



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0053537

(51)^{2020.01} A61L 27/60; A61F 2/10; A61L 27/22; (13) B
A61L 27/36; B33Y 70/00; B29C 64/386;
B33Y 50/00; A61F 13/00; A61L 27/54

(21) 1-2020-00350

(22) 22/10/2019

(86) PCT/KR2019/013856 22/10/2019

(87) WO 2021/071001 15/04/2021

(30) 10-2019-0124693 08/10/2019 KR

(45) 25/11/2025 452

(43) 25/08/2021 401A

(73) ROKIT HEALTHCARE INC. (KR)

B-1101, 32, Digital-ro 9-gil, Geumcheon-gu, Seoul, 08512, Republic of Korea

(72) Seok Hwan YOU (KR).

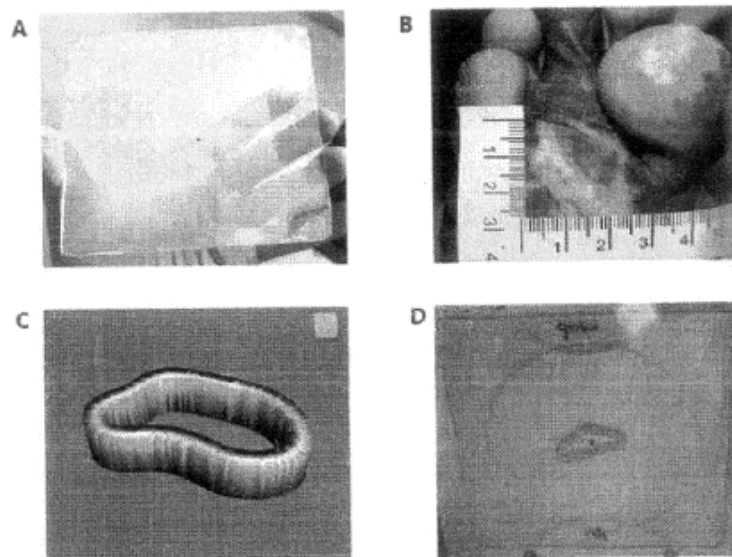
(74) Công ty cổ phần tư vấn Trung Thực (TRUNG THUC.,JSC)

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT TẤM TÁI TẠO DA CHO RIÊNG BỆNH NHÂN BỊ
LOÉT CHÂN DO ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

(21) 1-2020-00350

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, và tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường.

Hình 2



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường và tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường được sản xuất theo phương pháp này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hội chứng loét chân do đái tháo đường là hiện tượng loét chân gây ra bởi tổn thương do các vết cắt da đối với mô da, đặc biệt là ở chân của người mắc bệnh đái tháo đường. Đây là hiện tượng gây ra bởi sự loét chân do bệnh thần kinh hoặc bệnh mạch ngoại vi gây ra bởi bệnh đái tháo đường hoặc sự nhiễm trùng vết thương nặng hơn ở bệnh nhân đái tháo đường. Khoảng 20% bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường có hội chứng loét chân do đái tháo đường ít nhất là một lần, và khoảng 1% đến 3% bệnh nhân bị cắt một phần chân.

Ngoài ra, đã biết rằng, trừ trường hợp chấn thương, hơn một nửa trường hợp cắt một phần chân là do hội chứng loét chân do bệnh đái tháo đường gây ra. Như vậy, vì hội chứng loét chân do bệnh đái tháo đường gây ra là nguyên nhân chính làm giảm chất lượng cuộc sống của bệnh nhân đái tháo đường, nên cần có cách điều trị hội chứng này. Cụ thể là, cần có các nghiên cứu về việc tái tạo mô da ở vùng bị hoại tử gây ra bởi hội chứng loét chân do bệnh đái tháo đường gây ra để có cuộc sống bình thường.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường mà có thể phục hồi da ở tổn thương hoại tử của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường thành da bình thường, và tấm tái tạo

da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường được sản xuất theo phương pháp này.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, phương pháp bao gồm các bước: A) chiết xuất mô mỡ tự thân; B) loại bỏ xơ trong mô mỡ tự thân bằng cách sử dụng bộ lọc thứ nhất có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 2mm đến 3mm; C) nghiền mô mỡ tự thân mà xơ đã được loại ra khỏi đó bằng cách liên tục cho nó đi qua bộ lọc thứ hai có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 450µm đến 550µm và bộ lọc thứ ba có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 150µm đến 250µm; D) thu nhận chiết phẩm mô mỡ bằng cách chiết xuất mô mỡ tự thân nên được gom trên bộ lọc thứ tư có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 25µm đến 75µm; E) nhận dữ liệu 3D của vùng khuyết tật da của bệnh nhân bằng cách sử dụng máy quét 3D, và sau đó trên cơ sở dữ liệu này sản xuất khuôn 3D tương ứng với vùng khuyết tật da bằng cách sử dụng máy in 3D; F) tạo ra lớp tiền tổ bằng cách cấp dung dịch thứ nhất chứa chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen vào bên trong khuôn 3D; G) đóng rắn lớp tiền tổ thành lớp tái tạo da bằng cách cấp dung dịch thứ hai chứa trombin lên lớp tiền tổ; và H) tháo khuôn 3D.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường được sản xuất bằng cách áp dụng phương pháp nêu trên.

Phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường theo sáng chế sản xuất một cách nhanh chóng tấm tái tạo da thích hợp đối với bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường sao cho có thể trông đợi hoạt tính tế bào cao và tác động thúc đẩy tái tạo da của yếu tố sinh trưởng tế bào, tạo ra sự phục hồi hiệu quả của vùng bị ảnh hưởng.

