

Sposób wytwarzania opatrunku zawierającego błonę owodniową

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania opatrunku zawierającego błonę owodniową, przeznaczonego do stosowania w medycynie regeneracyjnej, estetycznej i kosmetologii, w tym na rany przewlekłe i oparzeniowe.

W medycynie, w przypadku leczenia chorych z niewielkimi uszkodzeniami skóry, podstawową interwencją medyczną jest użycie opatrunku. Zastosowanie optymalnego opatrunku jest kluczowe w procesie gojenia się ran skóry. Do tradycyjnych opatrunków stosowanych w medycynie zalicza się plastry, bandaże i gazy. Rolą tych środków jest zabezpieczenie rany przed zabrudzeniem i urazami mechanicznymi.

Specjalistycznym opatrunkom, jak wskazano m.in. w publikacji T. D. Turner, pt.: „The Development of Wound Management Products”, Wounds, 1989, vol 1, No 3, str. 155-171, stawiane są znacznie większe wymagania, a ich rola nie ogranicza się wyłącznie do mechanicznego zabezpieczenia rany. Dodatkową rolą takich opatrunków może być m.in. wspomaganie procesu gojenia i minimalizowanie powikłań. Zapewniają one odpowiednią wilgotność rany dzięki wchłanianiu wydzieliny i jednocześnie pozwalają na utrzymanie optymalnej temperatury rany sprzyjającej fizjologicznemu gojeniu. Właściwości jakie powinien wykazywać nowoczesny opatrunek zostały przedstawione np. w publikacji J. Dissemond i in. pt.: „Modern wound care – practical aspects of non-interventional topical treatment of patients with chronic wounds”, J Dtsch Dermatol Ges., 2014, 12, str. 541-554, a mianowicie powinien być wykonany z materiałów nietoksycznych, zapewniać wilgotne środowisko rany oraz optymalną temperaturę, przyspieszać naskórkowanie, angiogenezę tj. proces powstawania sieci naczyń włosowatych i regenerację tkanki łącznej, umożliwiać przenikanie gazów, tworzyć sterylne środowisko i stanowić barierę dla infekcji. Ponadto nowoczesny

opatrunek nie powinien ulegać adhezji do rany, powinien wspierać migrację leukocytów i stymulować wydzielanie enzymów. Dodatkowo opatrunek powinien umożliwiać łatwe jego przycięcie do pożądanego kształtu oraz łatwe formowanie.

Wiele z wad, które posiadają tradycyjne opatrunki np. wrastanie w ranę niezaimpregnowanych włókien, wysychanie rany ze względu na zbyt dużą przepuszczalność gazów czy też przeciwnie, niedostateczne wchłanianie wydzieliny z ran wysiękowych, może być wyeliminowanych dzięki zastosowaniu materiałów wykazujących optymalne dla opatrunków właściwości. Do opatrunków o właściwościach zbliżonych do optymalnych można zaliczyć coraz szerzej obecnie stosowane opatrunki w postaci pianek, hydrokoloidów, impregnowanych gaz i opatrunków pokrytych metalicznym srebrem, oparte o m. in. alginiany, skrobię i hydrożele polimerowe.

Znaną alternatywą dla tradycyjnych opatrunków jest także wykorzystanie w konstrukcji opatrunków błon płodowych, dzięki którym opatrunek może spełnić wiele z wcześniej wymienionych wymagań stawianych nowoczesnym materiałom opatrunkowym. Owodnia jest jedną z błon płodowych otaczających zarodek ptaków, gadów oraz ssaków, w tym człowieka. Jest to cienka, półprzepuszczalna tkanka, stanowiąca wewnętrzną warstwę pęcherza płodowego. Z kolei pęcherz płodowy jest to worek zbudowany z pozalozyskowych błon płodowych (owodnia, kosmówka, doczesna) otaczający płód i wypełniony płynem owodniowym (wodami płodowymi). Owodnia oddziela wody płodowe od pozostałych błon płodowych, zapewnia odpowiednie środowisko i chroni zarodek przed mechanicznym uszkodzeniem. Właściwości błony owodniowej decydują o funkcji, którą jest ochrona organizmu przed zakażeniami bakteryjnymi, redukcja utraty białek, płynów i elektrolitów.

