



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2005 042 455 A1** 2007.04.12

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 042 455.4**

(22) Anmeldetag: **06.09.2005**

(43) Offenlegungstag: **12.04.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61F 2/02** (2006.01)

(71) Anmelder:

**Medizinische Hochschule Hannover, 30625
Hannover, DE**

(74) Vertreter:

Taruttis, S., Dr., Pat.-Anw., 30165 Hannover

(72) Erfinder:

**Vogt, Peter, Prof. Dr. med., 30625 Hannover, DE;
Allmeling, Christina, 31228 Peine, DE; Reimers,
Kerstin, Dr. rer. nat., 30627 Hannover, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

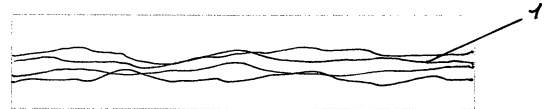
**DE 100 53 611 A1
US2003/01 00 108 A1
WO 05/0 94 911 A2
WO 01/56 626 A1**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **Nervenimplantat**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein biokompatibles Nervenimplantat zur Überbrückung von Unterbrechungen oder von Fehlstellen bei Nerven, die beispielsweise durch Unfallverletzungen oder nach Operationen auftreten. Erfindungsgemäße Nervenimplantate enthalten Fäden aus natürlicher oder künstlicher Spinnenseide und ermöglichen die Regeneration unterbrochener Nerven über Fehlstellen hinweg, so dass innerhalb kurzer Zeit eine funktionale Reizleitung möglich ist.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein biokompatibles Nervenimplantat zur Überbrückung von Unterbrechungen oder von Fehlstellen bei Nerven, die beispielsweise durch Unfallverletzungen oder nach Operationen auftreten. Erfindungsgemäße Nervenimplantate sind geeignet, die Regeneration unterbrochener Nerven auch über Fehlstellen hinweg zu ermöglichen, so dass innerhalb kurzer Zeit eine funktionale Reizleitung auch über die von dem Nervenimplantat überbrückte Fehlstelle hinweg möglich ist.

Stand der Technik

[0002] Bisher wird versucht, Unterbrechungen in Nerven oder Fehlstellen innerhalb von Nerven, bei denen die getrennten Nervenenden nicht ohne weiteres miteinander verbunden werden können, dadurch eine Hilfestellung zur Regeneration zu geben, dass die Fehlstelle mit einem autologen Nervenstück überbrückt wird, das beispielsweise von einem peripheren Nerv stammt.

[0003] Weiterhin ist es bekannt, periphere Nervenverletzungen dadurch zu behandeln, dass die Fehlstellen von einer eingesetzten autologen Venole oder einem Collagenröhrchen überbrückt wird.

[0004] Daneben ist es aus der EP 1 523 999 A1 bekannt, endovasculäre Transplantate, so genannte Stents, durch einen Gehalt an Spinnenseide mit größerer mechanischer Festigkeit auszustatten.

Aufgabenstellung

Aufgabe der Erfindung

[0005] Gegenüber den bekannten Transplantaten zur Überbrückung von Fehlstellen in Nerven ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine alternative zu autologen Transplantaten oder einem Collagenröhrchen bereitzustellen. Eine besondere Aufgabe der vorliegenden Erfindung liegt darin, ein Nervenimplantat mit verbesserten Eigenschaften bezüglich der Wiederherstellung der Reizleitung und Regeneration des unterbrochenen Nervs bereitzustellen. Eine weitere Aufgabe liegt in der Bereitstellung eines Nervenimplantats, das dabei keine autologen Nerven, und besonders bevorzugt, auch kein anderes autologes Gewebe erfordert bzw. enthält.

[0006] Eine besondere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein Nervenimplantat bereitzustellen, mit dem Fehlstellen innerhalb von Nerven überbrückt werden können, wobei bei dessen Verwendung eine operative Behandlung ausreicht, um die Regeneration des Nervs zur funktionalen Reizleitung zu ermöglichen und, besonders bevorzugt, zusätzlich zum Aufbau des natürlichen Nervengewebes

über den Bereich der Fehlstelle.

Allgemeine Beschreibung der Erfindung

[0007] Zur Lösung der vorgenannten Aufgaben stellt die Erfindung ein Nervenimplantat bereit, das Spinnenseide aufweist.

[0008] In einer ersten Ausführungsform besteht das Nervenimplantat aus einem Faden, vorzugsweise aus einer Vielzahl von Fäden natürlicher Spinnenseide, die zwischen den Nervenenden anzuordnen sind, die eine Fehlstelle innerhalb des Nervs begrenzen. Dabei werden die Fäden der Spinnenseide so ausgerichtet, dass sie die Distanz der Fehlstelle des Nervs überbrücken, über die regeneriertes Nervengewebe erwünscht ist.