Theo phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường theo sáng chế, tấm tái tạo da có hình dáng phù hợp với vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường (tức là, hình dáng có cùng dạng và độ sâu) có thể được sản xuất, nhờ đó phục hồi vùng bị ảnh hưởng một cách có hiệu quả hơn.

Mục đích và ưu điểm khác theo sáng chế có thể được hiểu một cách rõ ràng hơn dựa vào phần mô tả chi tiết sáng chế, các điểm yêu cầu bảo hộ và các hình vẽ dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện quy trình từng bước thu nhận chiết phẩm mô mỡ theo một phương án làm ví dụ.

Hình 2 thể hiện quy trình sản xuất khuôn 3D cho riêng bệnh nhân theo một phương án làm ví dụ.

Hình 3 thể hiện quy trình phủ tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân lên bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường theo một phương án làm ví dụ và kết quả của quy trình này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong bản mô tả này, khi một chi tiết được đặt “trên” chi tiết khác, thì chi tiết thứ nhất tiếp xúc với chi tiết thứ hai, hoặc chi tiết thứ ba nằm xen giữa hai chi tiết này.

Trong bản mô tả này, khi một phần “chứa”, “bao gồm”, hoặc “có” một thành phần, trừ khi có quy định khác một cách cụ thể, thì thành phần khác có thể được có thêm vào, mà không loại trừ các thành phần khác.

Sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết dưới đây.

Theo một phương án làm ví dụ, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, phương pháp bao gồm các bước:

- A) chiết xuất mô mỡ tự thân;
- B) loại bỏ xơ trong mô mỡ tự thân bằng cách sử dụng bộ lọc thứ nhất có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 2mm đến 3mm;
- C) nghiền mô mỡ tự thân mà xơ đã được loại ra khỏi đó bằng cách liên tục cho nó đi qua bộ lọc thứ hai có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 450µm đến 550µm và bộ lọc thứ ba có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 150µm đến 250µm;
- D) thu nhận chiết phẩm mô mỡ bằng cách chiết xuất mô mỡ tự thân nên được gom trên bộ lọc thứ tư có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 25µm đến 75µm;

E) nhận dữ liệu 3D của vùng khuyết tật da của bệnh nhân bằng cách sử dụng máy quét 3D, và sau đó trên cơ sở dữ liệu này sản xuất khuôn 3D tương ứng với vùng khuyết tật da bằng cách sử dụng máy in 3D;

F) tạo ra lớp tiền tổ bằng cách cấp dung dịch thứ nhất chứa chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen vào bên trong của khuôn 3D;

G) đóng rắn lớp tiền tổ thành lớp tái tạo da bằng cách cấp dung dịch thứ hai chứa trombin lên trên lớp tiền tổ; và

H) tháo khuôn 3D.

Dưới đây, từng bước của phương pháp của sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường sẽ được mô tả một cách chi tiết.

Bước A): Chiết xuất mô mỡ tự thân

Bước A) có thể chiết mô mỡ tự thân của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường bằng cách áp dụng cách hút mỡ chung. Đặc biệt, mô mỡ tự thân ở bước A) có thể thu được bằng cách loại bỏ nước muối được dùng trong việc hút mỡ và máu đã được trộn với mô mỡ từ chiết phẩm thu được bằng cách hút mỡ.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, bước A) có thể chiết mô mỡ tự thân bằng cách loại bỏ máu và nước muối sinh lý chứa trong chiết phẩm thu được bằng cách hút mỡ. Đặc biệt, ở bước A), chiết phẩm thu được bằng cách hút mỡ có thể được để trong một khoảng thời gian định trước để cho phép máu và nước muối sinh lý tách ra khỏi lớp mỡ, và sau đó máu và nước muối sinh lý có thể được lọc, nhờ đó chiết xuất mô mỡ tự thân. Như nêu trên, khi máu và nước muối sinh lý bị loại bỏ, chiết phẩm mô mỡ tiếp nối có thể được chiết một cách có hiệu quả hơn, và chiết phẩm mô mỡ chiết được có thể chứa yếu tố sinh trưởng và tế bào hoạt động một cách có hiệu quả hơn, mà điều này thích hợp đối với việc điều trị.

Bước B): Loại bỏ xơ trong mô mỡ tự thân

Bước B) loại bỏ xơ trong mô mỡ tự thân chiết được bằng cách sử dụng bộ lọc thứ nhất có đường kính lỗ tương đối lớn. Đặc biệt, bộ lọc thứ nhất ở bước B) có thể là bộ lọc kiểu bơm tiêm được làm bằng thép không gỉ. Đặc biệt, do bộ lọc thứ nhất có phần lọc được làm bằng thép không gỉ có độ bền cao, xơ có thể được tách một cách có hiệu quả ra khỏi mô mỡ tự thân. Cụ thể hơn, ở bước B), bơm tiêm có thể được lắp ở cả hai đầu của bộ lọc thứ nhất, và mô mỡ tự thân chiết được có thể đi qua

bộ lọc thứ nhất hai lần hoặc nhiều lần bằng cách áp dụng chuyển động pit tông của bơm tiêm, cụ thể là từ hai đến ba lần. Ở bước B), trước hết xơ trong mô mỡ tự thân được lọc để nghiền mô mỡ tự thân một cách có hiệu quả hơn và nhanh hơn.

Bước C): Nghiền mô mỡ tự thân

Bước C) có thể bao gồm việc nghiền mô mỡ tự thân bằng cách cho qua mô mỡ tự thân đã loại xơ thông qua bộ lọc thứ hai, và nghiền bổ sung mô mỡ tự thân bằng cách cho dịch lọc của chúng qua bộ lọc thứ ba.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, bước C) có thể nghiền mô mỡ tự thân đã loại xơ bằng cách phun mô mỡ tự thân đã loại xơ vào trong túi lọc, và cho mô đi qua bộ lọc bằng cách cấp áp suất bên ngoài. Đặc biệt, ở bước C), mô mỡ tự thân đã loại xơ có thể được phun vào trong túi lọc, và sau đó ra khỏi túi lọc này, dụng cụ như dao trộn silicon có thể được sử dụng để cho mô mỡ tự thân đã loại xơ đi liên tục qua bộ lọc thứ hai và bộ lọc thứ ba để nghiền mô mỡ tự thân.

