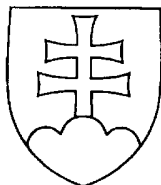


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

- (22) Dátum podania prihlášky: **11. 6. 2002**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **20011232**
60/297 269
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **12. 6. 2001**
12. 6. 2001
(33) Krajina alebo regionálna
organizácia priority: **FI, US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **4. 5. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **5/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **PCT/FI02/00503**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: **WO02/100383**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1618-2003

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

**A61K 9/70,
A61K 33/30,
A61K 33/34,
A61K 33/04,
A61K 33/26,
A61L 15/44,
A61P 17/02,
A61P 31/00**

(71) Prihlasovateľ: **CELLOMEDA OY, Turku, FÍNSKO;**

(72) Pôvodca: **Viljanto Jouko, Turku, FÍNSKO;
Penttinen Risto, Turku, FÍNSKO;
Lönnqvist Kurt, Abo, FÍNSKO;**

(74) Zástupca: **Guniš Jaroslav, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Porézny hubovitý celulóзовý materiál na ošetrovanie zranení**

(57) Anotácia:
Porézny hubovitý celulóзовý materiál na ošetrovanie zranení a/alebo spálenín obsahuje zinok, meď, selén a/alebo železo naviazané na a/alebo absorbované do matrice materiálu v množstvách dostačujúcich na podporu granulácie a revaskularizácie spodiny lézie, pričom množstvo zinku, meď, selénu a železa je aspoň 0,1 µg/g suchého materiálu.

Porézny celulózový hubovitý materiál na ošetrovanie zranení

Oblasť techniky

Vynález sa týka hubovitého celulózového materiálu na ošetrovanie zranení a/alebo popálenín a použitie uvedeného materiálu definovaného v záhlaví nezávislých nárokov uvedených nižšie v tomto texte.

Doterajší stav techniky

Existuje potreba lacného a ľahko použiteľného materiálu na ošetrenie zranení a/alebo popálenín pred transplantáciou kože. Pacienti, ktorí utrpeli také zranenia, ako sú rozsiahle popáleniny tretieho stupňa, alebo veľkoplošné poranenia, potrebujú spravidla kožné transplantáty. Ale nie je však vždy možné uskutočňovať kožné transplantácie bezprostredne po úraze vzhľadom na nedostatočný obeh alebo spodinu lézie. Ak je plocha zraneného tkaniva príliš rozsiahla, môže sa stať, že pacient nemá dostatok kože na autotransplantáty, alebo môže byť pacient tak vážne zranený, že operácie sa musia odložiť do doby, než sa pacient dostatočne zotaví. Pred uskutočnením kožnej transplantácie je treba odstrániť mŕtve alebo devitalizované tkanivo a poranené tkanivá sa musia dočasne zakryť, aby sa tak minimalizovali straty tekutiny, elektrolytu a proteínov zo zranených tkanív, aby sa udržala náležitá telesná teplota, a aby sa podporila granulácia spodiny lézie a revaskularizácia poškodeného tkaniva. Také úrazy, ako sú veľké otvorené rany a spáleniny, pokiaľ nie sú zakryté, sú najviac citlivé na infekcie.

V súčasnej dobe sa používajú na krytie rôzne umelé kožné náhrady a tradičné krytia ako sú obvazy na rany. Kožné náhrady, takzvané umelé kože alebo ekvivalenty živej kože, obsahujú spravidla produkty na báze tkaniva alebo tkanivu príbuzné produkty, ako je kolagén. Tiež môžu obsahovať živé kožné bunky ako sú kultivované ľudské fibroblasty a proteíny ako je glykozaminoglykán. Nevýhodou tohto typu kožných náhrad je ich cena, pretože sú veľmi nákladné: náklady na jedného pacienta so závažnými spáleninami na 50 % povrchu tela môžu dosiahnuť až 150-200.000 FIM. Okrem nákladov existujú aj určité pochybnosti a zdravotné rizika týkajúce sa ich použitia. Doteraz nie je známe, či kožné náhrady obsahujúce proteíny nemôžu pôsobiť ako možný zdroj ochorení spôsobovaných príóny, napr. Creutzfeldt-Akbovej choroby. Matrica na báze polymérov môže obsahovať malé množstvá monomérov alebo zvyškov katalyzátora polymerizácie, ktoré môžu byť pre

dané tkanivá škodlivé alebo dokonca toxické. Uvedené náhrady kože však spodinu lézie na transplantáciu tiež účinne nepripravujú. Ako alotransplantáty sa používa ľudská koža pochádzajúca z kadáverov. Kadávery sa testujú na infekčné choroby ako je hepatitída B a C a HIV, ale zvlášť v prípade HIV, kde je inkubačná doba pomerne dlhá, môžu čerstvé infekcie prejsť kontrolou bez povšimnutia.

