



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008119004/14, 15.05.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.05.2008

(45) Опубликовано: 10.09.2009 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2166252 C2, 10.05.2001. RU 2147800 C1,
27.04.2000. ЮМАШЕВ Г.С. Костная
пластика лиофилизированным
гомотрансплантатом. - М., 1963, с.18-22.
КАКИУСИ М. "Preparation of bank bone using
defatting, freeze-drying and sterilisation with
ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation
of its efficacy and safety" Int Orthop. 1996;
20(3):147-52 (Abstract).

Адрес для переписки:
443002, г. Самара, ул. Ново-Садовая, 18, кв.6,
Л.Т. Воловой

(72) Автор(ы):

Волова Лариса Теодоровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Волова Лариса Теодоровна (RU)**(54) СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КРУПНОБЛОЧНЫХ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и биотехнологии. В предварительно механически обработанных, отмытых проточной водой крупных костных блоках, состоящих из компактного и губчатого компонентов костной ткани, делают хаотически расположенные сквозные отверстия диаметром 1-3 мм. После воздействия на крупноблочные костные имплантаты липосистемами и перекисью водорода воздействуют на крупноблочные костные имплантаты низкочастотными ультразвуковыми колебаниями частотой

$35 \pm 10\%$ кГц в течение 1-3 минут. Помещают крупноблочные костные имплантаты в камеру, в которой создают вакуум с остаточным давлением 1-2 Па на 15 минут. После отмытки крупноблочных костных имплантатов проточной водой и спиртоэфирным раствором 0,5-1,5 часа, их замораживают при температуре -60°C , лиофилизируют, герметично упаковывают и стерилизуют радиационным методом. Способ обеспечивает повышение эффективности и качества очистки крупноблочных костных и сухожильно-костных имплантатов от жира и костного мозга.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A01N 1/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2008119004/14, 15.05.2008**

(24) Effective date for property rights:
15.05.2008

(45) Date of publication: **10.09.2009 Bull. 25**

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

Volova Larisa Teodorovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Volova Larisa Teodorovna (RU)

(54) METHOD FOR MAKING LARGE-BLOCK FREEZE-DRIED BONE IMPLANTS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention concerns medicine and biotechnology. In pre-machined large bone blocks rinsed in flowing water and consisting of compact and cancellous bone tissue components, there are random through holes of diametre 1-3 mm. After the large-block bone implants are processed with liposystems and hydrogen peroxide, they are exposed to low-frequency ultrasonic vibration of frequency of $35\pm 10\%$ kHz during 1-3 minutes. The large-block

bone implants are placed for 15 minutes in a chamber wherein vacuum of residual pressure 1-2 Pa is generated. After the large-block bone implants are rinsed with flowing water and alcohol-ester solution within 0.5-1.5 hours, they are frozen at temperature -60°C , lyophilised, sealed and sterilised by radiation method.

EFFECT: method provides higher cleaning efficiency and quality of the large-block bone and bone-tendinous implants from fat and bone marrow.

Изобретение относится к медицине и биотехнологии, а именно к способам изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов для применения их при восстановлении дефектов костной ткани.

5 Для получения костно-пластического материала, эквивалентного по качеству аутокости, наиболее перспективным являются непосредственные воздействия на аллогенный пластический материал физическими и химическими факторами, в результате чего добиваются снижения антигенной активности имплантатов и уменьшения проявления тканевой несовместимости.

10 В настоящее время наилучшие результаты дает пересадка аллотрансплантатов, освобожденных от костного мозга и жира. При аллопластике костей костный мозг, в отличие от костного вещества, обладает резко выраженными антигенными свойствами и вызывает иммунологический конфликт. Для разрушения костномозговой ткани, которая при трансплантации не принимает участия в
15 репаративных процессах, а только тормозит их, необходимо механическое, физическое или химическое воздействие на нее.

Известен способ удаления костного мозга из губчатых костных трансплантатов, основанный на воздействии на них химическими веществами и отмывке их проточной
20 водой, в котором на предварительно отмытые проточной водой трансплантаты после воздействия на последние липосистемами и перекисью водорода воздействуют на губчатые костные трансплантаты низкочастотными ультразвуковыми колебаниями с частотой 24,5-28,5 кГц в течение 1 минуты, после чего, произведя отмывку
25 трансплантатов проточной водой, помещают губчатые костные трансплантаты в спиртоэфирный раствор, выдерживая их в последнем 0,5-1,5 часа (Патент РФ №2166252, МКИ 7 A01N 1/00, A61K 35/32, опубл. 10.05.2001).

Недостатком известного способа является то, что он пригоден для обработки только измельченных в виде крошки губчатых трансплантатов и не может
30 эффективно использоваться для обезжиривания и удаления всех элементов костного мозга из крупноблочных костных имплантатов, состоящих из компактного и губчатого компонентов.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является способ удаления костного мозга из губчатых костных трансплантатов, защищенный
35 патентом РФ №2166252, МКИ 7 A01N 1/00, A61K 35/32, опубл. 10.05.2001 (Волова Л.Т., Кириленко А.Г. Способ удаления костного мозга из губчатых костных трансплантатов).