Znane są metody przygotowania błony owodniowej, pozwalające na jej wykorzystanie w opatrunkach. Łożysko odzwierzęce będące odrzutem biologicznym można pozyskać np. od loch podczas porodu. Następnie

płucze się je w roztworze soli fizjologicznej lub w wodzie do wstrzyknięć tj. sterylnej wodzie o bardzo wysokiej czystości i parametrach zgodnych z regulacjami podanymi w Pharmacopeia XI. W kolejnym etapie mechanicznie oddziela się błonę owodniową od warstwy kosmówkowej, płucze w wodzie i usuwa nadmiar krwi i śluzu oraz poddaje odkomórczaniu (pozbyciu się komórek). Odkomórczanie błony owodniowej jak opisano m.in. w publikacji He i in., pt. "Comparison of decellularization methods for human corneal lenticule", Acta Ophthalmologica Volume 90, Issue s. 249 September 2012, można przeprowadzić z wykorzystaniem metody chemicznej, fizycznej oraz metody mieszanej. Chemiczna metoda usuwania komórek może zostać przeprowadzona z zastosowaniem detergentów na przykład: z wykorzystaniem wodnego roztworu Triton-X o stężeniu 3% albo wodnego roztworu SDS (laurylosiarczan sodu) o stężeniu 0,1%. W metodzie enzymatycznej można wykorzystać gotowe odczynniki np. Tryple 1x stężony albo 2,4 U/ml Dispaza. W metodzie fizycznej stosowane jest zamrażanie ciekłym azotem w niskiej temperaturze np. -196°C . Procedura mieszana odkomórczania obejmuje dwa etapy: w pierwszym etapie przeprowadza się procedurę enzymatycznego usuwania komórek, a następnie należy przeprowadzić procedurę chemiczną. Przygotowaną owodnię pakuje się próżniowo i przechowuje w niskiej temperaturze, zwykle -80°C do momentu jej użycia.

Błona owodniowa jest bogata w składniki odżywcze i posiada niską immunogenność, przez co dość często wykorzystywana jest jako opatrunek w leczeniu uszkodzeń skóry. W przypadku zastosowania jako opatrunek, owodnia zmniejsza ból związany z oparzeniami i przyspiesza gojenie ran. Przygotowując opatrunek z błony owodniowej jak opisano w publikacji J.T. Tyszkiewicz i in. pt.: „Amnion allografts prepared in the Central Tissue Bank in Warsaw”, Ann Transplant. 1999;4(3-4):85-90 należy zwrócić uwagę, aby nabłonkowa strona owodni znajdowała się bezpośrednio na siatce lub innym nośniku. Strona nabłonkowa owodni jest to wewnętrzna strona owodni, która składa się z pojedynczej warstwy

komórek nabłonkowych, równomiernie rozmieszczonych na błonie podstawnej. Po nałożeniu na ranę, strona nabłonkowa powinna być skierowana na zewnątrz rany, ponieważ sprzyja to migracji, adhezji i proliferacji komórek pacjenta, stymulując tym samym naskórkowanie.

W literaturze patentowej opisane są sposoby wytwarzania opatrunków, w których skład wchodzi błona owodniowa lub inna błona płodowa. Do otrzymywania opatrunków stosuje się owodnię w wielu postaciach m.in. płatów, kawałków, liofilizatów, a nawet w formie roztworu z zawieszoną substancją czynną. Błona owodniowa może być sieciowana i stosowana w takiej formie jako opatrunek lub może być umieszczona na warstwie podkładu.

W opatrunkach najczęściej stosuje się błonę owodniową w postaci pojedynczej, usztywnionej warstwy lub laminatu złożonego z kilku warstw błony owodniowej, niejednokrotnie z innymi błonami płodowymi. Opatrunki tego typu mogą być produkowane zarówno z użyciem kleju jak i bez jego udziału.

Znane są rozwiązania obejmujące otrzymywanie usztywnionych warstw owodni poprzez sieciowanie włókien kolagenowych.

