

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **235083**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **419668**

(51) Int.Cl.

A61L 27/44 (2006.01)

A61F 2/30 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **02.12.2016**

(54) **Sposób otrzymywania implantu metalicznego pokrytego powłoką
oraz implant metaliczny pokryty powłoką**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
04.06.2018 BUP 12/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
18.05.2020 WUP 05/20

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA GDAŃSKA, Gdańsk, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

BEATA ŚWIECZKO-ŻUREK, Gdańsk, PL
WOJCIECH ZGOŁA, Przyźmierowo, PL

(74) Pełnomocnik:

recz. pat. Justyna Pawłowska

PL 235083 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest implant metaliczny pokryty powłoką antybakteryjną i sposób jego otrzymania z uwzględnieniem otrzymania powłoki na implancie.

Wynalazek ma zastosowanie w obniżaniu i zapobieganiu bakteryjnych powikłań infekcyjnych po operacjach wszczepienia implantu.

Ze względu na rodzaj materiału, z którego zbudowany jest implant wyróżnia się implanty ceramiczne, metalowe i polimerowe. Materiały te charakteryzują się biokompatybilnością.

Wśród metali, do produkcji implantów metalicznych, wykorzystuje się głównie stal nierdzewną, stopy chromowo-kobaltowe, tytan. Implanty metalowe posiadają porowatości lub mikroporowatości na swojej powierzchni, co umożliwia wrastanie w szczep implantu tkanek kostnych, które go otaczają, tym samym polepsza się jego stabilizacja.

W celu poprawy własności biologicznych implantów stosuje się na ich powierzchni powłoki ochronne. Znane są powłoki na implanty metaliczne takie jak warstwy dyfuzyjne, powłoki hydroksyapatytowe. Bariery dyfuzyjne podwyższają odporność na korozję, zaś ceramiczne warstwy bioaktywne poprawiają osteointegrację, czyli całkowite zrośnięcie się kości z implantem.

Wprowadzenie implantu do określonego organu wiąże się z koniecznością przeprowadzenia zabiegu operacyjnego, w wyniku którego mogą zostać wprowadzone bakterie.

W przypadku osadzania się bakterii na powierzchni implantów, największym problemem jest obecnie tworzenie się biofilmu bakteryjnego na porowatej powierzchni implantu, w tym zwłaszcza na implantach metalowych, która sprzyja adhezji bakterii. Biofilmy bakteryjne chronią tworzące je bakterie przed czynnikami zewnętrznymi, w tym antybiotykami.

W związku z tym istnieje konieczność aby implant metaliczny zbudowany z metalu nie tylko nie powodował niepożądanych reakcji w organizmie, w tym reakcji alergicznej związanej z nadwrażliwością na metal, ale również był odporny na rozwój bakterii na styku implant – tkanka i stanowił ochronę przed infekcjami. W związku z tym poszukuje się środka ochrony tkanek i implantów, tak aby po wszczepieniu implantu do organizmu żywego nie dochodziło do niepożądanych reakcji, zwłaszcza powikłań infekcyjnych.

Biomateriały, określane w medycynie jako cementy kostne są wykorzystywane przede wszystkim do mocowania endoprotez stawów oraz wypełniania ubytków kostnych. Wśród innych zastosowań cementu kostnego można wymienić wypełnianie kręgów w kręgosłupie oraz stabilizowanie złamań.

Znane biomateriały stosowane jako cement kostny otrzymuje się w ten sposób, że miesza się ze sobą środek budulcowy w postaci proszku z płynem wiążącym. Stosunek proporcji wagowej proszku do płynu wynosi około 2:1. Po zmieszaniu powstaje masa homogeniczna o niskiej lepkości, która wzrasta wraz z czasem. Po upływie czasu plastycznego, lepkość cementu kostnego gwałtownie rośnie i jego formowanie nie jest już dalej możliwe.

Znanych jest kilka rodzajów cementów kostnych, takich jak cement polimerowy, cement fosforanowo-wapniowy, cement kompozytowy oraz cement hydrożelowy.

Akrylanowy cement kostny jest przygotowany na bazie polimetakrylanu metylu (PMMA). PMMA jest to biodegradowalny polimer składający się z monomerów metakrylanu metylu. Podczas polimeryzacji cementu akrylanowego temperatura początkowo rośnie wolno, ale nagle występuje jej szybki i gwałtowny wzrost nawet do 50°C.

