

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202191494** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.20

(22) Дата подачи заявки
2019.10.28

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61F 13/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 33/34 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(54) СПОСОБ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ И УМЕНЬШЕНИЯ СТАЗА КОЖИ С ПОМОЩЬЮ КОМПОЗИЦИЙ И МАТЕРИАЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ

(31) 62/777,409

(32) 2018.12.10

(33) US

(86) PCT/IL2019/051161

(87) WO 2020/121291 2020.06.18

(71) Заявитель:
МЕДКУ ТЕКНОЛОДЖИС ЛТД. (IL)

(72) Изобретатель:
Люстигер Дanni, Борков Гади (IL)

(74) Представитель:
Гизатуллина Е.М., Угрюмов В.М.,
Христофоров А.А., Строкова О.В.,
Гизатуллин Ш.Ф., Костюшенкова
М.Ю., Пармонова К.В. (RU)

(57) Изобретение относится к способу уменьшения и предотвращения стаза поврежденной кожи, предусматривающему нанесение на указанную поврежденную кожу композиции или материала, содержащих водорастворимые или нерастворимые в воде соединения меди.

A1

202191494

202191494

A1

СПОСОБ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ И УМЕНЬШЕНИЯ СТАЗА КОЖИ С ПОМОЩЬЮ КОМПОЗИЦИЙ И МАТЕРИАЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ

ОПИСАНИЕ

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

[1] Настоящее изобретение относится к области лечения кожи. В частности, настоящая заявка относится к способу уменьшения и предотвращения стаза кожи с помощью композиций и материалов, содержащих соединения меди.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[2] Douglas MacG. Jackson в публикации «*The diagnosis of the depth of burning*», The British Journal of Surgery 40 (1953), стр. 588-596, отмечал, что местный ответ на ожог кожи в общем случае может быть охарактеризован, как приводящий к трем различным моделям повреждений, в разной степени зависящим от тяжести ожога и его причины. Точка максимального необратимого повреждения называется зоной коагуляции, поскольку из-за коагуляции белков кожи происходит некроз ткани. Зона вокруг зоны коагуляции, называемая зоной стаза, характеризуется снижением перфузии ткани, и, в зависимости от тяжести ожога, гипотензия, инфекция и/или отек могут привести к тому, что эта зона станет зоной полного некроза ткани. Shehan Hettiaratchy и Peter Dziewulski в статье "*Pathophysiology and types of burns*", BMJ 328 (7453) (2004), pp. 1427-1429, показали, что расположенная вокруг зоны сепсиса зона гиперемии характеризуется увеличенной перфузией, которая неизменно восстанавливается, если нет тяжелого сепсиса или продолжительной недостаточной перфузии. Средняя зона стаза, будучи изначально жизнеспособной, после снижения перфузии отмирает, а первоначальный размер раны углубляется и расширяется.

[3] После серьезного повреждения кожи, превышающего 30% общей площади поверхности тела, высвобождение цитокинов и других медиаторов воспаления в участке повреждения может привести к нескольким системным ответам, которые могут быть пагубны для здоровья. К ним относятся: а) значительное увеличение проницаемости капилляров, ведущее к потере внутрисосудистых белков и жидкостей в интерстициальном компартменте, сужение периферических и висцеральных сосудов и снижение сократимости миокарда. Эти сердечно-сосудистые изменения в сочетании с потерей жидкости из ожоговой раны приводят к системной гипотензии и недостаточной перфузии конечных органов; б) бронхостеноз и

потенциальный респираторный дистресс-синдром; с) увеличение интенсивности основного обмена до трех раз в сравнении с исходной и d) подавление неспецифических клеточных и гуморальных иммунных ответов.

[4] Ara A. Salibian с соавт. в статье "*Current concepts on burn wound conversion. A review of recent advances in understanding the secondary progressions of burns.*", *Burns* 42(5) (2016), стр. 1025-1035, предположили, что зона стаза представляет собой терапевтически критический участок поверхности ожога, который может быть сохранен. Предотвращение прогрессирования и распространения раневой травмы на более крупные и глубокие области может иметь важные местные и системные последствия, которые могут значительно снизить осложнения и тяжесть течения заболевания. Таким образом, разработка способов лечения, которые могут остановить дальнейшее ухудшение состояния зоны стаза после ожоговой раны, может быть важным способом лечения ожоговой раны после стабилизации состояния пациента и до восстановления кожи.

[5] Медь представляет собой важный микроэлемент, вовлеченный во многие клеточные, метаболические и физиологические процессы почти во всех тканях организма. Neena Philips с соавт. в публикации "*Stimulation of cell proliferation and expression of matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 genes in dermal fibroblasts by copper*", *Connective Tissue Research* 51(3) (2010), стр. 224-229, продемонстрировали, что медь способна стимулировать пролиферацию дермальных фибробластов в коже. Кроме того, Neena Philips с соавт. в публикации "*Beneficial regulation of fibrillar collagens, heat shock protein-47, elastin fiber components, transforming growth factor-beta 1, vascular endothelial growth factor and oxidative stress effects by copper in dermal fibroblasts*", *Connective Tissue Research* 53(5) (2012), стр. 373-378, показали, что медь в коже усиливает производство и секрецию фибробластами различных типов коллагена и эластина.

[6] Также было показано, что медь способна стабилизировать внеклеточный кожный матрикс в процессе формирования, служит в качестве кофактора супероксиддисмутазы, антиоксидантного фермента, присутствующего в коже, который важен для защиты от свободных радикалов, служит в качестве кофактора лизилоксидазы, фермента, который катализирует сшивки на основе лизина во внеклеточном кожном матриксе и ингибирует клеточные окислительные эффекты, такие как повреждение мембраны и перекисное окисление липидов. Однако неожиданное влияние ионов меди на уменьшение стаза при

ожогах кожи до сих пор не было известно. Оно было обнаружено авторами настоящего изобретения и составляет основу настоящего изобретения.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[7] В настоящей заявке описаны варианты осуществления способа уменьшения и предотвращения стаза поврежденной кожи, предусматривающего нанесение на указанную поврежденную кожу композиции или материала, содержащих водорастворимые или нерастворимые в воде соединения меди. Согласно некоторым вариантам осуществления композиция представляет собой водный раствор водорастворимых соединений меди или суспензию нерастворимых в воде соединений меди в воде, в растворителе или в их смеси. Указанная композиция может находиться в форме жидкости, спрея, геля, мази или порошка.

[8] Согласно другим вариантам осуществления указанный материал представляет собой тканый или нетканый материал, пеноматериал, трикотажное полотно или любой тип ткани, который используется для изготовления перевязочных материалов для ран, пластырей, марли и т.п. Указанный материал пропитывают нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1-10% в массовом отношении или покрывают нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1-10% в массовом отношении.

[9] Согласно дополнительному варианту осуществления указанные нерастворимые в воде частицы меди представляют собой, в частности, частицы йодида меди (CuI) или закиси меди (Cu_2O). Иллюстративный материал согласно вариантам осуществления представляет собой тканый материал, пропитанный или покрытый частицами йодида меди (CuI) в концентрации приблизительно 1-3% в массовом отношении, или стерильный перевязочный материал для ран, пропитанный или покрытый частицами Cu_2O в концентрации приблизительно 1-3% в массовом отношении.

[10] Согласно еще дополнительному варианту осуществления указанная композиция находится в форме жидкого спрея или мази, содержащей водорастворимые соединения меди. Иллюстративные водорастворимые соединения меди согласно вариантам осуществления представляют собой сульфат меди (CuSO_4) или хлорид меди (CuCl_2)

[11] Согласно другому варианту осуществления указанный материал находится в форме полимерной пленки, волокна, нити или покрытия. Иллюстративная полимерная пленка согласно вариантам осуществления содержит полимеры, выбранные из группы, состоящей из

сложного полиэфира, полипропилена, полиэтилена, нейлона 66, нейлона 6, полиамида и полиуретана. Полимерный материал согласно настоящему варианту осуществления содержит нерастворимые в воде частицы соединений меди в виде порошка, введенные непосредственно внутрь указанной пленки, волокна, нити или покрытия, причем часть указанных частиц экспонирована и выступает над поверхностью пленки, волокна, нити или покрытия, или указанный полимерный материал покрыт водорастворимыми соединениями меди или нерастворимыми в воде частицами соединений меди. Иллюстративные нерастворимые в воде частицы соединений меди согласно настоящему варианту осуществления выбирают из иодида меди, закиси меди и окиси меди или их комбинаций, в порошковой форме.