W opisie patentowym US9855301 B1 ujawniono laminat wytworzony z tkanek pochodzenia ludzkiego, zawierający korzystnie dwie sklezione błony owodniowe, które przed użyciem myje się, zanurza się na około 15 minut w 0,1% roztworze aldehydu glutarowego w celu usieciowania błon i traktuje kompozycją alkoholową, korzystnie zawierającą etanol, w celu odmycia resztek nieprzereagowanego aldehydu glutarowego. Laminat w stanie mokrym pakuje się i sterylizuje za pomocą promieniowania jonizującego. Opatrunek w takiej formie stosowany jest do regeneracji lub zastępowania uszkodzonych tkanek, a umieszczony na lub wokół rany przyspiesza gojenie, zapobiega tworzeniu się skrzepów i powstawaniu blizn.

Znany jest z opisu patentowego US9585983 B1 opatrunek na rany wykonany z błony owodniowej ludzkiej oraz sposób obróbki błon

owodniowych w celu utworzenia tego opatrunku. Błony owodniowe zanurza się na około 15 minut w 0,05 - 3% roztworze aldehydu glutarowego w celu usieciowania błon i traktuje kompozycją zawierającą od 90% do 99% wagowych etanolu, po czym przepłukuje sterylnym roztworem soli fizjologicznej. Opatrunek pakuje się, a następnie sterylizuje promieniowaniem gamma lub napromieniowuje wiązką elektronów. Stosuje się go zwłaszcza na rany powstałe w wyniku rozdarcia skóry, na rany cukrzycowe, odleżyny, owrzodzenia żyłne nóg, rany powstające przy lub wokół tkanki nerwowej, na uszkodzenia jamy ustnej oraz uszkodzenia powierzchni oka.

Znany jest także ze zgłoszenia patentowego CA2826359 A1 usieciowany przeszczep tkankowy o dobrej przyczepności do tkanki biologicznej, stosowany na rany oraz sposób jego wytwarzania. Przeszczep występuje w postaci laminatu i może zawierać dwie warstwy owodni, z których co najmniej jedna jest usieciowana, dwie lub więcej warstw kosmówki lub co najmniej jedną warstwę owodni i jedną kosmówki, z których jedna jest usieciowana. W innym wykonaniu owodnia i kosmówka są usieciowane. Środek sieciujący zawiera cukier, dialdehyd, epoksyd, hydrazyd lub karbodiimid. Pomędzy owodnią, a kosmówką mogą znajdować się ponadto inne warstwy. Przeszczep tkankowy jest wytworzony następująco: w pierwszej kolejności czyści się łożysko, oddziela warstwy tkanki kosmówki z owodni, usuwa komórki nabłonka i traktuje środkiem sieciującym. Następnie suszy się rozciągniętą błonę na powierzchni szklanej w urządzeniu suszącym. Prowadzi się proces suszenia w temperaturze od 35 do 50°C przez okres od 30 minut do kilku dni. Podczas odwadniania urządzenie suszące może wyłaczać strukturę na błonie. W końcowym etapie przeszczep docina się, pakuje i poddaje sterylizacji.

Najczęściej wykorzystywanym środkiem sieciującym błonę owodniową jest aldehyd glutarowy, jednak stosowane są również inne środki sieciujące takie jak np. karbodiimidy, dwufunkcyjne oksirany, oraz

cukry. Ogólny schemat otrzymywania usieciowanej błony owodniowej opisany np. w zgłoszeniu WO2013095830A1 przedstawić można w następujący sposób: wcześniej odkomórczoną błonę owodniową opcjonalnie odwodnia się w bezwodnym alkoholu etylowym i liofilizuje. Następnie błonę owodniową umieszcza się w naczyniu o dużej powierzchni zawierającym roztwór środka sieciującego w zakresie stężeń od 0,005 M do 5 M i moczy przez okres od 2 sekund do 60 minut, w temperaturze od 20°C do 50°C, mieszając roztwór. Środek sieciujący zawiera cukier, dialdehyd, epoksyd, hydrazyd lub karbodiimid. Po usieciowaniu owodnia może być złożona z innymi warstwami, aby uzyskać laminat, a następnie wysuszona.

W zgłoszeniach patentowych WO201382412 A1 i US20030187515 A1 przedstawiono sposób wytwarzania opatrunku składającego się z jednej lub kilku warstw zawierających elementy łożyska, które po złożeniu ze sobą są odwadniane i liofilizowane lub suszone pod ciśnieniem w celu zwiększenia trwałości błony i ułatwienia manipulacji nią.