Znane są również dodatki stosowane do proszku cementów akrylanowych takie jak kopolimery MMA z innymi polimerami, w tym styrenem i akrylanem metylu, inicjator polimeryzacji rodnikowej – nadtlenek benzoylu w ilości 0,75 do 2,7% wagowych proszku, cząstki dające kontrast radiologiczny, w tym siarczan baru lub dwutlenek cyrkonu w ilości około 10% wagowych.

W celu poprawy adhezji cementów akrylanowych do powierzchni kości i substancji nieorganicznych opracowuje się bioaktywne cementy kostne oparte na PMMA z dodatkiem ceramiki takiej jak hydroksyapatyt, szkło bioaktywne.

Znane są również mieszaniny cementu akrylanowego z antybiotykiem w celach profilaktycznych oraz terapeutycznych powikłań infekcyjnych po operacjach wszczepienia endoprotez. Uwalnianie antybiotyków następuje w drodze dyfuzji, która jest ściśle związana z penetracją płynów do cementu, jego porowatością i gładkością powierzchni. [Błażewicz 5., Stoch L, Biomateriały, Warszawa, 2003, Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit].

Znane są dwa rodzaje akrylanowych cementów zawierających antybiotyki: z niską – mniejszą niż 2,5% zawartością leku, czyli poniżej 1000 mg na 40 g cementu, oraz z wysoką zawartością – powyżej

2,5%, czyli więcej niż 1000 mg antybiotyku na 40 g cementu. Skuteczne w leczeniu infekcji okazały się dawki co najmniej 2,5% antybiotyku, zaś cementy z niską zawartością stosowane są rutynowo jako profilaktyka infekcji w pierwotnej alloplastyce. Dodane antybiotyki pozostają w cemencie w formie inkluzji, tym mniejszych im bardziej efektywna była homogenizacja leku z polimerem cementu przed zmieszaniem z kopolimerem. Antybiotyk zasadniczo uwalnia się przez pory na powierzchni zewnętrznej cementu. Dane na temat wielkości uwolnionej dawki i czasu utrzymywania się skutecznego stężenia hamującego rozwój bakterii na powierzchni cementu są rozbieżne, co ogranicza pewność ich stosowania [Anguita - Alonso P. Rouse M.S. et al: Comparative study of antimicrobial release kinetics from polimethylmethacrylate. Clin.Orthop., 2006, 445, 239–244].

Aby uzyskać skuteczne uwolnienie i działanie antybiotyku dodanego do cementu kostnego konieczne jest użycie cementu, który już w procesie produkcji jest nasycony antybiotykiem. Tylko wówczas właściwości fizykochemiczne cementu umożliwiają elucję dodanego antybiotyku. [Ruzaimi M.Y., Shahril Y., Masbah et ail.: Antimicrobial properties of erytromycyn and colistin impregnated bone cement. An in vitro analysis. Med. J. Malaysia, 2006, 61, 21–26].

Z drugiej strony ze względu na egzotermiczność procesu polimeryzacji akrylanowego cementu kostnego, istnieje ryzyko unieczynnienia aktywności antybiotyku przez duże ilości ciepła, jakie wydzielają się w trakcie reakcji polimeryzacji cementu. Innym ograniczeniem zastosowania antybiotyków jest z jednej strony oporność szczepów bakteryjnych, zwłaszcza w warunkach szpitalnych, a z drugiej strony wąskie spektrum działania antybiotyków w warunkach szpitalnych.

Z tego względu wciąż poszukuje się alternatywnego rozwiązania problemu powikłań infekcyjnych po operacjach wszczepienia implantu.

Znane są właściwości antybakteryjne nanocząsteczek metali, zwłaszcza srebra. Nie jest jednakże wyjaśniony mechanizm działań antybakteryjnych nanocząsteczek srebra. Ograniczeniem wykorzystania nanocząstek srebra w medycynie jest ich cytotoksyczność w kierunku osteoblastów i zaburzenie różnicowania mezenchymalnych linii komórek macierzystych w kierunku linii adipocytów i osteoblastów [Albers CE, Hofstetter W, Siebenrock KA, Landmann R, Klenke FM In vitro cytotoxicity of silver nanoparticles on osteoblasts and osteoclasts at antibacterial concentrations. Nanotoxicology. 2013 Feb;7(1): 30–6].

