos puede ser usado de forma única o se puede usar una mezcla de una pluralidad de los mismos. Con relación al colágeno, se prefiere usar uno purificado en que la concentración de cloruro de sodio contenido en el mismo sea de un 2% en peso o menor, con preferencia de un 0,1 a un 1,5% en peso sobre una base seca. El colágeno puede contener también laminina, proteoglicano heparano sulfato, entactina y factor de crecimiento. Ejemplos de factor de crecimiento incluyen EGF (factor de crecimiento epidérmico), β FGF (factor de crecimiento de fibroblasto), NGF (factor de crecimiento de nervio), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), IGF-1 (factor de crecimiento similar a la insulina), y TGF- β (factor de crecimiento de transformación). Con relación a la solución de colágeno, se prefiere que, después de cada aplicación de la misma en forma de solución en ácido clorhídrico usando un pincel o un pincel para escritura, la solución se seca completamente y a continuación se realiza la siguiente aplicación, con lo que se realiza una pluralidad de aplicaciones.

La característica más importante del método de la presente invención consiste en que, cuando se aplica una solución de colágeno a la superficie externa del cuerpo tubular, se utiliza como solución de colágeno para esta primera aplicación una solución con baja viscosidad de 2 a 800 cps, con preferencia de 5 a 200 cps. La frecuencia de la aplicación de esta solución de baja viscosidad se prefiere que sea desde una vez a diez veces, con preferencia desde una vez a cinco veces. Como resultado de la aplicación de la solución de baja viscosidad de dicho primer rango, la solución de colágeno es bien permeada entre las fibras ultrafinas del polímero biodegradable que constituye el cuerpo tubular, con lo que se puede potenciar significativamente la adherencia y sensación unificada del polímero biodegradable con el colágeno. Cuando se aplica en primer lugar una solución de alta viscosidad que tiene una viscosidad más alta que la anterior, la solución de colágeno no puede ser permeada entre las fibras ultrafinas, con lo que el colágeno adopta un estado vaporoso tras el secado, por lo que existe un riesgo de que el colágeno sea exfoliado desde el cuerpo tubular. Cuando se usa dicho tubo inductor de regeneración de nervio, da como resultado la inhibición de invasión de los vasos sanguíneos en el cuerpo tubular o la inhibición del crecimiento de células del nervio.

En el método de la presente invención, se prefiere que, en primer lugar, se aplique varias veces una solución de colágeno de baja viscosidad con el fin de formar un sellado de huecos entre las fibras que constituyen el cuerpo tubular y una capa delgada, y después se aplica sobre la misma una solución de colágeno de viscosidad más alta entre 200 y 30.000 cps. Esto se debe a que, en una aplicación de solución de baja viscosidad solamente, se necesita que se aplique muchas veces para conseguir un espesor predeterminado de la capa delgada, con lo que la capacidad de trabajo es mala. La frecuencia de aplicación de esta solución de alta viscosidad se desea que sea desde una vez hasta cincuenta veces, con preferencia desde una vez hasta treinta veces. Cuando la frecuencia de aplicación de la solución de alta viscosidad es demasiado grande, provocando un descenso de la propiedad de recuperación de forma y, por ejemplo, cuando una zona lesionada se aplasta con algo tras la operación quirúrgica, la deformación da como resultado que no se recubra el tubo, por lo que puede atorar la vía de regeneración del nervio. Además, puesto que el colágeno tiene una velocidad de biodegradación relativamente rápida, hay poca mejora incluso aunque la frecuencia de aplicación se incremente mucho.

Actualmente, se prefiere que la viscosidad de la solución de colágeno pueda hacerse más alta en varias etapas de dos o más tras la primera aplicación de la solución de baja viscosidad. Por ejemplo, la viscosidad de la solución de colágeno que va a ser aplicada puede elevarse en tres etapas de 2 a 200 cps, de 200 a 3.000 cps, y de 3.000 a 30.000 cps. En ese caso, la permeación entre las fibras ultrafinas del cuerpo tubular y la formación de película sobre la superficie, se realizan mediante la primera solución de baja viscosidad, la adherencia a esta película se hace usando la siguiente solución de viscosidad media para realizar el sellado de la red, y la última solución de alta viscosidad se adhiere a esta capa de colágeno sellada para aumentar la resistencia, con lo que se puede llevar a cabo de forma eficiente el recubrimiento con una intensa resistencia inicial. Además, la diferencia de viscosidad aplicada de una manera escalonada en sí misma, se hace pequeña, con lo que resulta posible mejorar la capacidad operativa del trabajo de aplicación o reducir la aplicación desigual o dejar el lugar sin aplicación.