Trong bản mô tả này, túi lọc, mà là kit lọc dạng túi nhỏ kín được làm bằng nhựa dẻo, có cửa vào ở một bên và cửa ra ở bên kia, và khoảng trống bên trong được chia bởi các bộ lọc.

Ví dụ, bộ lọc thứ hai và bộ lọc thứ ba ở bước C) có thể được sử dụng bằng cách cải biến túi lọc của kit Lipocell do Tiss'you sản xuất. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở phương pháp này, và các bộ lọc thích hợp đối với mục đích của sáng chế có thể được sử dụng.

Như đã được bộc lộ ở Bước C), khi mô mỡ tự thân được nghiền bằng cách sử dụng các bộ lọc có đường kính lỗ giảm dần, thời gian để nghiền mô mỡ tự thân một cách mịn hơn có thể được giảm một cách hiệu quả, và tế bào trong chiết phẩm mô mỡ có thể duy trì hoạt tính tế bào cao. Đặc biệt, theo Bước C), mặc dù mô mỡ được nghiền mịn theo phương pháp vật lý, có thể có thu được một cách có hiệu quả lượng lớn mô mỡ, tế bào có hoạt tính và protein có hoạt tính mà hiệu quả đối với việc điều trị. Ngoài ra, theo Bước C), có thể gom được nền ngoại bào và các yếu tố sinh trưởng ở trạng thái hoạt tính lý tưởng, và các tính chất lý học để hoàn tất việc in sinh học (3D).

D) Thu nhận chiết phẩm mô mỡ

Bước D) lọc mô mỡ tự thân được nghiền ở bước C) thông qua bộ lọc thứ tư,

và sau đó thu nhận nguyên liệu gom được trên bộ lọc này sau khi loại bỏ dịch lọc. Đặc biệt, ở bước D), sau khi mô mỡ tự thân được nghiền ở bước C) được trộn với nước muối sinh lý, hỗn hợp này có thể được lọc thông qua bộ lọc thứ tư tách và loại bỏ dịch lọc, và nguyên liệu được gom trên bộ lọc thứ tư có thể được dùng làm chiết phẩm mô mỡ. Nguyên liệu được loại ra bằng cách lọc có thể được nghiền rất mịn, và do đó có thể chứa mô mỡ có hoạt tính tế bào giảm, máu hoặc nước muối sinh lý, mà có thể cản trở hoạt tính của tái tạo da thành phẩm theo sáng chế và do đó phải loại bỏ.

Bước D) có thể loại bỏ nguyên liệu đã lọc qua bộ lọc thứ tư sau khi mô mỡ tự thân đã loại xơ và nước muối sinh lý được phun vào túi lọc. Đặc biệt, ở bước D), mô mỡ tự thân đã loại xơ và nước muối sinh lý có thể được phun vào trong túi lọc, và sau đó mô mỡ tự thân đã nghiền có thể được lọc thông qua bộ lọc thứ tư bằng cách cấp áp suất thích hợp.

Ví dụ, bộ lọc thứ tư ở bước D) có thể được sử dụng bằng cách cải biến túi lọc của kit Lipocell do Tiss'you sản xuất. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở loại này, và bộ lọc thích hợp đối với mục đích theo sáng chế có thể được sử dụng.

Cụ thể hơn, chiết phẩm mô mỡ thu được theo sáng chế có thể chứa nhiều yếu tố sinh trưởng, tế bào có hoạt tính và protein có hoạt tính, mà là cần thiết cho sự phục hồi da của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường. Ngoài ra, do trong chế phẩm sinh học (ví dụ, dung dịch thứ nhất) sử dụng chiết phẩm mô mỡ có thể được duy trì ở độ nhớt thích hợp và được xả ở tốc độ không đổi mà không làm tắc vòi phun trong quá trình in sinh học, chế phẩm này là thích hợp để sản xuất tái tạo da đòi hỏi việc in sinh học chính xác.

Ngoài ra, do chiết phẩm mô mỡ có thể được chiết xuất nhanh trong khi chứa lượng tối đa yếu tố sinh trưởng, tế bào có hoạt tính và protein có hoạt tính nên việc điều trị hiệu quả hơn là khả thi.

Bước E): Sản xuất khuôn 3D tương ứng với vùng da khuyết tật

Bước E) có thể sử dụng thiết bị in hoặc quét 3D, mà là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, khuôn 3D có thể duy trì cấu trúc ba chiều (tức là, hình dáng, kích cỡ, chiều sâu, v.v.) của vùng bị ảnh hưởng trong khi sử dụng dung dịch đầu tiên và dung dịch thứ hai, và có thể được loại ra sau khi tái tạo da được sản xuất.

Khuôn 3D có thể được tạo thành bằng cách sử dụng polyme tương thích về mặt sinh học thường được dùng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Đặc biệt, khuôn 3D có thể được sản xuất bằng cách sử dụng PCL. Do có nhiệt độ nóng chảy thấp và độ mềm dẻo cao, PCL có thể được tách một cách dễ dàng ra khỏi tấm tái tạo da sản xuất được. Ngoài ra, PCL có thể được dùng để tạo ra khuôn tối ưu thích hợp đối với cấu trúc ba chiều của vùng bị ảnh hưởng, và tấm tái tạo da được sản xuất bằng cách sử dụng khuôn 3D có cùng cấu trúc ba chiều như vùng bị ảnh hưởng có thể được kết dính một cách có hiệu quả vào vùng bị ảnh hưởng để giúp phục hồi da.

