



(21) Numer zgłoszenia: **427537**

(22) Data zgłoszenia: **10.12.2012**

(62) Numer zgłoszenia, z którego nastąpiło wydzielenie:
401954

(51) Int.Cl.

A61L 27/44 (2006.01)

A61L 27/14 (2006.01)

B32B 27/28 (2006.01)

A61F 2/28 (2006.01)

(54) **Wielowarstwowy materiał medyczny przeznaczony na implant do wypełnień kości**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

23.06.2014 BUP 13/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.07.2019 WUP 07/19

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL

INSTYTUT BIOPOLIMERÓW I WŁÓKIEN

CHEMICZNYCH, Łódź, PL

CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH

I WĘGLOWYCH POLSKIEJ AKADEMII NAUK,

Zabrze, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

IZABELLA KRUCIŃSKA, Łódź, PL

AGNIESZKA KOMISARCZYK, Łódź, PL

MARCIN STRUSZCZYK, Łódź, PL

STANISŁAWA KOWALSKA, Łódź, PL

PIOTR DOBRZYŃSKI, Zabrze, PL

MAREK KOWALCZUK, Zabrze, PL

ANNA SMOLA, Bytom, PL

BOGUSŁAWA ŻYWICKA, Wrocław, PL

KRYSTYNA TWAROWSKA-SCHMIDT,

Łódź, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Ewa Kaczur-Kaczyńska

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest wielowarstwowy materiał medyczny przeznaczony na implant do wypełnień kości.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US 2010/0172952 A1** są znane porowate podłoża do hodowli komórkowych i tkankowych, z gradientem porowatości, wytworzone z polimerowych nanowłókien o średnicy 100–400 nm, o porowatości w zakresie 300 μm , zawierające dodatki o wielkości ziaren powyżej 1 μm . Do ich wytwarzania stosuje się włókna z polimerów biodegradowalnych, syntetycznych, jak PLA, PCL, PGA, PGLA, ich kopolimerów lub z polimerów naturalnych, jak kolagen, elastyna, skrobia, alginian, żelatyna, chitozan, celuloza, jak również polimery z grupy niebiodegradowalnych, jak PU, PCV, PE, PP, PVA. Podłoża te zawierają dodatki w postaci substancji osteokonduktywnych, jak HAp, TCP, osadzone na matrycy włóknistej. Podłoża te mogą zawierać żywe komórki lub czynnik wspomagający proliferację, adhezję i kolonizację hodowanych komórek lub substancji leczniczej, osadzone bądź tworzące impregnację na materiale podłoża. Podłoże może być jednowarstwowe, otrzymane metodą elektro-przędzenia lub stanowić strukturę wielowarstwową z warstwami o takiej samej, bądź różnej orientacji i uporządkowaniu nanowłókien.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2011/0082565 A1** są znane wielowarstwowe przesłenne materiały implantacyjne utworzone z ułożonych jedna na drugiej warstw włóknistych o rozmiarach nano- i mikrometrycznych, wytworzonych na drodze elektroprzędzenia, zawierających włókna o średnicach odpowiednio 500–900 nm i 5–15 μm , charakteryzujących się znaczną porowatością. Do wytworzenia warstw włóknistych używa się polimery pochodzenia naturalnego, jak kolagen, elastyna, fibronektyna, celuloza, chityna, chitozan lub sztuczne, jak PCL, PLA, PGA, PEG, PCV, PTFE, PP, PMMA oraz ich kopolimery. W celu poprawy biogodności takiego materiału i lepszego efektu terapeutycznego do poszczególnych warstw materiału wprowadza się różnego rodzaju kultury komórkowe. Mogą to być embrionalne komórki macierzyste, mezenchymalne komórki macierzyste, czy też komórki kostne (osteoblasty czy osteocyty) lub też ich prekursorzy. Materiał włóknisty może również zawierać czynnik aktywny chemiczny, biologiczny, mineralny z licznej grupy środków wspomagających proliferację komórek, przeciwmikrobowych, czynników wzrostu, hormonów, czy cytokin. Czynnik ten jest wprowadzany w postaci roztworu bądź cząstek bezpośrednio do roztworu przędzalniczego, a także na gotową matrycę włóknistą.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US 2011/0287082 A1** są znane wielowarstwowe, biodegradowalne materiały włókniste, składające się z co najmniej dwóch warstw, z których włókniste podłoże charakteryzuje się porowatością z zakresu 1–100 μm , natomiast pozostałe warstwy porowatością 2,0–50 μm . Poszczególne warstwy złączone są ze sobą poprzez obróbkę termiczną, chemiczną lub siłami adhezji. Materiał taki może mieć strukturę włókninową o zorientowanym -bądź nieuporządkowanym ułożeniu włókien. Włókna tworzące pierwszą warstwę powinny odznaczać się średnicą wielkości 2,0–2,8 μm , natomiast średnice włókien warstw kolejnych powinny zawierać się w przedziale 0,2–0,8 μm . Do wytworzenia warstw włóknistych proponuje się polimery biodegradowalne, jak PLA, PGA, PCL, PDO, TMC czy PEG. Poszczególne warstwy włókniste mogą być wykonane z różnych materiałów, przy czym co najmniej jedna powinna zawierać dodatek aktywny, który sprzyja procesowi gojenia się rany, na przykład insulina, witamina B, kwas hialuronowy, czynniki wzrostu oraz co najmniej jedna warstwa powinna być wykonana techniką elektroprzędzenia.