Znane są cementy kostne z nanomateriałów o danych biologicznych właściwościach antybakteryjnych nie stanowiące materiał do utworzenia powłok, m.in. w publikacji: Alt V. Biomaterials. 2004 Aug;25(18):4383–91, An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement; Pauksch L, Cells Tissues Organs. 2014;199(5–6):384–92. Synergistic toxicity of gentamicin- and nanosilver-doped polymethylmethacrylate bone cement on primary human osteoclasts; Pauksch L, PLoS One. 2014 Dec 8;9(12):e114740. In vitro assessment of nanosilver-functionalized PMMA bone cement on primary human mesenchymal stem cells and osteoblasts; Prokopovich P, Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2015 Feb;103(2):273–81. Potent antimicrobial activity of bone cement encapsulating silver nanoparticles capped with oleic acid. Właściwości cementów wskazanych w publikacjach mają inne parametry niż powłoki do pokrywania metali i nie znajdują zastosowania jako typowe powłoki bazujące na akrylanowym cemencie kostnym o składzie według wynalazku. W szczególności cementy opisane w artykułach mają temperaturę polimeryzacji powyżej 60°C, a nawet 90°C, co powoduje degradację komórek wokół implantu.

Przedmiotem wynalazku jest implant metaliczny pokryty powłoką antybakteryjną.

Sposób otrzymywania implantu metalicznego pokrytego powłoką, charakteryzuje się według wynalazku tym, że celem otrzymania materiału na powłokę przygotowuje się mieszaninę o postaci proszku zawierającą polimetakrylan metylu z nanocząstkami srebra i/lub nanocząstkami miedzi, a następnie uzyskany proszek miesza się z cieczą wiążącą w postaci metakrylanu metylu w temperaturze pokojowej, zachowując nadmiar mieszaniny proszku do metakrylanu metylu, aż do uzyskania homogennej mieszaniny plastycznej do pokrycia powierzchni implantu metalowego. Dodaje się taką ilość nanocząstek metalu aby w końcowej mieszaninie uzyskać od 0,1 do 0,8% wagowych, korzystnie 0,3–0,5% wagowych, a następnie implant pokrywa się plastyczną homogenną mieszaniną tworząc powłokę o grubości od 1 do 3 mm.

Korzystnie, wielkość nanocząstek w powłoce metalu wynosi od 15 nm do 45 nm.

Korzystnie, mieszaninę proszku miesza się z metakrylanem metylu w temperaturze od 22 do 24°C.

Implant metaliczny pokryty powłoką, charakteryzuje się według wynalazku tym, że jako powłokę zawiera akrylanowy cement kostny zawierający polimetakrylan metylu oraz nanocząstki srebra i/lub nanocząstki miedzi w ilości od 0,1 do 0,8% wagowych powłoki, które razem zmieszane są z cieczą wiążącą w postaci metakrylanu metylu, przy czym grubość powłoki na implancie wynosi od 1 do 3 mm.

Korzystnie, wielkość nanocząstek metalu wynosi od 15 nm do 45 nm.

Celem otrzymania materiału na powłokę według wynalazku przygotowuje się mieszaninę o postaci proszku zawierającą polimetakrylan metylu z nanocząstkami srebra i/lub nanocząstkami miedzi, a następnie uzyskany proszek miesza się z cieczą wiążącą w postaci metakrylanu metylu w temperaturze pokojowej, jak opisano w przykładach wykonania i zastrzeżeniach patentowych). Według wynalazku, powłoka do pokrywania powierzchni implantów metalowych ma właściwości antibakteryjne dzięki czemu chroni przed bakteryjnymi powikłaniami infekcyjnymi po operacjach wszczepienia implantu. Sposób według wynalazku umożliwia otrzymanie powłoki do pokrywania powierzchni implantów metalicznych o czynnych właściwościach antibakteryjnych. Implant metaliczny pokryty powłoką według wynalazku charakteryzuje się niskim ryzykiem bakteryjnych powikłań infekcyjnych a jednocześnie biokompatybilnością i w przypadku implantów stosowanych w ortopedii właściwościami osteointegracyjnymi. Powłoka według wynalazku ma temperaturę polimeryzacji poniżej 60°C, co korzystnie wpływa na komórki kostne (osteoblasty), które powinny adherować do biomateriału. Materiał na powłokę bowiem jest używany przez zmieszanie dobranych składników z cieczą wiążącą w temperaturze pokojowej i nałożeniu na implant przed umieszczeniem go *in vivo*.