Wynalazek ujawniony w zgłoszeniu WO201382412 A1 dotyczy usieciowanego przeszczepu tkankowego wytworzonego przez chemiczne odwadnianie i suszenie sublimacyjne tkanki łożyska. Przeszczep ma wiele zastosowań medycznych, w tym gojenie ran. Tkanki łożyska najpierw czyści się mechanicznie, aby usunąć zakrzepy krwi i inne zanieczyszczenia. Korzystnie, przed etapem odwadniania elementy łożyska moczy się w roztworze antybiotyku i/lub detergentu. Odwadnianie chemiczne polega na kontaktowaniu tkanki łożyska z polarnym rozpuszczalnikiem organicznym, przez taki czas, aby w znacznym stopniu lub całkowicie usunąć resztkową wodę obecną w tkance łożyska. Polarny rozpuszczalnik organiczny stanowi najczęściej alkohol, keton, eter, aldehyd lub dowolna kombinacja tych związków. Następnie tkankę łożyskową liofilizuje się w temperaturze od -50°C do -80°C.

Z kolei w zgłoszeniu patentowym US20030187515 A1 opisano sposób wytwarzania membrany z łożyska, zawierającej suchą i

odkomórczoną błonę owodniową, korzystnie ludzką, do stosowania u ludzi, ale też zwierzęcą dla zastosowań w weterynarii. Membrana może być przechowywana w temperaturze pokojowej i stosowana do celów medycznych, w szczególności w chirurgii oka. Można stosować ją jako pojedynczą warstwę opatrunku na rany lub oparzenia, w celu wspomaganie procesu gojenia. Można połączyć kilka błon owodniowych w laminat pod ciśnieniem, można też wytworzyć strukturę trójwymiarową i wypełnić ją komórkami np. macierzystymi. Sposób wytwarzania membrany polega na oddzieleniu błony owodniowej od błony kosmówkowej, usunięciu żywych komórek z błony owodniowej poprzez skrobanie po obu jej stronach, przemycie w wodzie lub 0,9%, roztworze soli fizjologicznej i następnie jej wysuszeniu. Suszenie prowadzi się pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze od 45°C do 50°C przez około 60 minut.

Znane są również rozwiązania dotyczące kompozycji do leczenia ran oraz regeneracji tkanek, które zawierają owodnię w innych postaciach np. proszku, zawiesiny, roztworu, maści, aerozolu, gąbki, siatki, czy też pianki. Formulacja taka często umieszczana jest na szkielecie wykonanym np. z hydrożelu zawierającego biopolimer. Rozwiązania te są ujawnione m.in. w zgłoszeniach CA2963273 A1, WO2015134936 A1, US20140342015 A1, WO201440026 A2.

Znane rozwiązania opatrunków zawierających błonę owodniową, zwykle wymagają jej obróbki związanej z użyciem substancji chemicznych, która to obróbka może prowadzić do zmiany charakteru chemicznego lub uszkodzenia struktury fizycznej błony owodniowej. Ponadto wytworzenie opatrunku jest procesem długotrwałym, wieloetapowym i często wymaga stosowania specjalistycznej aparatury i skomplikowanych procedur oraz drogich substratów.

Okazało się, że opatrunek zawierający błonę owodniową można wytworzyć dużo prostszym, jednoetapowym sposobem, bez konieczności stosowania wysoce specjalistycznej aparatury oraz dodatkowych substancji chemicznych, które mogą zmieniać właściwości błony

owodniowej i w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia jej korzystnego wpływu na ranę.