Celulózová viskózna huba sa tiež používa ako dočasný kryt na popálené plochy (Viljanto, J a Jääskeläinen, A. "Stimulation of Granulation Tissue Growth in Burns", *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae Fenniae* 62 1973). Výsledky získané s celulózovou viskóznou hubou boli sľubné, aby sa však zlepšila granulácia a revaskularizácia spodiny lézie, bolo potrebné hubu neustále vlhčiť zmesou rôznych aminokyselín a vitamínov (Viljanto, J. et Raekallio, J. "Local Hyperalimentation of Open Wounds", *the British Journal of Surgery* 6:63, 1976). Bolo ťažké uspokojivo uskutočňovať a kontrolovať trvalé vlhčenie. Okrem toho sú aminokyseliny citlivé a ich zmes nie je možné skladovať dlhšie než niekoľko málo dní. Z toho dôvodu bolo treba pravidelne pripravovať čerstvú zmes aminokyselín tak, ako to vyžadovalo trvalé zvlhčovanie huby. Je celkom prirodzené, že tento komplikovaný postup, ktorým sa dosiahli lepšie výsledky v granulácii a revaskularizácii spodiny lézie, znížil v nasledujúcich desaťročiach záujem o používanie celulózovej viskóznej huby na liečbu zranení a/alebo popálenín.

Podstata vynálezu

Predmetom tohto vynálezu je poskytnúť cenovo prístupný a ľahko použiteľný hubovitý celulózový materiál na liečbu zranení a/alebo spálenín.

Cieľom je teda poskytnúť lepšiu alternatívu k existujúcim celulózovým hubovitým materiálom.

Ďalším cieľom tohto vynálezu je použitie nového hubovitého celulózového materiálu pri liečbe zranení, ako sú popáleniny alebo akútne a chronické zranenia.

Aby sa dosiahli vyššie uvedené ciele, vynález sa vyznačuje tým, čo je definované v charakterizačných častiach nezávislých nárokov, ktoré sú uvedené nižšie.

Typický porézny hubovitý celulózový materiál, ktorý sa má použiť na ošetrenie zranení a/alebo spálenín obsahuje zinok, meď, selén a/alebo železo naviazané na a/alebo absorbované do matrice materiálu v množstvách dostačujúcich na to, aby sa podporovala

granulácia a revaskularizácia spodiny lézie. Množstvo zinku, medi, selénu a železa je aspoň 0,1 µg/g suchého materiálu.

V súčasnej dobe sa s prekvapením zistilo, že dosadením anorganických stopových prvkov, ktoré sú zásadne dôležité pre granuláciu a revaskularizáciu spodiny lézie, sa môžu dosiahnuť podobné výsledky ako v prípade, keď sa používajú celulózové viskózne huby navlhčované zložitými zmesami aminokyselín a vitamínov. Tento vynález poskytuje jednoduchú a lacnú alternatívu, s ktorej pomocou sa dosahujú lepšie liečebné výsledky pri zraneniach a/alebo spáleninách pred transplantáciou kože.

Termín "hubovitý celulózový materiál" používaný v kontexte tohto vynálezu sa týka materiálu, ktorý je zhotovený z celulózy a obsahuje mikro- a makropóry, ktoré sú vo vzájomnom dotyku. Materiál má hubovitú štruktúru, tzn., že má hubovité fyzikálne vlastnosti: je mäkký, ľahký, porézny, stlačiteľný, elastický a môže absorbovať tekutiny.

Termín "stopový prvok" použitý v kontexte tohto vynálezu sa týka anorganických chemických prvkov a látok, ktoré sú potrebné v stopových množstvách, aby sa zabezpečili špecifické funkcie ľudského tela, ako je vývoj a rast tkaniva. Takými prvkami sú napríklad železo, meď, zinok, selén, horčík a mangán.

Podľa tohto vynálezu sa vhodné stopové prvky podporujúce granuláciu a revaskularizáciu spodiny lézie dodávajú do matrice hubovitého celulózového materiálu. Stopové prvky sa môžu dodať do matrice akoukoľvek vhodnou známou metódou. Môžu sa dodať do matrice napríklad absorpciou, adsorpciou, nasýtením, alebo sa môžu na základnú hmotu naviazať chemicky. Uvedené prvky sa môžu zachytiť do matrice materiálu rôznymi fyzikálnymi alebo chemickými spôsobmi. Stopové prvky sa môžu napr. uložiť do matrice materiálu v priebehu výrobného procesu hubovitého celulózového materiálu, pričom tu budú stopové prvky tvoriť súčasť štruktúry materiálu. Pretože matrica materiálu ako taká je zhotovená z celulózy, netrpí žiadnymi problémami s chemickými zvyškami, ktoré sa vyskytujú pri materiáloch na báze polymérov.

Napríklad hubovitý celulózový materiál podľa tohto vynálezu sa môže zhotoviť známym spôsobom prípravy celulózovej huby. Hubovitý celulózový materiál sa môže opakovane čistiť roztokom obsahujúcim požadované stopové prvky. Počas čistenia sa stopové prvky ukladajú na matricu materiálu a množstvá uložených prvkov je možno ľahko

vypočítat' na základe koncentrácií, ktoré zostávajú v čistiacej tekutine. Po uložení stopových prvkov je možno hubovitý celulóзовý materiál vysušiť, narezat' na požadovaný tvar a zabaliť.