[0009] In einer zweiten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Nervenimplantat von Fäden von Spinnenseide gebildet, die innerhalb einer schlauchartigen Hülle angeordnet sind. Als eine solche Hülle, die die Fäden der Spinnenseide aufnimmt, sind Collagenröhrchen geeignet, vorzugsweise jedoch autologe Venolen, xenologe azellularisierte Venolen oder immunologisch kompatible Venolen.

[0010] In einer dritten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung ein Nervenimplantat bereit, das bereits autologe Nervenzellen enthält, vorzugsweise Schwann-Zellen. In dieser Ausführungsform weist das Nervenimplantat eine schlauchartige Hülle auf, die entsprechend der zweiten Ausführungsform eine Hülle aufweist, in deren Innenraum längs angeordnete Fäden von Spinnenseide enthalten sind, wobei jedoch verbleibende Hohlräume zwischen der Hülle und den Spinnenseidenfäden von einem biokompatiblen Matrixmaterial ausgefüllt sind, beispielsweise Matrigel (erhältlich von Becton Dickinson, Extrakt aus dem Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) Sarkom der Maus, einem Tumor, der ECM Proteine enthält. Der Hauptbestandteil ist Laminin, gefolgt von Collagen IV, Heparansulfat-Proteoglycanen, Entactin und Nidogen).

[0011] In weiterer Ausgestaltung der dritten Ausführungsform wird anstelle von Matrixmaterial allein eine Mischung aus Matrixmaterial mit in vitro kultivierten Schwann-Zellen eingesetzt, vorzugsweise kultivierten autologen Schwann-Zellen, oder kultivierten immunkompatiblen Schwann-Zellen. An dieser Ausführungsform nachteilig ist jedoch, dass zur Gewinnung der kultivierten Schwann-Zellen eine vorherige operative Entnahme von Nervengewebe erforderlich ist, sowie die Kultivierung entnommener Schwann-Zellen. Daher ist hier vor der Verfügbarkeit eines erfindungsgemäßen Nervenimplantats ein vorheriger chirurgischer Eingriff zur Entnahme von Nervengewebe, beispielsweise peripheren Nerven, erforderlich, sowie eine Kultivierungsphase zur Erzeugung der erforderlichen

derlichen Anzahl kultivierter Schwann-Zellen.

[0012] In einer vierten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Nervenimplantat aus fadenförmiger Spinnenseide gebildet, die um ein Trägerelement herum angeordnet ist. Als Trägerelement können dabei wiederum eine Vielzahl parallel angeordneter Abschnitte fadenförmiger Spinnenseide eingesetzt werden, autologe oder azellularisierte Venolen, sowie streifenförmige Elemente aus der Wandung autologer oder azellularisierter Venolen, sowie streifenförmige synthetische Materialien, beispielsweise chirurgisches Nahtmaterial.

[0013] Die Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Nervenimplantats sind geeignet, um nach chirurgischer Einfügung in eine Unterbrechung oder Fehlstelle von Nerven die funktionale Reizleitung innerhalb kurzer Zeit wieder herzustellen und die Bildung von natürlichem Nervengewebe über die Unterbrechung bzw. Fehlstelle hinweg zu bewirken.

[0014] So lässt sich bei der Überbrückung von Fehlstellen in motorischen Nerven von Säugetieren über eine Distanz von 2 bis 4,5 cm zeigen, dass die Reizleitung zumindest teilweise wieder hergestellt werden kann, und innerhalb weniger Stunden bis zu 2 bis 5 Tagen die Funktionsfähigkeit des Nervs über seine Unterbrechung bzw. Fehlstelle hinweg im wesentlichen, vorzugsweise vollständig, wieder hergestellt ist. Innerhalb eines Zeitraums von 2 bis 10 Tagen, vorzugsweise 3 bis 4 Tagen, lässt sich die Regeneration von Nervengewebe in der vom erfindungsgemäßen Nervenimplantat eingenommenen Stelle der Unterbrechung oder Fehlstelle des Nervs durch Bildung funktionalen Nervengewebes nachweisen, das vorzugsweise keine histologischen Unterschiede gegenüber natürlichem Nervengewebe zeigt.

[0015] Aufgrund der Beobachtung, dass das erfindungsgemäße Nervenimplantat zumindest in einigen Nerven bzw. Implantatempfängern in der Lage ist, über Fehlstellen von Nerven hinweg bereits ohne Wachstum von Nervenzellen eines Implantatempfängers eine zumindest teilweise Reizleitung zu ermöglichen, wird derzeit angenommen, dass die in dem Nervenimplantat enthaltenen Fäden der Spinnenseide nach der Implantation in die Unterbrechung bzw. Fehlstelle eines Nervs in der Lage sind, elektrische Nervenimpulse zumindest teilweise zu leiten.

