



(11) RO 127812 A0

(51) Int.Cl.

A61L 27/00 (2006.01).

A61L 31/04 (2006.01).

A61L 31/14 (2006.01)

(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01241**

(22) Data de depozit: **25.11.2011**

(41) Data publicării cererii:
28.09.2012 BOPI nr. **9/2012**

(71) Solicitant:

• SPITALUL CLINIC DE URGENȚĂ
"BAGDASAR-ARSENI", ȘOS. BERCENI
NR. 10-12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• FLORESCU IOAN PETRE, STR. OINEI
NR. 25, BUCUREȘTI, B, RO;
• MIHAI IOANA RUXANDRA,
STR. ELENA CLUCEREASA NR. 49,
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• LUNGU MARIA, STR. PROMETEU NR. 29,
BL. 16G, SC. 3, AP. 34, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;

• MOLDOVAN LUCIA,
BD. CONSTRUCTOILOR NR.24, BL.19,
SC.A, AP.13, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• ZĂRNESCU OTILIA, BD. IULIU MANIU
NR.59, BL.10, SC.1, AP.17, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• COROIU VIORICA,
STR. DEALUL ȚUGULEA NR. 46-50, BL. 12,
SC. B, AP. 50, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• UTOIU ELENA, STR. TEIUL DOAMNEI
NR. 6, BL. 22, SC. A, AP. 8, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
• STANCIUC ANA-MARIA, ȘOS. OLTENIJEI
NR. 58, BL. 11B, SC. 2, AP. 76, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **BIOCOMPOZIT PE BAZĂ DE ALCOOL POLIVINILIC ȘI
COLAGEN PENTRU OBȚINEREA DE CONDUCTE
NERVOASE ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE**

(57) Rezumat:

Prezenta inventie se referă la un biocompozit pentru conducte nervoase, pe bază de alcool polivinilic și colagen, necesar regenerării nervilor periferici, și la un procedeu pentru obținerea acestuia. Conform inventiei, conductele nervoase se prezintă sub formă de membrane tubulare, cu o grosime a peretelui de la 0,1 până la 0,3 mm sau de la 0,05 până la 0,2 mm, în funcție de tipul de colagen utilizat și de raportul de asociere a componentelor. Procedeul de obținere a biocompozitului constă în prepararea și condiționarea

membranelor de biocompozit dintr-o soluție 10% de alcool polivinilic și colagen nedenaturat, în raport de 1:1, sau o soluție 10% de alcool polivinilic și o soluție 10% de colagen hidrolizat, după care membranele se reticulează, se spală succesiv cu soluție de clorură de sodiu și apă, membranele se tăie în bucăți, se umectează, se rulează pe bare de teflon, se usucă la etuvă și se sterilizează cu radiații UV.

Revendicări: 5

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conjuinate în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



RO 127812 A0

a 20101241
25-11-2011

DESCRIEREA INVENTIEI

BIOCOMPOZIT PE BAZA DE ALCOOL POLIVINILIC SI COLAGEN PENTRU OBTINEREA DE CONDUCTE NERVOASE SI PROCEDEU DE OBTINERE

Autori: Ioan Petre Florescu, Ioana Ruxandra Mihai, Maria Lungu, Lucia Moldovan, Otilia Zarnescu, Viorica Coroiu, Elena Utoiu, Ana-Maria Stanciu

Prezenta inventie se refera la un biocompozit bazat pe un polimer sintetic solubil in apa - alcoolul polivinilic (PVA) si un polimer natural, component major al matricei extracelulare, colagenul, si procedeu de obtinere a acestuia. Acest biocompozit este destinat obtinerii de conducte nervoase (CN) pentru regenerarea nervilor periferici.

Lezarea nervilor periferici reprezinta o problema majora de sanatate, 2,8% dintre pacientii cu traume dobindind dezabilitati pe termen lung. Pentru regenerarea nervilor periferici se utilizeaza autogrefe, alogrefe sau conducte nervoase (CN). Un conductor nervos CN reprezinta o cale de a ghida cresterea axonala in procesul de regenerare a nervului. In prezent, este unanim acceptat in lumea stiintifica medicala de specialitate, ca o ghidare fizica a axonilor este vitala pentru refacerea nervilor periferici lezati.