[12] Различные варианты осуществления могут давать различные преимущества и могут использоваться в сочетании с различными применениями. Детали одного или нескольких вариантов осуществления изложены на прилагаемых графических материалах и далее, в описании. Другие признаки, объекты и преимущества описываемых способов будут ясны из описания, графических материалов и формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

[13] Раскрытые варианты осуществления будут более ясны и понятны из следующего подробного описания в сочетании с прилагаемыми графическими материалами. Представленные и описанные в настоящем документе графические материалы являются схематическими и не ограничивают объем настоящего раскрытия. Также следует отметить, что размер некоторых элементов на графических материалах может быть увеличен и, следовательно, для иллюстративных целей, представлен не в масштабе. Размеры и относительные размеры не обязательно соответствуют действительному осуществлению настоящего раскрытия.

[14] На **фиг. 1a** и **1b** схематически показан вид сбоку и вид сверху, соответственно, *ex-vivo* модели эксплантата настоящего изобретения.

[15] На **фиг. 2a** показан экспериментально построенный график площади ожога эксплантатов в разные дни после повреждения.

[16] На **фиг. 2b** схематически показан эксплантат с ожоговой зоной, содержащей зону стаза.

[17] На **фиг. 2с** показаны фотографии эксплантатов, обработанных только физиологическим раствором (контроль) и ионами меди (0,2 мкМ йодида меди и 0,2 мкМ закиси меди).

[18] На **фиг. 3а, 3с и 3е** показана экспрессия цитокинов при индуцированном ожоге воспаления в человеческой коже *ex vivo* и сравнение секреции IL-6, IL-8 и TGF- β , соответственно, в необработанных эксплантатах кожи (необработанные контроли) и поврежденных кожных эксплантатах (ожоговые контроли) после повреждения.

[19] На **фиг. 3b, 3d и 3f** показано влияние добавления ионов меди (0,02 мкМ или 1 мкМ) на секрецию IL-6, IL-8 и TGF- β , соответственно, по сравнению с необработанными контролями и ожоговыми контролями на 4-й день (**фиг. 3b и 3d**) и на 6-й день (**фиг. 3f**) после повреждения.

[20] На **фиг. 4а-4с** показаны гистологически окрашенные образцы кожной ткани в дни 0, 6 и 27 после повреждения, соответственно.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

[21] В последующем описании будут описаны различные аспекты настоящей заявки. В целях объяснения изложены конкретные конфигурации и детали, чтобы обеспечить полное понимание настоящей заявки. Однако для специалиста в настоящей области техники также будет очевидно, что настоящая заявка может быть реализована на практике без представленных в настоящем документе конкретных деталей. Кроме того, чтобы не затруднять понимание настоящей заявки, хорошо известные признаки могут быть опущены или упрощены.

[22] Термин «содержащий», используемый в формуле изобретения, является «неограничивающим» и означает указанные элементы или их структурный или функциональный эквивалент плюс любой другой элемент или элементы, которые не указаны. Он не должен толковаться, как ограничение перечисленными после него средствами; и не исключает других элементов или стадий. Его следует толковать как указание наличия заявленных признаков, целых чисел, стадий или компонентов, как они указаны, что не препятствует присутствию или добавлению одного или нескольких других признаков, целых чисел, стадий или компонентов или их групп. Таким образом, объем выражения «материал, содержащий x и z» не должен ограничиваться материалами, состоящими только из

компонентов x и z . Аналогично, объем выражения «способ, предусматривающий стадии x и z » не должен ограничиваться способами, состоящими только из этих стадий.

[23] Если не указано иное, используемый в настоящем документе термин «приблизительно» понимается как находящийся в пределах обычного допустимого отклонения в настоящей области техники, например, в пределах двух стандартных отклонений от среднего. Согласно одному варианту осуществления термин «приблизительно» означает в пределах 10% от указанного числового значения числа, с которым он используется, предпочтительно в пределах 5% от указанного числового значения. Например, термин «приблизительно» можно непосредственно понимать как в пределах 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05% или 0,01% от заявленного значения. Согласно другим вариантам осуществления термин «приблизительно» может означать большее допустимое отклонение вариации в зависимости, например, от используемой экспериментальной методики. Указанные вариации конкретного значения понятны специалисту в настоящей области техники и находятся в контексте настоящего изобретения. В качестве иллюстрации числовой диапазон «от приблизительно 1 до приблизительно 5» следует интерпретировать как включающий в себя не только явно указанные значения от приблизительно 1 до приблизительно 5, но также включающий в себя отдельные значения и поддиапазоны в указанном диапазоне. Таким образом, в этот числовой диапазон входят отдельные значения, такие как 2, 3 и 4, и поддиапазоны, например, от 1 до 3, от 2 до 4 и от 3 до 5, а также отдельно значения 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Тот же принцип применяется к диапазонам, в которых указано только одно числовое значение, как минимум или максимум. Если из контекста не следует иное, все числовые значения, представленные в настоящем документе, корректируются термином «приблизительно». Другие аналогичные термины, такие как «по существу», «в целом», «до» и т.п., следует истолковывать как модифицирующие термин или значение так, что оно не является абсолютным. Такие термины будут определяться обстоятельствами и терминами, которые они модифицируют, поскольку такие термины понятны специалистам в настоящей области техники. Это включает в себя, по меньшей мере, степень ожидаемой экспериментальной ошибки, технической ошибки и инструментальной ошибки для данного эксперимента, способа или прибора, используемого для измерения значения.

[24] Используемый в настоящем документе термин «и/или» включает в себя любые и все комбинации из одного или нескольких взаимосвязанных перечисленных элементов. Если

не указано иное, все термины (включая в себя технические и научные термины), используемые в настоящем документе, характеризуются тем же значением, которое обычно понимается специалистом в настоящем области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Кроме того следует понимать, что термины, которые определены в обычно используемых словарях, должны интерпретироваться как характеризующиеся значением, которое согласуется с их значением в контексте описания и соответствующего уровня техники, и не должны интерпретироваться в идеализированном или слишком формальном смысле, если только это специально не указано в настоящем документе. Хорошо известные функции или конструкции могут быть описаны не очень подробно для краткости и/или ясности.

[25] Настоящая заявка относится к способу предотвращения и уменьшения стаза поврежденной кожи, предусматривающему нанесение на указанную поврежденную кожу композиции или материала, содержащего соединения меди. Указанная композиция может представлять собой водный раствор водорастворимых соединений меди или суспензию нерастворимых в воде соединений меди в воде, в растворителе или в их смеси. Указанная композиция может находиться, например, в форме жидкости, спрея, геля, мази или порошка. Указанный материал может представлять собой тканый или нетканый материал, пеноматериал, трикотажное полотно или любой тип ткани, который используется для изготовления перевязочных материалов для ран, пластырей, марли и т.п.

[26] Согласно некоторым вариантам осуществления материал пропитан нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1-10%. Согласно другим вариантам осуществления материал покрыт нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1-10%. Примерами нерастворимых в воде частиц меди, которые используют в материале согласно настоящим вариантам осуществления, являются частицы йодида меди (CuI) и закиси меди (Cu_2O). Согласно конкретному варианту осуществления такой материал представляет собой стерильный перевязочный материал для ран, пропитанный нерастворимыми в воде частицами Cu_2O в концентрации приблизительно 1-3% в массовом отношении. Согласно конкретному варианту осуществления композиция находится в форме жидкого спрея или мази, содержащей водорастворимые соединения меди, например, сульфат меди (CuSO_4) или хлорид меди (CuCl_2).

