



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00240

(22) Data de depozit: 20.03.2013

(41) Data publicării cererii:
30.10.2014 BOPI nr. 10/2014

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR. 313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• FICAI ANTON, STR. RAHOVEI, NR. 30-32,
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;
• ANDRONESCU ECATERINA,
CALEA PLEVNEI NR. 141B, BL. 4, ET. 1,
AP. 1, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• ALBU MĂDĂLINA GEORGIANA,
BD. TINERETULUI NR. 21, BL. Z6, SC. 1,
ET. 7, AP. 48, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO;
• FICAI DENISA, STR. RAHOVEI, NR. 30-32,
SC. 2, ET. 1, AP. 11, BRAGADIRU, IF, RO;
• SONMEZ MARIA, STR. MIHAI VITEAZU
NR. 15, SEINI, MM, RO

(54) GREFE OSOASE OSTEOINDUCTIVE ȘI
OSTEOCONDUCTIVE, ȘI PROCEDU DE OBȚINERE A
ACESTORA

(57) Rezumat:

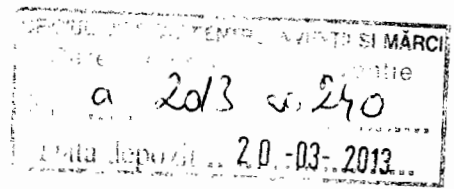
Invenția se referă la o grefă osoasă utilizată în stomatologie. Grefa osoasă, conform invenției, este constituită

din colagen și hidroxiapatită, eventual, carbonată, precum și precursori ai acestora.

Revendicări: 1

Figuri: 2





GREFE OSOASE OSTEOINDUCTIVE SI OSTEOCONDUCTIVE SI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA

Domeniul tehnic in care poate fi folosita inventia:

Invenția se referă la grefa osoasa osteoinductiva și osteoconductiva pe baza de colagen și hidroxiapatită precum și săruri de calciu cu biodisponibilitate avansată și colagen denaturat sub formă de hidrolizat care poate fi utilizata în stomatologie și ortopedie, în ingineria tisulară osoasă și la un procedeu de obținere a acestora.

Descrierea stadiului actual:

Substituenții de os sunt materiale naturale sau sintetice, unare, binare sau polinare care pot prelua parțial sau total funcțiile osului substituit/grefat [1]. Materialele utilizate pentru regenerarea osoasă sunt metalice, polimerice, ceramice sau compozite. Metalele sunt utilizate acolo unde sunt necesare materiale cu proprietăți mecanice avansate cum ar fi tije, șuruburi, plăcute, etc însă datorită mediului coroziv cu care intra în contact după implantare sunt susceptibile oxidării și în consecință necesită intervenții de revizie periodice. În cazul grefelor polimerice, ceramice sau compozite aceste intervenții sunt evitate însă în cazul oaselor cu încărcare mecanică mare nu pot asigura proprietățile metalelor/aliajelor, drept pentru care nu s-a putut renunța la materialele metalice, din prima generație de biomateriale.

Pe lângă materialele consacrate și aplicate cu succes există un număr mare de materiale compozite în diverse faze, unele dintre ele obținând recent toate aprobările în vederea folosirii în scopuri medicale.

Brevetul WO 2012084214 (A1) descrie metoda pentru producerea unui material pentru substituent poros osos din fosfat de calciu și hidroxiapatita nanocristalină impregnate cu fibre de colagen. Spre deosebire de invenția noastră acest material nu conține hidrolizat de colagen care conferă funcția de osteointegrare mai rapidă. Alt biomaterial compozite a fost prezentate în brevetul US 2012 148681 (A1) – scaffold peptidic conținând cel puțin o peptida sau combinații de peptide cu rol terapeutic pentru stimularea și promovarea activității osteogenice și osteoconductive pentru celule. Acest material, comparativ cu materialul compozit prezentat în prezenta invenție are dezavantajul că nu conține colagen

fibrilar tip I care da rezistența mecanică suportului. În brevetul CN 102416200 (A) sunt prezentate microsfele de fosfat de calciu sintetizate în prezența de bio-macromoleculă de colagen. Alte compozite similare au fost descrise în US 2011276147 (A1) – substituent de os obținut prin deshidratare având în compoziție colagen fibrilar, hidroxiapatită și fosfat de calciu și în WO 2011018057 (A2) – compozit din colagen atelo-peptidic și hidroxiapatită. Brevetele descrise mai sus au avantajul de a avea o structură și compoziție cât mai apropiate de osul natural, dar în comparație cu prezenta invenție, nu au capacitatea de a conferi osteoinductivitate și osteoconductivitate în contact cu țesutul.