[0016] Ein besonderer Vorteil der erfindungsgemäßen Nervenimplantate liegt darin, dass die Regeneration von Nerven über ihre Unterbrechung bzw. Fehlstelle hinweg innerhalb kurzer Zeiträume erfolgt. Als Konsequenz dieser schnellen Regeneration unterbrochener Nerven, lässt sich feststellen, dass keine signifikante histologisch nachweisbare Degeneration des die Unterbrechung bzw. Fehlstelle des Nervs umgebenden Gewebes nachweisbar ist.

[0017] Ein besonderer Vorteil der erfindungsgemäßen Nervenimplantate liegt darin, dass innerhalb einiger Tage bis weniger Wochen die mit einem erfindungsgemäßen Nervenimplantat verbundenen Enden, die eine Unterbrechung bzw. Fehlstelle von Nerven begrenzen, in dem Bereich des Nervenimplantats histologisch nicht vom natürlichen Nervengewebe unterscheidbares Gewebe aufweisen und die Fehlstelle vorzugsweise auch von Schwann-Zellen überbrückt wird.

[0018] So wird nach der Implantation erfindungsgemäßer Nervenimplantate in Fehlstellen von motorischen Nerven beobachtet, dass durch einen Unfall oder eine Operation abgetrennte Axone durch neu aussprossende Axone ersetzt werden und über das Nervenimplantat hinweg eine schnelle Rekonstruktion des natürlichen Nervengewebes im Bereich der Fehlstelle stattfindet.

[0019] Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Nervenimplantate liegt darin, dass die als wesentlich für ihre Funktion erachtete fadenförmige Spinnenseide von Spinnen, vorzugsweise unter sterilen Bedingungen gehalten, steril in ausreichender Menge entnommen werden kann und unmittelbar zur Verwendung in einem erfindungsgemäßen Nervenimplantat zur Verfügung steht.

[0020] Für die Zwecke der Erfindung wird unter dem Begriff Spinnenseide, bzw. unter Fäden aus Spinnenseide vorzugsweise die von Radnetzspinnen erhältliche Spinnenseide, beispielsweise von Spinnen der Gattung Nephila, insbesondere Nephila clavipes verstanden. Weiterhin, weniger bevorzugt, können für die Zwecke der Erfindung unter dem Begriff Spinnenseide modifizierte Spinnenseide, beispielsweise physikalisch durch Kühlen und/oder Erwärmen, Strecken oder Bestrahlen behandelte Spinnenseide, oder chemisch modifizierte Spinnenseide gefasst werden, sowie Fäden, die biotechnologisch aus in Mikroorganismen, Pflanzen oder Insekten hergestellten Spinnenseidenproteinen gewonnen werden. Weiterhin fallen unter den Begriff Spinnenseide für die Zwecke der Erfindung auch Proteinfäden, die von anderen Insekten hergestellt werden, wie beispielsweise von Schmetterlingsraupen, insbesondere Seidenraupen, oder Motten erhältliche Proteinfäden.

[0021] Falls erforderlich, kann die Spinnenseide zur erfindungsgemäßen Verwendung in einem Nervenimplantat sterilisiert werden, vorzugsweise durch γ -Bestrahlung.

Genauere Beschreibung der Erfindung

[0022] Erfindungsgemäße Nervenimplantate werden zur Überbrückung von Unterbrechungen oder Fehlstellen in Nerven, darunter motorischen Nerven, wie beispielsweise der Ischiasnerv oder der Plexus

brachialis, oder sensorischen Nerven, wie Sehnerv und Hörnerv, sowie in vegetativen Nerven eingesetzt. Diese Nervenimplantate sind insbesondere bei Säugtieren und bevorzugterweise beim Menschen einsetzbar.

[0023] Dazu werden in einem chirurgischen Eingriff erfindungsgemäße Nervenimplantate mit einem ersten Ende der darin enthaltenen fadenförmigen Spinnenseide mit Nervenenden eines ersten Endes einer Unterbrechung oder Fehlstelle im Nerv verbunden, sowie ein zweites Ende der im Nervenimplantat enthaltenen fadenförmigen Spinnenseide mit dem gegenüberliegenden, zweiten Nervenende der Unterbrechung bzw. Fehlstelle des Nerven. Die Verbindung zwischen erfindungsgemäßem Nervenimplantat und den Nervenenden, die die Unterbrechung oder Fehlstelle begrenzen, erfolgt durch eine räumlich nahe Anordnung von erstem Nervenende und erstem Ende eines Nervenimplantats, d.h. der darin enthaltenen fadenförmigen Spinnenseide, sowie räumlich nahe Anordnung von zweitem Nervenende mit zweitem Ende des Nervenimplantats, d.h. der darin enthaltenen fadenförmigen Spinnenseide.