Podľa jedného výhodného uskutočnenia tohto vynálezu obsahuje hubovitý celulóзовý materiál aspoň zinok, meď, selén a/alebo železo. Uvedený materiál môže obsahovať iba jeden z uvedených stopových prvkov, alebo dva, alebo viac týchto prvkov súčasne. Navyše k týmto prvkom môže tento materiál tiež obsahovať ďalšie stopové prvky, pokiaľ sú prospešné pre granuláciu a revaskularizáciu spodiny lézie. Celkové množstvo zinku, medi, selénu a železa je normálne aspoň 0,1 µg/g suchého materiálu. V jednom uskutočnení tohto vynálezu je celkové množstvo zinku, medi, selénu a železa aspoň 0,3 µg/g suchého materiálu, niekedy aspoň 0,5 µg/g suchého materiálu.

Podľa iných uskutočnení tohto vynálezu môže byť koncentrácia zinku 2 – 20 µg/g suchého materiálu, najlepšie 7 – 10 µg/g suchého materiálu, koncentrácia železa 5 – 28 µg/g suchého materiálu, najlepšie 10 – 14 µg/g suchého materiálu, koncentrácia medi 4 – 24 µg/g suchého materiálu, najlepšie 6,0 – 10 µg/g suchého materiálu, koncentrácia selénu 0,5 – 3,0 µg/g suchého materiálu, najlepšie 0,8 – 1,2 µg/g suchého materiálu. Podľa tohto vynálezu je možno koncentráciu zinku, medi, selénu a železa vyberať nezávisle na sebe a nie je potrebné ich mať v matrici materiálu súčasne.

Podľa jedného uskutočnenia tohto vynálezu je koncentrácia medi 9,5- 12 µg/g suchého materiálu a/alebo koncentrácia selénu 1,1 – 1,4 µg/g suchého materiálu.

Okrem vyššie uvedených stopových prvkov k týmto je možno používať celulóзовé huby na lokálne dodávanie vápnika a fosfátu do buniek. Tým sa veľmi zvýši bunečný rast a syntéza bunečných a/alebo okrem bunečných zložiek. Podobná zásada sa používa už po dvesto rokov v poľnohospodárstve, aby sa podporil bunečný rast hnojivom.

Materiál podľa tohto vynálezu účinne podporuje regeneráciu spojivového tkaniva a granuláciu spodiny lézie, ľahko sa používa a je lacný. Materiál sa musí iba pred priložením na zranené tkanivo zavlhčiť fyziologickým sol'ným alebo podobným roztokom. Na to, aby sa dosiahla úspešná granulácia a revaskularizácia spodiny lézie, nie je potreba trvalá infúzia zložitými roztokmi aminokyselín. Vďaka jednoduchosti pri používaní a nenákladnosti je materiál podľa tohto vynálezu vhodný na použitie aj v ťažkých a nevyhovujúcich podmienkach, napr. v rozvojových krajinách alebo v poľných nemocniciach.

Keď sa materiál podľa tohto vynálezu používa na ošetrovanie zranenia, usťihne sa na vhodný tvar a priloží sa na očistené zranené tkanivo. Hubovitý celulóзовý materiál môže pritiahnuť do materiálu a do plochy styku materiál/tkanivo transformačný rastový faktor beta 1 (TGF- β 1), ktorý je inhibítorom epiteliálneho bunčného rastu. Materiál teda môže účinne inhibovať rast keratinocytov v spodine lézie a zabráňuje nežiaducej keratinizácii spodiny lézie. Podobným spôsobom môže materiál podľa tohto vynálezu podporovať miznutie malých oblastí kože, pokiaľ takéto oblasti v spodine lézie existujú. Odstraňovanie rohovitého tkaniva a inhibícia keratinizácie je dôležité, pretože sa tým zlepší úspech nasledujúcich transplantácií kože.

Pri priložení na spodinu lézie, materiál podľa tohto vynálezu bude fungovať ako adsorpčná látka proteínov a ako dobré hemostatiká. Materiál tesne prilne k spodine lézie a bude podporovať rast kapilár aj do materiálu. Sotva sa tento materiál zo spodiny lézie odstráni, kapiláry, ktoré vyrástli vnútri hubovitého materiálu, sa porušia a tým sa stane spodina lézie vhodnou na transplantáciu.