Техническим результатом, на достижение которого направлено создание данного
40 изобретения, является повышение эффективности и качества очистки крупноблочных костных и сухожильно-костных имплантатов от жира и костного мозга путем разжижения коллоидов и разрыва коллоидных агрегатов путем их мелкодисперсной эмульгации ультразвуком и эффективной эвакуации всех элементов костного мозга (кроветворных клеток, стромы, ретикулярной ткани и продуктов их разрушения
45 ультразвуком) и жира из имплантатов при воздействии вакуума.

Поставленный технический результат достигается тем, что в способе изготовления крупноблочных костных имплантатов, основанном на отмывке проточной водой,
50 воздействии на них липосистемами и перекисью водорода, низкочастотными ультразвуковыми колебаниями, отмывке их проточной водой и помещении в спиртоэфирный раствор с выдерживанием в нем в течение 0,5-1,5 часов, - в предварительно механически обработанных, отмытых проточной водой крупных костных блоках, состоящих из компактного и губчатого компонентов костной ткани,

делают хаотически расположенные сквозные отверстия диаметром 1-3 мм, и после воздействия на имплантаты липосистемами и перекисью водорода воздействуют на костные имплантаты низкочастотными ультразвуковыми колебаниями частотой $35\pm 10\%$ кГц в течение 1-3 минут, затем на помещенные в камеру крупноблочные костные имплантаты, в которой создают вакуум с остаточным давлением 1-2 Па, выдерживают в камере 15 минут, и после отмывки крупноблочных костных имплантатов проточной водой и спиртоэфирным раствором замораживают при температуре -60°C , лиофилизируют, герметично упаковывают и стерилизуют радиационным методом (гамма-лучами или быстрыми электронами).

Способ осуществляют следующим образом.

Сначала проводят механическое удаление с длинной трубчатой кости мышечной, хрящевой и сухожильной тканей, промывают проточной водой в течение 30 минут, далее производят сверление в метаэпифизарной части длинных трубчатых костей или в костно-сухожильных блоках 10-12 хаотически расположенных сквозных отверстий диаметром 1-3 мм и воздействуют на них химическими реактивами: перекисью водорода, липосистемами в течение 1 часа. Потом проводят отмывку крупноблочного костного имплантата в течение 30 минут проточной водой, после чего крупноблочный костный имплантат помещают в ультразвуковую ванну, заливают физиологическим раствором до полного его погружения. Затем крупноблочный костный имплантат, погруженный в физиологический раствор, подвергают воздействию ультразвуком. Частота ультразвуковых колебаний составляет $35\pm 10\%$ кГц, продолжительность ультразвукового воздействия составляет 1-3 минуты. Затем помещают крупноблочный костный имплантат в камеру, в которой создается вакуум с остаточным давлением 1-2 Па на 15 минут. Далее проводят в течение 30 минут промывку крупноблочного костного имплантата проточной водой, затем помещают крупноблочные костные имплантаты в спиртоэфирный раствор, выдерживая их в последнем 0,5-1,5 часа, после чего замораживают крупноблочные костные имплантаты при температуре -60°C и лиофилизируют, герметично упаковывают и стерилизуют радиационным методом (гамма-лучами или быстрыми электронами).

Ультразвуковые колебания низкой частоты, воздействуя на биосистемы, вызывают, кроме кавитации, возникновение акустических течений, микротоков и капиллярных волн. Акустические течения и микротоки способны порождать вихревые движения, приводящие к разрыву клеточных мембран и макромолекул. Белковые комплексы под влиянием ультразвуковых волн распадаются на отдельные фрагменты и составные части, теряя свои специфические свойства. Ультразвуковое воздействие вызывает разжижение коллоидов и способно разрывать коллоидные агрегаты на более мелкие частицы. Капиллярные волны, действуя как «капиллярный насос», способствуют эвакуации из биологических структур патологического содержимого и отработанных промывных жидкостей. Кость, являясь биологической тканью, рассматривается как капиллярно-пористая структура, заполненная водными растворами ионов и молекул различных веществ. «Ультразвуковой насос» способен обеспечить очистку труднодоступных узких полостей костной ткани, разрушая клетки и клеточные структуры, в том числе и жировые.

Воздействие вакуума, наряду с перфоративными отверстиями в кости, ускоряет и повышает эффективность эвакуации всех элементов костного мозга (кровотворных клеток, стромы, ретикулярной ткани и продуктов их разрушения ультразвуком) и жира из имплантатов. Эта операция позволяет подвергать подобной очистке не только измельченную губчатую костную ткань, но и имплантаты из целых трубчатых

костей значительного размера, содержащие компактный и губчатый компоненты костной ткани, с высокой степенью эффективности.