[0024] Die räumlich nahe Anordnung wird vorzugsweise durch Nähen, beispielsweise mit bekanntem chirurgischen Nahtmaterial, oder Kleben fixiert, beispielsweise mit bekanntem Fibrinkleber.

[0025] Bei der ersten Ausführungsform der Erfindung, bei der das erfindungsgemäße Nervenimplantat allein aus fadenförmiger Spinnenseide besteht, ist eine räumlich nahe Anordnung, vorzugsweise Fixierung jeweils eines der Nervenenden, die die Unterbrechung oder Fehlstelle im Nerv begrenzen, mit jeweils einem Ende des Nervenimplantats chirurgisch herzustellen. In den Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Nervenimplantats, in denen fadenförmige Spinnenseide innerhalb einer Hülle, vorzugsweise einer autologen oder azellularisierten Venole angeordnet sind, ist es alternativ zur unmittelbaren räumlichen Anordnung, optional in Verbindung mit einer Fixierung der Spinnenseide an den Nervenenden auch möglich, die miteinander zu verbindenden unterbrochenen Nervenenden abschnittsweise in das offene Ende der Hülle des Nervenimplantats einzuführen und dort zu fixieren, beispielsweise durch Anbinden oder Annähen bzw. Ankleben eines Nervenendes mit einem Ende der Hülle des Nervenimplantats.

[0026] In einer bevorzugten Ausführungsform ist die fadenförmige Spinnenseide in Form von einem, vorzugsweise 10 bis 10000, bevorzugter 100 bis 1000 parallelen Abschnitten von fadenförmiger Spinnenseide in dem Nervenimplantat enthalten.

[0027] Alternativ ist es jedoch auch möglich, die fadenförmige Spinnenseide innerhalb des Nervenimp-

lantats in eine andere Struktur zu bringen, beispielsweise zu verdrillen, in mehreren Bündeln fadenförmige Spinnenseide umeinander zu legen, wie beispielsweise die Spinnenseide bündelweise miteinander zu verflechten, oder die fadenförmige Spinnenseide um ein Trägerelement herum ein- oder mehrschichtig, gleich- oder gegenläufig zu wickeln. Dabei kann ein erfindungsgemäßes Nervenimplantat entsprechend der vierten Ausführungsform gestaltet sein, oder als Zusatz zur zweiten bzw. dritten Ausführungsform ein Trägerelement aufweisen, so dass dieses auch innerhalb der Hülle angeordnet ist. Als Trägerelement können dabei eine autologe oder azelluläre Venole oder ein stift- oder streifenförmiger Wandabschnitt einer solchen autologen oder azellulären Venole dienen, oder ein stift- oder streifenförmiges biokompatibles Material, beispielsweise aus fadenförmiger Spinnenseide oder chirurgischem Nahtmaterial.

[0028] Die Erfindung wird nun genauer mit Bezug auf die Figuren beschrieben, in denen

[0029] [Fig. 1](#) eine schematische Darstellung der ersten Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Nervenimplantats zeigt,

[0030] [Fig. 2](#) eine schematische Darstellung der zweiten Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Nervenimplantats zeigt,

[0031] [Fig. 3](#) eine schematische Darstellung der dritten Ausführungsform erfindungsgemäßer Nervenimplantate zeigt,

[0032] [Fig. 4](#) eine schematische Darstellung der vierten Ausführungsform erfindungsgemäßer Nervenimplantate zeigt, und

[0033] [Fig. 5](#) eine mikroskopische Aufnahme von fadenförmiger Spinnenseide in einer in vitro Kultur von Schwann-Zellen zeigt.

[0034] In [Fig. 1](#) sind schematisch Anordnungen von fadenförmiger Spinnenseide in erfindungsgemäßen Nervenimplantaten gezeigt, nämlich unter A) im wesentlichen parallel angeordnete Abschnitte von Spinnenseide **1**, unter B) umeinander geschlungene Bündel von fadenförmiger Spinnenseide **1**, sowie unter C) ein in sich verdrilltes Bündel von fadenförmiger Spinnenseide **1**.

[0035] Es wird angenommen, dass die fadenförmige Spinnenseide als Richtschnur bzw. Leitbahnen für das Wachstum von Nervenzellen, insbesondere von Schwann-Zellen wirkt, so dass sich die Nervenzellen daran ausrichten und orientieren können, um die Unterbrechung bzw. die Defektstelle zwischen zwei getrennten Nervenenden zu überbrücken.

[0036] In [Fig. 2](#) ist die zweite Ausführungsform er-

findungsgemäßer Nervenimplantate schematisch im Schnitt dargestellt, in der fadenförmige Spinnenseide **1** innerhalb einer Hülle **2** angeordnet ist, vorzugsweise im Wesentlichen parallel zur Längsachse der Hülle **2**.