Podľa tohto vynálezu je vhodné tento porézny hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky vhodné používať na liečbu zranení, ako je deštrukcia tkaniva teplom a rôzne typy akútnych alebo chronických poranení. Použitie tohto vynálezu zabráni lokálnej deplecii základných stopových prvkov v zranenom tkanive a zabezpečí dostupnosť napr. železa (II, medi, zinku, selénu, horčika a/alebo mangánu), ktoré sú potrebné na optimálnu granuláciu spodiny lézie. Uvedené stopové prvky sa zabezpečujú spravidla intravenóznou výživou, môžu sa však dostať do zraneného tkaniva iba v prípade, že je dobre vaskularizované. Napríklad pri deštrukcii tretieho stupňa je zranené tkanivo prakticky neživé: epidermis tkaniva je teplom celkom zničené a dermis je čiastočne alebo celkom zničené a v zranenom tkanive nedochádza k vaskularizácii. V takýchto prípadoch dochádza k lokálnej deplecii základných stopových prvkov, a to aj v prípade, aj keby sa roztok obsahujúci stopové prvky pacientovi podal intravenózne. Výsledkom toho je potom to, že sa prekročí regeneratívna kapacita pacienta, čo má za následok zlú granuláciu a vznik ľahko infikovateľných povrchov. Tejto deplecii základných stopových prvkov sa možno vyhnúť, ak sa použije pri liečbe takýchto zranení materiál podľa tohto vynálezu. Vynález teda uspokojuje dlho pociťovanú potrebu materiálu, ktorý účinne podporuje granuláciu a revaskularizáciu spodiny lézie a súčasne ho možno ľahko používať a je cenovo prístupný.

Podľa jedného uskutočnenia tohto vynálezu je možno hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky používať tiež napríklad ako prvú pomoc pri akútnych zraneniach, ako sú napríklad dopravné nehody a pracovné úrazy. Možnosti postarať sa o tieto zranenia v miestnych zdravotných strediskách a menších nemocniciach sú často obmedzené a pacienti musia byť premiestňovaní do väčších jednotiek špecializovanej starostlivosti. Počas dopravy pacienta sa otvorený povrch zranenej plochy jednoducho zakryje materiálom podľa tohto vynálezu, čím sa predíde difúznemu krvácaniu, strate tekutín a znečisteniu zraneného tkaniva.

Materiál podľa tohto vynálezu je možno použiť pri liečbe zranených tkanív, pri ktorých je čiastočne alebo celkom zničená nielen epidermálna, ale aj dermálna časť pokožky. K takýmto zraneniam patria napríklad:

- ťažké spáleniny
- akútne zranenia spôsobené pracovnými úrazmi alebo dopravnými nehodami
- chronické vredy, napr. diabetické vredy, vredy spôsobené žilnou insuficienciou a trofické vredy
- dekubitálne vredy a
- chronické vredy, napr. leprózne.

Jedným aspektom tohto vynálezu je teda použitie porézneho hubovitého celulóзовého materiálu obsahujúceho stopové prvky na výrobu prostriedku na ošetrovanie akútnych zranení, spálení, chronických vredov a chronických infekcií.

Podľa jedného uskutočnenia tohto vynálezu je možno hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky používať tiež na ošetrovanie infikovaných zranení. Pozorovali sme, že ak sa materiál podľa tohto vynálezu zvlhčí a priloží na obnažený povrch zraneného tkaniva, bude "pritáhovat" jednojadrové fagocyty ako sú monocyty a makrofágy k stykovej ploche medzi týmto materiálom a infikovaným tkanivom. Pretože tieto fagocyty účinne ničia baktérie, cudzie látky a mŕtve bunky spôsobujúce infekciu je možno infekciu zo spodiny lézie odstrániť tak, že sa bude vymieňať hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky tak často, ako to bude treba, dokiaľ sa povrch tkaniva nepripraví na transplantáciu.

Materiál podľa tohto vynálezu je možno zvlášť používať pri liečbe infikovaných tkanivových dutín, ktoré by inak bolo ťažké ošetrovať. Orálne podávané antibiotiká sa do týchto tkanív krvným obehom nedostanú, pokiaľ sú tieto tkanivá nedostatočne

vaskularizované. Hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky je možno jednoducho navlhčiť fyziologickým slaným alebo Ringerovým roztokom, vložiť ho do dutiny a podľa potreby vymieňať. Tak ako sme opísali vyššie, bude tento materiál podporovať vlastné telesné mechanizmy, aby tak prekonal infekciu v tkanive. Pretože použitie tohto materiálu zlepši revaskularizáciu tkaniva, súčasne sa do neho dostanú ústne podávané antibiotiká.

Podľa jedného uskutočnenia tohto vynálezu sa na jednu stranu porézneho hubovitého celulóзовého materiálu obsahujúceho stopové prvky priloží semipermeabilná fólia.

Je vhodné, aby voda touto fóliou presakovala, môže však v materiáli zadržať proteíny s molekulovou hmotnosťou > 5.000 . Podľa preferovaného uskutočnenia zadrží polopriepustná fólia proteíny väčšie alebo podobné veľkosti ako albumín a fibrinogén. Sotva sa fólia priloží na materiál podľa tohto vynálezu, bude sa ľahšie používať a riadením vlastností priloženej fólie, napr. veľkosťou pórov a hrúbkou fólie, môžu sa straty tekutiny cez túto fóliu riadiť presnejšie. Polopriepustnosť tejto fólie sa môže tiež meniť ako funkcia teploty. Pri vyšších teplotách je vhodnejšie, aby bola priepustnosť uvedenej fólie nižšia než pri nízkych teplotách, pretože sekrécia tekutiny v zranenom tkanive je spravidla pri vyšších teplotách vyššia. Dôležitosť udržiavania vlhkosti v tomto materiáli je zvlášť výrazná v prípadoch, keď sa pacienti liečení materiálom podľa tohto vynálezu udržiavajú pod lampami generujúcimi teplo pri vyšších teplotách až do 27-28 °C.

