

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **225858**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **404667**

(22) Data zgłoszenia: **12.07.2013**

(51) Int.Cl.

A61L 15/24 (2006.01)

A61L 15/32 (2006.01)

A61L 15/44 (2006.01)

A61L 15/64 (2006.01)

A61P 41/00 (2006.01)

(54) **Zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych wykonanej w technologii elektroprzędzenia do wytwarzania opatrunków neuroprotektyjnych do stosowania w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

19.01.2015 BUP 02/15

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.05.2017 WUP 05/17

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT PODSTAWOWYCH PROBLEMÓW TECHNIKI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Warszawa, PL
INSTYTUT MEDYCZYNY DOŚWIADCZALNEJ
I KLINICZNEJ POLSKIEJ AKADEMII NAUK,
Warszawa, PL
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,
Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JAROSŁAW ANDRYCHOWSKI, Warszawa, PL
MAŁGORZATA MIROŚŁAWA
FRONTCZAK-BANIEWICZ, Sulejówek, PL
ZBIGNIEW MARIA CZERNICKI, Warszawa, PL
DOROTA ANNA GOŁĄBEK-SULEJCZAK,
Warszawa, PL
TOMASZ KOWALCZYK, Zielonka, PL
TOMASZ ALEKSANDER KOWALEWSKI, Warszawa, PL
PAWEŁ NAKIELSKI, Antonie, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Grzelak

PL 225858 B1

Opis wynalazku

Dziedzina techniki

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych wykonanej w technologii elektroprzędzenia do wytwarzania opatrunków neuroprotektoryjnych do stosowania w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu, szczególnie patologicznym zmianom w parenchymie mózgowej.

Stan techniki

Urazowe uszkodzenie mózgu (Traumatic Brain Injury – TBI) oraz jego konsekwencje stanowią poważny problem dla zdrowia publicznego na całym świecie. Następstwa urazu są główną przyczyną zgonów lub ciężkich uszkodzeń neurologicznych. Jedną z konsekwencji urazów lub uszkodzeń wynikających z dostępow neurochirurgicznych (np. powstałych podczas usuwania guzów mózgu) jest tworzenie blizny. Proces bliznowacenia może utrudniać prawidłowe gojenie oraz funkcjonowanie mózgu. Objawy neurologiczne wymagają długotrwałego leczenia farmakologicznego, powodując postępującą degradację stanu zdrowia skutkującą dużymi kosztami społecznymi.

Znane są z opisu patentowego PL 395 894 sposób wytwarzania oraz zastosowanie siatki izolacyjnej z resorbowalnych nanowłókien wykonanych w technologii elektroprzędzenia do zapobiegania bliznowaceniu po operacjach neurochirurgicznych. Zgłoszenie PL 395 894 dotyczy jednak operacji wykonywanych jedynie w obrębie kręgosłupa w celu pasywnego zapobiegania bliznowaceniu. Zgłoszenie PL 395 894 nie dotyczy zastosowania siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych z substancjami neuroprotektoryjnymi α -tokoferolem, NGF i/lub BDNF w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu.

Streszczenie wynalazku

Celem wynalazku jest zapewnienie rozwiązania umożliwiającego modyfikację formowania blizny po uszkodzeniu mózgu, zahamowanie neurodegeneracji oraz śmierci komórek nerwowych poprzez izolowanie uszkodzonej tkanki, zapewnienie działania neuroprotektoryjnego. Twórcy wykazali nieoczekiwane neuroprotektoryjne właściwości siatek z nanowłókien polimerowych otrzymywanych w polu elektrostatycznym jako aktywnego opatrunku zapobiegającego patologicznym zmianom w parenchymie mózgowej. Dodatkowym czynnikiem wspomagającym neuroprotekcję jest zastosowanie substancji aktywnych takich jak antyoksydanty, które eliminują wolne rodniki, jak również czynników troficznych dla komórek nerwowych np. NGF (Neural Growth Factor) oraz BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor).

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych do wytwarzania opatrunków neuroprotektoryjnych do stosowania w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu, charakteryzujące się tym, że siatka izolacyjna wykonana jest w technologii elektroprzędzenia z bioresorbowalnych materiałów z kopoliestrów kwasu mlekowego zawierających do 100% jednostek strukturalnych kwasu mlekowego i/lub do 50% jednostek strukturalnych innych hydroksykwasów, przy czym inne hydroksykwasy wchodzące w skład siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych wybrane są z poli(glikolidu) (PGLA) i poli(kaprolaktonu) PLCL, przy czym siatka dodatkowo obejmuje α -tokoferol w ilości do 85%, czynnik wzrostu nerwów NGF w ilości do 1% i/lub czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego BDNF w ilości do 1%.