[0037] In Fortbildung der zweiten Ausführungsform ist in [Fig. 3](#) die dritte Ausführungsform erfindungsgemäßer Nervenimplantate schematisch gezeigt, in denen fadenförmige Spinnenseide **1** im Wesentlichen in Längsrichtung innerhalb einer Hülle **2** angeordnet ist, wobei der verbleibende Zwischenraum zwischen Spinnenseide **1** und der inneren Oberfläche der Hülle **2** durch ein biokompatibles Matrixmaterial **3** ausgefüllt wird, optional in Mischung mit autologen oder immunologisch kompatiblen kultivierten Nervenzellen, vorzugsweise Schwann-Zellen.

[0038] [Fig. 4](#) zeigt mögliche Ausführungen der vierten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Nervenimplantate, die ein Trägerelement **4** aufweist, um das herum fadenförmige Spinnenseide **1** angeordnet ist, beispielsweise in einem Bündel um das Trägerelement **4** herum gewickelt ist, oder in mehreren Bündel gleich- oder gegenläufig um das Trägerelement **4** herum gewickelt ist. Das Trägerelement **4** ist vorzugsweise ein Streifen, der aus einer autologen Venole genommen wurde, oder Streifen einer azellulärisierten Venole, alternativ aus biokompatiblen Material, beispielsweise chirurgischen Material. In [Fig. 4B](#) ist dargestellt, dass das Trägerelement **4** ebenfalls aus fadenförmiger Spinnenseide **1** bestehen kann, oder aus einer Mischung aus chirurgischem Nahtmaterial und Spinnenseidefäden.

Ausführungsbeispiel

Beispiel 1: Erzeugung von Spinnenseide.

[0039] Als Beispiel für Spinnenseide, die zur Verwendung in einem erfindungsgemäßen Nervenimplantat geeignet ist, wurde ein Weibchen von *Nephila clavipes* mit Klebeband auf einer Unterlage fixiert. Nach mechanischer Reizung der Spinnendrüse konnte der abgesonderte Faden aus Spinnenseide gewonnen werden, die für die Zwecke von Versuchen in einer clean bench um ein steriles 50 mL Falconröhrchen aufgewickelt wurden. Dazu konnte das Falconröhrchen mit einer Umdrehungszahl von 5 bis 20/min rotieren gelassen werden.

[0040] Für die nachfolgenden Untersuchungen und Beispiele wurde solchermaßen gewonnene fadenförmige natürliche Spinnenseide ohne weitere Behandlung oder Sterilisation verwendet.

Beispiel 2: Überbrückung einer Defektstelle im Ischiasserv mit einer Distanz von 2,5 cm

[0041] Als Beispiel für einen motorischen Nerv mit

einer Fehlstelle wurden Ratten ein Stück des Ischiasserv im linken Hinterbein über eine Distanz von 2,5 cm chirurgisch entfernt. Während derselben Operation unter sterilen Bedingungen wurde die Fehlstelle bei unterschiedlichen Tieren von

- 1) einem Bündel von ca. 250 bis 350 annähernd parallel angeordneten Fäden von Spinnenseide, ca. 2,8 cm Länge, oder
- 2) zwei Bündeln zu je ca. 200 Fäden aus Spinnenseide, ca. 3 cm Länge, die um einen Streifen (1 mm Kantenlänge) azellulärisierter Venolen gegenläufig gewunden war,

verbunden. Die Spinnenseide wurde gemäß Beispiel 1 erzeugt.

[0042] Dabei wurden die Nervenenden des Ischiasserv, die die Fehlstelle begrenzten, den Enden der Spinnenseide des Nervenimplantats gegenüber angeordnet und alternativ durch

- a) Umwickeln der Kopf an Kopf stoßenden Enden mit Spinnenseide,
- b) durch Vernähen mit chirurgischem Nahtmaterial oder
- c) durch Verkleben mit Fibrinkleber aneinander fixiert.

[0043] Dabei wurde beobachtet, dass die Ratten nach dem Erwachen aus der Narkose die linke Hinterpfote nicht, wie sonst bei Unterbrechungen des Ischiasserv üblich, in Form einer Kralle unnatürlich hielten, sondern vielmehr die Pfote in ihrer natürlichen offenen Haltung einsetzten. Ohne dass eine weitere Operation erforderlich gewesen wäre, konnten die operierten Tiere nach 2 bis 4 Tagen ihr linkes Hinterbein ohne signifikante Beeinträchtigung natürlich bewegen.

[0044] Bei einer histologischen Untersuchung des Nervenimplantats wurde fünf bis zehn Tagen nach der Implantation festgestellt, dass sich im Bereich der Unterbrechung des Nervs, die vom erfindungsgemäßen Nervenimplantat überbrückt worden war, Nervengewebe ausgebildet hatte, das keine signifikanten histologischen Abweichungen von natürlichem Nervengewebe aufwies.