[27] Согласно конкретному варианту осуществления материал, содержащий соединения меди, представляет собой полимерную пленку, волокно, нить или покрытие. Полимеры,

используемые в полимерной пленке, выбирают из сложного полиэфира, полипропилена, полиэтилена, нейлона 66, нейлона 6, полиамида и полиуретана. Согласно конкретному варианту осуществления указанный полимерный материал содержит микроскопические нерастворимые в воде частицы соединений меди, такие как закись меди (Cu_2O) и/или окись меди (CuO) в виде порошка, введенные непосредственно внутрь указанной пленки, волокна, нити или покрытия, в которых часть указанных частиц экспонирована и выступает над поверхностью пленки, волокна, нити или покрытия. Согласно еще дополнительному конкретному варианту осуществления указанный полимерный материал покрыт нерастворимыми в воде частицами соединений меди. При контакте с поврежденной кожей материал, включающий в себя или покрытый соединениями меди, способен высвобождать ионы Cu (I), ионы меди (II) или их комбинацию.

ПРИМЕРЫ

Модель Ex-Vivo

[28] Кожу человека получали от здоровых доноров, перенесших абдоминальную дермолипэктомию после получения информированного согласия. Кожный трансплантат толщиной 0,5 мм собирали с использованием дерматома (Aescular AG & Co. KG, Tuttlingen, Германия) и разрезали на части размером 1 см². Круглые ожоговые раны диаметром 25 мм наносили на кусочки кожи размером 0,7 см² путем воздействия паяльником (95°C, 2 сек). Третьи экземпляры оставляли интактными в качестве необработанных контролей. Поврежденные и интактные образцы кожи помещали вниз дермой на решетку из нержавеющей стали и культивировали на границе раздела воздух-жидкость при температуре 37°C с 5% CO_2 в модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), 10% фетальной сыворотке теленка (Biological Industries, Beit Ha'emek, Израиль) и пенициллине/стрептомицине (100 МЕ/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина; Invitrogen). Питательную среду обновляли дважды в неделю. Эксплантаты культивировали до 27 дней после повреждения. Каждый отдельный эксперимент проводили с кожными эксплантатами, полученными от одного и того же человека, и повторяли эксперименты не менее трех раз.

[29] На **фиг 1a** и **1b** схематически показаны вид сбоку и вид сверху, соответственно, указанной *ex-vivo* модели эксплантата. Эксплантаты кожи помещают дермой вниз на решетку из нержавеющей стали. На дно лунки добавляют питательную среду, не доходя до слоя эпидермиса, который подвергается воздействию воздуха. На поверхность обожженного

участка и вокруг него осторожно добавляют 3 мкл только физиологического раствора или растворов, содержащих различные концентрации меди, следя за тем, чтобы раствор не достиг питательной среды на дне лунки.

Источник меди и нанесение на эксплантаты кожи

[30] В качестве источника ионов меди использовали два образца: тканый материал, пропитанный частицами йодида меди в концентрации приблизительно 1%, и стерильный перевязочный материал для ран, пропитанный частицами закиси меди в концентрации приблизительно 1% в массовом отношении. Перед применением материал, пропитанный йодидом меди, стерилизовали с использованием УФ-света. В 25 мл 0,9% физиологического раствора погружали 0,84 г материала, пропитанного йодидом меди, и 3,6 г перевязочного материала, пропитанного закисью меди, и оставляли на ночь при температуре 37°C. Итоговую концентрацию ионов меди в среде определяли с помощью тест-полосок Aquachek™ для ионов меди, и эти растворы служили стоковыми растворами ионов меди, которые далее обозначаются как раствор йодида меди и раствор закиси меди, соответственно, для четкого определения источника ионов меди. Из исходных растворов готовили растворы 0,02 мкМ или 1 мкМ ионов меди в физиологическом растворе. Затем на поверхность участка ожога и эпидермис вокруг участка ожога эксплантатов кожи добавляли три мкл только физиологического раствора, 0,02 мкМ или 1 мкМ растворов меди в день 0, и затем через каждые два дня, следя за тем, чтобы они не достигли среды в камере, а оставались на границе раздела с воздухом поверх кожи. Каждый контроль и обработку осуществляли на эксплантатах по меньшей мере в трех повторах.

Измерение жизнеспособности

[31] Для оценки жизнеспособности клеток на протяжении всего периода культивирования в разные дни после повреждения проводили анализ с 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромидом (МТТ) следующим образом.

Биоанализ

[32] В моменты времени, когда осуществляли отбор, использованную среду из всех исследуемых групп собирали и центрифугировали при 1500×g в течение 5 минут для удаления твердых частиц. Среды до использования хранили при температуре -80°C. Уровни секреции IL-6, IL-8 и TGF-β измеряли с помощью коммерческих наборов для

иммуноферментного анализа (ELISA) в соответствии с инструкциями производителя (Biolegend, San Diego, CA). Вкратце, за 24 часа до анализа планшеты покрывали специфическим захватывающим античеловеческим антителом. В день анализа покрытые планшеты инкубировали с образцами, после чего промывали, чтобы удалить несвязавшиеся молекулы. Затем добавляли дополнительное обнаруживающее антитело и обнаруживали раствором авидин-HRP. Наконец, лунки инкубировали с раствором субстрата, при этом оптическую плотность измеряли при 570 нм.

Статистический анализ

[33] Экспериментальные значения представлены как среднее из трех повторов со среднеквадратичной ошибкой среднего (SEM). Достоверные различия между значениями анализировали с использованием непарного *t*-критерия, и достоверные результаты получены для $p < 0,05$.

Результаты экспериментов

[34] На **фиг. 2a** показан экспериментально построенный график площади ожога эксплантатов в разные дни после повреждения. Показаны значения *p* для групп лечения и контрольных групп необработанных ожогов. На **фиг. 2b** схематически показан эксплантат с ожоговой зоной, имеющей зону стаза. На **фиг. 2c** показаны реальные фотографии эксплантатов, обработанных только физиологическим раствором (контроль) или ионами меди в концентрации 0,02 мкМ. Различия в размерах ран для обработанных образцов, особенно в зоне стаза, хорошо видны на **фиг. 2c**. Во время культивирования эксплантатов *ex vivo* не было обнаружено значительных различий в метаболической активности, которую определяли с помощью анализа МТТ, между эксплантатами с ожогами кожи, которые росли, подвергаясь воздействию только физиологического раствора или воздействию ионов меди в концентрации 0,02 мкМ или 1 мкМ, полученных из обоих исследуемых растворов (данные не показаны).

[35] Как можно видеть на **фиг. 2a**, ожоговые раны, обработанные только физиологическим раствором, значительно увеличились, став почти на 40% больше через три дня после повреждения, а затем начали постепенно уменьшаться, достигнув исходного размера раны через 14 дней после повреждения. Напротив, размер ран, обработанных ионами меди в концентрации 0,02 мкМ, полученными из частиц йодида меди или закиси меди, почти не изменился. Через три дня после повреждения размер ран, обработанных физиологическим

раствором, содержащим ионы меди в концентрации 0,02 мкМ, был статистически меньше, чем ран, обработанных только физиологическим раствором, и аналогичные меньшие размеры ран были измерены в обработанных медью эксплантатах через 5 и 10 дней после повреждения. Как хорошо видно на **фиг. 2с**, зона кожи, которая не увеличивалась в размерах после нанесения ожога в обработанных медью эксплантатах, представляет собой зону стаза.

[36] Чтобы лучше понять, как добавление ионов меди влияло на эксплантаты кожи, определяли количество интерлейкина 6 (IL-6), интерлейкина 8 (IL-8) и трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), обнаруживаемых в среде различных обработанных эксплантатов. На **фиг. 3а, 3с и 3е** показана экспрессия цитокинов при индуцированном ожогом воспалении в человеческой коже *ex vivo* и сравнение секреции IL-6, IL-8 и TGF- β в необработанных эксплантатах кожи (необработанные контроли) и поврежденных эксплантатах кожи (ожоговые контроли) после повреждения. На этих фигурах показаны значения *p* в *t*-критерии для экспрессии цитокинов в определенный день после повреждения.