Istota sposobu wytwarzania opatrunku kompozytowego zawierającego błonę owodniową, pozyskaną z łożyska odzwierzęcego, zespoloną z warstwą podkładu polimerowego, który to opatrunek przed sterylizacją poddaje się ewentualnie perforacji, charakteryzuje się tym, że formuje się nieusieciowany, wysuszony podkład polimerowy o grubości od 0,01 do 1 mm, wytworzony z co najmniej jednego biozgodnego polimeru, rozpuszczalnego w wodzie i zdolnego do sieciowania radiacyjnego, który jednostronnie zwilża się równomiernie wodą w ilości od 50 do 200 mg/cm², w celu rozpuszczenia wierzchniej warstwy podkładu i ułatwienia nietrwałego przyłączenia do niego błony owodniowej. Następnie, na zwilżoną stronę podkładu nakłada się w temperaturze od 10 do 35°C, odkomórczoną błonę owodniową w postaci arkusza lub sproszkowanej i obie warstwy dociska się do siebie, przy czym przed dociśnięciem ich usuwa się ewentualne pęcherzyki powietrza spomiędzy warstw podkładu polimerowego i owodni oraz poddaje je działaniu promieniowania jonizującego, korzystnie pochodzącego z akceleratora liniowego lub bomby kobaltowej w dawce od 10 do 40 kGy, powodującej usieciowanie podkładu polimerowego i błony owodniowej, z utworzeniem węzłów międzysieciowych pomiędzy podkładem polimerowym, a błoną owodniową, które to węzły formują trwałe połączenia pomiędzy podkładem polimerowym, a błoną owodniową, a także sterylizację opatrunku. Dzięki zwilżeniu wodą warstwy podkładu polimerowego przed nałożeniem na niego wcześniej przygotowanej błony owodniowej, zachodzi wnikanie rozpuszczonej częściowo warstwy polimeru w pory błony owodniowej i zwiększenie adhezji pomiędzy warstwami opatrunku, lecz bez łączenia ich w sposób trwały. Natomiast skutek zastosowania promieniowania jonizującego, proces trwałego łączenia ze sobą warstw następuje dopiero po usieciowaniu radiacyjnym gotowego już opatrunku.

Następnie usuwa się z opatrunku wilgoć przez liofilizację, zamrażając go w temperaturze od -50 do -195°C , a następnie obniżając ciśnienie do wartości od 500 do 20 mTor bez kontroli temperatury.

W sposobie używa się błony owodniowej w postaci elastycznego arkusza o kształcie i wymiarach dopasowanym do podkładu polimerowego lub w postaci sproszkowanej, równomiernie rozsypanej na podkładzie polimerowym, w ilości 0,05 do 0,5 g na 100 cm^2 podkładu polimerowego.

Korzystnie dla uformowania podkładu polimerowego, wodny roztwór polimeru o stężeniu od 1 do 20% wagowych wylewa się na podłoże o niskim stopniu adhezji, najlepiej szklane lub metalowe, w ilości od 0,01 do $0,5\text{ cm}^3/\text{cm}^2$ i następnie suszy się wylaną warstwę w temperaturze od 15 do 45°C przez okres od 1 godziny do 5 dni.

Korzystnie jako polimer stosuje się poli(alkohol winylowy) i/lub poli(tlenek etylenu) i/lub poli(winylopirolidon). Są to polimery biozgodne w kontakcie z komórkami skóry i nie wykazują wobec nich działania toksycznego.

Korzystnie stosuje się błonę owodniową w postaci wilgotnego arkusza, mniejszego od arkusza podkładu polimerowego, przy czym krawędź arkusza błony owodniowej jest oddalona od krawędzi podkładu polimerowego o odległość od 0,2 do 0,5 cm. Alternatywnie stosuje się błonę owodniową w postaci suchego proszku, który jest rozsypany na powierzchni podkładu polimerowego w taki sposób, że krawędź powierzchni pokrytej błoną owodniową w postaci sproszkowanej jest oddalona od krawędzi podkładu polimerowego o odległość od 0,2 do 0,5 cm. Korzystnie używa się szablonu, ułatwiającego naniesienie sproszkowanej błony owodniowej na odpowiedniej powierzchni podkładu.

Korzystnie do podkładu polimerowego podczas jego wytwarzania lub do gotowego opatrunku bezpośrednio przed jego aplikacją dodaje się w ilości od 0,1 do 15% wagowych substancje czynne rozpuszczalne w wodzie lub występujące w postaciach umożliwiającym ich rozpuszczenie w wodzie.

Korzystnie jako substancje czynne stosuje się środki wspomagające leczenie obrażeń skóry takie jak kolistyna lub siarczan neomycyny lub siarczan gentamycyny.

Korzystnie wytwarza się opatrunek w komorze laminarnej lub w atmosferze bezpyłowej z zastosowaniem filtrowanych rozpuszczalników i roztworów.

Korzystnie przygotowaną wcześniej błonę owodniową przed użyciem jej do wytworzenia opatrunku, przechowuje się w temperaturze od -20°C do -150°C , co zapewnia jej przydatność do użycia przez okres od 3 miesięcy do 5 lat. Odpowiednio błonę przechowuje się przez okres do 3 miesięcy w temperaturze -20°C , przez okres do 3 lat w temperaturze -80°C , a przez okres do 5 lat w temperaturze -150°C .