[0045] Diese Nervenimplantate wurden auch zur Überbrückung von Defektstellen (1, 3 und 5 mm) des Hörnervs und des Sehnervs beim Kaninchen eingesetzt. Eine Reizleitung konnte innerhalb von 2 bis 5 oder 10 Tagen nach der Implantation beobachtet werden.

[0046] Bei den Nervenimplantaten, die gemäß 2) ein Trägerelement aufwiesen, wurde festgestellt, dass sich das azellularisierte Venolenstreifen vollständig dem umliegenden Gewebe angepasst hatte.

[0047] Entzündliche Prozesse im Bereich der Spin-

nenseide wurden nicht beobachtet.

Beispiel 3: Nervenimplantat mit Hülle

[0048] Als Beispiel für die zweite Ausführungsform erfindungsgemäßer Nervenimplantate wurden ca. 800–1000 Spinnenseidefäden die gemäß Beispiel 1 erzeugt wurden, auf eine Länge von ca. 3,5 cm zugeschnitten und im wesentlichen axial in eine azellularisierte Venole eingezogen. Für die Zwecke dieser Erfindung kann eine Hülle als Bestandteil eines Nervenimplantats auch einen Längsschnitt aufweisen, so dass die Spinnenseide in eine längs aufgetrennte Hülle eingelegt werden können. Anschließend kann der Längsschnitt der Hülle geschlossen werden, z.B. ohne zusätzliche Mittel durch die Eigenspannung des Hüllmaterials durch Annähern der Schnittkanten des Längsschnitts, oder durch Vernähen oder Verkleben des Längsschnitts, oder durch Umwickeln der Hülle, beispielsweise mit einem Spinnenseidefaden oder chirurgischem Nahtmaterial.

[0049] Azellularisierte Venolen oder Streifen azellularisierter Venolen, die in den erfindungsgemäßen Nervenimplantaten verwendbar sind, wurden aus peripheren Venen hergestellt. Als Beispiel dafür wurden Beinvenen von Schweinen entnommen, die für andere experimentelle Zwecke getötet worden waren. Die Venolen hatten einen Durchmesser von ca. 2 bis 3 mm und einer Länge von 5 cm. Zur Azellularisierung wurden diese Venolen über 24 Stunden in eine Trypsinlösung (0,05 Gew.-% Trypsin, 0,02 Gew.-% EDTA) gelegt und unter Schütteln inkubiert. Die Trypsinlösung wurde anschließend entfernt und die nun zellfreien Venolen wurden durch Inkubation mit PBS unter Schütteln gereinigt, wobei diese Waschung mindestens einmal wiederholt wurde. Derart azellularisierte Venolen konnten unmittelbar verwendet oder zwischenzeitlich bei -80°C tiefgefroren werden.

[0050] Zur Verbindung des Nervenimplantats mit den Nervenenden, die die Fehlstelle begrenzen, wurden die Nervenenden jeweils in ein Ende der Hülle eingeführt, wobei die darin angeordnete Spinnenseide so bemessen war, dass sie die Nervenenden kontaktierte, vorzugsweise Kopf an Kopf bzw. Ende gegenüber Ende. Zur Fixierung wurden die Nervenenden jeweils an einem Ende der Hülle angenäht.

[0051] Alternative Nervenimplantate dieser Ausführungsform wiesen eine Länge der Spinnenseidefäden auf, die über die Enden der Hülle hinausragte, z.B. um ca. 3–5 mm an jedem Ende. Dann wurden die Nervenenden dadurch mit dem Nervenimplantat verbunden, dass die Abschnitte der Spinnenseidefäden, die sich außerhalb der Hülle befanden, jeweils gegen ein Nervenende gehalten wurden und die aneinandergrenzenden Enden mit Spinnenseide umwickelt wurden, oder mit Fibrinkleber bestrichen wurden.

[0052] Bei der Verwendung dieser Nervenimplantate in Fehlstellen des Ischiasnervs der Ratte gemäß Beispiel 3 konnten Distanzen von ca. 5 cm überbrückt werden, so dass die Funktionalität des Nervs innerhalb von 3 bis 5 Tagen nach der Implantation wieder hergestellt war.

[0053] Entsprechend Beispiel 3 wurden auch hier keine zwischenzeitliche krallenartige Haltung der betreffenden Pfote beobachtet. Die histologische Untersuchung ergab auch hier ca. 5 bis 10 Tage nach der Implantation keine signifikanten Abweichungen von natürlichem Nervengewebe.

Beispiel 4: Nervenimplantat mit Hülle und biokompatiblen Matrixmaterial

[0054] Als Beispiel für die dritte Ausführungsform erfindungsgemäßer Nervenimplantate wurden Nervenimplantate aus azellularisierten Venolen mit axial angeordneten Spinnenseidefäden gemäß Beispiel 3 mittels Spritze mit Matrigel gefüllt.