Porézny a hubovitý celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky sa môže ľahko tvarovať do rôznych tvarov a veľkostí. Z materiálu podľa tohto vynálezu sa môžu ľahko vyrábať vybavenia ako sú prestieradlá, povlaky, plienky a iný tovar na liečbu spálenín, akútnych zranení, chronických vredov a chronických infekcií. Podľa jedného uskutočnenia tohto vynálezu sa tiež môžu získať produkty pripravené na použitie tak, že sa fyziologickým slaným roztokom zavlhčí sterilizovaný nastrihaný celulóзовý materiál obsahujúci stopové prvky a zabalí sa do hermeticky utesnených obalov. Materiál podľa tohto vynálezu môže byť v tvaru prestieradiel, ktoré sa potom ľahko používajú pri poskytovaní prvej pomoci, napríklad na mieste prevádzkovej alebo dopravnej nehody.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Vynález ďalej názorne dokladáme na nasledujúcich obrázkoch ukazujúcich niektoré z uskutočnení tohto vynálezu.

Obr. 1a - 1c schematicky znázorňujú kus hubovitého celulóзовého materiálu, ktorý obsahuje stopové prvky nachádzajúce sa na obnaženom povrchu zranenom tkanive, a

Obr. 2a - 2b znázorňujú rýchle a kvantitatívne naviazanie transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) do celulóзовých húb *in vitro*.

Obr. 1a znázorňuje kus 1 hubovitého celulóзовého materiálu podľa tohto vynálezu, ktorý obsahuje stopové prvky. Kus 1 sa umiestnil na obnažený infikovaný povrch 9' zraneného tkaniva 9. Na uvedený kus 1 sa priložila polopriepustná fólia 2. Fólia 2 umožňuje odparovanie vodných pár z kusa 1. Odparovanie vody naznačujú šípky 4, 4'. Typicky sa odparuje 5 mg H₂O/cm³/h. Fagocyty 5, 5' sa priťahujú na povrchové oblasti infikovaného povrchu 9' a tiež dovnútra diela 1, kde ničia baktérie 6 označované hviezdikami a bunečný odpad 7 označovaný čiernymi bodkami. Krvné cievy 3, 3' nedosahujú na povrch 9' poraneného tkaniva 9.

Na obr. 1 vrástli krvné cievy 3, 3' čiastočne dovnútra kusa 1 hubovitého celulóзовého materiálu a začala revaskularizácia spodiny lézie. Fagocyty zničili baktérie a bunečný odpad a povrch 9' poraneného tkaniva 9 sa už neinfikuje. Sotva sa kus 1 hubovitého celulóзовého materiálu z poraneného tkaniva 9 odstráni, ukáže sa čistý povrch 8 granulovaného tkaniva 10. Môžeme pozorovať, že granulované tkanivá 10' tiež vrástli čiastočne dovnútra kusa 1 hubovitého celulóзовého materiálu.

Obr. 1c znázorňuje situáciu po uskutočnení transplantácie kože. Autotransplantát 11 preneseného kožného štetu sa umiestnil na čistý povrch 8 granulovaného tkaniva 10. Tiež je možno použiť ultratenký autotransplantát. V granulovanom tkanive 10 je možno pozorovať určitý počet fagocytických buniek 12. Krvné cievy 3, 3' narástli až k autotransplantátu 11.

Jeden zo spôsobov prípravy hubovitého celulóзовého materiálu obsahujúceho stopové prvky opisujeme v príklade 1. V príklade 2 uvádzame typické použitie hubovitého celulóзовého materiálu obsahujúceho stopové prvky podľa tohto vynálezu pri ošetrovaní popálenín. Príklad 3 znázorňuje rýchle a kvantitatívne viazanie transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) do celulóзовých húb *in vitro*. Všetky príklady je treba považovať za neobmedzujúce.

