



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

(11) PI 0807709-6 B1



(22) Data do Depósito: 11/01/2008

(45) Data de Concessão: 27/08/2019

(54) Título: MÉTODO PARA TRATAMENTO DE TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA E TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA PARA USO COMO IMPLANTE EM CORPO HUMANO OU ANIMAL

(51) Int.Cl.: A61L 27/36; A61L 2/18; A61L 27/50.

(30) Prioridade Unionista: 24/02/2007 DE 102007009095.3.

(73) Titular(es): PFM MEDICAL TITANIUM GMBH.

(72) Inventor(es): HANNGÖRG ZIMMERMANN; MARKUS HEINLEIN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2008000155 de 11/01/2008

(87) Publicação PCT: WO 2008/101566 de 28/08/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 21/08/2009

(57) Resumo: MÉTODO PARA TRATAMENTO DE TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA E TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM ANIMAL OU HUMANA PARA USO COMO IMPLANTE EM CORPO HUMANO OU ANIMAL Um método para tratar o tecido biológico estabilizado glutardialdeído de origem animal ou humana, tal como válvulas de coração suíno, do pericárdio bovino ou de cadáveres humanos, fornece um tratamento de plasma físico, em particular, tecido de colágeno para aumentar a biocompatibilidade, colonização de célula e durabilidade do mesmo.

**MÉTODO PARA TRATAMENTO DE TECIDO BIOLÓGICO DE
ORIGEM ANIMAL OU HUMANA E TECIDO BIOLÓGICO DE ORIGEM
ANIMAL OU HUMANA PARA USO COMO IMPLANTE EM CORPO
HUMANO OU ANIMAL**

[001] A invenção se refere a um método para o tratamento de tecido biológico de origem animal e humana, tais como válvulas cardíacas suínas, válvulas cardíacas do pericárdio bovino ou válvulas cardíacas de cadáveres humanos, bem como a um tecido biológico tratado por este método.

[002] No que diz respeito aos fundamentos da invenção, deve ser indicado que os métodos de operação com uma aplicação de tecido biológico de origem animal diferentemente pré-tratado estão ganhando importância como matrizes de colágeno em várias áreas cirúrgicas para métodos de terapia futuros melhorados, em particular no desenvolvimento da engenharia de tecido. As áreas de aplicação relevantes devem ser consideradas na cirurgia cardiovascular, mas a ortopedia e a neurocirurgia também são concebíveis como áreas de uso.

[003] Para a aplicação de matrizes de colágeno na cirurgia cardiovascular, a boa compatibilidade do sangue e a estabilidade mecânica têm que ser asseguradas. Neste contexto podem ser mencionadas, por exemplo, as válvulas cardíacas de origem animal, tais como válvulas cardíacas suínas ou válvulas do pericárdio bovino, assim como próteses biológicas de vasos com pequenos diâmetros e câmaras de bombeamento de bombas de sangue biológicas ou mecânicas. Em tratamentos cirúrgicos ortopédicos, as matrizes de colágeno estáveis especialmente são de interesse particular para a substituição de cartilagem, de ligamentos e de tendões. Na neurocirurgia, finalmente, um tecido de colágeno para fechar o crânio, por exemplo, depois de operações de tumor deve ser considerado como uma área de aplicação da presente invenção.

[004] Os problemas especiais nos quais a invenção é baseada serão esclarecidos a partir do exemplo de substituição de válvulas cardíacas.

Assim, da substituição das válvulas cardíacas implantadas em mais de 200.000 pacientes por ano em todo mundo aproximadamente 50% são feitas de válvulas cardíacas artificiais, mecânicas e 50% de implantes biológicos baseados em válvulas cardíacas suínas e em válvulas do pericárdio bovino. A implantação de válvulas cardíacas mecânicas, para cuidados posteriores permanentes, exige a administração de medicamentos de inibição de coagulação sanguínea, para evitar embolismos provenientes das próteses. Assim, pacientes atendidos desse modo se tornam virtualmente “hemofílicos artificiais”.