[0055] Funktionale Tests dieser Nervenimplantate entsprechend Beispiel 3 führten zu ähnlichen Ergebnissen. Daher wird gegenwärtig angenommen, dass ein biokompatibles Matrixmaterial zu keiner wesentlichen Verbesserung der Eigenschaften des Nervenimplantats führt.

Beispiel 5: Nervenimplantat mit Hülle und biokompatiblen Matrixmaterial in Mischung mit kultivierten autologen Schwann-Zellen

[0056] Zur Herstellung eines Nervenimplantats mit einer Hülle, in deren Innern axial ausgerichtete Fäden aus Spinnenseide angeordnet waren, und deren verbleibender Innenraum mit biokompatiblen Matrixmaterial in Mischung mit kultivierten autologen Schwann-Zellen angefüllt war, wurde eine gemäß Beispiel 3 hergestellte azellularisierte Venole eingesetzt, in die ein Bündel aus 200 bis 300 parallelen Fäden aus Spinnenseide eingezogen worden war.

[0057] Zur Erzeugung kultivierter autologer Schwann-Zellen wurden periphere Nerven verwendet, die operativ entnommen, vom Epineurium und Perineurium befreit und in ca. 1 mm große Stücke geschnitten wurden. Diese Nervenstücke wurden in Medium (DMEM/F12, 20% fötales Kälberserum, 1% Penistreptomycin) in einer unbeschichtete Petrischale überführt und ca. 3 Wochen bei 37°C , 5% CO_2 inkubiert. Das Medium wurde dreimal wöchentlich gegen frisches Medium gewechselt. Falls eine vermehrte Aussprossung von Fibroblasten beobachtet wurde, wurden die Nervenstücke in neue Petrischalen umgesetzt und weiter kultiviert.

[0058] Nach Aussprossung der ersten Schwann-Zellen wurden die Nervenstücke über Nacht

bei 37 °C, 5% CO₂ mit Collagenase I und Dispase inkubiert. Die Nervenstücke wurden anschließend durch wiederholtes Passieren durch eine Kanüle mittels einer angeschlossenen Spritze vorsichtig homogenisiert und in PBS (physiologische phosphatgepufferte Salzlösung) gewaschen. Nach mehreren Waschschrritten mit zwischenzeitlicher Zentrifugation wurde die Zellsuspension in poly-L-Lysin-beschichtete Kulturflaschen überführt und bei 37 °C, 5% CO₂ in M2-Medium (Melanozyten Growth Medium, Promocell) kultiviert. Dieses Medium inhibiert das Wachstum kontaminierender Fibroblasten, während die Schwann-Zellen anschließend verwendet werden konnten.

[0059] Kultivierte Schwann-Zellen wurden wie voranstehend beschrieben durch Collagenase I und Dispase abgelöst und mit PBS gewaschen. Die Zellsuspension konnte zwischendurch kühlgestellt oder unmittelbar verwendet werden. Als biokompatibles Matrixmaterial wurde Matrigel (erhältlich Becton Dickinson) behutsam mit Schwann-Zellen gemischt, so dass eine Zelldichte von ca. 10²–10⁴/mL Matrixmaterial erreicht wurde. Diese Mischung aus Schwann-Zellen und Matrixmaterial wurde vorsichtig in die Hülle einpipettiert, in der die Fäden aus Spinnenseide bereits axial angeordnet waren.

[0060] Dabei ist es bevorzugt, dass die azellulisierte Venole, und entsprechend eine homologe Venole, bis auf die Spinnenseide von dem Matrixmaterial vollständig ausgefüllt wird, so dass sie einen runden Umfang annimmt.

[0061] Derart hergestellte Nervenimplantate wurden entsprechend Beispiel 2 zur Überbrückung einer Defektstelle des Ischiasnervs eingesetzt. Die Nervenfunktion wurde ebenfalls innerhalb kurzer Zeit, nämlich innerhalb von zwei bis vier Tagen wiederhergestellt, wobei ebenfalls die vollständige Disfunktion des motorischen Nervs, die sich in einer Verkrampfung und Krallenhaltung der innervierten Gliedmaßen zeigt, vermieden wurde.

[0062] Histologische Untersuchungen ergaben, dass im Wesentlichen natürliches Nervengewebe an der Stelle des Nervenimplantats entstanden war.

Patentansprüche

1. Nervenimplantat zur Überbrückung von Unterbrechungen oder Defektstellen innerhalb eines Nervs, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Nervenimplantat fadenförmige Spinnenseide (1) aufweist.

2. Nervenimplantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die fadenförmige Spinnenseide (1) im Wesentlichen in axialer Richtung innerhalb einer Hülle (2) angeordnet ist.