Problema tehnică

Având în vedere numărul din ce în ce mai mare de probleme de sănătate de ale țesuturilor tari (os), problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unei grefe osoase osteoinductive și osteoconductive pe baza de colagen și hidroxiapatită precum și săruri de calciu cu biodisponibilitate avansată și colagen denaturat sub formă de hidrolizat care poate fi utilizată cu succes în ingineria tisulară osoasă.

Soluția tehnică

Grefa osoasă osteoinductivă și osteoconductivă conform invenției înlătură dezavantajele menționate prin aceea că este constituită din următoarele componente, exprimate în procente gravimetrice: a) 10-30% un polimer natural, colagen fibrilar tip I, obținut din derma pielii de vițel, sub formă de gel, cu structură nativă triplu helicoidală, cu un conținut de 0.5–3.0% colagen substanță uscată, b) 25-80% hidroxiapatită, c) 1-30% hidrolizat de colagen și d) urme - 10% gluconat de calciu.

Procedeele de obținere a materialelor compozite COL(-HC)/HA(-Ca²⁺) este prezentat în Figura 1. Se poate constata că metoda este deosebit de versatilă putându-se obține o varietate de materiale compozite, de la materialele COL/HA simple (adică cantitatea de HC dozată este 0%) atât prin ruta A – mineralizare (reacția este condusă stoichiometric) cât și prin ruta B – prin adăugare directă a cantității dorite de HA pur la materiale compozite cu osteointegrare îmbunătățită de tip COL-HC/HA-Ca²⁺ cu conținut variabil de HC și săruri de calciu cu biodisponibilitate mărită.

În toate cazurile, osteoinductivitatea este dată de natura componentelor, atât colagenul cât și hidroxiapatita fiind osteoinductive [2]. Oricare dintre materialele compozite prezentate

În continuare pot conține diverse componente celulare sau aceluare pentru îmbunătățirea anumitor proprietăți, cum ar fi: celulele STEM, celule osoase, factori de creștere [1], celule osoase morfogenice [3], vitamine, ioni, etc. Materialele pe bază de colagen și hidroxiapatită sunt și osteoconductive [4], osteoconductivitatea putând fi îmbunătățită prin modelarea porozității și dimensiunii porilor prin procesare adecvată [5].

Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii

Aplicarea invenției conduce la următoarele avantaje:- realizarea unei grefe osoase cu o compoziție foarte apropiată de cea a osului uman;

- grefa osoase are proprietăți performante datorita activității osteoinductive și osteoconductive;

- utilizarea grefei din prezenta invenție este mult mai avantajoasa comparativ cu utilizarea unor alogrefe sau xenogrefe;

Descrierea detaliată a invenției:

Colagenul (COL) este proteina de baza din organismul uman si animal, fiind unul din polimerii naturali cei mai utilizați ca biomateriale cu aplicații medicale. Conformația moleculara de triplu helix si existenta hidroxiprolinei in structura sa deosebesc colagenul de celelalte proteine. In această invenție este utilizat gelul de colagen fibrilar tip I obținut din piele bovină, având o concentrație de colagen de 0.5 ... 3,0%.

Hidroxiapatita este componentul anorganic principal al osului și este recunoscut ca material de umplutura pentru oase datorita osteoconductivității și biocompatibilității și este utilizata in aplicații biomedicale. Hidroxiapatita utilizată în aceasta invenție este obținută *in situu* pornind de la lactat sau gluconat de calciu de granulație milimetrică în prezența de fosfat disodic.

Hidrolizatul de colagen (HC) este obținut prin hidroliza chimica sau enzimatica a colagenului si reprezintă o sursa importanta de peptide si aminoacizi fiind un agent terapeutic in sistemul matriceal osos. Hidrolizatul de colagen utilizat in prezenta invenție are un conținut de azot aminic de 16 ...17 % si masa moleculara de 5000 – 15000 Da.