[37] На **фиг. 3b, 3d и 3f** показано влияние добавления ионов меди (0,02 мкМ или 1 мкМ) на секрецию IL-6, IL-8 и TGF-бета, соответственно, по сравнению с необработанным контролем и ожоговым контролем в день 4 (обработка только физиологическим раствором) (**фиг. 3b и 3d**) и в день 6 (**фиг. 3f**) после повреждения. На графиках знак звездочка «*» указывает на статистически значимое различие по сравнению с необработанным контролем, в то время как знак решетка «#» указывает на статистически значимое различие по сравнению с необработанными (обработанными только физиологическим раствором) ожоговыми контролями.

[38] Как видно на **фиг. 3а**, наблюдалось явное увеличение секреции IL-6 через день и через четыре дня после повреждения в ожоговых контролях по сравнению с необработанными контролями. Добавление ионов меди в концентрации 0,02 мкМ или 1 мкМ из исходного раствора CuI и ионов меди в концентрации 1 мкМ из исходного раствора Cu₂O к ожоговым эксплантатам убирало увеличение секреции IL-6 в эксплантатах, и фактически приводило даже к уменьшению секреции IL-6 по сравнению с секрецией IL-6 в необработанных контролях (смотрите **фиг. 3b**). Аналогичным образом, статистически значимое увеличение IL-8 и TGF- β в ожоговых контролях по сравнению с необработанными контролями в день 4 после повреждения (смотрите **фиг. 3с и 3е**, соответственно) было значительно ослаблено или исчезало, когда ожоговые раны обрабатывали ионами меди в концентрации 0,02 мкМ или 1 мкМ из обоих источников меди (смотрите **фиг. 3d и 3f**).

[39] На **Фиг. 4а-4с** показаны гистологически окрашенные образцы ткани кожи в дни 0, 6 и 27, соответственно. В день 0 (смотрите **фиг. 4а**) на эксплантаты кожи наносили ожоги. Верхнее изображение на **фиг. 4а** представляет собой нормальную здоровую кожу. На нижнем изображении показана поврежденная ткань кожи сразу после нанесения ожога. Эпидермис отделяется от дермы (как показано сплошной стрелкой).

[40] На 6-й день (**фиг. 4b**) и 27 день (**фиг. 4с**) старый эпидермис, отделившийся после нанесения ожога, без обработки ионами меди или с ней, показан сплошной стрелкой. Реэпителизация наблюдалась на 27 день (см **Фиг.4с**) только при обработке ионами меди, что показано полосатыми стрелками. Образцы фиксировали в указанные моменты времени и гистологически окрашивали трихромным красителем Массона. Гистологические анализы показали, что только в образцах, обработанных ионами меди, явно произошла реэпителизация (смотрите **фиг.4с**, полосатые стрелки).

[41] Хотя некоторые признаки настоящей заявки были в настоящем документе проиллюстрированы и описаны, рядовым специалистам в настоящей области техники будут очевидны многие модификации, замены, изменения и эквиваленты. Поэтому, следует понимать, что прилагаемая формула изобретения предназначена для охвата всех таких модификаций и изменений, которые соответствуют истинной сущности настоящей заявки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ уменьшения и предотвращения стаза поврежденной кожи, предусматривающий нанесение на указанную поврежденную кожу композиции или материала, содержащих водорастворимые или нерастворимые в воде соединения меди.

2. Способ по п. 1, при котором указанная композиция представляет собой водный раствор водорастворимых соединений меди или суспензию нерастворимых в воде соединений меди в воде, в растворителе или в их смеси.

3. Способ по п. 2, при котором указанная композиция находится в форме жидкости, спрея, геля, мази или порошка.

4. Способ по п. 1, при котором указанный материал представляет собой тканый или нетканый материал, пеноматериал, трикотажное полотно или любой тип ткани, который используется для изготовления перевязочных материалов для ран, пластырей, марли и т.п.

5. Способ по п. 1, при котором указанный материал пропитывают нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1-10% в массовом отношении.

6. Способ по п. 1, при котором указанный материал покрывают нерастворимыми в воде частицами меди в концентрации приблизительно 0,1- 10% в массовом отношении.

7. Способ по п. 5 или п. 6, при котором указанные нерастворимые в воде частицы меди представляют собой частицы йодида меди (CuI) или закиси меди (Cu_2O).

8. Способ по п. 7, при котором указанный материал представляет собой тканый материал, пропитанный или покрытый частицами йодида меди (CuI) в концентрации приблизительно 1-3% в массовом отношении.

9. Способ по п. 7, при котором указанный материал представляет собой стерильный перевязочный материал для ран, пропитанный или покрытый частицами Cu_2O в концентрации приблизительно 1-3% в массовом отношении.

10. Способ по п. 3, при котором указанная композиция находится в форме жидкого спрея или мази, содержащей водорастворимые соединения меди.

11. Способ по п. 10, при котором указанные водорастворимые соединения меди представляют собой сульфат меди (CuSO_4) или хлорид меди (CuCl_2).

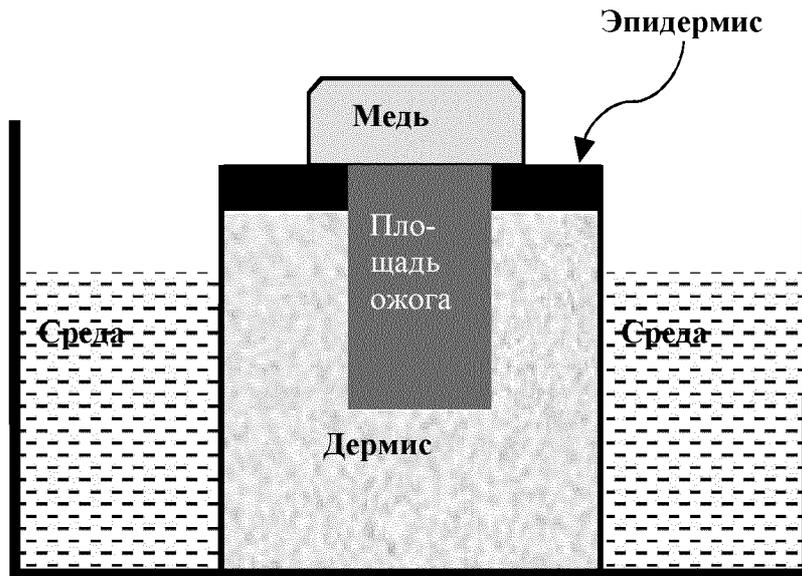
12. Способ по п. 1, при котором указанный материал находится в форме полимерной пленки, волокна, нити или покрытия.

13. Способ по п. 12, при котором указанная полимерная пленка содержит полимеры, выбранные из сложного полиэфира, полипропилена, полиэтилена, нейлона 66, нейлона 6, полиамида и полиуретана.

14. Способ по п. 13, при котором указанный полимерный материал содержит нерастворимые в воде частицы соединений меди в виде порошка, введенные непосредственно внутрь указанной пленки, волокна, нити или покрытия, причем часть указанных частиц экспонирована и выступает над поверхностью пленки, волокна, нити или покрытия.

15. Способ по п. 13, при котором указанный полимерный материал покрыт водорастворимыми соединениями меди или нерастворимыми в воде частицами соединений меди.