Sposób według wynalazku wykorzystuje fakt, że podczas jednej operacji technologicznej obejmującej obróbkę radiacyjną opatrunku możliwa jest nie tylko sterylizacja i procesy sieciowania warstwy polimerowej oraz błony owodniowej, ale również immobilizacja błony owodniowej na podkładzie polimerowym, dzięki zachodzącemu pod wpływem promieniowania radiacyjnego zjawiska powstawania międzywarstwowych węzłów sieciowych. Sieciowanie między warstwą polimeru, a warstwą błony owodniowej zachodzi poprzez utworzenie węzłów sieci, wskutek rekombinacji utworzonych radiacyjnie rodników w kolagenie z błony owodniowej i w polimerze.

W znanych sposobach, immobilizacja błony owodniowej na podkładzie polimerowym wymagała przeprowadzenia kilkietapowego procesu z użyciem dodatkowych środków technicznych, co przedłużało i komplikowało proces produkcji opatrunków, a ponadto prowadziło często do uszkodzenia błony owodniowej i osłabiało jej właściwości lecznicze.

Natomiast w sposobie według wynalazku dla immobilizacji błony owodniowej i podkładu polimerowego nie są stosowane dodatkowe środki sieciujące, ani substancje adhezyjne. Wyklucza to potrzebę dodatkowych etapów operacji i ułatwia oraz przyspiesza proces otrzymywania

opatrunku. Pozwala też na uniknięcie ewentualnej reakcji alergicznej u pacjenta.

Opatrunek po aplikacji na ranę można unieruchomić za pomocą bandaża. Można również przykleić go do handlowo dostępnego opatrunku foliowego, takiego jak np. Suprasorb F 10x12 cm, który z jednej strony posiada warstwę przylepną. Opatrunek według wynalazku nakleja się od strony podkładu polimerowego na handlowo dostępny opatrunek, pozostawiając odkryte jego brzegi z klejem, co umożliwi przyklejenie ich do skóry pacjenta.

Sposób wytwarzania opatrunku zawierającego błonę owodniową objaśniono poniżej w praktycznych przykładach realizacji wynalazku oraz na rysunku, na którym pokazano w sposób schematyczny przebieg procesu.

Przykład 1

Rozpuszczono 10 g poli(alkoholu winylowego) w 90 cm³ wody, uzyskując lepki roztwór o stężeniu 10% wagowych. Następnie wylano 30 cm³ roztworu na czyste, wytrawione podłoże szklane. Warstwę pozostawiono do wolnego schnięcia, przez okres 5 dni w temperaturze 25°C. Po tym czasie uzyskano suchą warstwę polimerową o grubości 0,13 mm. Warstwę polimerową zdjęto z podłoża, a następnie przycięto w kwadrat o boku 10 cm. Z jednej strony zwilżono warstwę polimerową wodą w ilości 50 mg/cm².

Wcześniej przygotowaną, odkomórczoną oraz wilgotną błonę owodniową, przechowywaną do momentu przygotowania opatrunku w temperaturze -80°C, umieszczono na sterylnej powierzchni i przycięto w kwadrat o boku 9,6 cm.

Następnie nawinięto ją na wytrawiony szklany walec o takim obwodzie, że nawinięta na walec błona owodniowa tworzy tylko jedną warstwę, bez kontaktu jej brzegów po nawinięciu i na nim przeniesiono błonę

owodniową i rozwinięto na warstwę polimerową, w temperaturze 18°C, co pozwoliło na nałożenie błony owodniowej bez bąbli powietrza pomiędzy warstwami, bez specjalnego docisku.

Proces prowadzono w komorze laminarnej z zastosowaniem filtrowanych rozpuszczalników i roztworów.

Przygotowany opatrunek poddano działaniu wiązki szybkich elektronów, generowaną przez akcelerator typu Elektronika 10/10, w dawce 35 kGy. Źródłem elektronów było działo elektronowe, a emitowane elektrony były przyspieszane przez falę elektromagnetyczną do energii 10 MeV. Szybkość przesuwania się taśmy wynosiła 0,365 m/min. Oddziaływanie promieniowania spowodowało usieciowanie warstwy polimerowej oraz wytworzenie się węzłów sieci pomiędzy warstwą polimerową i błoną owodniową, a także sterylizację opatrunku.