W opisie zgłoszenia patentowego **US nr 2009/0239302 A1** opisano wielowarstwowy materiał polimerowy, w którym warstwy polimerowe o strukturze trójwymiarowej są przełożone warstwami komórek o strukturze płaskiej. Warstwy polimerowe wytworzone są metodą depozycji „layer-by-layer” (LbL), natomiast komórki są nanoszone sposobem homogenicznym poprzez namaczanie, nanoszenia, natryskiwanie, czy też formowanie cienkich hydrożelowych filmów, ale także metodami heterogenicznymi, jak drukowanie, czy też nanoszenie punktowe. W celu zapewnienia przeżywalności i odpowiedniego funkcjonowania komórek, materiał polimerowy zawiera czynniki odżywcze, czynniki wzrostu, antyutleniacze, środki antybakteryjne, promotory przyczepności, związki immunosupresyjne, witaminy, DNA. Ponadto możliwe jest immobilizowanie na tym materiale komórek w celu zapewnienia odpowiedniej bioaktywności. Wśród metod immobilizacji proponuje się enkapsulację oraz wbudowanie w warstwę cienkiego hydrożelu.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2012/0093717 A1** są znane polimerowe materiały włókniste zawierające w matrycy włókien mikrosfery odpowiedzialne za kontrolowane uwalnianie jednego lub więcej czynników aktywnych biologicznie. Materiał włóknisty może być wytworzony z jednego lub więcej rodzajów włókien polimerowych o zróżnicowanych czasach degradacji, uzyskanych z polimerów,

takich jak PES, PU, białka, PEO, ich kombinacje. Jako środki aktywne przewiduje się stosowanie białek, leków, czynników wzrostu, enzymów, witamin. Materiał stanowi układ warstw włóknistych, z których każdą stanowią wzajemnie przeplecione włókna o średnicach zawierających się w przedziale 1 nm – 10 000 nm, między którymi unieruchomione są mikrosfery o wielkości od 0,01 μm do 100 μm , tworzące sieć włóknistą. Do otrzymywania tych materiałów włóknistych preferuje się metodę elektroprzędzenia z roztworu.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2010/0327494 A1** są znane wielowarstwowe włókniste podłoża do hodowli komórkowych, wytworzone z syntetycznych polimerów biodegradowalnych. Podłoża te, wykonane z włókien o rozmiarach mikrometrycznych, charakteryzują się strukturą morfologiczną o charakterze wysokoporowatym, fibrylarnym.

W opisie zgłoszenia patentowego **US nr 2010/0233115 A1** ujawniono wielowarstwowe włókniste podłoża do hodowli komórkowych. Polimerami do produkcji tych podłoży mogą być poliestry alifatyczne, PLA, PLA-co-PCL, PGLA, PVA, PTFE, PDO, kolagen, alginian, kwas hialuronowy.