PRÍKLAD 1

Príprava hubovitého celulóзовého materiálu podľa vynálezu

Podľa známych metód sa pripravil celulóзовý viskóзовý roztok obsahujúci 5 % celulózy. Podľa výpočtu na základe hmotnosti celulózy sa nastrihalo 20 % celulóзовých vlákien na dĺžku 8 – 10 mm a vmiešalo sa do viskóзовého roztoku. Použil sa pórtovorný materiál, v tomto prípade Glauberova soľ ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) s veľkosťou častíc < 1,0 mm). Pridala sa Glauberova soľ v množstve 80-krát väčšom než bola pôvodná hmotnosť celulózy. Získaný materiál sa uložil do formy a celulóza sa ohrevom vo vodnom kúpeli regenerovala. Surový hubovitý celulóзовý materiál vytiažený z vodného kúpeľa sa horúcou vodou opláchol od soli, ošetril sa riedenou kyselinou, bieliacim roztokom a nakoniec sa niekoľkokrát opláchol destilovanou vodou. Tento čistý hubovitý celulóзовý materiál sa potom niekoľkokrát prepral v roztoku pripravenom z destilovanej vody a obsahujúcim také množstvá požadovaných stopových prvkov, aby sa v usušenom materiáli dosiahli cieľové koncentrácie stopových prvkov. Stopové prvky sa ľahko v roztoku rozpúšťajú, ak sa použijú príslušné chloridové zlúčeniny. Množstvo uložených stopových prvkov sa vypočítalo tak, že sa porovnali koncentrácie stopových prvkov v premývacom roztoku pred a po premývaní hubovitého celulóзовého materiálu. Sotva sa dosiahli cieľové koncentrácie nanosené na uvedený materiál, materiál sa vysušil, nastrihal sa na požadovanú veľkosť a zabalil.

PRÍKLAD 2

Ošetrovanie tkaniva deštruované teplom pomocou materiálu podľa vynálezu

Spálená plocha kože sa revidovala odstránením nekrotizovaných a devitalizovaných častí tkaniva. Tento debridement spálenej kože sa starostlivo vykonával po tenkých vrstvách tak hlboko, až bolo možno pozorovať minimálne krvácanie tkaniva. To indikovalo hranicu živého tkaniva. Starostlivo sa zavlhlil jeden (1) liter nekomprimovaného hubovitého celulóзовého materiálu obsahujúceho stopové prvky nasýtením 580 – 600 ml fyziologickým slaným roztokom (0,9 % NaCl). Uvedený materiál sa narezal na tvar a veľkosť spálenej plochy. Zavlhlčený materiál podľa tohto vynálezu sa priložil na obnažený vyčistený povrch spáleného tkaniva a zakryl sa celofánovou fóliou. Ak tkanivo nie je infikované, materiál sa vymieňa raz za tri dni. Ak je tkanivo infikované, na začiatku liečby sa materiál mení každý deň. Počas výmeny sa vizuálne skúma spodina lézie a tak ako sa infekcia zmenšuje, intervaly výmeny sa predlžujú. Celková doba liečby na dosiahnutie dostatočnej granulácie spodiny lézie je normálne 5 – 10 dní a počet výmen sa pohybuje medzi 2 a 5. K devaskularizácii spálenej plochy dochádza spravidla počas päť dní od začiatku liečby.

PRÍKLAD 3

Znázornenie rýchlej a kvantitatívnej väzby transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) do celulóзовých húb *in vitro*

Rýchla a kvantitatívna väzba transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) do hubovitého celulóзовého materiálu podľa tohto vynálezu *in vitro* sa analyzovala Westernovou analýzou. Celulóзовý materiál sa natrihal na skúšobné kusy veľkosti 5x5x5 mm. Skúšobné kusy sa potom inkubujú s 20 ng čisteným transformačným rastovým faktorom beta 1 (TGF- β 1) vo fyziologickom roztoku tlmenom fosfátom (PBS). Objem tohto roztoku bol päťkrát väčší než objem skúšobného kusu. Inkubačná doba bola pri rôznych skúšobných kusov 10 a 30 minút a 1, 2, 4, 6 22 a 48 hodín. Po inkubácii sa skúšobné kusy prepláchli soľným roztokom a transformačný rastový faktor beta 1 (TGF- β 1) naviazaný na tieto skúšobné kusy sa extrahoval do tlmivého elektroforetického roztoku. Extrahovaný transformačný rastový faktor beta 1 (TGF- β 1) sa zaviedol do polyakrylamidového gélu a preniesol sa na nitrocelulóзовú membránu Hybond ECL (Amersham Life Sciences, UK). Pomocou súpravy Vectastain ABC sa zistila špecifická väzba protilátky transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) (1,5 μ g/ml, RDI, UK) a vizualizovala sa zlepšeným (Amersham, UK). chemiluminiscenčným detekčným systémom. Obr. 2 ukazuje rýchlu a trvalú väzbu transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) na hubovitý celulóзовý materiál podľa tohto vynálezu.

Rýchle a kvantitatívne naviazanie transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) do hubovitého celulóзовého materiálu podľa tohto vynálezu *in vitro* sa analyzovalo tiež pomocou imunohistologickej analýzy. Inkubovali sa podobné huby s transformačným rastovým faktorom beta 1 (TGF- β 1) alebo bez neho tak, ako vyššie. Po opláchnutí rezu trikrát pufrovaným fyziologickým roztokom (TBS) sa stali viditeľnými naviazané primárne protilátky, a to pomocou techniky avidín-biotín-peroxidázovým komplexom používajúcim ako chromogén diaminobenzidín (Vectastain ABC kit, Vector Laboratories, In., USA). Tkanivá sa farbili kontrastnou Mayerovou hematoxylínovou farbou. Na ľavej strane na obr. 2b je uvedená kontrolná vzorka a na pravej strane kontrastné zafarbenie huby upravenej transformačným rastovým faktorom beta 1 (TGF- β 1). Obr. 2b znázorňuje silnú väzbu transformačného rastového faktora beta 1 (TGF- β 1) na štruktúru hubovitého celulóзовého materiálu podľa tohto vynálezu.