Se prefiere que el cuerpo tubular donde se ha recubierto o rellenado de colágeno, se someta a tratamientos de congelación, secado en frío y reticulación, para reticular el colágeno.

Con preferencia, la congelación se lleva a cabo bajo una condición de -10 a -196 °C durante 3 a 48 horas. Como resultado de la congelación, se forma hielo fino entre las moléculas de colágeno y la solución de colágeno da como resultado una separación de fase que proporciona esponja. Después de eso, la solución de colágeno congelada citada con anterioridad se seca en frío *in vacuo*, con preferencia a alrededor de -40 a -80 °C, y con preferencia durante alrededor de 12 a 48 horas. Como resultado del secado en frío, el hielo fino entre las moléculas de colágeno se evapora y, al mismo tiempo, la esponja de colágeno se vuelve fina. Ejemplos del método de reticulación incluyen

reticulación por rayos γ , reticulación por ultravioleta, reticulación de rayos electrónicos, reticulación por deshidratación térmica, reticulación por glutaraldehído, reticulación epoxi y reticulación por carbodiimida soluble en agua y, entre ellos, se prefiere una reticulación por deshidratación térmica donde el grado de reticulación puede ser fácilmente controlado y el organismo viviente no se ve afectado incluso al llevar a cabo el tratamiento de reticulación.

La reticulación por deshidratación térmica se realiza *in vacuo*, por ejemplo a alrededor de 105 a 150 °C, más preferentemente alrededor de 120 a 150 °C, y más preferentemente alrededor de 140 °C durante alrededor de 6 a 24 horas, más preferentemente alrededor de 6 a 12 horas, y aún más preferentemente alrededor de 12 horas. Cuando la temperatura de reticulación es demasiado alta, existe la posibilidad de que descienda la resistencia del material biodegradable y absorbible, mientras que cuando es demasiado baja, existe la posibilidad de que no tenga lugar ninguna reacción de reticulación suficiente.

Puesto que el cuerpo tubular que comprende el polímero biodegradable y el colágeno están adheridos íntimamente entre sí en el tubo inductor de regeneración de nervio fabricado según se ha mencionado en lo que antecede, están a disposición una resistencia y una elasticidad iniciales que no son inferiores a la suma de la resistencia de cada uno de ellos. De una manera más específica, en el tubo inductor de regeneración de nervio de la presente invención, la tasa de deformación (resistencia a la presión) cuando se realiza compresión aplicando la carga de 100 N/M desde un lateral en la dirección del diámetro, no es mayor de un 15%, con preferencia del 0,1 al 10%, y además, la tasa de recuperación (propiedad de recuperación de forma) en el 50% de la deformación cuando se realiza una compresión similar a efectos de generar una deformación del 50% del tubo (hasta que el diámetro del tubo resulta ser la mitad), no es menor de un 60%. La resistencia a la presión es en la suposición de la resistencia a la carga para el tubo inductor de regeneración de nervio debida al trabajo mediante un dispositivo médico tras la conexión del nervio, y al tratamiento tras la operación quirúrgica, y en general, cuanto mayor es el espesor de la capa de colágeno, mayor es la resistencia a la presión. Sin embargo, cuando el cuerpo tubular y el colágeno no están íntimamente adheridos entre sí sino que la película está separada, no se puede esperar mucha resistencia a la presión. Adicionalmente, la propiedad de recuperación de forma es en la suposición de una recuperación de forma desde la deformación debida al trabajo mediante un dispositivo médico tras la conexión del nervio (tal como mediante el agarre muy fuerte mediante un par de pinzas) o el shock en la zona lesionada tras la operación quirúrgica y, si la propiedad de recuperación de forma es baja, se mantiene la deformación en el tubo y se inhibe la vía de crecimiento del nervio.

