



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2009129467/14, 30.07.2009**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**30.07.2009**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **30.07.2009**(45) Опубликовано: **10.04.2011** Бюл. № 10

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2342103 C1, 27.12.2008. RU 2268060 C1, 20.01.2006. RU 94014547 A1, 20.05.1996. JP 6218036 A, 09.08.1994. А.А.БУЛАТОВ и др. Современные способы изготовления, стерилизации и консервации деминерализованных костных трансплантатов (обзор литературы), Травматология и ортопедия России №1 (34), 2005.**

Адрес для переписки:

**443002, г. Самара, ул. Ново-Садовая, 18, кв.6,  
Л.Т. Воловой**

(72) Автор(ы):

**Волова Лариса Теодоровна (RU),  
Севрюгин Игорь Валерьевич (RU),  
Байриков Иван Михайлович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Волова Лариса Теодоровна (RU)**

**(54) СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВНУТРИТКАНЕВЫХ ПОРИСТЫХ ИМПЛАНТАТОВ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и биотехнологии, а именно к способам изготовления внутритканевых пористых имплантатов, и может быть использовано для восстановления дефектов костной ткани. Способ основан на механической обработке нетканого проволочного материала путем скручивания и прессования для образования пористой структуры требуемой формы. В соответствии с изобретением пористую структуру промывают для удаления загрязнений, обладающих цитотоксическим

действием и образующихся в процессе изготовления внутритканевого пористого имплантата, путем помещения пористой структуры последовательно в органический растворитель. Затем ее помещают в кислотосодержащий раствор. Одновременно воздействуют ультразвуком для эвакуации загрязнений с последующей стерилизацией имплантата. Технический результат заключается в обеспечении эффективной эвакуации загрязнений, обладающих цитотоксическим действием.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2009129467/14, 30.07.2009**

(24) Effective date for property rights:  
**30.07.2009**

Priority:

(22) Date of filing: **30.07.2009**

(45) Date of publication: **10.04.2011 Bull. 10**

Mail address:

**443002, g.Samara, ul. Novo-Sadovaja, 18, kv.6,  
L.T. Volovoj**

(72) Inventor(s):

**Volova Larisa Teodorovna (RU),  
Sevrjugin Igor' Valer'evich (RU),  
Bajrikov Ivan Mikhajlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Volova Larisa Teodorovna (RU)**

**(54) METHOD OF MANUFACTURING INTRA-TISSUE POROUS IMPLANTS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine and biotechnology, namely to methods of manufacturing intra-tissue porous implants, and can be used for restoration of bone tissue defects. Method is based on mechanical processing of nonwoven wire material by twisting and pressing in order to form porous structure of desired shape. In accordance with the invention porous structure is washed in order to

remove contaminations, possessing cytotoxic action and formed in process of manufacturing intra-tissue porous implant by transferring porous structure successively into organic solvent. After that it is placed into acid-containing solution. Simultaneously it is subjected to ultrasonic impact in order to evacuate contaminations with further implant sterilisation.

EFFECT: ensuring efficient evacuation of contaminations, which possess cytotoxic action.

RU 2 4 1 5 6 5 5 C 1

RU 2 4 1 5 6 5 5 C 1

Изобретение относится к медицине, а именно к способам получения и обработки биосовместимых пористых внутритканевых имплантатов с особыми свойствами для улучшения прорастания (остеоинтеграции или фиброинтеграции) костной и соединительной ткани, и может быть использовано в ортопедии стоматологии и косметологии.

Известен материал, обладающий указанными свойствами (Севрюгин И. В., Калиновский В. В., Карякин Ю. М. Структура костного имплантата и способ ее изготовления (патент РФ № 2342103, МКИ А61F 2/28, А61L 27/04, В21F 21/00).

Недостатком известного материала является то, что он обладает цитотоксическим действием, технологический процесс его получения не обеспечивает возможности применения материала в клинической практике.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является вышеуказанный материал (Севрюгин И.В., Калиновский В., В., Карякин Ю.М. Структура костного имплантата и способ ее изготовления (патент РФ № 2342103, МКИ А61F 2/28, А61L 27/04, В21F 21/00).

Техническим результатом, на достижение которого направлено создание данного изобретения, является повышение эффективности способа изготовления внутрикостных имплантатов путем их отмытки органическими растворителями и кислотосодержащими реагентами при обработке ультразвуком и эффективной эвакуации всех загрязнений, образующихся в процессе изготовления материала в соответствии с известной технологией, которые обладают цитотоксическими свойствами.

Поставленный технический результат достигается тем, что в способе изготовления внутритканевых пористых имплантатов, содержащих спрессованный нетканый материал требуемой формы, в процессе производства имплантата вводится дополнительный этап - имплантат после механической обработки перед стерилизацией подвергают промывке для удаления загрязнений, являющихся побочными продуктами производства, обладающими цитотоксическим действием и образующимися в процессе изготовления имплантата.

Способ осуществляют следующим образом.

Имплантат, полученный по известной технологии, помещают в сосуд с органическим растворителем и подвергают воздействию ультразвуком в течение 2 минут. Затем имплантат помещают в сосуд с раствором соляной кислоты и подвергают воздействию ультразвуком в течение 5 минут. После этого имплантат подвергают стерилизации.

Полученный имплантат был подвергнут исследованию на культурах клеток с использованием комплекса современных морфологических методов.