Bước F): Hình thành lớp tiền tổ

Bước G): Hóa rắn như lớp tái tạo da

Trong bản mô tả này, thuật ngữ lớp tiền tổ được dùng để chỉ lớp tạo được bằng cách phủ chế phẩm sinh học mà không được hóa rắn. Đặc biệt, thuật ngữ lớp tiền tổ được dùng để chỉ lớp mà được phun lên phần bên trong của khuôn 3D và chưa bị hóa rắn bằng chế phẩm chứa trombin.

Bước F) và bước G) có thể lần lượt được thực hiện bằng cách áp dụng in phun sinh học hoặc in sinh học 3D. Đặc biệt, ở bước F) và bước G), thiết bị in sinh học có hai hoặc nhiều vòi phun, mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, có thể được sử dụng và dung dịch đầu tiên và dung dịch thứ hai có thể được xả ra từ vòi phun tương ứng sao cho tạo ra cấu trúc ba chiều. Ngoài ra, khi máy in 3D hoặc máy in phun sinh học được dùng trong quá trình tạo ra lớp tiền tổ, tế bào và nền ngoại bào có thể được phân bố một cách đồng đều, và có thể ngăn ngừa hiện tượng kết tụ tế bào trong lớp tái tạo da sau khi hóa rắn.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, ở bước G), việc hóa rắn có thể được hoàn thành trong khoảng thời gian từ 30 giây đến 5 phút, và đặc biệt là từ 10 giây đến 1 phút.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, bước B) đến bước G) có thể được thực hiện trong thời gian 30 phút. Đặc biệt, bước B) đến bước G) có thể được thực hiện trong khoảng thời gian từ 1 đến 15 phút hoặc 1 đến 5 phút sau khi chiết mô mỡ.

Khi phương pháp sản xuất được áp dụng, sau khi mô mỡ tự thân được chiết xuất, tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân có thể được sản xuất một cách nhanh chóng, sao cho hoạt tính của tế bào và nền ngoại bào ở tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân có

thể được tăng đến mức lớn nhất.

Bước H): Tháo khuôn 3D

Bước H) có thể tách tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường (bao gồm một cách chọn lọc cả lớp tái tạo biểu bì đi kèm) kể cả lớp tái tạo da ra khỏi khuôn 3D. Tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường lấy ra được khỏi khuôn 3D có thể được gắn vào vùng khuyết tật da của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường để tối đa hóa tác động tái tạo da của vùng bị ảnh hưởng.

Dung dịch thứ nhất và dung dịch thứ hai

Dung dịch thứ nhất có thể chứa chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen. Chiết phẩm mô mỡ có thể bao gồm phân đoạn mạch máu mô mỡ có nguồn gốc từ mỡ và nền ngoại bào có nguồn gốc từ mỡ. Phân đoạn mạch máu mô mỡ có nguồn gốc từ mỡ có thể bao gồm tế bào gốc có nguồn gốc từ mỡ. Phân đoạn mạch máu mô mỡ có nguồn gốc từ mỡ có thể biệt hóa thành mô da ở vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường để giúp phục hồi vùng bị ảnh hưởng cùng với nền ngoại bào có nguồn gốc từ mỡ. Nền ngoại bào có nguồn gốc từ mỡ có thể tạo ra môi trường mà tế bào trong đó biệt hóa thành mô da ở vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường có thể được cố định.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, dung dịch đầu tiên có thể chứa ít nhất là một thành phần được chọn từ nhóm bao gồm insulin, các yếu tố sinh trưởng như insulin, các bạch cầu hạt, các tế bào lympho, các tế bào nội mô, các bạch cầu đơn nhân to, tế bào đơn nhân lớn, các tế bào gốc có nguồn gốc từ mỡ, các adipoxytokin, adiponectin, leptin, IL-6, IL-1 β , MCP-1 và PAI-1. Đặc biệt, dung dịch đầu tiên có thể chứa lượng insulin cao hơn nồng độ insulin trong vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, hoặc các yếu tố sinh trưởng như insulin, và do đó vùng bị ảnh hưởng có thể được phục hồi một cách có hiệu quả nhờ bù sự thiếu hụt nguồn cung insulin gây ra bởi sự hoại tử của mao mạch trong vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường.

Fibrinogen trong dung dịch đầu tiên có thể phản ứng với trombin trong dung dịch thứ hai, nhờ đó tạo ra mạng fibrin-fibrin, mà có thể tác dụng cố định một cách thích hợp tế bào có hoạt tính trong lớp tái tạo da.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, fibrinogen trong dung dịch đầu tiên

có thể là dịch chứa 60 IU fibrinogen đã được pha loãng 40% đến 60%.

Ngoài ra, theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, trombin trong dung dịch thứ hai có thể là dịch chứa 500 IU trombin đã được pha loãng 40% đến 60%.