Gluconat de calciu și lactatul de calciu sunt reactivi de puritate >98% si granulație medie <1mm.

În funcție de natura și concentrațiile acestor materii prime utilizate precum și de ruta de procesare și condițiile de lucru se pot identifica următoarele cazuri specifice:

Exemplu 1. COL/HA

Aceste materiale compozite pot fi obținute atât prin mineralizare (indiferent de forma de prezentare a colagenului: gel, matrici, fibre - ruta A) cât și prin amestecare directă a colagenului și a HA (în special în cazul gelului de colagen, ruta B). Conținutul de HA poate varia în limite largi de la 0 la 100% HA însă uzual se recomandă în raport COL:HA similar osului substituit adică 2:6 – 2:8. În acest caz nu are loc adăugarea de HC ceea ce se materializează într-o osteoinductivitate moderată (indusă doar de prezența colagenului și hidroxiapatitei). În acest caz osteoconducția este moderată datorită lipsei unor factori care să favorizeze osteosinteza. Acest tip de material poate fi considerat martor.

Exemplu 2. COL-HC/HA

Aceste materiale compozite implică adăugarea/dozarea hidrolizatului de colagen. Conținutul de hidrolizat raportat la colagen poate varia de la 0 la 100%. Și în acest caz materialele compozite COL-HC/HA pot fi obținute prin mineralizarea amestecului de polimeri (ruta A) sau prin adăugarea cantității de HA dorite (ruta B). Prezența hidrolizatului de colagen induce o mai bună osteoconductivitate deoarece prezența unor aminoacizi esențiali sau fragmente de colagen (peptide) va asista la formarea matricii de colagen caracteristică organismului gazda, odată ce a avut loc invadarea cu celule osoase primare a interfeței și a grefei. Mineralizarea ulterioară a colagenului format va avea loc conform mecanismelor naturale.

Exemplu 3. COLL/HA-Ca²⁺

În cazul în care se dorește obținerea unui material cu osteointegrare îmbunătățită se va recurge la utilizarea unor precursori de Ca²⁺ cu biodisponibilitate mai bună (spre exemplu se recomandă gluconat sau lactat de calciu). În acest caz, în scopul menținerii unui anumit nivel de Ca²⁺ biodisponibil la interfața implant/os se va doza precursorul de Ca²⁺ în exces. În cazul în care se lucrează cu lactat sau gluconat de Ca²⁺ solubilitatea moderată va permite o încapsulare de lactat sau gluconat de calciu în matricea de material

compozit COL/HA. Osteoconductivitatea îmbunătățită va avea loc ca urmare a creșterii concentrației de calciu biodisponibil și implicit viteza de minerealizare crește ca urmare a creșterii conținutului de ioni de calciu. Prezența calciului sub formă anorganică este mai greu asimilabil și implicit materialul prezintă o osteoconductivitate mai mică. Porozitatea avansată (Figura 2) duce de asemenea la creșterea osteointegrării deoarece invadarea cu celule osteoprogenitoare are loc mai rapid. În acest caz, osteointegrarea se preconizează a fi mai rapidă decât în cazul compozitelor COLL/HA simple.

Exemplu 4. COLL-HC/HA-Ca²⁺

Aceasta categorie de materiale compozite prezintă cea mai bună osteointegrare deoarece osteoinductivitatea dedublata de o osteoconductivitate îmbunătățită de prezența hidrolizatului de colagen și a calciului ionic ușor asimilabil. Datorită osteoconductivității crescute, aceste materiale se vor osteointegra cel mai rapid, comparativ cu exemplele prezentate anterior.