Además, el tubo inductor de regeneración de nervio de la presente invención tiene una tasa de limitación de curvado (propiedad anti-torsión) de no menos de un 10% y también tiene una alta resistencia a la exfoliación de la película. La tasa de limitación de curvado muestra el rango en que la curvatura resulta posible sin causar torsión y es un índice que concierne a la región movable tras la conexión del nervio. Cuando la tasa de limitación de curvado es menor del 10%, no es posible hacer uso en el caso en que resulta necesaria la vía de crecimiento de nervio curvado e, incluso aunque se use, se aplica tensión al nervio y existe un riesgo de causar la inhibición del crecimiento del nervio y la inflamación causada por compresión de tejidos externos. La resistencia a la exfoliación de la película es la resistencia a la exfoliación y fractura del colágeno recubierto. La razón por la que el colágeno se recubre sobre la superficie externa completa del cuerpo tubular es evitar la invasión de tejido externo respecto a la vía de crecimiento del nervio (propiedad de prevención de invasión de tejidos externos) e impedir la fuga de la esponja de colágeno en la zona interna del cuerpo tubular hasta el exterior (resistencia a fugas) y, cuando el colágeno recubierto se exfolia o se fractura, existe el riesgo de que no se puedan asegurar las propiedades anteriores. En el tubo inductor de regeneración de nervio de la presente invención, el cuerpo tubular y el colágeno están adheridos íntimamente entre sí y no hay película separada, con lo que se puede lograr una alta propiedad anti-torsión y, al mismo tiempo, no hay ninguna posibilidad de dar como resultado la exfoliación y la fractura de los mismos.

En el tubo inductor de regeneración de nervio de la presente invención, se puede esperar también un gran efecto en cuanto al ajuste de la tasa de degradación respecto a bioabsorbencia. Cuando un tubo inductor de regeneración de nervio constituido a partir de un cuerpo tubular biodegradable y esponja de colágeno y colágeno recubierto se incrusta en un cuerpo, la resistencia del colágeno recubierto se pierde debido a que el colágeno se degrada en primer lugar. Sin embargo, cuando se usa el método de la presente invención, se puede mantener la resistencia del cuerpo tubular durante un largo período debido a que se retarda la tasa de degradación del colágeno adherido a la separación entre las fibras del cuerpo tubular. Además, puesto que la separación entre las fibras del cuerpo tubular puede ser sellada durante un largo período de tiempo, resulta así posible impedir la invasión de los tejidos externos que tienen riesgo de inhibir el crecimiento de células del nervio. La razón de porqué resulta ser baja la tasa de degradación se debe probablemente al hecho de que el colágeno adherido a las separaciones de las fibras del cuerpo tubular tiene una zona de contacto pequeña con el fluido corporal y con los tejidos externos.

Ejemplos

El efecto del tubo inductor de regeneración de nervio fabricado mediante el método de la presente invención, va a ser mostrado en lo que sigue, aunque la presente invención no se limita al mismo. Eventualmente, la evaluación del tubo inductor de regeneración de nervio obtenido en los Ejemplos, se realizó conforme a los siguientes métodos.

Método de evaluación**(1) Resistencia a la presión**

Se aplicó una carga de 100 N/m en la dirección de un diámetro desde el lateral de una muestra en una longitud de 5 mm según se muestra en la Figura 1 bajo las siguientes condiciones de medición. A continuación, se midió la altura (L) del diámetro en la dirección de la carga, después de lo cual se calculó la tasa de deformación = $(L/L_0) \times 100$ (donde L_0 es la altura del diámetro en la dirección de la carga con anterioridad a la aplicación de la carga). Ocasionalmente, se midió la muestra para un caso de sin envejecimiento y también para el caso de con envejecimiento usando una solución salina fisiológica durante una, dos, tres y cuatro semana(s).