[005] As válvulas cardíacas biológicas de origem animal têm o problema de precisarem ser tratadas com o glutaraldeído para conseguir a estabilidade a longo prazo. Devido aos grupos de aldeído livres sendo assim produzidas a partir do glutardialdeído, as válvulas cardíacas biológicas têm um efeito tóxico por si mesmas e podem conseqüentemente não ser colonizadas com células. Uma colonização de célula deve tornar estas bioválvulas duráveis por significativamente mais tempo. Entretanto, uma desintoxicação seria necessária antes de uma colonização de célula. Estudos médicos são conhecidos neste contexto a partir da técnica anterior, em que substâncias que ligam grupos de aldeído livre são usadas. Referência é feita neste contexto às seguintes referências da literatura:

[006] Gott J.P., Chih P., Dorsey L., Jay J.L., Jett G.K., Schoen F.J., Girardot J.M., Guyton R.A. “Calcification of porcine valves: a successful new method of antimineralisation” in *Ann Thorac Surg* 1992; 53: 207-216; Jones M., Eidbo E.E., Hilbert S.L., Ferrans V.J., Clarck R.E. “Anticalcification treatments of bioprosthetic heart valves: in vivo studies in sheep” in *J Cardiovasc Surg* 1989; 4: 69-73; Grabenwöger M., Sider J., Fitzal F., Zelenka C., Windberger U., Grimm M. “Impact of glutaraldehyde on calcification of pericardial bioprosthetic heart valve material” in *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 772-7 and finally Webb C.L., Benedict J.J., Schoen F.J., Linden J.A., Levy R.J. “Inhibition of bioprosthetic valve calcification with

aminodiphosphonate covalently bound material to residual aldehyde groups” in *Ann Thorac Surg* 1988; 46: 309-16.

[007] Além disso, testes foram realizados para conseguir uma desintoxicação com a ajuda do ácido cítrico. Isto era parcialmente bem-sucedido como descrito em Gulbins H., Goldemund A., Anderson I., Haas U., Uhlig A., Meiser B., Reichart B. “Preseeding with autologous fibroblasts improves endothelialisation of glutaraldehyde-fixed porcine aortic valves” in *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 125: 592-601.

[008] Os graus de desintoxicação conseguidos foram meramente 20 a 30%.

[009] Com uma desintoxicação apropriada do tecido fixo com glutaraldeído e a revestibilidade correspondente pelo próprio tecido do corpo depois que a implantação – chamada de “endotelialização” - é possível conseguir o objetivo de uma válvula cardíaca que poderia durar para a vida toda sem a administração de medicamentos para inibir a coagulação de sangue.

[0010] Um exemplo adicional do escopo da presente invenção é a prótese de vaso de diâmetro pequeno. Os implantes deste tipo geralmente são feitos atualmente de material plástico, a saber, PTFE ou PET. Eles têm comparativamente uma taxa de fechamento elevada, em particular em na aplicação deles como uma substituição de vaso para vasos periféricos da perna, desvios aortocoronários e derivações periféricas da diálise. As conseqüências dos fechamentos de vasos nestas regiões da prótese são drásticas, incluindo amputação da perna, infarto do miocárdico resultando em morte ou a necessidade de uma revisão da derivação. Os tecidos biológicos de pequeno calibre e origem animal fixados por glutaraldeído, sob a forma de vasos doadores suínos, bovinos ou caprinos, também poderiam trazer uma melhoria substancial se os tecidos desses tipos pudessem ser desintoxicados e endotelializados, ou endotelializados na circulação sanguínea. Na aplicação de bombas musculares, também,

complicações de trombose poderiam ser evitadas se os componentes que entram em contato com o sangue pudessem ser aumentados no que diz respeito a sua biocompatibilidade, por exemplo, com medidas de desintoxicação apropriadas.