Referințe bibliografice

1. Janicki P, Schmidmaier G. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury* 2011;42(SUPPL. 2):S77-S81.
2. Barradas AMC, Yuan H, Blitterswijk CA, Habibovic P. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. *European Cells and Materials* 2011;21:407-429.
3. Lee M, Li W, Siu RK, Whang J, Zhang X, Soo C, et al. Biomimetic apatite-coated alginate/chitosan microparticles as osteogenic protein carriers. *Biomaterials* 2009;30(30):6094-6101.
4. Kikuchi M, Matsumoto HN, Yamada T, Koyama Y, Takakuda K, Tanaka J. Glutaraldehyde cross-linked hydroxyapatite/collagen self-organized nanocomposites. *Biomaterials* 2004;25(1):63-69.
5. Chang BS, Lee KK, Hong KS, Youn HJ, Ryu HS, Chung SS, et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials* 2000;21(12):1291-1298.

REVENDICĂRI

Prin prezenta, solicităm dreptul de protecție intelectuală asupra materialelor și tehnologiilor aferente, în special asupra:

- Materiale compozite de tip COL-HC/HA, COL/HA-Ca²⁺, COL-HC/HA-Ca²⁺ **caracterizate prin aceea că** aceste materiale induc atât proprietăți osteoinductive cât și osteoconductive materializate într-o osteointegrare rapidă a umpluturilor/grefelor utilizate în vindecarea fracturilor și defectelor osoase;
- Tehnologia de obținere a grefelor osoase compozite, osteoconductive și osteoinductive, cu potențiale aplicații în regenerarea rapidă a fracturilor și defectelor osoase **caracterizată prin aceea că** materialul compozit propus are la bază componentele naturale existente în os (colagen și hidroxiapatită - carbonatată sau nu) precum și precursori ai acestora;
- Tehnologia de obținere a grefelor osoase **caracterizată prin aceea că** metoda permite transformarea parțială, controlată a precursorilor, în timp ce sărurile de calciu nereacționate, în special săruri organice, asigură o concentrație ridicată de Ca²⁺ la nivelul defectului osos și implicit, induce o osteointegrare mai rapidă;
- Tehnologia de obținere a grefelor osoase **caracterizată prin aceea că** materialul compozit propus, datorită conținutului de hidrolizat de colagen asigură un management eficient al vindecării defectelor osoase;
- Tehnologia de obținere a grefelor osoase **caracterizată prin aceea că** materialul compozit propus conține precursori ai colagenului (adică colagen denaturat) care poate să fie ușor asimilat de organism și transformat în colagen inducând astfel o mai rapidă osteointegrare;