Cercetari recente s-au lansat pe sintetizarea unor conducte de ghidare nervoasa din biomateriale naturale sau sintetice, micro- si nano-fibre. Factorii care determina selectia unui anumit material pentru obtinerea de conducte nervoase (CN) sunt: biocompatibilitatea, capacitatea de biodegradare, integritatea mecanica, posibilitatea de implantare si sterilizare. Conductele nervoase (CN) sustin regenerarea nervoasa si impiedica invadarea tesutului fibros la nivelul situsului lezat (**Ahmed M.R., Venkateshwarlu U., Jayacumar R., Multilayered peptide incorporated collagen tubules for peripheral nerve repair, 2004, Biomaterials, 25, 2585-2594**).



Bulai

Tohill si colaboratorii (Tohill M., Montovani C., McGrouther D.A., Wiberg M., *Extracellular matrix macromolecules enhance Schwann cell growth and peripheal nerve regeneration through bio-engineered conduits*, 2003, **European Cells and Materials**, 6, 54) propun utilizarea unui CN biodegradabil din polihidroxibutirat.

S-au obtinut conducte nervoase din spuma de acid polilactic (Schmidt C.E., Leach J.B., *Natural tissue engineering: strategies for repair and regeneration*, 2003, **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, 5, 293-347).

Se cunoaste utilizarea polimerilor naturali obtinerea conductelor nervoase. De exemplu colagenul tip I si III permite obtinerea de structuri (tuburi) cu o buna biocompatibilitate si resorbabilitate, care permit proliferarea celulelor Schwan (Alluin O., Wittmann C., Marqueste T., Chabas J-F, Garcia S., Levant M-N., Decherchi P., *Functional recovery after peripheal nerve injury and implantation of a collagen guide*, 2009, **Biomaterials**, 30, 363-373). Acidul hialuronic poate fi un bun biomaterial pentru obtinerea conductelor nervoase (Hou S., Xu Q., Tian W., Cui F., Lee I.S., *The repair of brain lesion by implantation of hyaluronic acid hydrogels modified with laminin*, 2005, **J. of Neuroscience Methods**, 148, 60-70). Un grup de cercetatori chinezi au realizat tuburi din chitosan si carboxi-chitosan pe care le-au utilizat la regenerarea nervilor periferici, aratind ca aceste materiale pot asigura un suport pentru regenerarea celulelor nervoase timp de aproximativ 8 saptamani (Lu G., Kong L., Sheng B., Wang G., Zhang X., *Degradation of covalently cross-linked carboxy methyl chitosan and its potential application for peripheal nerve regeneration*, 2007, **European Polymer Journal**, 43, 3807-3818).

Un polimer sintetic care se preteaza la obtinerea de conducte nervoase este si poliuretanul (Hausner T., Schmihammer R., Schultz A., Hertz H., Redl H., *Nerve regeneration using tubular scaffolds from biodegradable polyurethane*, 2007, **Acta Neurochir. Wien**, 100, 69-72)

Ingineria tisulara ghidata, cu aplicatii in regenerarea nervoasa periferica, reprezinta o provocare, in conditiile in care bazele chimice si fiziologice ale multor maladii neurologice nu sunt complet elucidate. In acest sens se cauta noi solutii pentru constructia conductelor nervoase.



Problema pe care o rezolva prezenta inventie consta in realizarea unor conducte nervoase din material biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA), polimer sintetic hidrosolubil si colagen, polimer natural component al matricii extracelulare. Principalele proprietati ale acestora sunt: o buna biocompatibilitate si o rata de resorbie bine controlata (nu foarte rapida), care sa permita o regenerare tisulara completa.

Intr-un aspect preferat polimerul natural utilizat este colagenul nedenaturat tip I, din derm bovin, obtinut prin extractie enzimatica din tendon bovin, purificat prin precipitari selective.

Intr-un alt aspect preferat polimerul natural utilizat este hidrolizatul de colagen obtinut prin hidroliza acida din derm bovin si avind masa moleculara de 10000-15000 Da.

Un alt aspect al inventiei constă în stabilirea condițiilor și etapelor de obtinere a conductelor nervoase din biocompozit pe baza de PVA si colagen.

Scopul prezentei inventii este realizarea unui procedeu eficient de obtinere de conducte nervoase din biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA) si colagen.

Procedeul, conform inventiei cuprinde urmatoarele etape:

Etapa 1: Prepararea si conditionarea membranelor din biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA) si colagen

Se prepara o solutie 10% in apa din pulbere de alcool polivinilic (PVA), 72.000 g/mol, produs Merk, Lot #32710422, prin mentinere sub agitare pe baie de apa la 65°C, timp de 24h.