[0011] Áreas de aplicação adicionais do tecido biológico deste tipo sob a forma de matrizes de colágeno de origem animal podem ser tecidos biológicos fixos com glutaraldeído e desintoxicados estáveis e biocompatíveis para o tratamento da osteoartrite das juntas do quadril, joelho e tornozelo. Além disso, aplicações adicionais para fechar o crânio após ferimentos ou operações de tumor com a ajuda de um pericárdio bovino desintoxicado e fixos com glutaraldeído correspondentemente como uma aplicação protetora do cérebro são igualmente concebíveis como aplicações, por exemplo, na cirurgia do tórax como a substituição da parede do tórax ou do diafragma, na cirurgia abdominal para a substituição da parede abdominal ou na área ENT como uma substituição do tímpano.

[0012] Tendo em vista os problemas esboçados do estado da técnica, a invenção tem por base a tarefa de descrever um método para tratar o tecido de colágeno de origem animal ou humana e de um tecido biológico tratado por tal método, a biocompatibilidade e a estabilidade a longo prazo do tecido sendo aumentadas de tal maneira que o tempo de uso do tecido no corpo pode ser drasticamente aumentado – em casos ideais, podendo ser aumentadas até a capacidade de uso permanente.

[0013] O conceito básico da invenção fornece um tratamento físico por plasma do tecido biológico para resolver estes problemas.

[0014] Os testes mostraram que devido a este tratamento do plasma físico, no qual os gases usados são excitados e radicalizados e que neutraliza quimicamente a toxicidade por causa dos grupos de aldeído livre produzidos por causa da fixação do glutaraldeído, uma desintoxicação significativamente melhorada pode conseqüentemente ser conseguida comparada à técnica anterior como uma primeira etapa para melhorar as

propriedades de implantação do tecido. Os testes mencionados produziram um grau de desintoxicação de mais de 80%. Uma superfície de endotélio fechada poderia, assim, ser colonizada nas faces de contato do sangue do tecido de teste.

[0015] O processo químico que ocorre basicamente durante o tratamento do plasma pode ser brevemente resumido usando o exemplo do oxigênio do gás de processo. Assim os componentes presentes no plasma, a saber, íons de oxigênio e dióxido de carbono em forma de oxigênio excitado e água na reação com os hidrocarbonetos na superfície do tecido. Esta reação pode assim ser usada para remover os grupos de aldeído presentes nas superfícies do tecido, tais como são produzidos através da fixação do glutaraldeído, no sentido de uma desintoxicação.

[0016] As condições preferidas do método para o método do gás do plasma usado são dadas a seguir, onde o oxigênio é usado preferivelmente como o gás excitado. Nitrogênio, hidrogênio e argônio também podem, entretanto, ser usados. A transferência de energia para a produção do plasma é executada vantajosamente por um campo eletromagnético de alta frequência, em particular um campo de micro-ondas.

[0017] Os métodos por plasma gasoso acima ocorrem geralmente pela introdução do gás a ser ionizado em uma câmara de tratamento evacuada. Além disso, também é possível realizar o tratamento do plasma com um plasma atmosférico usando um feixe de plasma com gás de reação excitado sob condições atmosféricas. O feixe de plasma é guiado sobre a superfície do implante, assim a purificação do local ocorre. Isto ocorre naquele íon de oxigênio presente no gás de reação que sofre uma reação com hidrocarbonetos e a superfície do tecido e forma dióxido de carbono e a água.

[0018] Enquanto, no tratamento de plasma sob condições atmosféricas, um pré-condicionamento sob a forma de uma secagem do

tecido já não é necessária, e conseqüentemente até o tecido úmido em seu estado original pode ser diretamente tratado, para o tratamento do tecido biológico com o mencionado no princípio em uma câmara de tratamento, é muito vantajoso para o resultado da desintoxicação se os tecidos biológicos geralmente aquosos forem sujeitos antes ao tratamento de plasma a uma secagem, em particular pela influência de um vácuo e de uma temperatura.

[0019] O tecido biológico é mantido conseqüentemente completamente livre de água para a duração do tratamento.