Khi nồng độ fibrinogen và thrombin vượt quá khoảng nêu trên, lượng keo fibrin trong lớp tái tạo da là quá cao, khiến cho việc biệt hóa thành các tế bào da có thể không hiệu quả, và sức sống của tế bào có thể bị giảm thấp hơn. Ngoài ra, do độ cứng quá cao của lớp tái tạo da, tính tương thích với vùng bị ảnh hưởng có thể bị hạ thấp. Hơn thế nữa, khi nồng độ fibrinogen và thrombin là nhỏ hơn vùng nêu trên, độ cứng của lớp tái tạo da là quá thấp, khiến khó xử lý, và nếu độ chảy của tấm tái tạo da sản xuất được là quá cao, thì tấm này không thể phủ được một cách hiệu quả lên vùng bị ảnh hưởng. Tức là khi nồng độ fibrinogen và thrombin nằm trong vùng nêu trên, tấm tái tạo da sản xuất được có thể thể hiện sức sống tế bào cao nhất, và có thể có hiệu quả tối đa khi được phủ lên vùng bị ảnh hưởng nhờ độ cứng và độ chảy thích hợp. Ngoài ra, mức phân bố protein và tế bào có hoạt tính trong tấm tái tạo da có thể được duy trì một cách đồng đều, và do đó vùng bị ảnh hưởng có thể được xử lý một cách có hiệu quả.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, dung dịch đầu tiên có thể còn bao gồm aprotinin. Aprotinin, mà là chất ức chế proteaza tiết từ tụy, là polypeptit bao gồm tổng cộng 58 axit amin. Aprotinin thường được tiết từ phổi bò, và đã biết là có tác động cân bằng nội môi bằng cách cản trở thoái biến fibrin trong máu.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, aprotinin có thể được đưa vào ở mức 900 đến 1.100 đơn vị bất hoạt kininogen (KIU Kininogen Inactivator Units), và đặc biệt là, 1000 KIU trên 1ml dung dịch đầu tiên.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, dung dịch thứ hai có thể được điều chế bằng cách phân tán trombin trong dung dịch canxi clorua. Đặc biệt, dung dịch thứ hai có thể chứa 5mg đến 6,5mg canxi clorua.

Dung môi của dung dịch đầu tiên và dung dịch thứ hai có thể là nước, và đặc biệt là nước muối sinh lý. Ngoài ra, fibrinogen trong dung dịch đầu tiên và trombin trong dung dịch thứ hai có thể thu được từ kit keo fibrin thương mại.

Sáng chế sử dụng keo fibrin bao gồm fibrinogen và trombin làm chất kết dính, mà có thể có độ nhớt cao hơn chất kết dính axit hyaluronic hoặc chất kết dính

colagen, sao cho lớp tái tạo da có thể có độ bền dính tuyệt vời đối với vùng bị ảnh hưởng, và duy trì độ bền thích hợp.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, tỷ lệ thể tích của chiết phẩm mô mỡ với fibrinogen trong dung dịch đầu tiên có thể nằm trong khoảng từ 3:1 đến 5:1. Nếu tỷ lệ thể tích của chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen trong dung dịch đầu tiên nằm trong khoảng nêu trên, thì độ bền và khả năng biệt hóa tế bào của tấm tái tạo da được sản xuất có thể đạt được một cách hiệu quả nhất.

Lớp tái tạo da

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, lớp tái tạo da có thể bao gồm tế bào có nguồn gốc mỡ được nghiền mịn và yếu tố có hoạt tính trong nền fibrin. Đặc biệt, ngoài nền ngoại bào có nguồn gốc từ mỡ và phân đoạn mạch máu mô mỡ có nguồn gốc từ mỡ, lớp tái tạo da có thể bao gồm tế bào và/hoặc yếu tố có hoạt tính khác nhau.

Lớp tái tạo biểu bì

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, phương pháp có thể còn bao gồm việc tạo ra lớp tiền tổ bổ sung bằng cách phủ dung dịch thứ nhất bổ sung chứa chiết phẩm mô mỡ, fibrinogen và tế bào sừng lên trên lớp tái tạo da, và sau đó phủ dung dịch bổ sung thứ hai chứa trombin lên trên lớp tiền tổ bổ sung để hóa rắn lớp tiền tổ thành lớp tái tạo biểu bì. Dung dịch thứ nhất bổ sung và dung dịch bổ sung thứ hai có thể được phủ vào bên trong khuôn 3D theo phương pháp tương tự phương pháp nêu trên để phủ dung dịch đầu tiên và dung dịch thứ hai.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, dung dịch thứ nhất bổ sung có thể chứa chiết phẩm mô mỡ, fibrinogen và tế bào sừng, mà có thể được điều chế bằng cách bổ sung tế bào sừng vào dung dịch thứ nhất nêu trên. Ngoài ra, dung dịch thứ hai bổ sung có thể tương tự như dung dịch thứ hai nêu trên.

Dung dịch thứ nhất bổ sung có thể được phủ lên trên lớp tái tạo da đã hóa rắn, nhờ đó tạo ra lớp tiền tổ bổ sung, và dung dịch thứ hai bổ sung có thể được phủ lên trên lớp tiền tổ bổ sung cần được hóa rắn thành lớp tái tạo da.

Như vậy, lớp tái tạo biểu bì có thể bao gồm tế bào có nguồn gốc mỡ được nghiền mịn và yếu tố có hoạt tính trong nền fibrin như lớp tái tạo da nêu trên, và còn bao gồm tế bào sừng.

Lớp tái tạo biểu bì có thể được kết hợp vào làm một phần của tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, và đặc biệt, nằm ở bề mặt ngoài cùng của vùng bị ảnh hưởng để hỗ trợ tái tạo biểu bì trong vùng bị ảnh hưởng một cách có hiệu quả hơn. Đặc biệt, lớp tái tạo da có thể hỗ trợ việc phục hồi một cách có hiệu quả vùng bị ảnh hưởng, và lớp tái tạo biểu bì có thể nằm tại bề mặt ngoài cùng của vùng bị ảnh hưởng để giúp phục hồi lớp biểu bì của vùng bị ảnh hưởng, khiến phục hồi nhanh.

Tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường được sản xuất bằng cách áp dụng phương pháp nêu trên. Tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường có thể chỉ bao gồm riêng lớp tái tạo da nêu trên, hoặc bao gồm cả lớp tái tạo da nêu trên và lớp tái tạo biểu bì.