5 Были проведены испытания по удалению жира и костного мозга из костных имплантатов по известной методике (Приказ министра здравоохранения СССР Г' 482. г.Москва от 14.06.72) и по предлагаемому способу с использованием ультразвуковых колебаний и вакуума. Нативный материал был изучен микроскопически. Полутонкие срезы, полученные с замороженной декальцинированной костной ткани, окрашивали Суданом III. Также окрашивали полутонкие срезы метиленовым синим в растворе 10 буры, гематоксилинэозином и пикрофуксином.

На препаратах нативной костной ткани костный мозг занимает все межтрабекулярное пространство, а жировые включения, которые составляют 50% и более костного мозга, сливаются в крупные конгломераты между костными балками.

15 На микропрепаратах кости, отмытой по известной методике, фрагменты костного мозга имеют меньшие размеры и их количество незначительно.

На препаратах крупноблочных костных имплантатов, полученных в результате обработки их предлагаемым способом с использованием низкочастотного ультразвука частотой $35 \pm 10\%$ кГц, и вакуума и перфорации метаэпифизарной части 20 кости, в межтрабекулярном пространстве элементы костного мозга полностью отсутствуют, лакуны костной ткани на месте остецитов свободны.

С целью исследования качества отмывки костных имплантатов от костного мозга и жира микропрепараты были изучены с помощью сетки Автандилова на процентное содержание жировых элементов. Для замеров костномозговых структур 25 использовалась специальная вставка с равно удаленными точками (Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. - М.: Медицина, 1990, С.384).

Измерительная сетка позволила оценить относительную площадь исследуемых объектов. При получении исходной информации для морфометрического анализа 30 производили подсчет капель жира в костных имплантатах с помощью светового микроскопа при увеличении 15.

В нативной костной ткани включения жира составили 18,4%, в костной ткани, изготовленной по известной методике (приказ Минздрава СССР 482 от 14.06.72), 35 включения костного мозга составили 7,5%, а в костном имплантате, где удаление жира осуществлялось предлагаемым способом с использованием ультразвуковых колебаний и вакуума, жировых включений не обнаружено.

Кроме этого, качество отмывки костной ткани от жира определялось биохимическим методом по остаточному содержанию жира в исследуемом материале. 40 Результаты испытаний по данному методу показали, что в нативной кости содержание жира составило $17,1 \pm 1,1\%$, в кости, обработанной по общепринятой методике - $5,3 \pm 0,44\%$, в кости, обработанной с применением ультразвука и вакуума - $0,14 \pm 0,01\%$.

45 Проведенный заявителями анализ уровня техники, включающий поиск по патентным и научно-техническим источникам информации, и выявление источников, содержащих сведения об аналогах заявляемого способа изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов, позволило установить, что заявители не обнаружили аналог, характеризующийся признаками, тождественными 50 (идентичными) всем существенным признакам заявляемого способа.

Определение из перечня выявленных аналогов прототипа позволило выявить совокупность существенных по отношению к усматриваемому техническому результату отличительных признаков в заявляемом способе изготовления

крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов, изложенных в формуле изобретения.

Следовательно, заявляемый способ соответствует критерию «новизна».

Для проверки соответствия заявляемого способа изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов заявители провели дополнительный поиск известных решений, чтобы выявить признаки, совпадающие с отличительными от прототипа признаками заявляемого изобретения.

Результаты поиска показали, что заявляемое изобретение не вытекает для специалиста явным образом из известного уровня техники, определенного заявителями, не выявлено влияние предусматриваемых существенными признаками заявляемого способа изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов преобразований на достижение технического результата.

Следовательно, заявляемое изобретение соответствует критерию «изобретательский уровень».

Критерий изобретения «промышленная применимость» подтверждается тем, что предлагаемый способ изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов может быть успешно использован в отделениях по заготовке биопластических материалов, предназначенных для использования в реконструктивных операциях в травматологии, ортопедии, стоматологии как самостоятельные имплантаты, так и полученные из них крошка, цилиндры, полоски и т.д.

Формула изобретения

Способ изготовления крупноблочных лиофилизированных костных имплантатов, основанный на отмывке проточной водой, воздействию на них липосистемами и перекисью водорода, низкочастотными ультразвуковыми колебаниями, отмывке их проточной водой и помещении в спиртоэфирный раствор с выдерживанием в нем в течение 0,5-1,5 ч, отличающийся тем, что в предварительно механически обработанных, отмытых проточной водой крупных костных блоках, состоящих из компактного и губчатого компонентов костной ткани, делают хаотически расположенные сквозные отверстия диаметром 1-3 мм, и после воздействия на крупноблочные костные имплантаты липосистемами и перекисью водорода воздействуют на крупноблочные костные имплантаты низкочастотными ультразвуковыми колебаниями частотой $35 \pm 10\%$ кГц в течение 1-3 мин, затем помещают крупноблочные костные имплантаты в камеру, в которой создают вакуум с остаточным давлением 1-2 Па на 15 мин, и после отмывки крупноблочных костных имплантатов проточной водой и спиртоэфирным раствором их замораживают при температуре -60°C , лиофилизируют, герметично упаковывают и стерилизуют радиационным методом.