Wynalazek przedstawiono bliżej w przykładach wykonania i na rysunku, na którym na fig. 1 przedstawiono powierzchnię implantu naczyniowego pokrytego powłoką według wynalazku po 6 miesięcznej inkubacji w roztworze bakteryjnym, zaś na fig. 2 przedstawiono widok implantu stawowego z naniesioną powłoką, który został wszczepiony w kość udową szczurów na okres 6 tygodni.

Przykład 1

Powłokę na implanty metaliczne otrzymuje się w ten sposób, że przygotowuje się mieszaninę o postaci proszku zawierającą 40 g polimetakrylan metylu i 0,2 g nanocząstek srebra o wielkości ziaren średnio 40 nm. Oba składniki miesza się ze sobą w temperaturze pokojowej. Do uzyskanej mieszaniny proszku w temperaturze 23°C +/-1°C dodaje się ciecz wiążącą w postaci metakrylanu metylu w ilości 13,30 g i miesza się ręcznie lub próżniowo, znanym sposobem, aż do uzyskania homogennej mieszaniny.

Następnie w czasie plastyczności uzyskanej mieszaniny, pokrywa się powierzchnię implantu metalowego tworząc powłokę o grubości 2 mm, znanym sposobem. Uzyskana w ten sposób powłoka bazująca na cemencie kostnym zawierającym polimetakrylan metylu bardzo dobrze wiąże się do powierzchni implantów zbudowanych z metalu, w tym zwłaszcza zbudowanych ze stali nierdzewnej i niklu.

Przykład 2

Powłokę otrzymuje się w ten sam sposób jak opisano w przykładzie 1, z tym, że stosuje się nanocząstki miedzi w ilości 0,35 g o wielkości 25–30 nm, które miesza się z polimetakrylanem metylu. Do uzyskanej mieszaniny proszku w temperaturze 25°C dodaje się ciecz wiążącą.

Przykład 3

Powłokę otrzymuje się w ten sam sposób jak opisano w przykładzie 1, z tym, że stosuje się nanocząstki srebra w ilości 0,15 g, o wielkości 20–25 nm.

Przykład 4

Badanie właściwości przeciwbakteryjnych i cytotoksyczności otrzymanych powłok.

Powierzchnię kilku rodzajów implantów metalicznych, w tym gwoździa śródszpikowego zbudowanego ze stali z domieszką chromu, niklu i molibdenu, trzpienia endoprotezy ze stopu tytanu i pinów tytanowych Ti6Al4V oraz Ti13Zr13Nb pokryto plastyczną homogenną mieszaniną, tworząc powłokę otrzymaną jak opisano w przykładzie 1, przykładzie 2 i przykładzie 3.

Powłokę utworzono znaną techniką zanurzeniową i elektroforetyczną.

Uzyskano powłoki o grubości 1–3 mm.

Próbki implantów o wielkości średnio 10x15 mm i piny tytanowe pokryte powłoką umieszczono w roztworze mieszaniny bakterii *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* według sposobu opisanego w polskim zgłoszeniu patentowym P.409082.

Następnie próbki inkubowano w mieszaninie bakterii przez okres 6 miesięcy w utworzonym roztworze z pożywką. Po 6 miesiącach przebywania w roztworze bakteryjnym obserwacja mikroskopowa

nie wykazała adhezji bakterii do powierzchni próbek implantów i pinów tytanowych albo wykazano pojedyncze kolonie bakteryjne bez utworzonego biofilmu, co pokazano na fig. 1, przedstawiającym powierzchnię implantu pokrytego powłoką po 6 miesięcznej inkubacji w roztworze bakteryjnym. Badania te potwierdziły aktywność przeciwbakteryjną powierzchni zawierającej nanocząstki metali – srebra i miedzi.

Równolegle przeprowadzono badania adhezji osteoblastów do powierzchni implantów metalowych z naniesioną powłoką zawierającą nanocząstki srebra, utworzone jak w przykładzie 1 i 3, które wszczepiono w kości udowe szczurów. Po okresie 6 tygodni implanty były usuwane z organizmu i podane obserwacji mikroskopowej. Obserwacja wykazała dobry zrost tkanki kostnej z powłoką oraz brak komórek bakteryjnych w obrębie zrostu. Wyniki badania przedstawiono na fig. 2.

W każdym przypadku zastosowania powłoki otrzymanej według przykładu 1, 2, 3 nie wykazano również znaczących zmian na powierzchni implantu typu takich jak degradacja.