Włókniste kompozyty przeznaczonych na odbudowę i zastępowanie macierzy tkanki kostnej, znane z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2009/0220605 A1**, wyróżniają się występowaniem w ich składzie demineralizowanych cząsteczek kości, z czego ilość niezdenaturyzowanego kolagenu wynosi przynajmniej 60%, oraz nanowłókien o rozmiarach rzędu submikronowego. W skład tych kompozytów mogą wchodzić również takie nanostruktury, jak syntetyczne bądź naturalne nanododatki, nanosfery, nanomicelle wytwarzane z kolagenu, żelatyny, alginianu, kwasu hialuronowego, chitozanu, apatytu, bio-szkła, czy też ich kompozycje. Ponadto kompozyty te mogą zawierać inne dodatki aktywne biologicznie, w tym mające działanie terapeutyczne czy też wspomagające odpowiedź komórkową, na przykład antybiotyki, białka, peptydy, czynniki wzrostu, DNA, RNA. Związki powyższe mogą być wbudowane w matrycę polimerową bądź też naniesione na jego powierzchnię. Matrycę włóknistą uzyskuje się metodą elektroprzędzenia, separacji fazowej lub samoorganizacji.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2008/0112998 A1** jest znane syntetyczne, wielowarstwowe podłoże do hodowli komórkowej, wytworzone metodą elektroprzędzenia, zawierające warstwy aktywne pomiędzy warstwami nanowłókien. Warstwy włókniste są wytworzone z biodegradowalnego i/lub bioresorbowalnego polimeru, na przykład PGLA, PLA PGA, kolagenu, żelatyny, kwasu hialuronowego, ich pochodnych. Warstwy te są ewentualnie wzbogacone o składniki bioaktywne – HAp, srebro, złoto czy nanododatki z substancjami leczniczymi. Modyfikatory mogą być dodane do roztworów przędzalniczych jak również naniesione na materiał włóknisty i rozmieszczone między włóknami. Warstwy tego kompozytu są wytworzone stopniowo, warstwa po warstwie, poprzez elektroprzędzenie matrycy włóknistej, przeniesienie jej, na wodne podłoże, depozycję na jej powierzchni jednej lub więcej warstw żywych komórek ssaków, a następnie powtarzanie tej procedury poprzez naniesienie kolejnych warstw polimerowych i żywych komórek.

Z opisu patentowego **US nr 8 039 258 B2** znane są podłoża do hodowli tkankowych, posiadające strukturę mikro- i nanoporowatą, uwarunkowaną istnieniem dwóch faz. Jedną z warstw materiału stanowi mikroporowata-struktura o porach zawierających się w przedziale wielkości 1 μm –2000 μm , która otrzymywana jest na drodze licznych operacji odlewania, liofilizacji, rozpylania lub też plecienia, tkania czy dziania. Nanoporowatą strukturę tworzy natomiast samozorganizowana warstwa peptydowa. Składniki użyte do wytwarzania takiego materiału mogą być zarówno z grupy biokompatybilnych (stal nierdzewna, kobalt, tytan i jego stopy, ceramika bioinertna), niebiodegradowalnych (poliestry alifatyczne, pochodne celulozy, PU, PS, PCV, PVA), biodegradowalnych (ceramika-demineralizowana kość, HAp, TCP, polimery - PLA, PGA, PGLA, PCL, PDO, celuloza, kolagen, PHB oraz ich kopolimery i kompozycje).

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2007/0269481 A1** znane jest biomimetyczne, wielowarstwowe podłoże nanowłókniste z biomolekułami zawartymi na jego powierzchni. Warstwy włókniste tego materiału są wyrównane i wytworzone różnymi metodami, w tym w drodze elektroprzędzenia z polimerów syntetycznych lub naturalnych, jak PLA, PGA, PGLA, PVA, kolagen, fibronektyna, alginian, kwas hialuronowy. Wielowarstwowy materiał może ponadto zawierać w swojej strukturze, wbudowane w matrycę bądź umieszczone na jej powierzchni, związane wiązaniami kowalencyjnymi bądź niekowalencyjnymi, różnego typu komórki (fibroblasty, komórki nerwowe, komórki śródbłonna), a także biomolekuły (kwasy nukleinowe, aminokwasy, cukry, lipidy) oraz farmaceutyczne środki pomocnicze.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2006/0200232 A1** znany jest bioaktywny, nanowłóknisty materiał, zawierający czynnik aktywny biologicznie, wytworzony metodą elektroprzędzenia. Materiał stanowi strukturę nanowłóknistą w formie cylindrycznej lub może być uzyskany jako podłoże na bazie nanowłókien, którego przynajmniej jednym ze składników jest biostabilna syntetyczna substancja. Zawiera