Condiciones de la medición:

- Temperatura: 200 °C; humedad: 65,0%
- Medidor: Tensilon (UTA-1t)
- Velocidad de comprobación: 1 mm/min
- Valoración de la célula de carga: 5 kgf
- Número de muestras: N = 3

(2) Propiedad de recuperación de forma

Se comprimió una muestra hasta que la tasa de deformación fue del 50% en la dirección del diámetro desde el lateral de la muestra en una longitud de 5 mm según se muestra en la Figura 2 bajo las mismas condiciones de medición que en (1) de resistencia a la presión que antecede. Inmediatamente después de la compresión, se retiró el peso y se permitió que la muestra reposara durante 10 minutos. A continuación, se midió la altura del diámetro (L) en la dirección de la carga, después de lo cual se calculó una tasa de recuperación de forma = $[(L_1 - 2/L_0)/(2/L_0)] \times 100$ (donde L_0 es la altura de un diámetro en la dirección de la carga con anterioridad a aplicar la carga).

(3) Propiedad anti-torsión

Según se muestra en la Figura 3, a una temperatura de 20,0 °C y una humedad del 65%, se curvó a mano una muestra de 50 mm de longitud a una velocidad de aproximadamente 1 mm/segundo y se calculó la longitud (L_2 mm) cuando se generó torsión en la muestra, después de lo cual se calculó una tasa de limitación de curvado $[1 - (L_2/50)] \times 100$. Eventualmente, se hizo que el número de muestras medidas fuera N = 3.

(4) Resistencia a exfoliación de película

Según se muestra en la Figura 4, a la temperatura de 20,0 °C y una humedad del 65,0%, se cortó un lateral de una muestra a la longitud de 5 mm con tijeras y se confirmó si la película de colágeno sobre la superficie externa de la muestra podía ser exfoliada y separada. Además, se tomó la imagen de la superficie externa de la muestra bajo un SEM y se confirmó si se notaba la exfoliación o fractura parcial de la película. Eventualmente, el número de muestras que se midieron fue de N = 3.

(5) Propiedad de prevención de invasión de célula y resistencia a fugas

A una temperatura de 25,0 °C y una humedad del 60,0%, se rellenó un 1,0% en peso de solución de colágeno preparada mediante el método que se mencionará más adelante, en la zona interna de la muestra con la longitud de 5 mm. Después de esto, se confirmó cada diez minutos a simple vista si había fugas del colágeno de relleno desde el lateral de la muestra y se registró el tiempo hasta que se confirmó la fuga. Cuando se toma en consideración el tiempo hasta que la solución de colágeno se ha congelado completamente, es necesario que la resistencia a fugas no sea menor de 2 horas o, a lo sumo, no sea menor de 1 hora.

Preparación de soluciones de colágeno

En una botella de plástico se pusieron 392 g de ácido clorhídrico de 0,001 mol/l (pH 3), y a continuación se pusieron 8 g de NMP colágeno PS (fabricado por Nippon Meat Packers, Inc.) y se agitó la mezcla para disolverla, después de lo cual se preparó una solución de colágeno en la que la concentración final de colágeno fue del 2,0% en peso. Esta solución de colágeno fue diluida con el ácido clorhídrico anterior para preparar soluciones de colágeno en las que la concentración final de colágeno fue de 0,1, 0,2, 0,5, 0,7 y 1,0% en peso, cada una de ellas.

Medición de viscosidad de soluciones de colágeno

Cada una de las soluciones de colágeno en las que la concentración de colágeno fue de 0,1, 0,2, 0,5, 0,7, 1,0 y 2,0% en peso, fue estabilizada cada una de ellas a la temperatura de 10 °C usando un recipiente a temperatura constante en el que se hizo circular agua de refrigeración a 10 °C, a continuación de lo cual se hizo actuar un

viscosímetro de tipo B (marca del producto: Visco Basic plus, fabricado por FUNGILAB, rotor usado: husillo L3, número de revoluciones de medición: 20 rpm, número de pruebas: N=3), se leyeron los valores medidos después de 3, 4 y 5 minutos a partir de la activación y se adoptó el valor medio de los mismos como viscosidad medida. El resultado se muestra en la Tabla 1.

5

Tabla 1

Concentración de colágeno (% en peso)	0,1	0,2	0,5	0,7	1,0	2,0
Viscosidad (CPS)	17	40	925	2580	7542	25367

Se usó un haz de fibras donde se agruparon 28 fibras ultrafinas (diámetro: aproximadamente 15 μm) que comprenden ácido poliglicólico, como trama y urdimbre, y alternativamente se entretrejieron para preparar un cuerpo tubular cilíndrico de 3 mm de diámetro interno y 50 mm de longitud.