[0020] A umidade é fornecida ao tecido submetido ao tratamento do plasma para o uso da implantação, que é colocado no líquido, por exemplo. Esta então recupera sua consistência original e é, por exemplo, permanentemente resiliente e estável a longo prazo em uma execução correspondente como uma válvula cardíaca suína.

[0021] Um desenvolvimento particularmente preferido do método de acordo com a invenção é dado a seguir, de acordo com o qual o tecido submetido ao tratamento do plasma é fornecido com um revestimento biocompatível contendo metal. Este revestimento é um componente biocompatível adicional nas superfícies do implante, que por um período de tempo prolongado promove o crescimento da célula.

[0022] O método de escolha para a implementação do revestimento contendo metal é um método de PACVD (deposição química em fase vapor ativada por plasma), que, no revestimento de superfícies de material plástico em implantes médicos artificiais, já atingiu resultados convincentes em relação à biocompatibilidade das superfícies tratadas com este. Este revestimento contendo metal é selecionado do grupo de metais consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu. Neste contexto, o titânio se mostrou particularmente bem-sucedido e tem sido usado por muito tempo como um material particularmente biocompatível em muitos tipos de aplicações de implante. Os materiais de revestimento também mencionados, prata e cobre, podem adicionalmente ou exclusivamente ser

introduzidos no revestimento como reagentes antibacterianos.

[0023] A presente invenção se refere ao tecido biológico de origem animal ou humana, tal como pode ser usado como um implante em um corpo humano ou animal. De acordo com a presente invenção, pelo menos a superfície que pode ser posta em contato com o corpo é sujeita a um tratamento de plasma, de acordo com a invenção, para desintoxicação. A biocompatibilidade é melhorada - como descrito acima - por um revestimento biocompatível contendo metal no tecido biológico. O tecido biológico é preferivelmente uma válvula cardíaca, prótese de vaso, face de contato do sangue das bombas de sangue mecânicas ou biomecânicas, inserto de fechamento para aberturas do crânio, cartilagem, osso, tendão, diafragma, parede do tórax, parede abdominal ou substituição do tímpano.

[0024] A seguinte descrição descreve a invenção mais detidamente em uma modalidade:

[0025] Uma válvula cardíaca suína é usada como um exemplo de um tecido de colágeno de origem animal, que deve ser usada como um implante em um corpo humano.

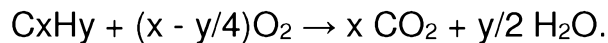
[0026] Esta é preparada, descelularizada e fixa com glutaraldeído após a remoção do animal doador para a estabilização em uma maneira convencional. Neste caso, a válvula é colocada em uma solução de glutaraldeído entre 0,1 e 0,4% e fixada em uma solução fluindo em baixas pressões de 3 a 6 mm de 24 a 48 horas.

[0027] A válvula cardíaca suína preparada desse modo é, então, lentamente seca sob vácuo e pela introdução de calor, sendo, assim, completamente desidratada.

[0028] Depois disso, um tratamento por plasma da válvula cardíaca suína é realizado em uma câmara de tratamento. Para esta finalidade, a câmara de tratamento é completamente evacuada e o oxigênio é então introduzido. Um plasma é inflamado pela transferência de um campo eletromagnético de alta frequência de, por exemplo, 40 MHz ou

13,56 MHz ou pela excitação com micro-ondas. O gás de oxigênio presente na câmara de tratamento é excitado e radicalizado pela transmissão de energia associada a tais micro-ondas.

[0029] Este plasma gasoso atua nos grupos de hidrocarboneto CxHy na superfície do implante fixo com glutaraldeído de acordo com a seguinte equação da reação:



[0030] Como pode ser visto, os hidrocarbonetos na superfície do implante, como, por exemplo, acetaldeídos, são convertidos nos compostos químicos comparativamente inofensivos, dióxido de carbono e água, que podem facilmente ser removidos da superfície do implante.