on także co najmniej jeden składnik czynny biologicznie. Do otrzymania struktury włóknistej tego materiału stosuje się PU, PGA, PA, PTFE, PE, PP. Jako substancje aktywne może zawierać czynniki antygrzybiczne, przeciwmikrobowe /bakteriostatyczne, przeciwbólowe, przeciwwirusowe oraz białka, w tym czynniki wzrostu. Materiał włóknisty jest otrzymywany metodą elektroprzędzenia.

Z opisu patentowego **US nr 8 048 446 B2** są znane nietkane włókniste podłoża komórkowe, wytworzone metodą elektroprzędzenia z mieszanin naturalnych i syntetycznych polimerów wraz z substancjami białkowymi. Materiały te są wytwarzane z polimerów biodegradowalnych, jak PGLA lub biopolimerów, jak żelatyna, czy elastyna. Ponadto materiał ten może zawierać substancje lecznicze, jak leki przeciwalergiczne, antyoksydanty, witaminy, czynniki wzrostu, substancje przeciwgrzybiczych, związki redukujące cholesterol.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2011/0229551 A1** są znane struktury włókniste z biodegradowalnych polimerów, do kontrolowanego uwalniania leków. Nietkana struktura, uzyskana metodą elektroprzędzenia, może zawierać wewnątrz bądź też na powierzchni antybiotyki lub leki przeciwdziałające, również antyciała, czynniki wzrostu, enzymy, DNA, RNA, hormony. Do produkcji tej struktury stosowane są PCL, PDO, PEO, PGA, PLA, PGLA, kolagen, żelatyna, jedwab, chitozan, celuloza czy kwas hialuronowy.

Ze zgłoszenia patentowego **US nr 2010/0303881 A1** znana jest kompozycja z włókien elektroprzędzonych z jednego lub więcej polimeru, zawierających jeden lub więcej składników aktywnych biologicznie. Warstwy włókniste tej kompozycji składają się ze zorientowanych bądź niezorientowanych włókien o średnicach zawierających się w przedziale od 100 nm do 1 μm . Jako polimery proponuje się związki syntetyczne, naturalne, na bazie białek, a także ich kombinacje. Czynniki biologicznie aktywne o działaniu leczniczym mogą być zawarte w ilości 5–10% wagowych i mogą to być molekuly, na przykład rybozomy, RNA, antyciała, czynniki wzrostu.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2009/0061496 A1** znane są, wytworzone metodą elektroprzędzenia, warstwy włókniste zawierające żywe, enkapsulowane organizmy, jak bakterie czy wirusy. Enkapsulowane organizmy żywe stanowią składnik roztworu przedziałniczego. Dodatkowym składnikiem roztworu przedziałniczego mogą być środki osmoregulujące (cukier, glicerol, glikol). Warstwy włókniste zawierają włókna o średnicy nie większej niż 5 μm , wytworzone z polimerów, takich jak PVA, PEG, PLA, PGA, PGLA.

Wielowarstwowa, wielofazowa struktura włóknista, uzyskana metodą elektroprzędzenia, zawierająca nie tylko składniki aktywne biologiczne, lecznicze, ale także żywe komórki jest znana z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2010/0292791 A1**. Pomimo swojej wielofazowości materiał taki zachowuje, ciągłość pomiędzy poszczególnymi fazami. Składnikami aktywnymi, zawartymi w matrycy polimerowej, poprawiającymi biogodność oraz bioaktywność implantu jest bioceramika, substancje bioaktywne (hormony, czynniki wzrostu), jak również żywe komórki (fibroblasty, chondrocyty, osteoblasty). Te ostatnie mogą być dodatkowo zlokalizowane w matrycy hydrożelowej. Materiał włóknisty jest wykonany z polimerów biodegradowalnych, jak poliestry alifatyczne, PLA, PGA, PDO, kolagen, alginian, chitozan.