10 Ejemplos 1 a 8, y Ejemplos Comparativos 1 y 2

La solución de colágeno que antecede fue aplicada uniformemente una vez sobre la superficie externa del cuerpo tubular mencionado anteriormente usando un pincel realizado con Teflón (marca registrada) y secada al aire y, tras la confirmación de que estaba completamente seca, se realizó a continuación la siguiente aplicación. La concentración y las veces de aplicación de la solución de colágeno que se aplicó fueron acordes con la descripción que se menciona en el método de aplicación de la Tabla 2 y se llevaron a cabo aplicaciones sucesivamente empezando por la solución cuya concentración de colágeno era más baja. Una vez que se completaron las aplicaciones de las soluciones de colágeno, se rellenó una solución de colágeno al 1,0% en peso en el lumen del cuerpo tubular y se congeló a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. El congelado fue liofilizado y, después de eso, se llevó a cabo una reticulación térmica *in vacuo* (no mayor de 1 Pa) a $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas con el fin de reticular la molécula de colágeno, y el producto resultante se utilizó como muestra para cada uno de los Ejemplos 1 a 8 y para el Ejemplo Comparativo 1. La muestra del Ejemplo Comparativo 2 fue igual que las otras salvo en que no se llevó a cabo la aplicación de la solución de colágeno.

Resultado de la evaluación

25 Se evaluó la resistencia a la presión, la propiedad de recuperación de forma, la propiedad de anti-torsión, la resistencia a la exfoliación de película, la propiedad de prevención de invasión de célula y la resistencia a fugas, respecto a las muestras de los Ejemplos 1 a 8 anteriores y de los Ejemplos Comparativos 1 y 2. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

[Tabla 2]

muestra núm.	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo Comparativo 1	Ejemplo Comparativo 2
0.1% en peso	—	—	—	—	—	—	5 veces	3 veces	—	—
	2 veces	2 veces	2 veces	2 veces	2 veces	2 veces	—	—	0 vez	0 vez
0.2% en peso	1 vez	1 vez	1 vez	1 vez	1 vez	1 vez	—	1 vez	0 vez	0 vez
	—	—	—	—	—	—	25 veces	—	—	—
0.5% en peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	17 veces	25 veces	20 veces	10 veces	5 veces	1 vez	—	—	20 veces	0 vez
0.7% en peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1% en peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.5% en peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
sin envejecimiento	5.7%	2.7%	3.9%	3.9%	3.9%	6.5%	5.2%	4.9%	16.2%	48.5%
	30.2%	29.0%	29.0%	19.8%	23.5%	25.8%	30.9%	29.8%	35.5%	55.2%
1 semana	43.0%	40.0%	38.8%	47.3%	43.5%	37.0%	44.1%	42.4%	52.5%	56.8%
	59.2%	52.7%	55.8%	55.5%	58.0%	56.2%	60.7%	58.4%	64.5%	68.9%
2 semana	70.7%	61.8%	69.3%	71.2%	76.0%	64.3%	72.5%	69.8%	66.6%	72.5%
	75.7%	68.8%	70.1%	79.1%	82.8%	85.1%	75.6%	74.7%	42.6%	81.3%
3 semana	13.8%	11.0%	14.4%	17.0%	19.4%	20.4%	14.0%	14.8%	3.6%	23.0%
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4 semana	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
tasa de recuperación de forma	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
tasa de limitación de curvado	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
separación de película	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
exfoliación o rotura observada con SEM	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
tiempo hasta que escapa el líquido de relleno	180min.	220min.	190min.	130min.	190min.	60min.	200min.	190min.	180min.	10min.
resistencia a la presión	o	oo	oo	oo	oo	o	o	oo	o	Δ
	o	o	o	o	oo	oo	o	o	Δ	oo
propiedad de recuperación de forma	o	o	o	o	oo	oo	o	o	Δ	oo
	o	o	o	oo	oo	oo	o	o	Δ	oo
propiedad anti-torsión	o	o	o	o	o	o	o	o	Δ	o
	o	o	o	o	o	o	o	o	Δ	o
resistencia a exfoliación de película	o	o	o	o	o	o	o	o	Δ	o
	oo	oo	oo	oo	o	o	oo	oo	oo	Δ
propiedad de prevención de invasión de célula y resistencia a las fugas	oo	oo	oo	oo	o	o	oo	oo	oo	Δ
	oo	oo	oo	oo	o	o	oo	oo	oo	Δ