Theo phương án làm ví dụ theo sáng chế, độ dày của tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường có thể ít nhất là 1mm. Đặc biệt, khi độ dày của tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường nhỏ hơn 1mm, tế bào da không thể được tái tạo từ lớp da, gây trì hoãn sự phục hồi vùng bị ảnh hưởng, hoặc bề mặt không đều của da khôi phục được. Cụ thể hơn, độ dày của tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường có thể nằm trong khoảng từ 1mm đến 10mm, hoặc 1mm đến 5mm.

Sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết dưới đây dựa vào ví dụ thực hiện để giải thích sáng chế chi tiết hơn. Tuy nhiên, ví dụ theo sáng chế có thể được điều chỉnh thành nhiều dạng khác nhau, và không nên hiểu phạm vi của sáng chế bị giới hạn ở ví dụ dưới đây. Ví dụ theo sáng chế được thực hiện để giải thích toàn diện về giải pháp theo sáng chế cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

(1) Lấy chiết phẩm mô mỡ

Sau khi gây mê bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, 70 đến 150ml chất lỏng được chiết ra từ bụng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường bằng cách

hút mỡ và để khoảng 5 phút, và sau đó nước muối sinh lý và máu đã được trộn với mô mỡ được để yên để loại bỏ chất kết tủa, nhờ đó thu nhận mô mỡ tự thân.

Và tiếp đó, bơm tiêm chứa mỡ của bệnh nhân và bơm tiêm mới được lắp ở cửa nạp hai chiều của bộ nối có bộ lọc kiểu bơm tiêm bằng thép không gỉ (do Adnizer cung cấp, SKT-AN-2400, BSL) có đường kính lỗ 2,4mm, và xơ được lấy ra khỏi mô mỡ tự thân bằng cách cho mỡ đi qua bộ lọc này hai hoặc ba lần nhờ chuyển dịch pit tông.

Tiếp đó, mỡ đã loại xơ được tiêm vào trong túi lọc (thiết bị xử lý mô mỡ, Tiss'you) có bộ lọc PET với đường kính lỗ 500µm, tiếp theo lọc bằng cách sử dụng dao trộn silicon. Sau đó, sử dụng túi lọc (thiết bị xử lý mô mỡ, Tiss'you) có bộ lọc PET với đường kính lỗ 200µm, mỡ mà đã được cho qua bộ lọc 500µm được lọc theo phương pháp tương tự nêu trên. Tiếp đó, mỡ đã được cho qua bộ lọc 200µm được phun, cùng với cùng một lượng nước muối sinh lý, vào trong túi lọc (Thiết bị xử lý mô mỡ, Tiss'you) có bộ lọc PET với đường kính lỗ 50µm, và sau đó nước muối sinh lý và các tạp chất khác được loại bỏ, nhờ đó nhận chiết phẩm mô mỡ.

Hình 1 thể hiện quy trình từng bước thu nhận chiết phẩm mô mỡ theo phương án làm ví dụ. Đặc biệt, Hình 1A thể hiện quy trình của loại bỏ xơ khỏi mô mỡ tự thân bằng cách sử dụng bộ lọc kiểu bơm tiêm. Các Hình 1B và 1C cho thấy rằng mô mỡ tự thân đã loại xơ được nạp vào túi lọc, và sau đó dao trộn silicon được sử dụng để cho mô mỡ tự thân đi qua bộ lọc. Hình 1D thể hiện chiết phẩm mô mỡ thành phẩm thu được.

(2) Điều chế dung dịch thứ nhất và dung dịch thứ hai

Dung dịch fibrinogen (60 IU) và dung dịch trombin (500 IU) thuộc kit Beriplast (do Beriplast P Combi-Set, CSL Behring L.L.C. cung cấp) được pha loãng 50% bằng nước muối sinh lý.

Dung dịch fibrinogen pha loãng 50% và chiết phẩm mô mỡ được trộn theo tỷ lệ thể tích 1:4, bằng cách đó điều chế dung dịch thứ nhất. Ngoài ra, dung dịch trombin pha loãng 50% được dùng làm dung dịch thứ hai.

(3) Sản xuất khuôn 3D cho riêng bệnh nhân

Tâm của tấm thủy tinh gắn latex kích thước 10cm × 10cm đã được tiệt trùng bằng hơi được đánh dấu bằng chấm. Ngoài ra, một tấm màng thấm tách được cắt

thành hình vuông có cỡ to hơn vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân khoảng từ 1mm đến 2mm, được ngâm trong nước muối sinh lý, và được gắn vào tâm của tấm thủy tinh gắn latex. Tâm của tấm thủy tinh nằm ở tâm của giàn máy in 3D (do INVIVO, ROKIT HEALTHCARE cung cấp) để cân bằng giàn tấm thủy tinh. Tiếp đó, để tạo ra khuôn 3D PCL thích hợp với hình dạng và kích cỡ của vùng bị ảnh hưởng, hình thái học của vùng bị ảnh hưởng được chụp ảnh, và chuyển thành tệp tin mẫu 3D. Tiếp đó, tệp tin mẫu 3D được nạp vào máy in 3D (do INVIVO, ROKIT HEALTHCARE cung cấp), 1g đến 2g PCL loại dùng trong y tế (RESOMER C 209, EVONIK, phân tử lượng 45.000) được đưa vào cơ cấu phân tán không khí của máy in 3D (do INVIVO, ROKIT HEALTHCARE cung cấp), và sau đó khuôn 3D được in trong các điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 100°C và áp suất nằm trong khoảng từ 600kPa đến 800kPa.

Hình 2 thể hiện quy trình sản xuất khuôn 3D cho riêng bệnh nhân theo phương án làm ví dụ. Cụ thể, Hình 2A là tấm thủy tinh gắn latex, mà màng thấm tách được gắn vào. Hình 2B thể hiện vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, và Hình 2C là kết quả tạo mẫu 3D của vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân. Ngoài ra, Hình 2D thể hiện khuôn 3D thành phẩm sản xuất riêng cho bệnh nhân.