Z opisu zgłoszenia patentowego **US nr 2010/0093093 A1** są znane trójwymiarowe podłoża do hodowli komórkowych, wytworzone metodą elektroprzędzenia. Do wytwarzania materiału tych podłoży stosuje się; PVA, PLA, PGA, PGLA, PEO, kolagen, elastyna, celuloza, PA, PAN, ich mieszanki. Ponadto do roztworu przedziałniczego dodaje się różnorodne modyfikatory, w tym czynne biologicznie.

Wielowarstwowy materiał medyczny przeznaczony na implant do wypełnień kości, zawierający warstwy włókniste z polimeru biodegradowalnego, a nadto czynnik wzrostu, lub lek, znamieny tym, że stanowi go układ trzech warstw, z których środkową stanowi warstwa porowata w postaci pianki z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej nie większej niż 400 g/m^2 , grubości nie większej niż 4 mm i średnicy porów nie większej niż 500 μm lub warstwa porowata w postaci membrany z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej nie większej niż 10 g/m^2 , grubości nie większej niż 50,0 μm i średnicy porów nie większej niż 50 μm . Zewnętrzne warstwy stanowią warstwy włókniny igłowanej z włókien klasycznych z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej 200–250 g/m^2 , połączone z membraną lub pianką techniką klejenia lub prasowania. Czynniki wzrostu lub lek, enkapsulowany w mikrosferach z biopolimeru, który stanowi alginian sodu, o średnicy większej od średnicy porów w piance lub membranie, jest osadzony na powierzchni warstwy pianki lub membrany. Średnica mikrosfer zawierających czynnik wzrostu lub lek równa 3–50 μm . Masa powierzchniowa membrany korzystnie jest równa 2,8 g/m^2 , grubość korzystnie jest równa 4,3 μm , zaś średnica porów

korzystnie jest równa 65,0 nm. Masa powierzchniowa pianki jest korzystnie równa 120–190 g/m², grubość korzystnie jest równa 1–2 mm, zaś średnica porów korzystnie jest równa 12–100 μm.

Materiał według wynalazku zawiera czynniki aktywne jedynie w warstwie środkowej membrany lub pianki, co wydłuża czas ich działania po implantacji oraz wpływa optymalnie na regenerację otaczającej implant tkanki. Odpowiednio zaprojektowana struktura materiału, zwłaszcza gradientowa wielkość porów, sprzyja nagromadzeniu enkapsulowanych czynników bioaktywnych w pobliżu warstwy środkowej implantu, co także wpływa na wydłużenie działania czynników bioaktywnych oraz pasywnie aktywuje komórki kości do osteogenezy.

Przedmiot wynalazku ilustrują poniższe przykłady.

Przykład 1

Włókna z kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie liniowej 6,02 dtex i długości cięcia 60 mm uformowano w postaci runa techniką zgrzeblarkową. Runo formowano na laboratoryjnej zgrzeblarce wałkowej firmy Befama. W celu lepszego rozluźnienia i wymieszania włókien, proces zgrzeblenia prowadzono dwukrotnie. Każdorazowo wielkość zasilania wynosiła 35 g/pole zasilacza. Masa runka elementarnego wynosiła 9,2 g.

W celu uzyskania masy powierzchniowej na poziomie 240 g/m² dokonano wielokrotnego warstwowania ranek elementarnych. Liczba złożonych runek wynosiła 28. Orientacja włókien w ranie – krzyżowa. Uformowane runo warstwowe wzmocniano w procesie igłowania igłami przetykowymi. Igłowanie wstępne prowadzono na igłownicy laboratoryjnej firmy Befama. Parametry igłowania: numer uiglenia 15x18x40x3 ½ RB, liczba przeigłowań 60 cm⁻², głębokość igłowania 12 mm.