Figuri

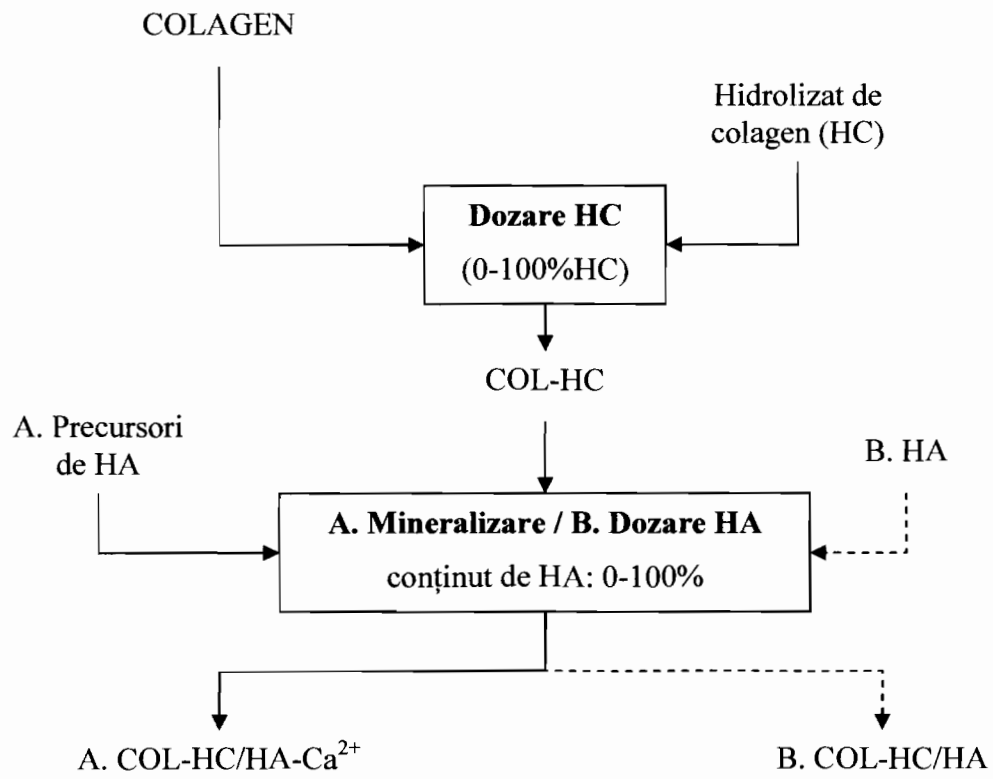


Figura 1. Schema de obținere a materialelor compozite utilizate pentru obținerea unor grefe osoase osteoinductive și osteoconductive

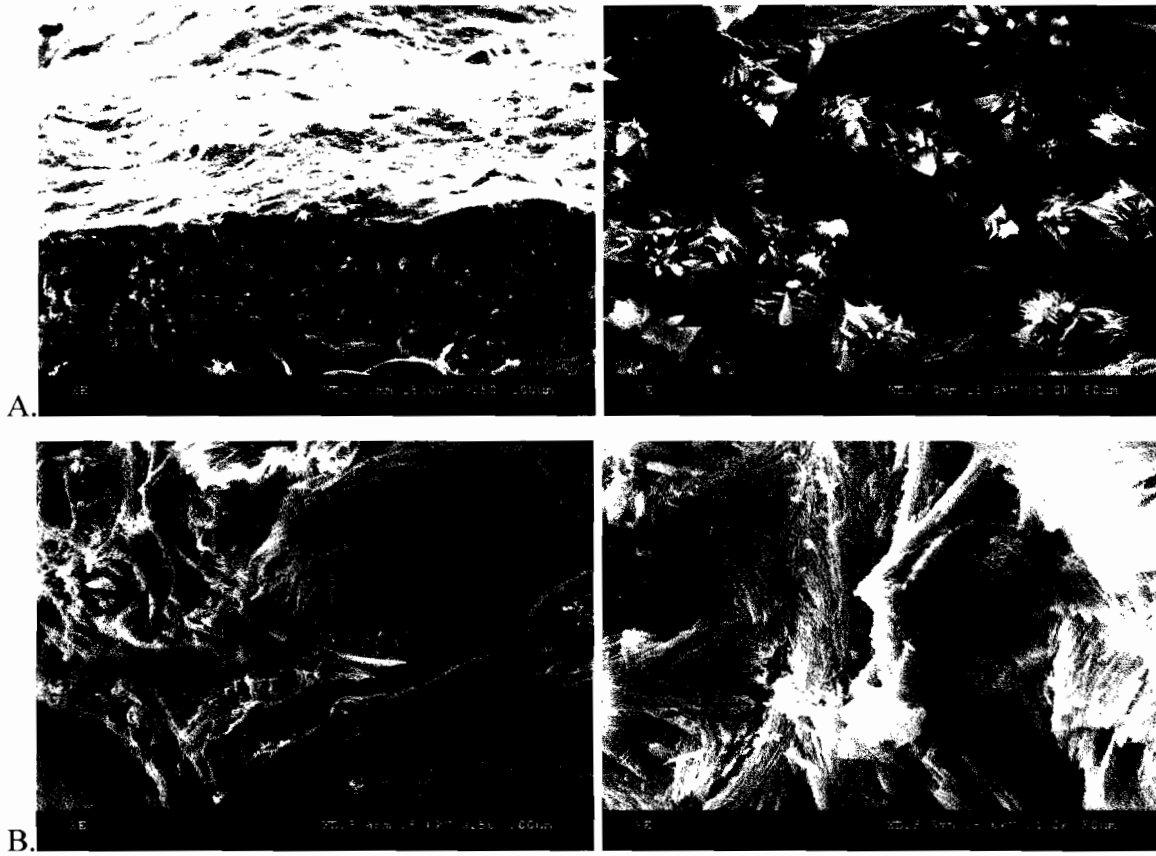


Figura 2. Imagini SEM caracteristice materialelor compozite COL/HA-Ca²⁺: A. provenit de la gluconat; B. provenit de la lactat de calciu