W korzystnym przykładzie wykonania wynalazku, kopoliester kwasu mlekowego stanowi Poli(L-laktyd-co-kaprolakton) (PLCL) zawierający 70% jednostek L-laktydu i 30% kaprolaktonu.

W przykładzie wykonania siatka izolacyjna z nanowłókien polimerowych stosowana jest jako materiał opatrunkowy przy operacjach neurochirurgicznych, szczególnie w obrębie kory mózgowej.

Siatka z nanowłókien polimerowych do zastosowania według wynalazku otrzymywana jest metodą przędzenia elektrostatycznego, w której strugi roztworu polimeru zostają rozciągnięte w polu elektrycznym do wymiaru ułamków mikrometra. Osiadająca na kolektorze nanowłóknina tworzy strukturę wykorzystywaną do formowania porowatej siatki zabudowanej z odpowiednio ukierunkowanych nanowłókien.

Siatka jest wytwarzana z biodegradowalnych poliestrów posiadających atesty biomedyczne, takich jak poli(L-laktyd) i jego kopolimery z poli(glikolidem) PGLA i poli(L-laktyd-co-kaprolakton) PLCL. W korzystnym przykładzie wykonania, siatka zawiera dodatkowo składniki aktywne: α -tokoferol, NGF oraz BDNF. Twórcy wykazali, że nanostruktura materiału siatki stanowi izolację bakteryjną dla chronionego miejsca, umożliwiając jednocześnie przechodzenie substancji odżywczych, tlenu i metabolitów, co dobrze wpływa na proces gojenia się uszkodzonych obszarów mózgu. Wykazano też, że uwalniany się podczas biodegradacji materiału izolacyjnego kwas mlekowy nie wpływa negatywnie na otaczające tkanki w tym na tkankę nerwową.

Typowa grubość stworzonej z nanowłókien siatki wynosi 0,100 mm, przy porowatości rzędu 80%. Fragmenty siatki o wymiarach 3 x 3 mm po zabiegu sterylizacji w atmosferze tlenu etylenu są wykorzystywane jako bariera wzrostu blizny pooperacyjnej.

Opatrunki z nanowłókien umieszczane są na uszkodzonej korze mózgowej w sposób uniemożliwiający ich przemieszczanie.

Twórcy wykazali, że zastosowanie siatki nie wywołuje odczynu zapalnego. Ogranicza napływ makrofagów do obszaru uszkodzenia i modyfikuje formowanie blizny gлевой. Powstała blizna jest znacznie cieńsza i ma uporządkowaną strukturę w porównaniu z blizną tworzącą się na powierzchni kory mózgowej nie zaopatrzonej po operacji siatką z nanowłókien.

Niniejszy opis ujawnia więc zastosowanie aktywnych opatrunków wykonanych w technologii elektroprzędzenia przez wykorzystanie degradowalnych polimerów opartych na kwasie mlekowym do operacji neurochirurgicznych. Ujawniono zastosowanie elektroprzędzonych opatrunków jako materiału izolacyjnego oraz neuroprotekcijnego w operacjach neurochirurgicznych mózgu charakteryzujące się tym, że:

1. Siatki są wykonane w technologii elektroprzędzenia.
2. Siatki są wykonane z bioresorbowalnych materiałów, szczególnie z kopoliestrów kwasu mlekowego zawierających do 100% jednostek strukturalnych kwasu mlekowego i do 50% jednostek strukturalnych innych hydroksykwasów, bardziej szczególnie 70% jednostek kwasu L-laktydu i 30% kaprolaktonu, poli(L-laktyd-co-kaprolakton) PLCL.
3. Siatki posiadają składnik aktywny α -tokoferol w ilości do 85%, czynnik wzrostu nerwów NGF w ilości do 1% oraz czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego BDNF w ilości do 1%.
4. Siatki są używane jako materiał opatrunkowy w operacjach neurochirurgicznych, szczególnie w obrębie kory mózgowej.

Przykłady

Przykład 1

Opracowaną metodę zapobiegania bliznowaceniu po operacjach neurochirurgicznych mózgu sprawdzono na szczurzym modelu uszkodzenia neurochirurgicznego kory mózgowej (model TBI/SBI) polegającego na usunięciu jej fragmentu. Operacja polega na kraniotomii i następnie wycięciu fragmentu kory somato-sensorycznej. Konsekwencją takiego urazu jest formowanie się blizny na powierzchni uszkodzonej kory mózgowej.

Jako materiał użyto poli(L-Laktyd-co-kaprolakton, 70% L-laktyd, 30% kaprolakton) PLCL (Purasorb 7015, Purac biochem bv, Gorinchem, Holandia). Jest to materiał o obniżonej szybkości biodegradacji (w porównaniu z niemodyfikowanym poli-L-faktydem). Materiał ten ma dopuszczenia medyczne do systemów uwalniania leków i protez. Materiał rozpuszczono w układzie chloroform (CHCl_3)/dimetyloformamid (DMF). Przykładowy masowy skład roztworu PLCL - 500 mg, CHCl_3 - 4700 mg, DMF- 300 mg.