Se prepara un gel de colagen nedenaturat cu masa moleculara de 250000...300000 Da, obtinut din derm bovin, prin extractie cu solutie diluată de acid acetic sau tartric la temperatura de 4°C timp de 48 ore cu urmatorul continut: 12% colagen nedenaturat, 64% apa distilată, 24% alcool etilic, pH 5,5, substanta uscata 0,57%

Hidrolizatul de colagen (HC) obtinut prin hidroliză acidă și atomizare la Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Științe Biologice, avand o



Buletin

greutate moleculara de 7000-15000 D, a fost pregetat sub forma de solutie apoasa de 10% la 60°C, sub agitare timp de 30 minute.

Se realizeaza 2 amestecuri :

- 90 parti in greutate solutie 10% PVA si 10 parti in greutate solutie 10% HC;
- 50 parti in greutate solutie 10% PVA si 50 parti in greutate gel de colagen nedenaturat.

Amestecurile au fost turnate pe suporturi de PMMA (poli-metilmecacrilat) cu dimensiunile de 60mmx30mmx3mm, invelite in folie de polietilena, uscarea acestor amestecuri realizandu-se in etuva la 33°C, timp de 12h, rezultatul fiind obtinerea unor membrane cu grosimea de 0.1...0,3 mm.

Etapa 2 Reticularea membranelor

Se imerseaza membranele intr-o solutie de etanol 40% timp de 30 minute la temperatura camerei, urmata de imersarea intr-o solutie de 3% glutaraldehida timp de 22 ore la temperatura camerei.

Etapa 3 Spalarea membranelor

Dupa reticulare membranele au fost supuse unor spalari succesive in solutie de clorura de sodiu 1 molar (2 spalari de cite o ora) si apa distilata (6 spalari de cite o ora). Dupa cele 8 spalari succesive urmeaza uscarea membranelor in aceleasi conditii ca la etapa 1, in etuva la 33°C, timp de 12h.

Etapa 4 Obtinerea tuburilor

Membranele sunt taiate in bucati cu dimensiunile de 20 ± 2 mmX 9 ± 1 mm, umectate prin imersie in apa pura (Apa MilliQ) timp de 10 minute, rulate pe suporti (bare) din teflon cu diametrul exterior de $2,4\pm0,1$ mm si uscate in etuva la 33°C, timp de 12h.

Etapa 5 Sterilizarea

Sterilizarea tuburilor care vor fi utilizate ca si condute nervoase se face cu radiatii UV timp de 24 ore.



Bucle

Parametri caracteristici procedeului de obtinere a conductelor nervoase din biocompozit pe baza de PVA si colagen sunt urmatori:

temperaturi:

- temperatura de dizolvare a PVA 65 °C;
- temperatura de extractie a colagenului nedenaturat din derm bovin 4 °C;
- temperatura de dizolvare a hidrolizatului de colagen (HC) 60 °C;
- temperatura de uscare a membranelor 33 °C;

timpi:

- timpul de dizolvare a PVA 24 h;
- timpul de extractie al colagenului nedenaturat 48 h;
- timpul de dizolvare a HC 30 minute;
- timpul de uscare a membranelor 12 h;
- timpul de reticulare a membranelor cu glutaraldehida 22 h;
- durata unei spalari 1h;
- timpul de sterilizare 24 h.

Inventia conform descrierii de mai sus, prezinta urmatoarele avantaje:

- se realizeaza un material compozit biocompatibil si biodegradabil care poate fi utilizat la obtinerea de conducte nervoase;
- prezinta colagenului, care este un component al matricei extracelulare in compozitie materialului, contribuie la regenerarea nervilor periferici;
- procedeul de obtinere al tuburilor pentru conducte nervoase este simplu, si nu implica consumuri energetice si materiale deosebite;
- procedeul este ecologic.

In continuare se dau 2 exemple de realizare a inventiei:

Exemplul 1

Etapa 1 Prepararea si conditionarea membranelor din biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA) si colagen nedenaturat

Intr-un vas de sticla de 500ml s-au cintaresc 15...30 g pulbere de alcool polivinilic (PVA); sau adaugat 135...270 g apa pura si s-au mentinut sub agitare



Balea

25 -11- 2011

pe baie de apa la 65°C, timp de 24h. S-au obtinut 150...300 g solutie 10% PVA. Solutia de PVA s-a amestecat cu 150...300 g colagen nedenaturat. Amestecul a fost turnat pe suporturi de PMMA (poli-metilmacrilat) cu dimensiunile de 60mmx30mmx3mm, invelit in folie de polietilena si uscat in etuva la 33°C, timp de 12h, rezultatul fiind obtinerea unor membrane cu grosimea de 0.1...0.3 mm.