(4) Sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân

Khuôn 3D đã in được đặt trong máy in 3D (do INVIVO, ROKIT HEALTHCARE cung cấp) ở tâm của giàn máy in 3D. Ngoài ra, dung dịch đầu tiên được xếp tải trong cơ cấu phân tán 1 được đặt để có cỡ vòi phun 0,5mm, tốc độ in 10mm/giây, tốc độ ép đùn 300%, tốc độ nạp đầy 50% và độ dày thành ngoài 0,5mm, dung dịch thứ hai được nạp vào cơ cấu phân tán 2 được đặt để có cỡ vòi phun 0,5mm, tốc độ in 10mm/giây, tốc độ ép đùn 500% và tốc độ nạp đầy 70%, dung dịch đầu tiên được xả vào khuôn 3D và dung dịch thứ hai được xả ngay lập tức trong đó, tiếp theo là hóa rắn dung dịch. Sau đó, khuôn 3D được tháo, nhờ đó nhận tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân.

(5) Phủ lên bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường

Vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường được làm sạch, và sau đó trombin được xịt đủ lên bề mặt mà sẽ được gắn vào vùng bị ảnh hưởng bằng cách sử dụng bơm tiêm lắp ống phun. Ngoài ra, sau khi vùng bị ảnh hưởng được

phủ tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân được sản xuất như nêu trên và được xử lý bằng cách băng ướt, vùng bị ảnh hưởng và xung quanh được bảo vệ bằng cách sử dụng bột xốp. Ngoài ra, tiến triển được quan sát bằng cách thay băng trên vùng bị ảnh hưởng mỗi tuần.

Hình 3 thể hiện quy trình phủ tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân lên bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường theo phương án làm ví dụ và kết quả thu được. Cụ thể hơn, Hình 3A thể hiện vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, và Hình 3B cho thấy rằng tấm tái tạo da sản xuất được được gắn vào vùng bị ảnh hưởng. Ngoài ra, Hình 3C thể hiện vùng bị ảnh hưởng hai tuần sau khi quy trình này. Theo Hình 3, khi tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân theo sáng chế được phủ lên vùng bị ảnh hưởng của bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, có thể xác nhận được rằng tổn thương hồi phục nhanh. Cụ thể hơn, dựa vào Hình 3C, bất chấp giai đoạn điều trị hai tuần sau quy trình này, có thể xác nhận rằng tổn thương đã hồi phục 100% và do đó đã đầy bằng mô da.

Như nêu trên, các phần cụ thể của sáng chế đã được mô tả một cách chi tiết. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rõ rằng phần mô tả chi tiết sáng chế này chỉ là các phương án làm ví dụ, và do đó phạm vi của sáng chế không bị giới hạn ở các phương án này. Do đó, phạm vi bảo hộ thực tế theo sáng chế sẽ được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo và các biến thể tương đương của các điểm yêu cầu bảo hộ này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường, phương pháp bao gồm các bước:

A) loại bỏ xơ trong mô mỡ tự thân bằng cách sử dụng bộ lọc thứ nhất có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 2mm đến 3mm;

B) nghiền mô mỡ tự thân mà xơ đã được loại ra khỏi đó bằng cách cho nó đi liên tục qua bộ lọc thứ hai có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 450 μ m đến 550 μ m và bộ lọc thứ ba có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 150 μ m đến 250 μ m;

C) thu nhận chiết phẩm mô mỡ bằng cách lọc mô mỡ tự thân nền đã nghiền bởi bộ lọc thứ tư có đường kính lỗ nằm trong khoảng từ 25 μ m đến 75 μ m, loại bỏ dịch lọc, và gom phần cặn được gom bởi bộ lọc thứ tư;

D) nhận dữ liệu 3D của vùng khuyết tật da của bệnh nhân bằng cách sử dụng máy quét 3D, và sau đó dựa trên dữ liệu này sản xuất khuôn 3D tương ứng với vùng khuyết tật da bằng cách sử dụng máy in 3D;

E) tạo ra lớp tiền tổ bằng cách cấp dung dịch thứ nhất chứa chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen vào bên trong của khuôn 3D;

F) hóa rắn lớp tiền tổ thành lớp tái tạo da bằng cách cấp dung dịch thứ hai chứa trombin lên trên lớp tiền tổ; và

G) tháo khuôn 3D.