Następnie formowano biodegradowalną membranę z kopolimeru laktydu i glikolidu. Kopolimer ten wytłaczano przy użyciu ekstrudera dwuślimakowego współbieżnego. Temperatury na kolejnych sekcjach wynosiły wzrastająco od 110°C do 170°C. Obroty ślimaka ustawiono na 70 rpm. Polimer przetłaczano przy użyciu pompy tworzywa z prędkością 5 rpm do głowicy szczelinowej o szerokości 200 mm i szczelinie 0,5 mm. Temperatura głowicy wynosiła 160°C. Uformowaną folię odbierano na chłodzony wał odbiorczy o temperaturze 15°C. Prędkość odbioru wynosiła 8 m/min. Uformowaną i schłodzoną folię odbierano na nawój.

Wytworzona membrana posiadała następujące parametry:

- masa powierzchniowa: 2,84 g/m²,
- grubość: 4,3 μm,
- wielkość porów: 65 nm.

Membranę zamykano pomiędzy dwoma warstwami włókniny igłowanej. Łączenie warstw prowadzono w procesie igłowania zasadniczego, przy parametrach igłowania: numer uiglenia 15x18x40x3 ½ RB, liczba przeigłowań 60 cm⁻², głębokość igłowania 12 mm, krotność igłowania 2 ze zmianą stron igłowania.

Otrzymany materiał posiadał następującą charakterystykę:

- masa powierzchniowa: 482,8 g/m²,
- grubość: 1,5 cm.

Następnie przeprowadzono enkapsulację czynnika wzrostu. W tym celu alginian sodu rozpuszczono w wodzie biologicznie czystej, pozbawionej obecności enzymów i innych związków mogących spowodować destrukcję białka, z utworzeniem roztworu o stężeniu 3%. Do 20 ml tego roztworu wprowadzono 50 μg insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF 1). Całość wymieszano mieszadłem magnetycznym w czasie 20 minut. Roztwór polimeru z czynnikiem wzrostu przetłaczano przez dyszę urządzenia do formowania mikrosfer, tworząc kulki o wymiarach od 3 do 50 μm. Zestalenie uformowanych mikrosfer prowadzono w kąpeli koagulacyjnej w postaci 10% roztworu węgla wapnia. Uzyskane mikrosfery płukano w wodzie destylowanej, a następnie tworzą wodną ich zawiesinę. Udział mikrosfer w zawiesinie wynosił 30%.

Otrzymaną zawiesinę nanoszono na zewnętrzną warstwę materiału medycznego, a następnie techniką podciśnieniową wprowadzano mikrosfery do wnętrza materiału tak, aby zatrzymały się na membranie. Odsączenie wody prowadzono podciśnieniowo. Po odsączeniu nadmiaru wody wielowarstwowy materiał medyczny pozostawiono do wysuszenia w temperaturze otoczenia.

Przykład 2

Włókninę igłowaną wykonano postępując jak w przykładzie 1.

Następnie formowano biodegradowalną gąbkę z kopolimeru glikolidu z L-laktydem (PLAGA) o masie molowej $M_w=200\ 000$ Da, zawierającej 84% mol L-laktydu i 16% mol glikolidu, $T_g=54^\circ\text{C}$, $T_m=157^\circ\text{C}$, $M_w=87\ 000$ g/mol. Kopolimer ten rozpuszczono w dichlorometanie o stężeniu 5% wt. Następnie dodano

glicerol w ilości 5% w stosunku do masy roztworu PLAGA oraz środek porotwórczy – stały chlorek sodu, w ilości 75% wt w stosunku do masy roztworu PLAGA. Składniki mieszano w naczyniu nie wchodzącym w reakcję z którymkolwiek ze składników. Otrzymany roztwór wylano na powierzchnię o wymiarach i kształcie żądanej pianki. Odparowanie dichlorometanu następowało w temperaturze otoczenia przez okres około 10 godzin, do momentu, gdy nastąpiło całkowite, swobodne oddzielenie wyrobu piankowego od podłoża. Następnie wymyło środek porotwórczy (chlorek sodu) stosując przemywanie wodą dejonizowaną. Płukanie prowadzono, aż do zaniku reakcji charakterystycznej na jony chlorkowe wobec azotanu srebra.