Etapa 2 Reticularea membranelor

Se imersat mernbranele intr-o solutie de etanol 40% timp de 30 minute la temperatura camerei, dupa care s-au imersat intr-o solutie de 3% glutaraldehida timp de 22 ore la temperatura camerei.

Etapa 3 Spalarea membranelor

Dupa reticulare membranele au fost supuse unor spalari succesive in solutie de clorura de sodiu 1 molar (2 spalari de cte o ora) si apa distilata (6 spalari de cte o ora). Dupa cele 8 spalari succesive s-au uscatm in aceleasi conditii ca la etapa 1, in etuva la 33°C, timp de 12h.

Etapa 4 Obtinerea tuburilor

Membranele au fost taiate in bucati cu dimensiunile de 20±2 mmX 9±1mm, umectate prin imersie in apa pura (Apa MilliQ) timp de 10 minute, rulate pe suporti (bare) din teflon cu diametrul exterior de 2,4±0,1mm si uscate in etuva la 33°C, timp de 12h. S-au obtinut tuburi din biocompozit

Etapa 5 Sterilizarea

Sterilizarea tuburilor s-a facut cu radiatii UV timp de 24 ore.

Exemplul 2

Etapa 1 Prepararea si conditionarea membranelor din biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA) si hidrolizat de colagen (HC)

Intr-un vas de sticla de 500ml s-au cintarit 15...30 g pulbere de alcool polivinilic (PVA); sau adaugat 135...270 g apa pura si s-au mentinut sub agitare pe baie de apa la 65°C, timp de 24h. S-au obtinut 150...300 g solutie 10% PVA. Intr-un vas de 100ml s-au pus 1,5....3 g pulbere alb-galbuie de hidrolizat de colagen si 13,5...27,5 g apa pura, s-au amestecat prin agitare continua pe baie



de apa, la 60 °C, timp de 30 minute si s-a obtinut o solutie 10% de hidrolizat de colagen (HC).

S-a turnat solutia de HC peste solutia de PVA si s-a omogenizat timp de 5 minute prin agitare mecanica. Amestecul a fost turnat pe suporturi de PMMA (poli-metilmecrilat) cu dimensiunile de 60mmx30mmx3mm, invelit in folie de polietilena si uscat in etuva la 33°C, timp de 12h, rezultatul fiind obtinerea unor membrane cu grosimea de 0,05...0,2 mm.

Pentru etapele urmatoare s-a procedat ca in exemplul 1.

Biocompozitul obtinut pe baza de PVA si colagen a fost testat di punct de vedere al biocompatibilitatii *in vitro* si *in vivo*.

Membranele obtinute au fost pregatite pentru testarea *in vitro* in vederea evaluarii calitative a biocompatibilitatii. Acestea au fost prelucrate in sectiuni de 5 mm² si sterilizate prin expunere la radiatii UV timp de 24 ore.

Testarea biocompatibilitatii s-a realizat prin metoda contactului direct.

Pentru contactul direct se adauga cate un fragment de membrana de 5mm²/500µl suspensie celulara. Testele au fost realizate pe linia celulara NCTC, derivata din tesut conjunctiv de soarece (*Mus musculus*), clona 929 obtinuta de la The European Collection of Cell Cultures (ECACC) si mentinuta in MEM suplimentat cu 10% ser fetal bovin (SFB), 1% PSN (penicilina, streptomicina, neomicina) in incubator la 37°C si in atmosfera umeda cu 5% CO₂. Morfologia si cresterea celulelor au fost monitorizate cu ajutorul unui microscop inversat cu contrast de faza.

Biocompatibilitatea membranelor a fost evaluata atat prin metode calitative (colorarea citochimica a celulelor cu Giemsa) cat si prin metode cantitative (testul MTT).

Pentru analiza morfologiei celulare, celulele au fost insamantate in placi cu 24 de godeuri la densitatea standard de 5x10⁴ celule/ml. Dupa aderenta (24h), cultura este adusa in contact cu probele. La 24 si 48h, celulele, astfel cultivate si tratate, au fost spalate cu PBS, fixate cu metanol rece (-20°C),



Bul

25-11-2011

colorate cu solutie Giemsa si fotografiate cu ajutorul unui microscop optic Zeiss Axio Vision Observer.