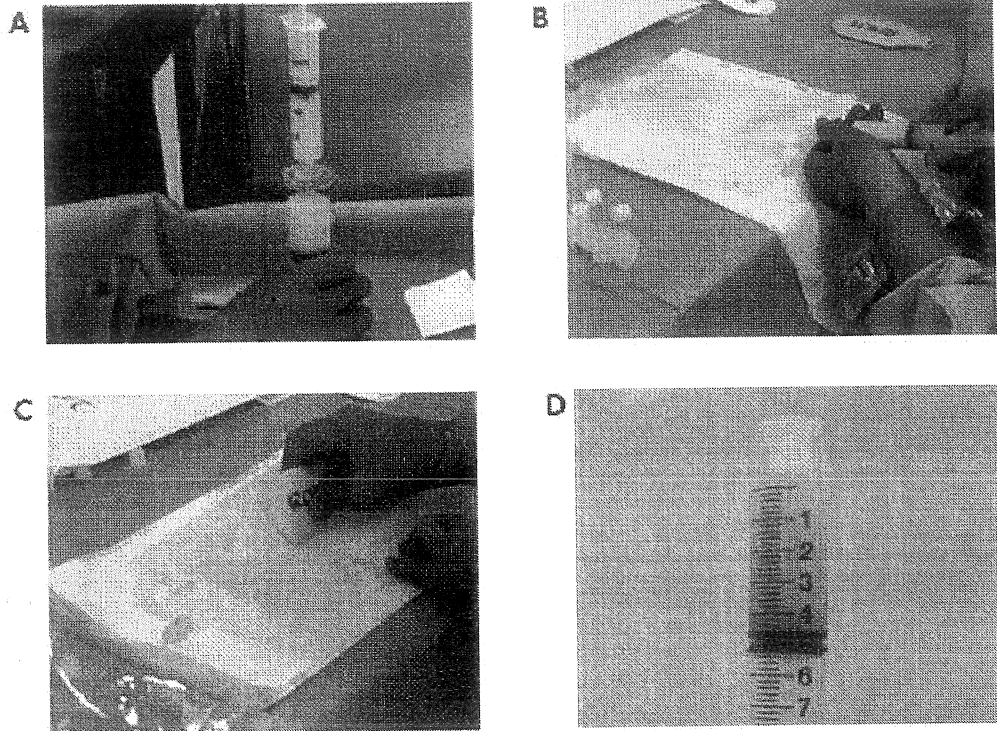
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước A) đến bước F) được thực hiện trong thời gian 30 phút.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bộ lọc thứ nhất là bộ lọc kiểu bơm tiêm được làm bằng thép không gỉ.

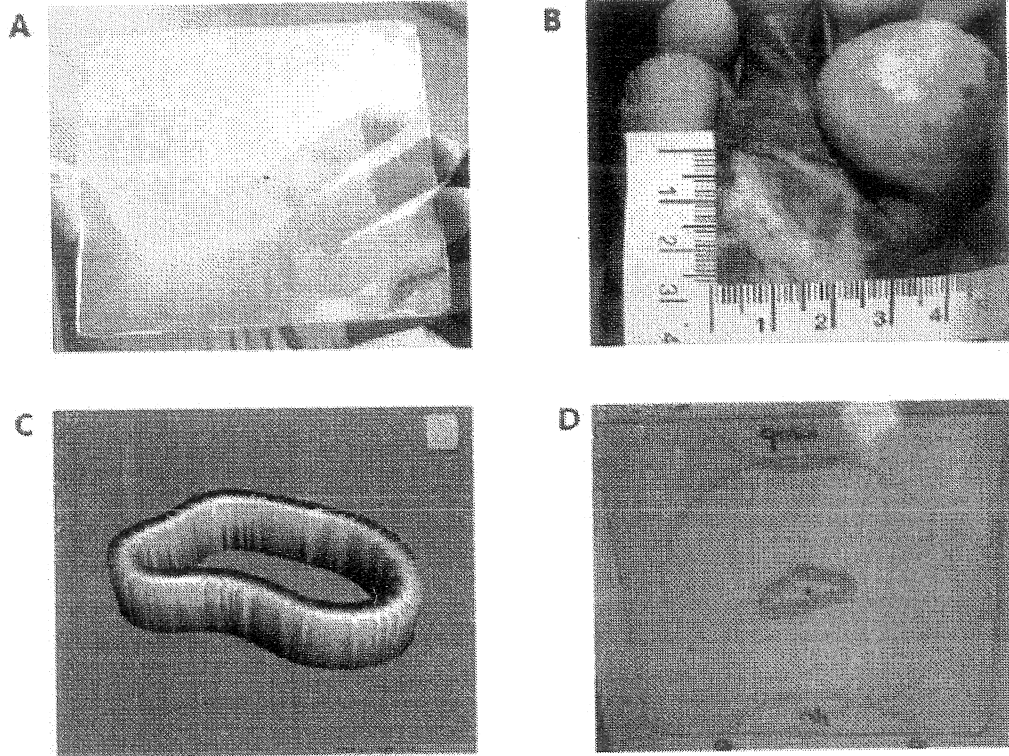
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó, ở bước B), mô mỡ tự thân đã loại xơ được nạp vào túi lọc, và sau đó áp suất bên ngoài được cấp để đưa mô mỡ tự thân đã loại xơ đi qua bộ lọc nhằm nghiền mô mỡ tự thân đã loại xơ.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó fibrinogen trong dung dịch đầu tiên là dịch chứa 60 IU fibrinogen đã được pha loãng 40% đến 60%.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó trombin trong dung dịch thứ hai là dịch chứa 500 IU trombin đã được pha loãng 40% đến 60%.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tỷ lệ thể tích giữa chiết phẩm mô mỡ và fibrinogen trong dung dịch đầu tiên nằm trong khoảng từ 3:1 đến 5:1.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung dịch đầu tiên chứa ít nhất là một trong số các thành phần được chọn từ nhóm bao gồm insulin, các yếu tố sinh trưởng như insulin, các bạch cầu hạt, các tế bào lympho, các tế bào nội mô, các bạch cầu đơn nhân to, tế bào đơn nhân lớn, các tế bào gốc có nguồn gốc từ mỡ, các adipoxytokin, adiponectin, leptin, IL-6, IL-1 β , MCP-1 và PAI-1.
9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước:
tạo ra lớp tiền tổ bổ sung bằng cách phủ dung dịch thứ nhất bổ sung chứa chiết phẩm mô mỡ, fibrinogen và tế bào sừng lên trên lớp tái tạo da, và sau đó phủ dung dịch thứ hai bổ sung chứa trombin lên trên lớp tiền tổ bổ sung để hóa rắn lớp tiền tổ thành lớp tái tạo biểu bì.
10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó tấm tái tạo da cho riêng bệnh nhân loét chân do đái tháo đường có độ dày ít nhất là 1mm.

Hình 1



Hình 2



Hình 3