Przeprowadzono również badanie cytotoksyczności nanocząstek srebra o średniej wielkości 40 nm stosując model komórkowy badania osteoblastów *in vitro* – hodowlę linii ludzkich osteoblastów hFOB 1,19. Linie hodowano w znanych warunkach stosując znane pożywki wzrostowe [Swieczko-Zurek B., Inkielewicz-Stepniak I., Siwicka K. i The Influence of Biological Environment on the Silver-Coated Implants. IJSBAR, ISSN 2307–4531, 2016]. Linie inkubowano w różnych stężeniach wodnej zawiesiny nanocząstek srebra przez 24 h stosując medium zawierające surowicę cielęcą SFC. Przeżycie komórek badano testem MTS z wykorzystaniem formazanu jest substancji barwnej, a intensywność jego zabarwienia mierzono przy użyciu spektrofotometru. Wykazano, że w stężeniu 1, 5, 10, 20 ng/ml nanocząstek srebra nie wykazano znaczących statystycznie różnic w przeżyciu komórek.

Stężenie, przy którym nie występuje cytotoksyczność uwzględniono w przypadku zawartości nanocząstek metalu w powłoce.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania implantu metalicznego pokrytego powłoką, **znamienny tym**, że celem otrzymania materiału na powłokę przygotowuje się mieszaninę o postaci proszku zawierającą polimetakrylan metylu z nanocząstkami srebra i/lub nanocząstkami miedzi, a następnie uzyskany proszek miesza się z cieczą wiążącą w postaci metakrylanu metylu w temperaturze pokojowej, zachowując nadmiar mieszaniny proszku do metakrylanu metylu, aż do uzyskania homogennej mieszaniny plastycznej do pokrycia powierzchni implantu metalowego z tym, że dodaje się taką ilość nanocząstek metalu aby w końcowej mieszaninie uzyskać od 0,1 do 0,8% wagowych, korzystnie 0,3–0,5% wagowych, a następnie implant pokrywa się plastyczną homogenną mieszaniną tworząc powłokę o grubości od 1 do 3 mm.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że wielkość nanocząstek w powłoce metalu wynosi od 15 nm do 45 nm.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że mieszaninę proszku miesza się z metakrylanem metylu w temperaturze od 22 do 24°C.
4. Implant metaliczny pokryty powłoką, **znamienny tym**, że jako powłokę zawiera akrylanowy cement kostny zawierający polimetakrylan metylu oraz nanocząstki srebra i/lub nanocząstki miedzi w ilości od 0,1 do 0,8% wagowych powłoki, które razem zmieszane są z cieczą wiążącą w postaci metakrylanu metylu, przy czym grubość powłoki na implancie wynosi od 1 do 3 mm.
5. Implant metaliczny według zastrz. 4, **znamienny tym**, że wielkość nanocząstek metalu wynosi od 15 nm do 45 nm.

Rysunki



Fig. 1

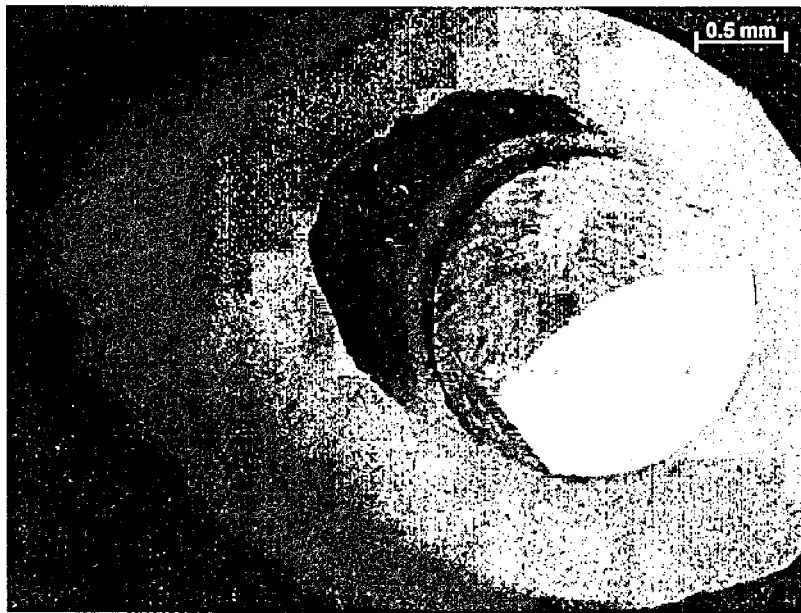


Fig. 2