Viabilitatea celulara a fost determinata prin testul MTT. Metoda spectrofotometrica se bazeaza pe conversia bromurii de dimetiltiazol-2-difeniltetrazolium (MTT) la cristale insolubile purpurii de formazan sub actiunea dehidrogenazelor mitocondriale din celulele vii. Cantitatea de formazan produsa este proportionala cu numarul celulelor vii si se determina spectrofotometric dupa dizolvarea cristalelor intr-un solvent potrivit.

Pentru experiment celulele au fost insamantate la o densitate de 5×10^4 celule/ml in placi cu 24 godeuri si incubate la 37°C in atmosfera umeda cu 5% CO_2 timp de 24h, pentru a permite aderarea celulelor. Dupa perioada de incubare, mediul a fost indepartat cu grija si inlocuit cu mediu de cultivare proaspat, sectiunile fiind asezate peste substratul celular. Dupa 24 si respectiv 48 ore, mediul a fost indepartat si s-a adaugat solutia de MTT (0.25 mg/ml) iar celulele au fost incubate la 37°C timp de 3 ore. Ulterior cristalele de formazan formate au fost solubilizate cu izopropanol iar absorbanta colorantului dizolvat a fost masurata la 570 nm cu ajutorul unui cititor de placi TECAN.

Conform scalei de citotoxicitate din standardul european SR EN ISO 10993-5:2003, se constata ca desi polimerul sintetic neamestecat cu biopolimer este usor citotoxic, amestecarea lui cu colagen conduce la o crestere sensibila a viabilitatii, deci se realizeaza o buna biocompatibilizare a acestuia.

Astfel, asocierea PVA cu colagen nativ (nedenaturat) a dus la o viabilitate celulara mai buna (intre 80.99% si 84.90% la 24h si intre 87.03% si 96.79% la 48h - probele 3, 4 si 5) fata de PVA simplu (80.34% la 24h si 82.55% la 48h - proba 2).

In urma testarii citotoxicitatii prin metoda cu MTT, s-a ajuns la concluzia ca amestecul ce contine ca polimer sintetic PVA si Col in proportie de 1:1 a conferit cel mai bun grad de biocompatibilitate.

Probele a caror citotoxicitate a fost analizata prin metoda cantitativa cu MTT au fost supuse si metodei de analiza calitativa, fiind observata morfologia



celulelor cultivate in prezenta sau absenta (proba martor) materialelor polimerice respective.

Rezultatele obtinute in urma acestei analize confirma datele obtinute prin metoda cu MTT. Celulele isi pastreaza morfologia caracteristica liniei NCTC L929, nu se observa modificari, aspectul culturii fiind asemanator cu cel al martorului de cultura. Deci rezultatele testului cantitativ au fost confirmate de observatiile de morfologie.

Morfologia celulara a fost analizata prin microscopie optica, in urma coloratiei Giemsa.

Rezultatele obtinute sunt prezentate in figurile 2-4.

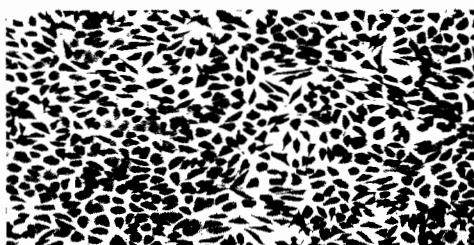


Fig 1 – Martor de cultura (NCTC)



A



B

Fig 2 - Morfologia celulelor cultivate in prezenta membranelor de polimer natural (A) si sintetic (B) neamestecati, dupa 48 ore de cultivare. Se observa o morfologie celulara si un aspect al monostratului cellular asemanatoare cu cele proba-martor.



Fig 3 - Morfologia celulelor cultivate in prezenta membranelor de PVA si colagen nedenaturat dupa 48 ore. Se observa ca celulele nu-si schimba semnificativ morfologia, ceea ce demonstreaza un grad bun de biocompatibilitate a acestora.



București

Testarea *in vivo* a conductelor nervoase precum si a asocierii conduct nervos – celule stem mezenchimale, in vederea stabilirii eficientei lor in regenerarea nervilor periferici lezati s-a efectuat pe animale de laborator (respectiv sobolani Wistar). Metoda a fost standardizata conform normelor bioetice.