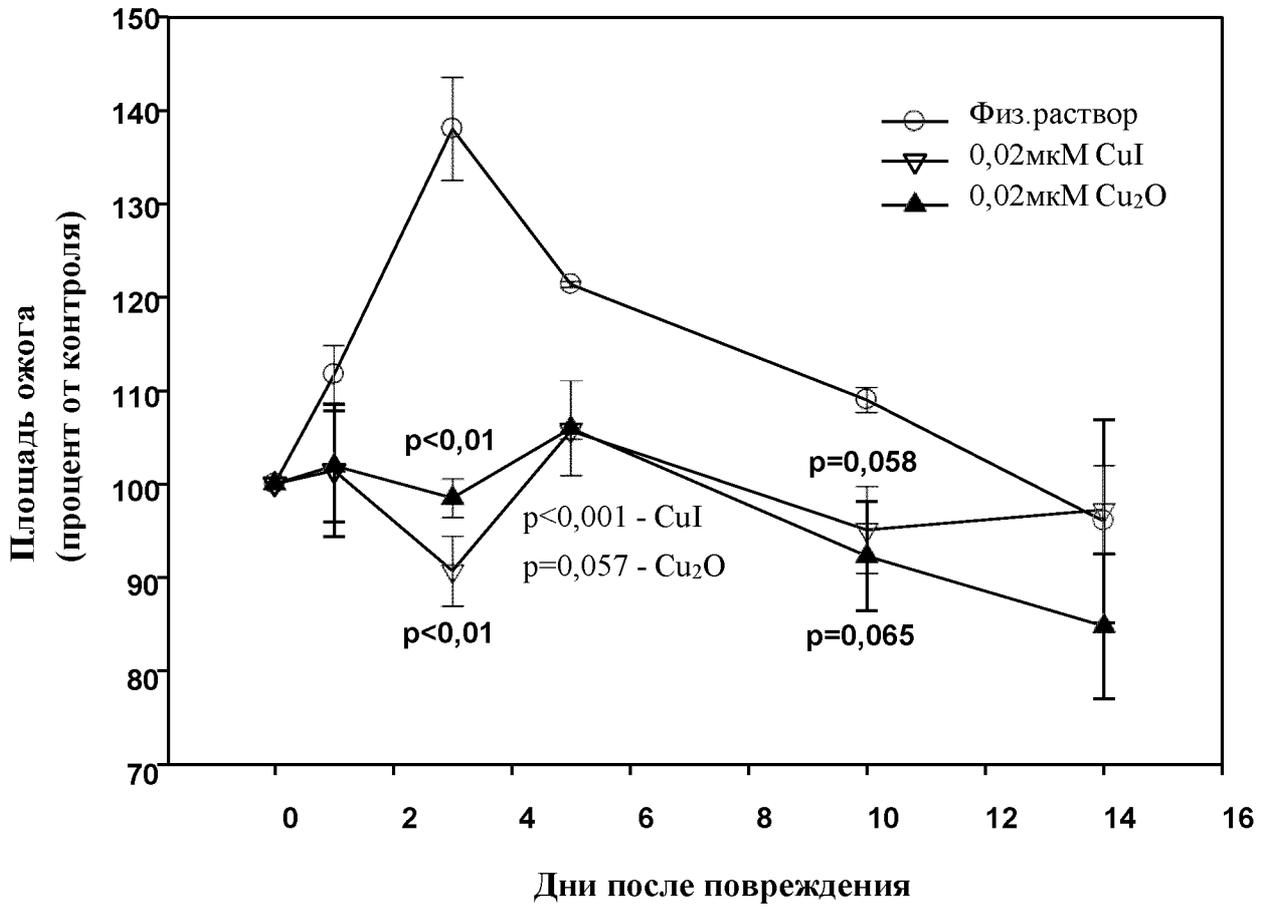
16. Способ по п. 14 или п. 15, при котором указанные нерастворимые в воде частицы соединений меди выбраны из иодида меди (CuI), закиси меди (Cu_2O) и окиси меди (CuO) или их комбинаций в порошкообразной форме.