Uzyskany opatrunek został poddany liofilizacji w celu przedłużenia okresu jego przydatności do użycia. Zamrażanie prowadzono przez 120 minut po ochłodzeniu do -50°C przy prędkości chłodzenia 1,16 °C/min. Wstępny etap suszenia prowadzono przez 360 min przy obniżonym ciśnieniu w komorze do 200 mTor i w temperaturze -20°C. Po wstępnym suszeniu prowadzono trójfazowe suszenie właściwe. W pierwszej fazie ciśnienie utrzymywano na poziomie 200 mTor, a temperaturę podniesiono do 0°C w tempie 3 °C/min i utrzymywano przez 360 min. W drugiej fazie utrzymywano ciśnienie na poziomie 200 mTor i temperaturę podwyższono do 20°C z szybkością 3 °C/min i utrzymywano przez 360 min. W trzeciej, ostatniej fazie ciśnienie utrzymywano na poziomie 200 mTor i temperaturę podniesiono do 30°C i utrzymywano przez 2760 min.

Przykład 2

Rozpuszczono 10 g poli(tlenku etylenu) w 90 cm³ wody uzyskując lepki roztwór o stężeniu 10% wagowych. Następnie wylano 30 cm³ roztworu na czyste, wytrawione podłoże szklane. Warstwę pozostawiono

do wolnego schnięcia przez 4 dni w temperaturze 30°C. Po tym czasie uzyskano suchą warstwę polimerową o grubości 0,09 cm. Warstwę polimerową zdjęto z podłoża, a następnie przycięto w kwadrat o boku 10 cm. Z jednej strony zwilżono warstwę polimerową wodą w ilości ok. 200 mg/cm².

Wcześniej przygotowaną, odkomórczoną błonę owodniową w postaci suchego płata, przechowywaną do momentu przygotowania opatrunku w temperaturze -80°C, sproszkowano i w ilości 0,2 g rozsypano równomierną warstwą na powierzchni polimeru zwilżonej wcześniej wodą, w postaci kwadratu o boku 9,5 cm, używając szablonu.

Proces prowadzono w komorze laminarnej z zastosowaniem filtrowanych rozpuszczalników i roztworów.

Przygotowany opatrunek poddano działaniu wiązki szybkich elektronów generowaną przez akcelerator typu Elektronika 10/10, w dawce 35 kGy. Źródłem elektronów było działo elektronowe, a emitowane elektrony były przyspieszane przez falę elektromagnetyczną do energii 10 MeV. Szybkość przesuwania się taśmy wynosiła 0,365 m/min.

Oddziaływanie promieniowania spowodowało usieciowanie warstwy polimerowej oraz wytworzenie się węzłów sieci pomiędzy warstwą polimerową i błoną owodniową, a także sterylizację opatrunku.

W celu usunięcia wilgoci z opatrunku poddano liofilizacji jak w przykładzie 1.

Przykład 3

Rozpuszczono 9,5 g poli(winylopirolidonu) w 90,5 cm³ wody uzyskując lepki roztwór o stężeniu 9,5% wagowych. Do roztworu dodano 0,5 grama kolistyny, leku powszechnie stosowanego w leczeniu obrażeń skóry. W innych wykonaniach opatrunku można zastosować siarczan neomycyny lub siarczan gentamycyny. Następnie wylano 30 cm³ roztworu na czyste, wytrawione podłoże szklane. Warstwę pozostawiona do

wolnego schnięcia przez 4 dni w temp 30°C. Po tym czasie uzyskano suchą warstwę polimerową wzbogaconą w substancje czynną, o grubości 0,15 cm. Warstwę polimerową zdjęto z podłoża a następnie przycięto w kwadrat o boku 10 cm. Z jednej strony zwilżono warstwę polimerową wodą w ilości 85 mg/cm².

Wcześniej przygotowaną, odkomórczoną oraz wilgotną błonę owodniową, przechowywaną do momentu przygotowania opatrunku w temperaturze -80°C, umieszczono na sterylnej powierzchni i przycięto w kwadrat o boku 9,8 cm.