Resulta evidente a partir de los resultados de la Tabla 2 que los tubos inductores de regeneración de nervio fabricados mediante el método de la presente invención, son excelentes en cuanto a resistencia a la presión, propiedad de recuperación de forma, propiedad anti-torsión, resistencia a exfoliación de película, propiedad de prevención de invasión de célula y resistencia a fugas en comparación con los de tipo convencional.

5 **Aplicabilidad Industrial**

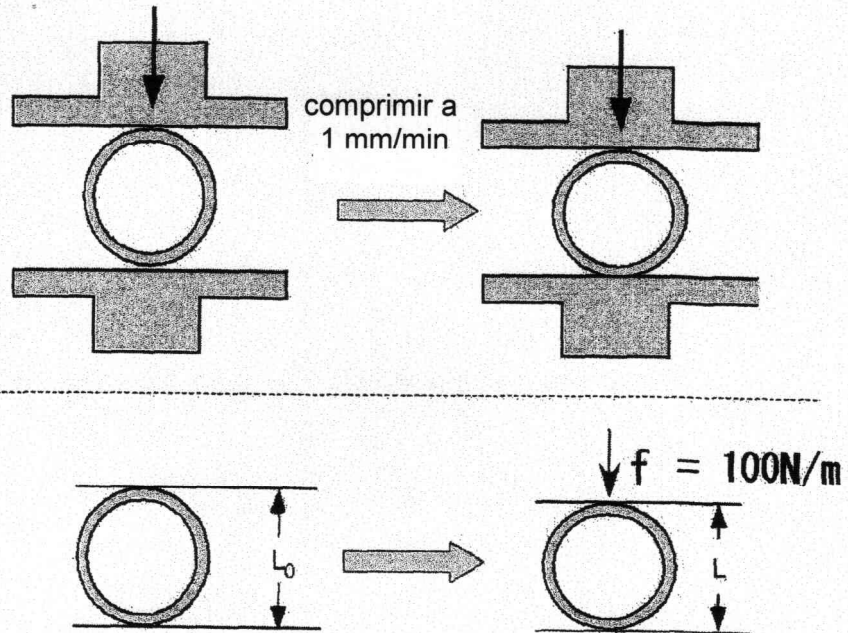
Puesto que el tubo inductor de regeneración de nervio fabricado por el método de la presente invención es excelente en cuanto a las propiedades mencionadas con anterioridad, resulta excelente en cuanto a la conservación de la calidad durante el almacenaje o transporte, en la manipulación durante el uso clínico y también en estabilidad como seguridad tras la operación quirúrgica, por lo que resulta completamente útil en el tratamiento médico para regeneración de nervio.