Wytworzona gąbka posiadała następujące parametry:

- masa powierzchniowa: 167,9 g/m²,
- średnia grubość: 1,8 μm,
- wielkość porów: 12,2 μm,
- chłonność cieczy testowej A wg. EN 13726-1:2005: 8,05 g_{cieczy}/g_{próby},
- sorpcja swobodna wody po czasie 8 h wg. EN13726-L2005: 8,388 g_{cieczy}/g_{próby}

Materiał piankowy umieszczono pomiędzy dwoma warstwami włókniny igłowanej i prasowano na prasie odzieżowej przy nacisku płyty grzewczej 0,25 MPa. Proces prasowania prowadzono w czasie 30 s w temperaturze 95°C. Uzyskany materiał włóknina/pianka/włóknina charakteryzował się następującymi właściwościami:

- masa powierzchniowa: 680,7 g/m²,
- grubość: 2,4 mm,
- chłonność cieczy testowej A wg. EN 13726-1:2005: CA= 10,515 g_{cieczy}/g_{próby},
- sorpcja swobodna wody po czasie t=8h wg. EN 13 726-1:2005:
- 10,245 g_{cieczy}/g_{próby}

Proces enkapsulacji czynnika wzrostu (IGF-1 – czynnik wzrostu insulinopodobny) przeprowadzono postępując jak w przykładzie 1. Otrzymaną zawiesinę nanoszono na zewnętrzną warstwę materiału medycznego, a następnie techniką podciśnieniową wprowadzano mikrosfery do wnętrza materiału tak, aby zatrzymały się na warstwie gąbki. Odsączenie wody prowadzono podciśnieniowo. Po odsączeniu nadmiaru wody, wielowarstwowy materiał medyczny pozostawiono do wysuszenia w temperaturze otoczenia.

P r z y k ł a d 3

Włókninę igłowaną wykonano postępując jak w przykładzie 1.

Następnie formowano biodegradowalną gąbkę postępując jak w przykładzie 2.

Materiał piankowy spryskano z jednej strony roztworem rozpuszczalnika o niskiej temperaturze wrzenia (dichlorometan) o stężeniu 75% i natychmiast do zwilżonej powierzchni przyłożono włókninę pod niewielkim naciskiem. Uzyskany układ dwuwarstwowy odwrócono i powtórzono proces natryskiwania rozpuszczalnika i ponownie przyłożono włókninę. Układ suszono w czasie 30 s w temperaturze 95°C.

Uzyskany materiał włóknina/pianka/włóknina charakteryzował się następującymi właściwościami:

- masa powierzchniowa: 598,3 g/m²,
- grubość: 3,6 mm,
- chłonność cieczy testowej, A wg. EN-13726-1:2005 : CA= 5.73 g_{cieczy}/g_{próby},
- sorpcja swobodna wody po czasie t=8h wg. EN13726-1:2005: 7,04 g_{cieczy}/g_{próby},

Następnie przeprowadzono enkapsulację leku o działaniu przeciwzapalnym. W tym celu alginian sodu rozpuszczono w wodzie z utworzeniem roztworu o stężeniu 5%. Do roztworu alginianu sodu wprowadzono 10% leku o działaniu przeciwzapalnym. Całość wymieszano mieszadłem magnetycznym w czasie 20 min. Roztwór polimeru z lekiem przetłaczano, przez dyszę urządzenia do formowania mikrosfer, tworząc kulki o wymiarach od 3 do 30 μm. Zestawianie uformowanych mikrosfer prowadzono w kąpeli koagulacyjnej w postaci 10% roztworu węglanu wapnia. Uzyskane mikrosfery płukano w wodzie destylowanej, a następnie tworzone wodną zawiesinę. Udział mikrosfer w zawiesinie wynosił 30%.

Otrzymaną zawiesinę nanoszono na zewnętrzną warstwę materiału medycznego, a następnie techniką podciśnieniową wprowadzano mikrosfery do wnętrza materiału tak, aby zatrzymały się na warstwie gąbki. Odsączenie wody prowadzono podciśnieniowo. Po odsączeniu nadmiaru wody, wielowarstwowy materiał medyczny pozostawiono do wysuszenia w temperaturze otoczenia.