Następnie nawinięto ją na wytrawiony szklany walec o takim obwodzie, że nawinięta na walec błona owodniowa tworzy tylko jedną warstwę, bez kontaktu jej brzegów po nawinięciu i na nim przeniesiono błonę owodniową i rozwinięto na warstwę polimerową, w temperaturze 18°C, co pozwoliło na nałożenie błony owodniowej bez bąbli powietrza pomiędzy warstwami, bez specjalnego docisku.

W dodatkowych doświadczeniach prowadzono proces nakładania błony owodniowej na warstwę polimerową w temperaturze 10°C i w temperaturze 35°C, uzyskując analogiczne wyniki.

Proces prowadzono w komorze laminarnej z zastosowaniem filtrowanych rozpuszczalników i roztworów.

Przygotowany opatrunek poddano działaniu wiązki szybkich elektronów, generowaną przez akcelerator typu Elektronika 10/10, w dawce 35 kGy. Źródłem elektronów było działo elektronowe, a emitowane elektrony były przyspieszane przez falę elektromagnetyczną do energii 10 MeV. Szybkość przesuwania się taśmy wynosiła 0,365 m/min. Oddziaływanie promieniowania spowodowało usieciowanie warstwy polimerowej oraz wytworzenie się węzłów sieci pomiędzy warstwą polimerową i błoną owodniową, a także sterylizację opatrunku.

W celu usunięcia wilgoci z opatrunku poddano liofilizacji jak w przykładzie 1.

Przykład 4

Rozpuszczono 5 g poli(winylo pirolidonu) oraz 5 g poli(tlenku etylenu) w 90 cm³ wody, uzyskując lepki roztwór o stężeniu 10% wagowych. Następnie wylano 30 cm³ roztworu na czyste, odtłuszczone za pomocą wapna podłoże metalowe. Warstwę pozostawiono do wolnego schnięcia, przez okres 5 dni w temperaturze 25°C. Po tym czasie uzyskano suchą warstwę polimerową o średniej grubości 0,11 mm. Warstwę polimerową zdjęto z podłoża, a następnie przycięto w kwadrat o boku 10 cm. Z jednej strony zwilżono warstwę polimerową wodą w ilości 60 mg/cm².

Wcześniej przygotowaną, odkomórczoną oraz wilgotną błonę owodniową, przechowywaną do momentu przygotowania opatrunku w temperaturze -80°C, umieszczono na sterylnej powierzchni i przycięto w kwadrat o boku 9,6 cm.

Następnie nawinięto ją na wytrawiony szklany walec o takim obwodzie, że nawinięta na walec błona owodniowa tworzy tylko jedną warstwę, bez kontaktu jej brzegów po nawinięciu i na nim przeniesiono błonę owodniową i rozwinięto na warstwę polimerową w temperaturze 18°C, co pozwoliło na nałożenie błony owodniowej bez bąbli powietrza pomiędzy warstwami, bez specjalnego docisku.

Proces prowadzono w komorze laminarnej z zastosowaniem filtrowanych rozpuszczalników i roztworów.

Następnie opatrunek przyklejono stroną podkładu polimerowego do warstwy przyklepnej handlowo dostępnego foliowego opatrunku Suprasorb F o rozmiarach 10x12 cm pozostawiając po obu stronach przyklepne brzegi, w celu ułatwienia aplikacji opatrunku na ranę i jego unieruchomienia. Przygotowany opatrunek przed procesem sieciowania perforowano za pomocą wałka z igłami o długości igieł 0,5 mm.

Gotowy opatrunek poddano działaniu wiązki szybkich elektronów, generowaną przez akcelerator typu Elektronika 10/10, w dawce 35 kGy.

Źródłem elektronów było działo elektronowe, a emitowane elektrony były przyspieszane przez falę elektromagnetyczną do energii 10 MeV. Szybkość przesuwania się taśmy wynosiła 0,365 m/min. Oddziaływanie promieniowania spowodowało usieciowanie warstwy polimerowej oraz wytworzenie się węzłów sieci pomiędzy warstwą polimerową i błoną owodniową, a także sterylizację opatrunku.

W celu usunięcia wilgoci z opatrunku poddano liofilizacji jak w przykładzie 1.

Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk
Centrum Leczenia Oparzeń im. dr. Stanisława Sakiela w Siemianowicach Śląskich
Pełnomocnik