Cu o compositie si forma finala stabilite, conductele nervoase alese pentru testarea *in vivo* au fost cele de PVA_M – Colagen 1:1. Acestea au prezentat o buna biocompatibilitate demonstrata prin aderenta pe suprafata lor a celulelor stem mezenchimale care au pastrat o morfologie normala dupa 6 zile de cultivare, cunoscandu-se faptul ca biocompatibilitatea este una dintre conditiile esentiale pe care trebuie sa le indeplineasca un conduct nervos.

Testarea *in vivo* s-a realizat pe 60 de sobolani Wistar, femele, cu greutati cuprinse intre 180-220 de grame. Sobolanii au fost impartiti in 3 grupe:

- Lotul A – lotul de grefe nervoase, constituit din 20 de sobolani
- Lotul B – lotul de conducte nervoase, constituit din 20 de sobolani. NC au fost realizate din colagen:alcool polivinilic intr-un raport de 1:1. Conductele au avut o lungime de 1 cm si un diametru intern de 1,5 mm.
- Lotul C – lotul de conducte nervoase si celule stem mezenchimale, constituit din 20 de sobolani

Cele trei loturi au fost comparate cu sobolani la care nu s-a practicat nici o interventie terapeutica pe sciatic.



Fig. 4 - Plasarea si fixarea conductului nervos



In cazul lotului C, de conducte nervoase asociate cu celule stem mezenchimale, nervul sciatic drept a fost expus de aceeasi maniera. S-a creat un defect de 10 cm care a fost surmontat printr-un NC din colagen: APV in raport de 1:1. Suturile microchirurgicale epineurale s-au realizat cu nylon 10.0 sub o magnificatie de 40 x.

Dupa coaptare s-au injectat MSC la nivelul capatului proximal utilizand o seringa de 27G de tuberculina, cu umplerea intregului tub. Ulterior s-au realizat miorafie si sutura tegumentara cu vycril 4.0. Postoperator animalele au fost cazate in custi individuale si li s-au administrat antibiotic si antialgice, permitandu-le sa se miste liber. Hrana si apa au fost ad administrate Ad libitum.

Animalele au fost urmarite timp de 12 saptamani prin analiza comportamentului, masurarea greutatii, urmarirea eventualelor modificari tegumentare si ale partilor moi. Animalele n-au suferit modificari importante ale greutatii, cu exceptia unei scaderi de 3% in cursul primei saptamani, ulterior greutatea normalizandu-se. Modificarile partilor moi ar fi putut fi contracturile in flexie, ulceratiile cronice, infectii postoperatorii, escarele de decubit si leziunile de autotomie. Nici unul dintre sobolanii operati nu a dezvoltat escare de decubit, ulceratiile cronice sau contracturi in flexie. Din cohorta de sobolani operati cu defecte ale sciaticului, 5 din grupa cu conducte nervoase, 4 din grupa cu grefe si doi din grupa NC cu MSC au prezentat automutilari limitate doar la regiunea unghiala. Evaluarea functionala a repararii nervoase s-a realizat prin analize clinice, testul abductiei digitale, a intepaturii (pinprick) si indexul functional sciatic iar evaluarea denervarii gastrocnemianului s-a realizat prin evaluarea indexului muscular gastrocnemian (GMI). Animalelor li s-a urmarit mersul precum si postura.

Evaluarea testarii motorii nu a relevat diferente semnificative intre grupuri de-a lungul reperelor de timp.



Bulai

REVENDICARI

1. Biocompozit caracterizat prin aceea ca este obtinut din solutie de alcool polivinilic 10% si colagen nedenaturat, in rapoare de greutate egale (1:1).
2. Biocompozit caracterizat prin aceea ca este obtinut din solutie 10% alcool polivinilic si solutie 10% colagen hidrolizat de colagen in rapoarte de masa de 9 parti solutie alcool polivinilic si o parte (9:1).
3. Conducte nervoase obtinute din biocompozit pe baza de PVA si colagen nedenaturat, caracterizat prin aceea ca au o grosime a peretelui de 0,1...0,3 mm.
4. Conducte nervoase obtinute din biocompozit pe baza de PVA si colagen hidrolizat, caracterizat prin aceea ca au o grosime a peretelui de 0,05....0,2mm.
5. Procedeu de obtinere a conductelor nervoase din revendicarile 3 si 4, caracterizat prin aceea ca se desfasoara pe parcursul a 5 etape:

Etapa 1: Prepararea si conditionarea membranelor din biocompozit pe baza de alcool polivinilic (PVA) si colagen

Etapa 2: Reticularea membranelor

Etapa 3: Spalarea membranelor

Etapa 4: Obtinerea tuburilor

Etapa 5: Sterilizarea



Buletin