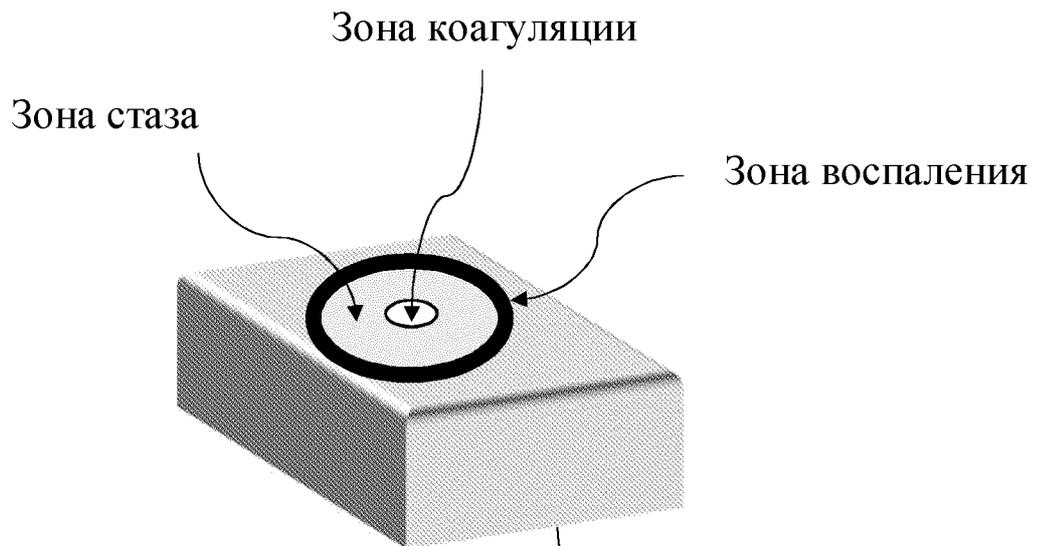
Фиг. 1а



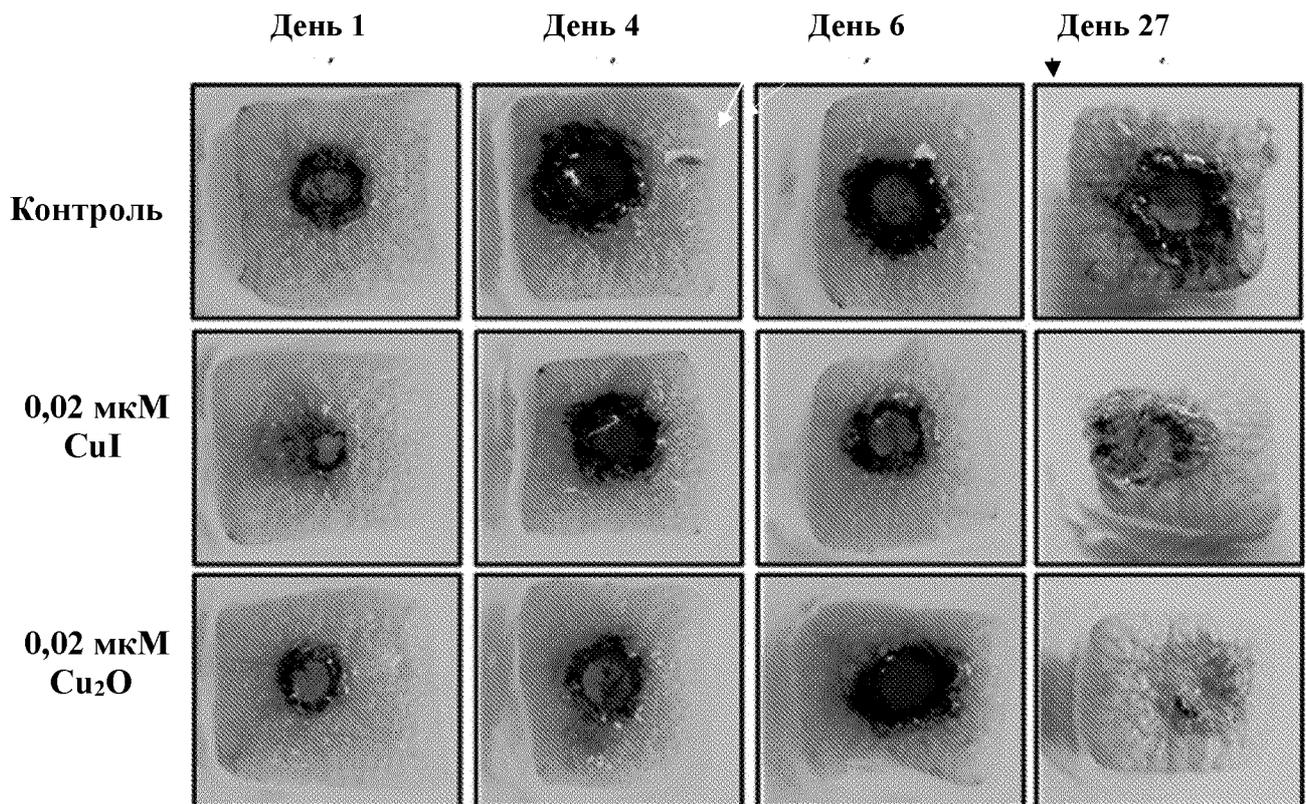
Фиг. 1б



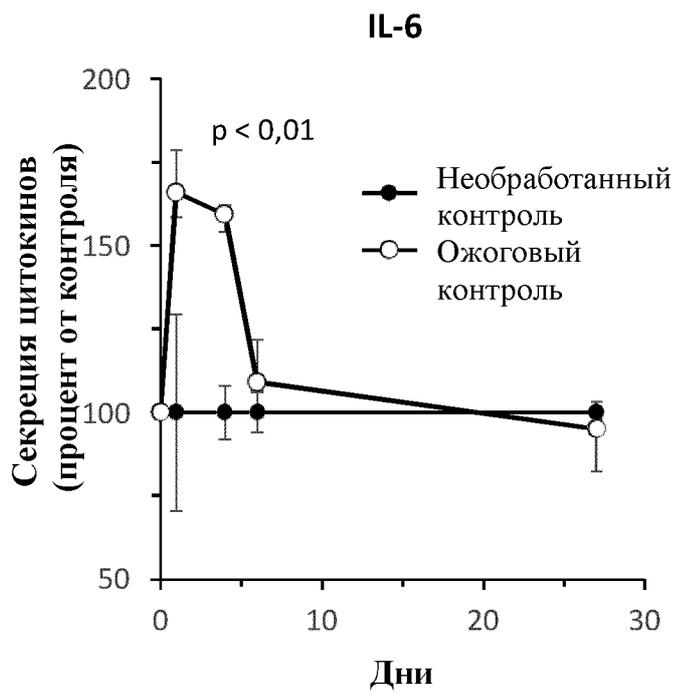
Фиг. 2а



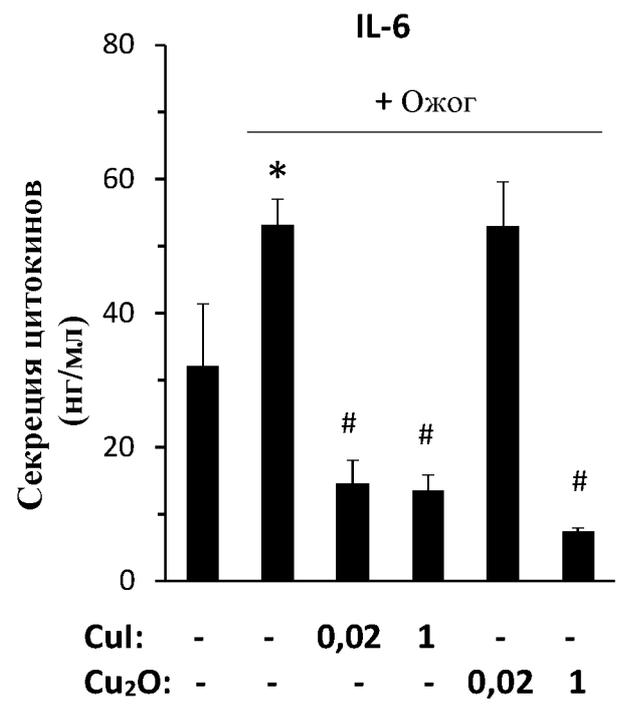
Фиг. 2b