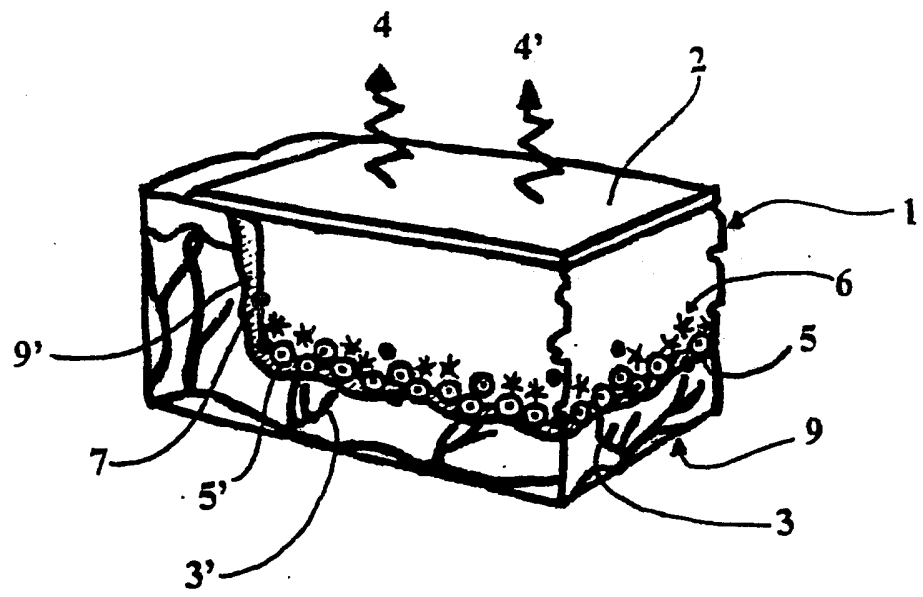
Bude sa vysoko oceňovať skutočnosť, že podstata tohto vynálezu sa môže realizovať v rôznych uskutočneniach, z ktorých na tomto mieste uvádzame iba niekoľko málo príkladov. Odborníkom v tomto obore bude zrejmé, že existujú ďalšie uskutočnenia, ktoré sa neodchyľujú od ducha tohto vynálezu. Opisované realizácie sú teda ilustratívne a nemožno ich teda chápať ako vymedzujúce.

PATENTOVÉ NÁROKY

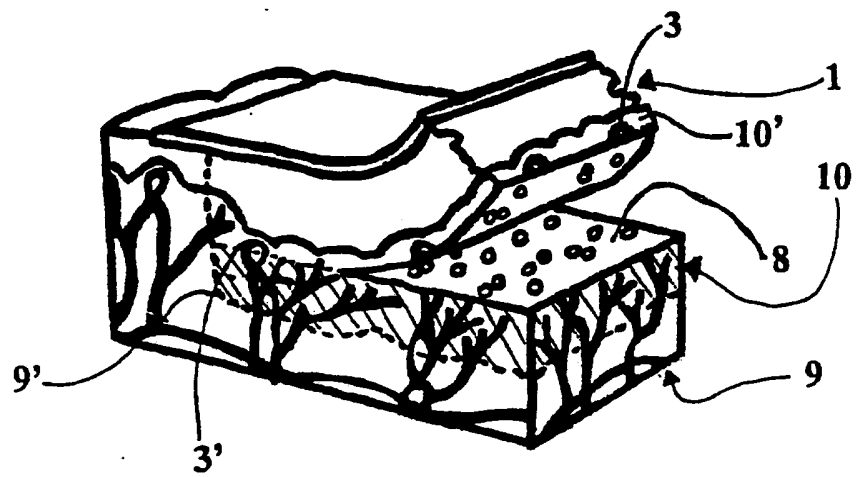
1. Porézny hubovitý celulóзовý materiál používaný na ošetrovanie poranení a/alebo popálenín **vyznačujúci sa tým**, že celulóзовý materiál obsahuje zinok, meď, selén a/alebo železo naviazané na a/alebo absorbované do matrice materiálu v množstvách dostačujúcich na podporu granulácie a revaskularizácie spodiny lézie, pričom množstvo zinku, medi, selénu a železa je aspoň 0,1 µg/g suchého materiálu.
2. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že celulóзовý materiál obsahuje navyše ďalšie stopové prvky.
3. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že koncentrácia železa je 5- 28 µg/g suchého materiálu, najlepšie 10 – 14 µg/g suchého materiálu.
4. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že koncentrácia zinku je 2 – 20 µg/g suchého materiálu, najlepšie 7 – 10 µg/g suchého materiálu.
5. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že koncentrácia medi je 4 – 24 µg/g suchého materiálu, najlepšie 6 – 10 µg/g suchého materiálu.
6. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že koncentrácia selénu je 0,5 – 3,0 µg/g suchého materiálu, najlepšie 0,8 – 1,2 µg/g suchého materiálu.
7. Porézny hubovitý celulóзовý materiál podľa nároku 1 **vyznačujúci sa tým**, že na jednej strane uvedeného celulóзовého materiálu je priložená polopriepustná fólia, cez ktorú môže vodná para presakovať, ktorá však zadržiava v materiáli proteíny s molekulárnou hmotnosťou > 5 000.