10

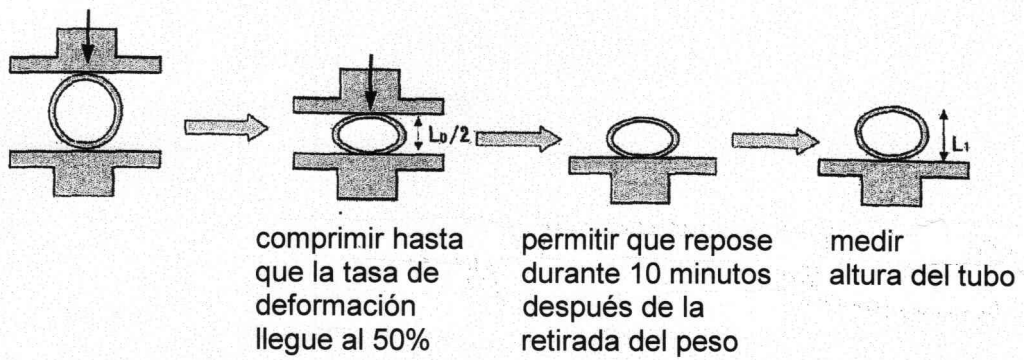
REIVINDICACIONES

- 5 1.- Un método para la fabricación de un tubo inductor de regeneración de nervio, en el que la superficie externa del cuerpo tubular entretejida con una pluralidad de fibras ultrafinas que comprenden polímero biodegradable ha sido recubierta mediante aplicación de una solución de colágeno durante varias veces, y después el colágeno ha sido rellenado en la zona interna de dicho cuerpo tubular, en donde la viscosidad de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar sobre la superficie externa del cuerpo tubular está comprendida entre 2 cps y 800 cps, medida a 10 °C con un viscosímetro de tipo B, husillo L3 y un número de revoluciones de 20 rpm,
- y en donde además el diámetro de las fibras ultrafinas que comprenden polímero biodegradable está comprendido entre 1 y 50 µm.
- 10 2.- El método según la reivindicación 1, en donde la viscosidad de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar sobre la superficie del cuerpo tubular está comprendida entre 5 cps y 200 cps.
- 3.- El método según la reivindicación 1 ó 2, en donde una solución de colágeno con la viscosidad de la solución de colágeno que se aplica en primer lugar al exterior del cuerpo tubular, se aplica una pluralidad de veces.
- 15 4.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la viscosidad de una solución de colágeno que se va a aplicar más tarde se hace que sea alta en comparación con la de la aplicada en primer lugar.
- 5.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la viscosidad de una solución de colágeno que se va a aplicar más tarde se hace que sea alta en dos o más etapas en comparación con la de la aplicada en primer lugar.
- 20 6.- El método según la reivindicación 4 ó 5, en donde la viscosidad de la solución de colágeno que va a hacerse alta tras la primera aplicación, se hace que sea de 200 cps a 30.000 cps.
- 7.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el polímero biodegradable es al menos un polímero que se selecciona en el grupo consistente en ácido poliglicólico, ácido poliláctico y un copolímero de ácido láctico-caprolactona.
- 8.- Un tubo inductor de regeneración de nervio que se fabrica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 25

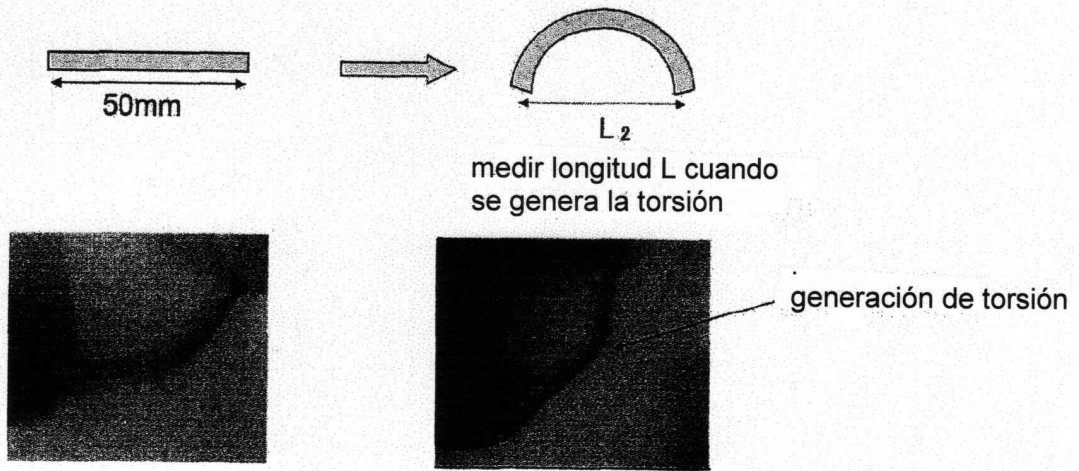
[Fig. 1]



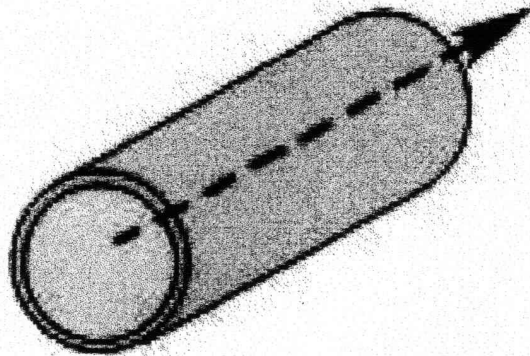
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]