Материалом исследования служили образцы титановой проволоки, путем специальной обработки скрученной так, что она образует структуру с высокой степенью пористости (в данном случае 50%). В лабораторию культуры клеток материал поступал в виде дисков диаметром 5 мм или пластин размером 5×5 мм; толщина образцов составляла 0,5 мм.

При световой микроскопии поверхность дисков всех экспериментальных серий выглядела шероховатой, на некоторых участках были выраженные выступы и впадины неправильной формы. Хорошо были видны нитки титановой проволоки, из которой был скручен диск.

Исследования проведено на первичных культурах дермальных фибробластов человека 4-10 пассажа. Культуру дермальных фибробластов получали из кожно-

мышечной ткани абортусов сроком 8-10 недель методом первичных эксплантатов.

Клетки культивировали в стандартных условиях в термостате при температуре 37°C в среде Игла MEM+199 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки в  
5 пластиковых культуральных флаконах площадью 25 см<sup>2</sup>. Тестирование производили в культуральных чашках Петри диаметром 3 см.

Опыты осуществлялись методом прямого контакта. Фибробласты пересевали из культурального флакона на чашки Петри и культивировали в течение 24 часов; в течение этого времени формировался равномерный монослой клеток, на который  
10 помещали образец исследуемого материала. При посеве доза во всех случаях составляла 20 тысяч клеток/см<sup>2</sup>. Контролем служили чашки Петри с полной ростовой средой и образцами исследуемого материала, в которые не высевали фибробласты, и чашки Петри с культурой фибробластов, которые пассировали и наблюдали  
15 одновременно с экспериментальными, но не подвергали никакому воздействию. Все работы проводили в ламинарном боксе.

Клетки в присутствии исследуемого материала культивировали 5 суток.

Нативную культуру изучали, морфометрировали и фотографировали с помощью инвертированного микроскопа при увеличении 400 и 150 (окуляры - 10 и 15, объектив-  
20 10).

Ежедневно проводили визуальные наблюдения и морфометрию нативной культуры. Визуально оценивали целостность монослоя, наличие слущенных клеток в культуральной жидкости, форму и размеры клеток, оценивали цитотоксический  
25 эффект. При помощи окулярной сетки Автандилова считали плотность монослоя, а по ее приросту рассчитывали скорость удвоения культуры.

В результате исследования были получены следующие результаты.

Диск, изготовленный с соответствии с известной технологией, помещали на равномерный монослой фибробластов (25 тыс. клеток/см<sup>2</sup>).

В первые двое суток наблюдался умеренный цитотоксический эффект в  
30 непосредственной близости от образца. Это выражалось в разрежении монослоя вблизи образца, нарушении направления роста фибробластов, появлении большого количества слущенных клеток в ростовой среде. В то же время клетки, в основном, сохраняли характерные для них форму и размеры. В отдаленной от образца зоне  
35 сохраняли обычную форму, размеры клеток и ядер, цитоплазма их была гомогенной, ядра светлые пузырьковидные с 1-2 ядрышками, и лишь незначительная часть из них имела округлый вид.

К четвертым суткам эксперимента, картина в экспериментальных чашках Петри  
40 изменилась незначительно: лишь усилилось разрежение монослоя на всей поверхности чашки.

К концу эксперимента наблюдается некоторая разреженность монослоя на всей поверхности культуральной чашки с исследуемым материалом.

Пористый диск из очищенного титана, полученного по технологии заявителей  
45 размером 0,5 мм, толщиной 0,5 мм, помещали на равномерный монослой фибробластов плотностью 24 тыс. клеток/см<sup>2</sup>.

После помещения исследуемого материала на монослой клеток в непосредственной  
50 близости от образца наблюдается изменение характера роста фибробластов: клетки начинают расти в направлении образцов, но в отдаленной зоне таких изменений нет.

Такое состояние сохраняется до конца эксперимента (четвертых суток), по всей чашке монослой сохранен, отмечается усиление пролиферации фибробластов, что демонстрируется увеличением плотности монослоя.

Характерно, что при исследовании под инвертированным микроскопом нам удалось наблюдать фибробласты, имевшие характерные для здоровых клеток форму, размеры, количество отростков и ядерно-цитоплазменные отношения на поверхности витков титановой проволоки, что свидетельствует о хорошей адгезии клеток к

Пористый диск из чистого титана (контрольная серия) размером 0,5 мм, толщиной 0,5 мм помещали на равномерный монослой фибробластов плотностью 25 тыс. клеток/ см<sup>2</sup>.

Через сутки наблюдалось увеличение плотности монослоя по всей поверхности культуральной чашки.

В течение последующих суток отмечалось увеличение плотности монослоя равномерно на всей поверхности чашки, что свидетельствует о стимуляции пролиферативной потенции клеток.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что имплантат, полученный по известной технологии, обладает цито-токсическим эффектом, а имплантат, полученный по технологии заявителей, подобным свойством не обладает.

#### Формула изобретения

Способ изготовления внутритканевых пористых имплантатов, основанный на механической обработке нетканого проволочного материала путем скручивания и прессования для образования пористой структуры требуемой формы, отличающийся тем, что пористую структуру промывают для удаления загрязнений, обладающих цитотоксическим действием и образующихся в процессе изготовления внутритканевого пористого имплантата путем помещения пористой структуры последовательно в органический растворитель, а затем в кислотосодержащий раствор с одновременным воздействием ультразвуком для эвакуации загрязнений с последующей стерилизацией имплантата.