8. Použitie porézneho hubovitého celulóзовého materiálu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6 na výrobu prostriedku na ošetrovanie akútneho poranenia.
9. Použitie porézneho hubovitého celulóзовého materiálu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6 na výrobu prostriedku na ošetrovanie chronických vredov.
10. Použitie porézneho hubovitého celulóзовého materiálu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6 na výrobu prostriedku na ošetrovanie chronických infekcií.
11. Použitie porézneho hubovitého celulóзовého materiálu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6 na výrobu prostriedku na ošetrovanie popálenín.

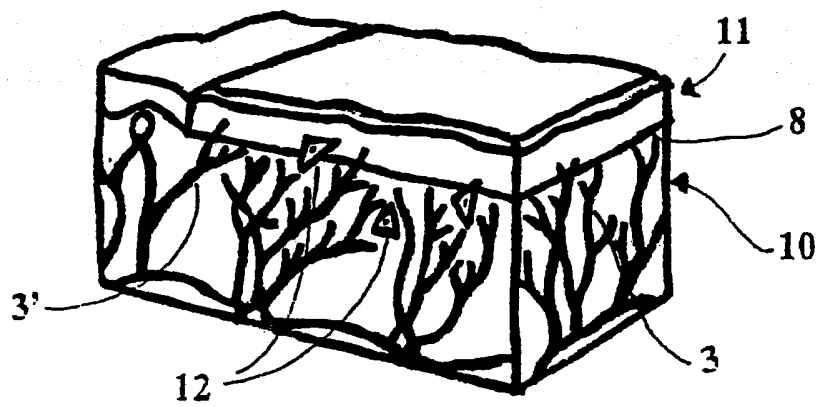
1/2



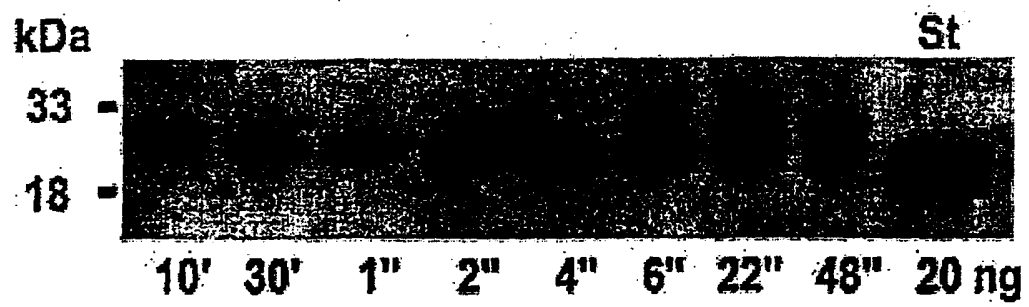
Obr. 1a



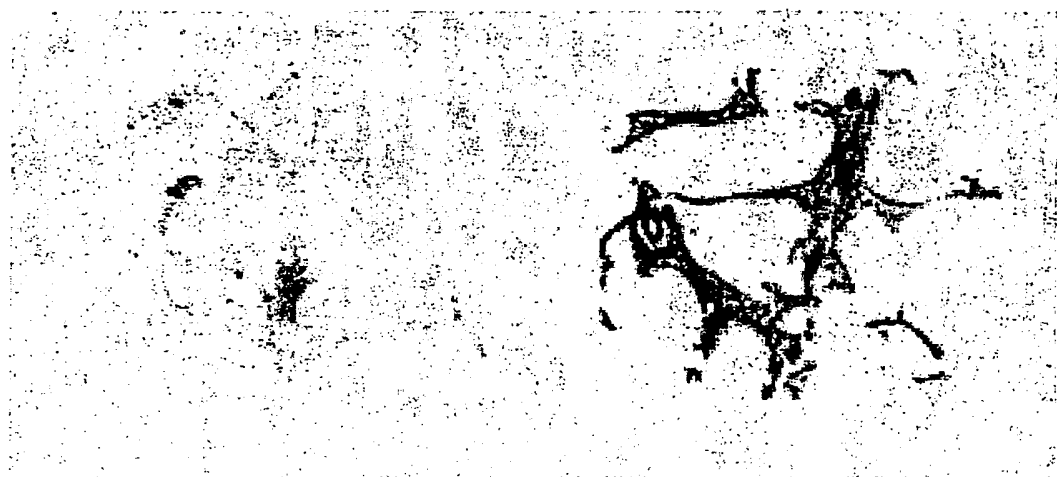
Obr. 1b



Obr. 1c



Obr. 2a



Obr. 2b