3. Nervenimplantat nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Zwischenraum zwischen Hülle (2) und fadenförmiger Spinnenseide (1) zumindest teilweise von einem biokompatiblen Matrixmaterial (3) ausgefüllt ist.

4. Nervenimplantat nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass in dem Matrixmaterial (3) autologe kultivierte Schwann-Zellen enthalten sind.

5. Nervenimplantat nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die fadenförmige Spinnenseide (1) um ein Trägerelement (4) herum angeordnet und im Wesentlichen in dessen Längsrichtung ausgerichtet ist.

6. Nervenimplantat nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die fadenförmige Spinnenseide (1) natürliche Spinnenseide ist.

7. Nervenimplantat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die natürliche Spinnenseide von einer Radnetzspinne erhältlich ist.

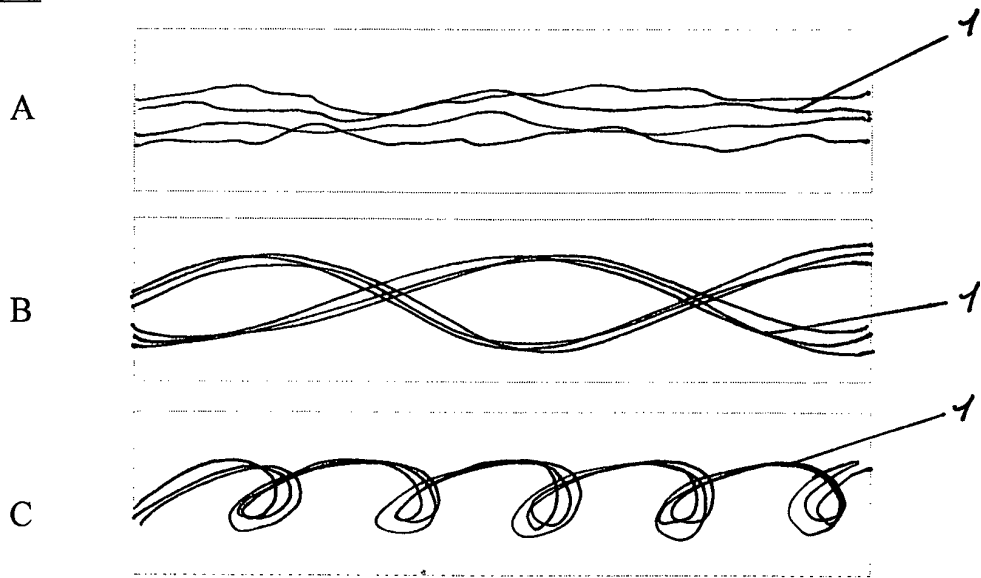
8. Verwendung eines Nervenimplantats nach einem der vorangehenden Ansprüche zur Herstellung eines Medizinprodukts zur Überbrückung von Unterbrechungen oder Fehlstellen innerhalb eines Nervs.

9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Nerv ein motorischer oder ein sensorischer Nerv ist.

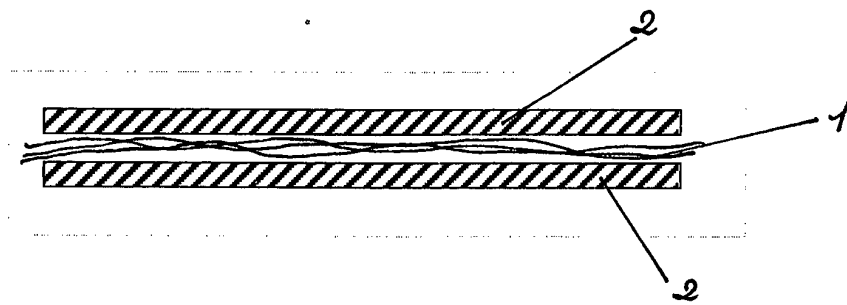
Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

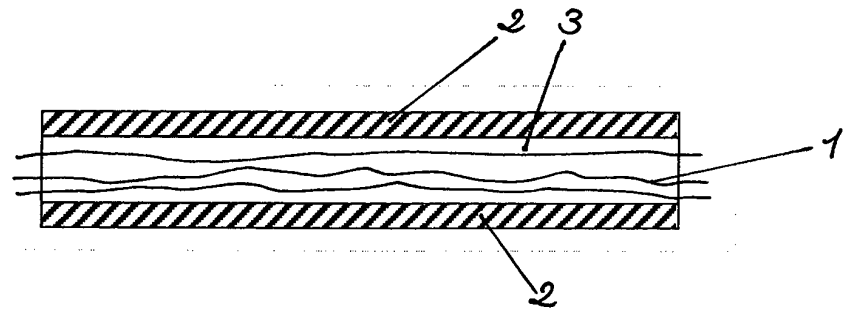
Figur 1



Figur 2



Figur 3



Figur 4