Jako składnika aktywnego użyto α -tokoferolu oraz białka NGF i BDNF. Zawartość α -tokoferolu w nanowłókninach wynosiła od 0,25 mg do A mg na 1 cm^2 siatki. Zawartość NGF i BDNF w siatce wynosiła około 10 ng na 1 cm^2 .

Do tworzenia siatek wykorzystano zestaw do elektroprzędzenia składający się z: zasilacza z regulowanym napięciem wyjścia DC 0–30 kV, pompy strzykawkowej i zestawu hydraulicznego.

Roztwór materiału po rozpuszczeniu przechowywany był przynajmniej 12 godzin dla odseparowania i spęczenia łańcuchów polimeru. Używano napięcia 15 kV, a odległość targetu wynosiła 20 cm. Wydatek pompy miał wartość 0,8 ml/h. Materiały przygotowywane były w temperaturze pokojowej (ok. 22–24°C).

Materiał zbierany był na kwadratową folię aluminiową o wymiarach 3 cm na 3 cm. Folia umieszczona była na walcu, który poruszał się ruchem posuwisto zwrotnym. Dla uniknięcia kurczenia i zwijania się materiału, pozostawiano go na bębnie przez przynajmniej 24 godziny.

Przygotowana siatka poddawana była kontroli jakości z zastosowaniem mikroskopu elektronowego. Gotowa siatka była cięta na kwadraciki o wymiarach ok. 3 mm x 3 mm, które umieszczano w torebkach do sterylizacji, a następnie odkażano tlenkiem etylenu.

Kraniotomia została wykonana na grupach szczurów. Po wykonaniu neurochirurgicznego uszkodzenia kory mózgowej na powierzchni rany, zaaplikowano siatkę z nanowłókien wytworzoną metodą elektroprzędzenia jak opisano powyżej.

Materiał tkankowy, uzyskany, w różnym czasie po wykonaniu zabiegu kraniotomii i aplikacji, siatki, poddano analizie morfologicznej i immunohistochemicznej (mikroskopia świetlna, fluorescencyjna) oraz ultrastrukturalnej (transmisyjna mikroskopia elektronowa, TEM). Analiza pobranego materiału

wykazała zmniejszenie stopnia neurodegeneracji w porównaniu do grupy szczurów, u których nie, zastosowano siatek z nanowłókien. Badania immunohistochemiczne wykazały brak reakcji zapalnej, brak lub jedynie pojedyncze makrofagi w obrębie tkanki przyrannej. Zauważono nieznaczną hipertrofię astrocytów oraz formowanie się ledwie widocznej blizny glejowej przy powierzchni uszkodzonej kory mózgowej. Blizna ta była bardzo cienka, a jej struktura uporządkowana (ukierunkowana).

Przedstawiony wynik stanowi podstawę do zastosowania metody będącej przedmiotem zastrzeżenia w operacjach chirurgicznych człowieka. Przeprowadzone badania wskazują, że zastosowanie będących przedmiotem zastrzeżenia siatek izolacyjnych wykonanych metodą elektroprzędzenia:

- 1 – nie uszkadza tkanki,
- 2 – nie wywołuje odczynu zapalnego oraz ogranicza śmierć komórek nerwowych,
- 3 – jest skuteczną barierą hamującą powstawanie blizny glejowej i neurodegenerację.

Zastrzeżenia patentowe

1. Zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych do wytwarzania opatrunków neuroprotekcyjnych do stosowania w zapobieganiu pourazowym zmianom w mózgu, przy czym siatka izolacyjna wykonana jest w technologii elektroprzędzenia z bioresorbowalnych materiałów z kopoliestrów kwasu mlekowego zawierających do 100% jednostek strukturalnych kwasu mlekowego i/lub do 50% jednostek strukturalnych hydroksykwasów wybranych z poli(glikolidu) (PGLA) i poli(kaprolaktonu) PLCL, przy czym siatka dodatkowo obejmuje α -tokoferol w ilości do 85%, czynnik wzrostu nerwów NGF w ilości do 1% i/lub: czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego BDNF w ilości do 1%.

2. Zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że kopoliestry kwasu mlekowego stanowi poli(L-laktyd-co-kaprolakton) (PLCL) zawierający 70% jednostek L-laktydu i 30% kaprolaktonu.

3. Zastosowanie siatki izolacyjnej z nanowłókien polimerowych według zastrz. 1–2, **znamiennie tym**, że siatka izolacyjna z nanowłókien polimerowych stosowana jest jako materiał opatrunkowy w operacjach neurochirurgicznych, szczególnie w obrębie kory mózgowej.