[0031] O tratamento do plasma acima é continuado então para aplicar o revestimento contendo metal na superfície do implante. Para esta finalidade, um precursor gasoso é alimentado na câmara do revestimento e separado sob a influência da energia do plasma em seus componentes atômicos. Os íons que surgem dessa forma se acomodam na superfície. Normalmente o titânio é aplicado predominantemente como revestimento contendo metal com a ajuda do método de PACVD. Além disso, tal método é descrito detalhadamente em EP 0 897 997 B1, utilizando o exemplo do revestimento de um substrato de material plástico.

[0032] A pressão do reator para o pré-tratamento e para o revestimento está entre 0,1 e 1030 mbar. Ao aplicar um plasma, a pressão deve idealmente ser > 50 mbar. Para o pré-tratamento, o gás de trabalho (por exemplo, oxigênio) é introduzido no reator em um fluxo de volume de gás de 0,04 NI/min. Após a estabilização da pressão final a aproximadamente 1 mbar, a transferência do plasma capacitiva ocorre a uma potência de 20 W por uma duração de 60 segundos. A fonte de gás é, então, interrompida e a câmara do reator é evacuada completamente. O gás de portador (hidrogênio) é guiado para o revestimento seguinte em um fluxo de volume de gás de 0,09 NI/min sobre o precursor Ti[N(CH3)2]4 e

introduzido na câmara de revestimento. A duração do revestimento é de aproximadamente 300 segundos com uma potência do plasma ajustada de 20 W. A fonte de gás é interrompida então outra vez e a câmara de revestimento ventilada.

[0033] Após este tratamento por vácuo para o carregamento de plasma e revestimento das válvulas cardíacas suínas, estas são colocadas outra vez no líquido, assim elas recuperam sua consistência original devido ao líquido fornecido.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para o tratamento de tecido biológico de origem animal ou humana, tais como válvulas cardíacas suínas, do pericárdio bovino ou de cadáveres humanos, para aumentar a biocompatibilidade com base em um tratamento físico por plasma do tecido tratado com glutaraldeído por um método por plasma gasoso, em que nitrogênio, hidrogênio, argônio ou preferencialmente oxigênio é usado como o gás ionizado, **caracterizado** pelo fato de que:

- o tecido tratado com glutaraldeído é seco antes do tratamento por meio do método por plasma gasoso,
- o tecido submetido a tratamento de plasma é provido com um revestimento biocompatível contendo metal, e
- o implante seco é exposto à umidade após o tratamento por plasma.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a transferência de energia para a produção do plasma ocorre por meio de um campo eletromagnético de alta frequência, em particular um campo de micro-ondas.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o tratamento por plasma ocorre com um plasma atmosférico mediante uso de um feixe de plasma sob condições atmosféricas.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a secagem ocorre pela influência do vácuo e de temperatura.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o revestimento contendo metal é aplicado por meio de um método de PACVD.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que o revestimento contendo metal é selecionado a partir do grupo consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu.

7. Tecido biológico de origem animal ou humana para uso como um implante em um corpo humano ou animal, produzido com um método, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos sua superfície que pode ser posta em contato com o corpo, após a secagem do tecido tratado com glutaraldeído, é submetida a um tratamento por plasma para desintoxicação, a superfície tratada por plasma é fornecida com um revestimento biocompatível contendo metal e o tecido é submetido à exposição à umidade.

8. Tecido biológico, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de que o revestimento contendo metal é selecionado a partir do grupo consistindo em Ti, Ta, Nb, Zr, Hf, Ir, Au, Pd, Pt, Ag e Cu.

9. Tecido biológico, de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 ou 8, **caracterizado** pelo fato de ser configurado como uma válvula cardíaca, prótese de vaso, face de contato do sangue de bombas de sangue mecânicas ou biomecânicas, inserção de fechamento para aberturas cranianas, ou uma substituição de cartilagem, de osso, de tendões, do diafragma, da parede do tórax, da parede abdominal ou do tímpano.