Badania materiałów medycznych wykonanych w przykładach, przeprowadzone w Zakładzie Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu, wykazały brak działania cytotoksycznego w stosunku do komórek fibroblastów linia komórkowa L929. Badania prowadzone były zgodnie z wytycznymi norm PN-EN ISO 10993-5:2001 oraz PN-EN ISO 10993-12:2009

Część 12. Przeprowadzone badania wykazały, że wielowarstwowy materiał medyczny z wprowadzonymi mikrokapsułkami zawierającymi IGF stymuluje wzrost komórek fibroblastów w stosunku do materiału wielowarstwowego pozbawionego czynników IGF.

Badania implantacyjne wykonano zgodnie z normą PN-EN ISO 10993-6:2007 i normą PN-EN ISO 10993-12:2009 Część 12. Badania prowadzono na królikach rasy nowozelandzkiej. Wielowarstwowe materiały zawierające czynniki IGF, według wynalazku, wprowadzono do ubytków kości udowej. Zwierzęta w okresie obserwacji od 1 do 6 miesięcy zachowały bierną i czynną ruchliwość w stawie biodrowym, a rany pooperacyjne goiły się w sposób prawidłowy, przez rychłozrost. W preparatach histologicznych wokół wszczepionych materiałów wielowarstwowch według wynalazku była widoczna luźna tkanka łączna otaczająca poszczególne włókienka materiału. W otaczającej implant tkance kostnej ujawniała się aktywność osteoblastów, a w torebce tkankowej widoczne były fibroblasty, fibrocyty oraz dość liczne cienkościenne naczynia krwionośne. W miejscu kontaktu wielowarstwowego materiału według wynalazku ze szpikiem kostnym zaobserwowano głównie tkankę łączną. W czasie 6 miesięcznej obserwacji wszczepione materiały według wynalazku nie powodowały negatywnych zmian w organizmie klinicznym.

Zastrzeżenia patentowe

1. Wielowarstwowy materiał medyczny przeznaczony na implant do wypełnień, kości, zawierający warstwy włókniste z polimeru biodegradowalnego, a nadto czynnik wzrostu lub lek, **znamienny tym**, że stanowi go układ trzech warstw, z których środkową stanowi warstwa porowata w postaci pianki z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej nie większej niż 400 g/m^2 , grubości nie większej niż 4 mm i średnicy porów nie większej niż $500 \mu\text{m}$ lub warstwa porowata w postaci membrany z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej nie większej niż 10 g/m^2 , grubości nie większej niż $50,0 \mu\text{m}$ i średnicy porów nie większej niż $50 \mu\text{m}$, zaś zewnętrzne warstwy stanowią warstwy włókniny igłowanej z włókien klasycznych z polimeru biodegradowalnego w postaci kopolimeru laktydu i glikolidu, o masie powierzchniowej $200\text{--}250 \text{ g/m}^2$, połączone z membraną lub pianką techniką klejenia lub prasowania, przy czym czynnik wzrostu lub lek, enkapsulowany w mikrosferach z biopolimeru, który stanowi alginian sodu, o średnicy większej od średnicy porów w piance lub membranie jest osadzony na powierzchni warstwy pianki lub membrany.
2. Materiał według zastrz. 5, **znamienny tym**, że średnica mikrosfer zawierających czynnik wzrostu lub lek równa $3\text{--}50 \mu\text{m}$.
3. Materiał według zastrz. 5, **znamienny tym**, że masa powierzchniowa membrany korzystnie jest równa $2,8 \text{ g/m}^2$, grubość korzystnie jest równa $4,3 \mu\text{m}$, zaś średnica porów korzystnie jest równa $65,0 \text{ nm}$.
4. Materiał według zastrz. 5, **znamienny tym**, że masa powierzchniowa pianki jest korzystnie równa $120\text{--}90 \text{ g/m}^2$, grubość korzystnie jest równa $1\text{--}2 \text{ mm}$, zaś średnica porów korzystnie jest równa $12\text{--}100 \mu\text{m}$.