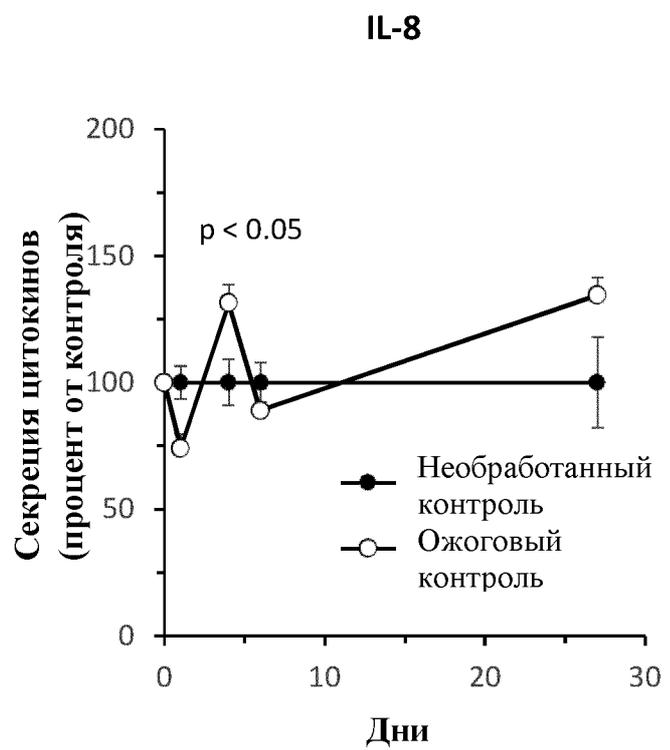
Фиг. 2с



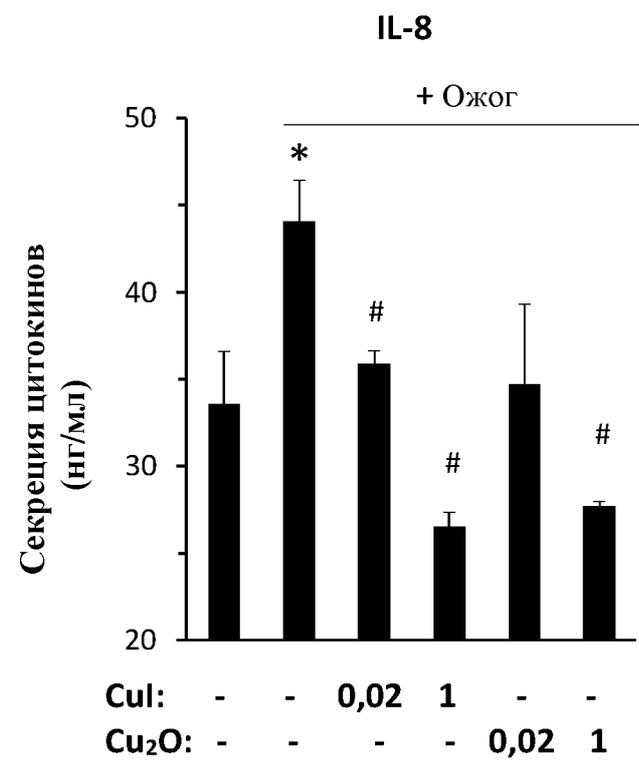
Фиг. 3а



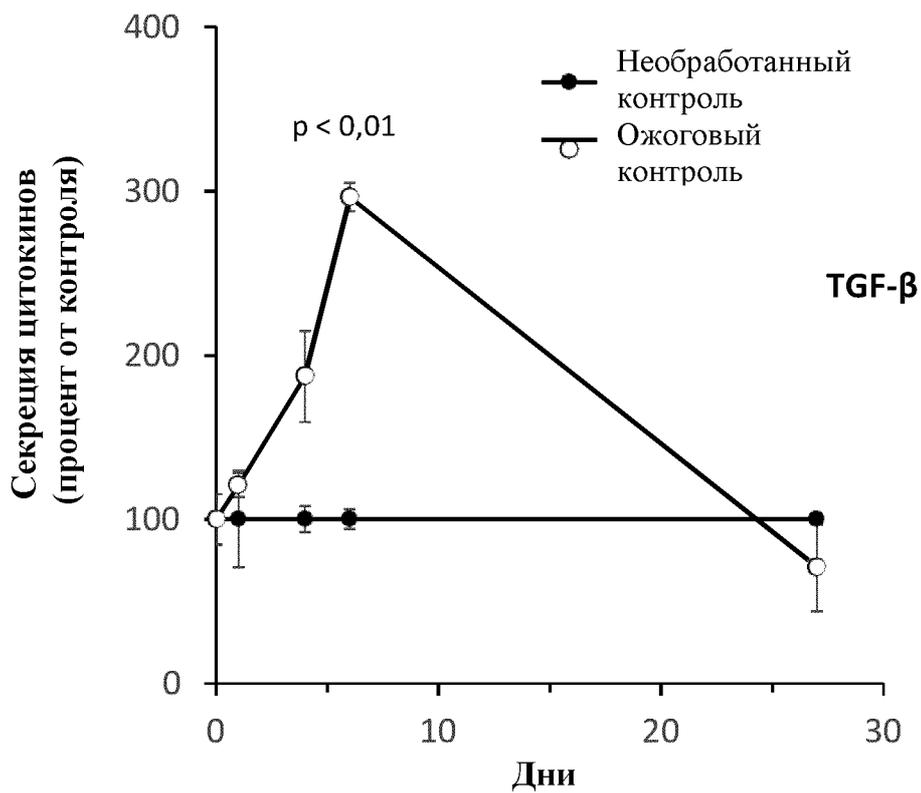
Фиг. 3б



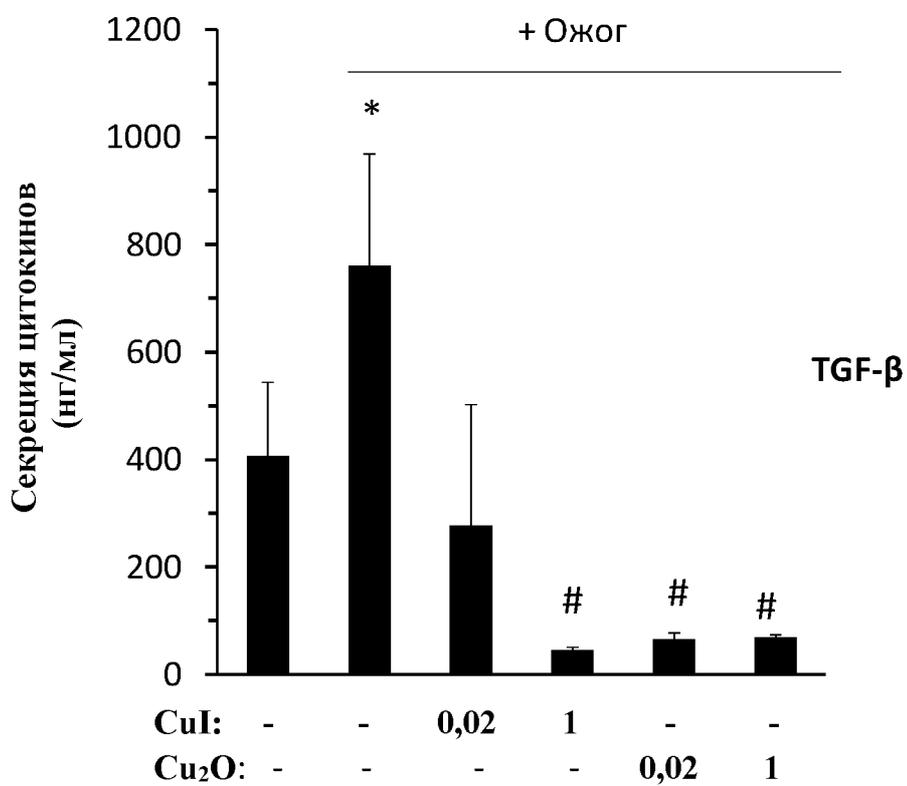
Фиг. 3с



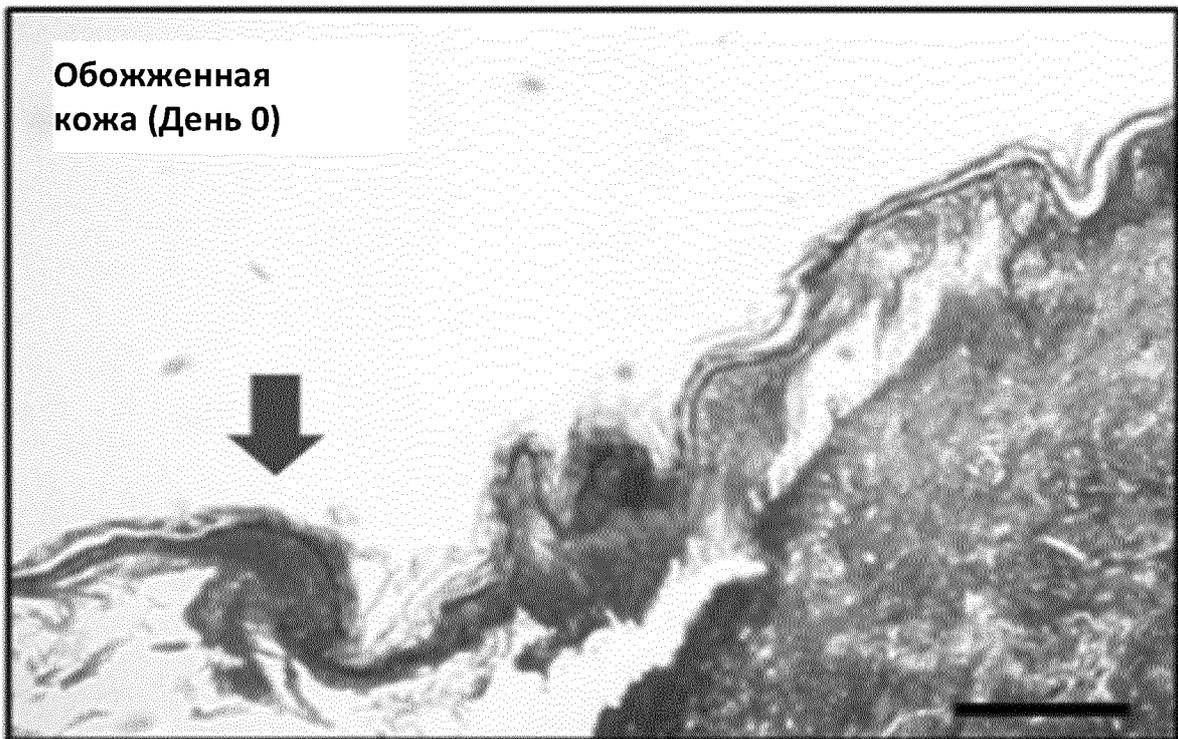
Фиг. 3д



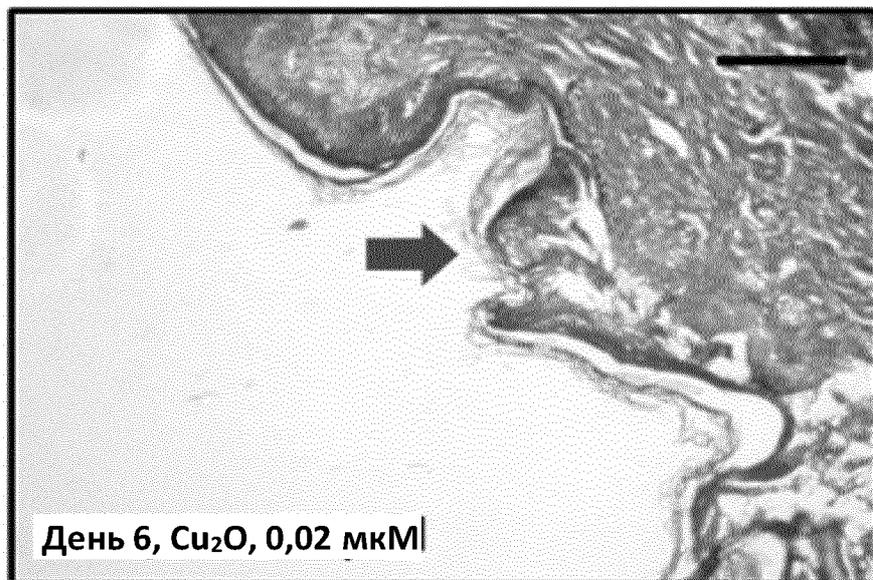
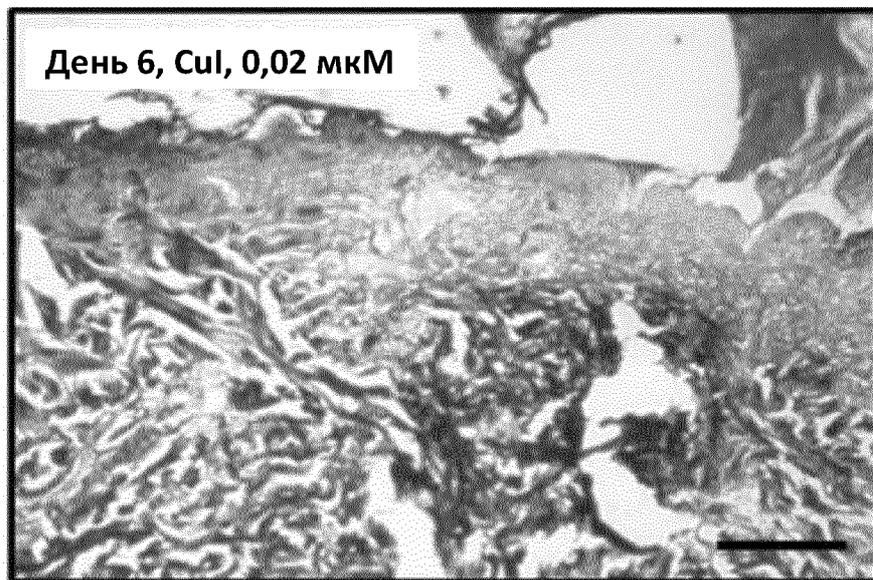
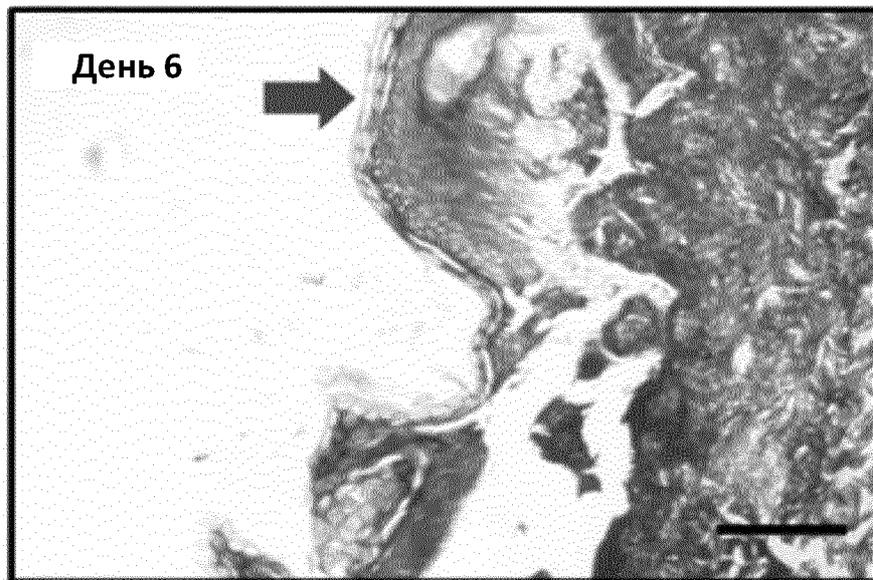
Фиг. 3е



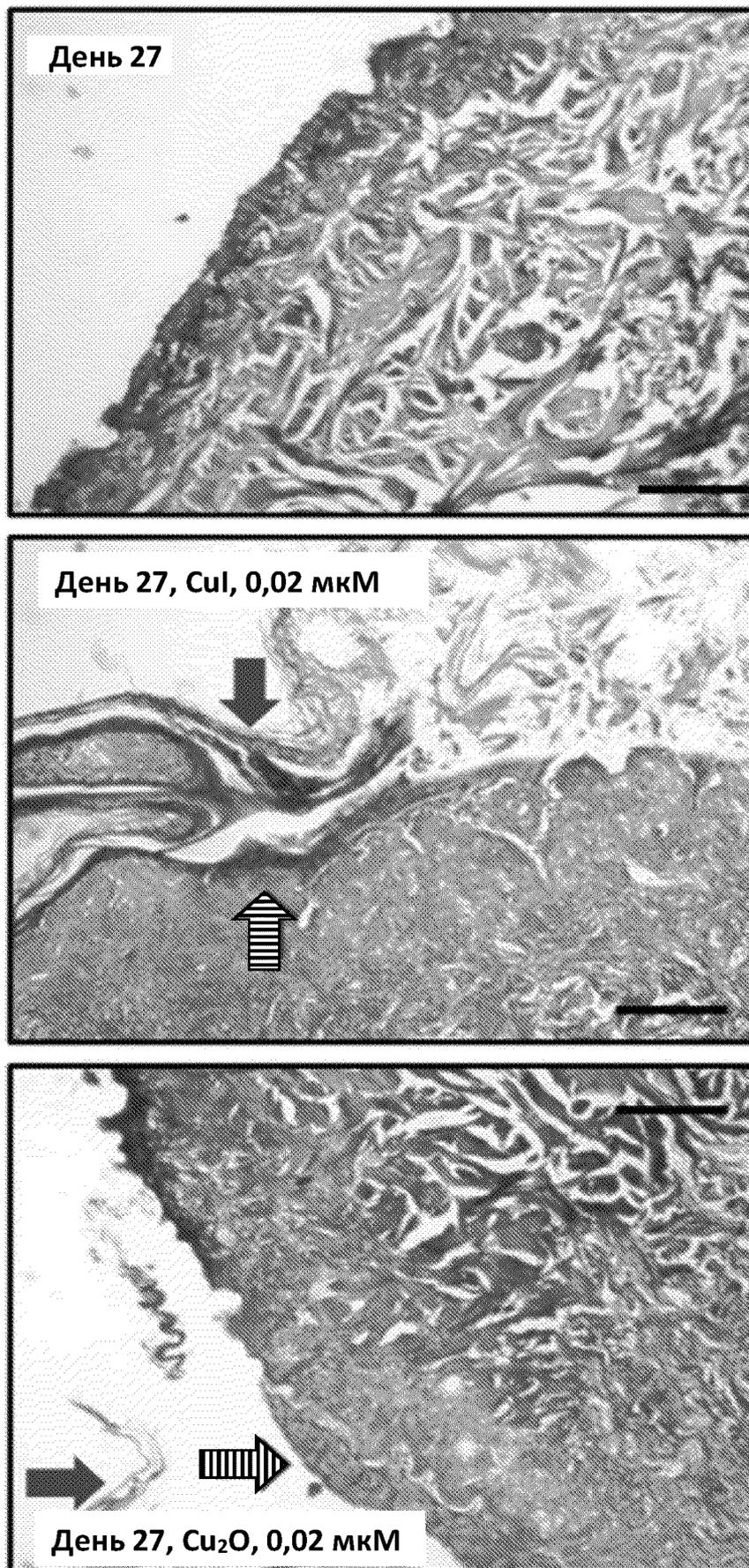
Фиг. 3f



Фиг. 4а



Фиг. 4b



Фиг. 4с