



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55836 (13) A

(51) 7 A01N1/02, A61F2/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОБРОБКИ ДЕМІНЕРАЛІЗОВАНОГО КІСТКОВОГО МАТРИКСУ

1

2

(21) 2002075530

(22) 05 07 2002

(24) 15 04 2003

(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р.

(72) Корж Микола Олексійович, Кадурін Олександр Костянтинович, Леонтєва Фріда Соломонівна, Тимошенко Ольга Павлівна, Вирва Олег Євгенович, Лигун Леонід Миколайович

(73) ІНСТИТУТ ПАТОЛОГІЇ ХРЕБТА ТА СУГЛОБІВ
ІМ. ПРОФ. М. І. СИТЕНКА АМН УКРАЇНИ

(57) Спосіб обробки демінералізованого кісткового матриксу шляхом його стерилізації та насичення лікарськими препаратами, який відрізняється тим, що додатково виконують його дегідратацію до залишкової вологи в ньому 6 - 8% від початкової маси

Винахід відноситься до медицини, а саме - до ортопедії, травматології та трансплантології може бути використаний для обробки демінералізованого кісткового матриксу призначеного для заміщення кісткових дефектів під час хірургічних втручань при захворюваннях та травмах опорно-рухового апарату

При хірургічному лікуванні деяких ортопедичних і, зокрема онкологічних захворювань, а також при травматичних пошкодженнях опорно-рухового апарату людини можуть виникнути дефекти в кістці, які обов'язково необхідно замінити. Для заміщення цих дефектів зараз використовують різного роду імплантати із кісткової тканини, кераміки та інших матеріалів, особливої переваги хірурги надають демінералізованому кістковому матриксу (ДКМ), який має остеоіндуктивні властивості.

Відомий спосіб консервування ДКМ, який полягає у стерилізації ДКМ в 0,1 - процентному розчині забуференого формальдегіду з антибіотиком мономіцином або канаміцином із розрахунку 0,5 г/л при температурі $2 \pm 5^\circ\text{C}$ впродовж 7 діб. Після цього стерилізований ДКМ консервують холодом в холодильній камері при температурі $-25 \pm -20^\circ\text{C}$ впродовж трьох місяців. Перед пересадкою цей ДКМ розморожують на повітрі і відмивають у фізіологічному розчині, постійно переміщуючи і періодично міняючи фізіологічний розчин до тих пір поки в ньому будуть відсутні сліди формальдегіду (1).

Цей спосіб має такі недоліки

Строк консервування становить три місяці

При збільшенні строків консервування процеси обміну значно знижують якість ДКМ і він стає непридатним для пересадки. Відмивання ДКМ від формальдегіду потребує додаткової роботи, а також контролю наявності залишків формальдегіду в розчині. Консервування холодом ДКМ при температурі $-25 \pm -20^\circ\text{C}$ потребує наявності дорогої та надійної холодильної техніки і обслуговуючого її персоналу.

Відомий спосіб обробки ДКМ, при якому ДКМ стерилізують окисом етилену з подальшим консервуванням холодом при температурі не вище -20°C впродовж трьох місяців (2).

Цей спосіб має такі недоліки

Строк консервування холодом не перевищує трьох місяців. Потрібна установка для насичення ДКМ окисом етилену. Консервування холодом при температурі не вище -20°C потребує дорогої та надійної холодильної техніки, а також обслуговуючого її персоналу.

Відомий спосіб обробки кісткових трансплантатів лікарськими препаратами, коли кісткову тканину обробляють методом електрофорезу розчинами аскорбінової кислоти із стабілізатором і антибіотиком. Після цього кісткову тканину висушують в ліофільній сушці і насичують розчином альфа-токоферолу методом фонофорезу. Ліофільну сушку проводять при температурі $-25 \pm -30^\circ\text{C}$ під тиском не більше 10 мм рт.ст. впродовж 4-х діб, а далі - при кімнатній температурі впродовж 48 - 72 годин при тому ж тиску. Після ліофілізації кісткові трансплантати насичують альфа-токоферолом

(13) A

(11) 55836

(19) UA

потужністю ультразвукової головки $1,5 \text{ Вт/см}^2$ впродовж 5 - 7 хвилин роботи апарату в нелінійному режимі. Оброблені таким чином трансплантати консервували холодом при температурі $-25 \div -30^\circ\text{C}$ впродовж трьох місяців (3).

Цей спосіб має такі недоліки:

Необхідна ліофільна установка для сушки трансплантатів. Використання фонофорезу робить ціну трансплантатів набагато дорожчою. Строк консервування кісткових трансплантатів не перевищує трьох місяців. Консервування холодом кісткової тканини при температурі не вище -20°C потребує надійної холодильної і вакуумної техніки, а також обслуговуючого її персоналу.

При обробці і консервуванні холодом ДКМ можна використовувати деякі принципи і технологічні панцюжки, які використовувались для кісткової тканини. Саме цей спосіб вибрано в якості прототипа.

Як показує досвід використання ДКМ, консервування його холодом на протязі трьох місяців є дуже коротким і обмеженим строком використання, також важливою проблемою являється розробка нової технології консервування ДКМ з її більш високою температурою із збереженням біологічних властивостей для пересадки.

В ДКМ є вільна і зв'язана волога, яка в сумі складає, по наших даних ($64,6 \pm 1,0$) % За даними (4) зв'язана вода в колагені що входить в склад ДКМ, становить 5%. Решта води є вільна. Присутність зв'язаної води забезпечує збереження біологічних процесів обміну в ДКМ, а наявність вільної води спричиняє прискорення процесів обміну речовин. Тому для зниження активності процесів обміну речовин і таким чином подовженню строку консервування холодом ДКМ пропонується відняти з ДКМ вільну воду. Вільна вода віднімається легше ніж зв'язана але коли рівень вільної води становить кілька процентів починається додаткове відняття зв'язаної води разом з вільною. Зниження кількості зв'язаної води призводить до погіршення життєздатності ДКМ і частковій втраті його остеоіндуктивних властивостей після пересадки. Тому пропонується після відняття вологи із ДКМ частково залишити її на рівні 6 - 8% від маси повністю насиченого ДКМ, причому 5% становить зв'язана вода.

В структурі колагену, із якого складається ДКМ, температура замерзання становить -8°C (5). Тому величина температури консервування ДКМ холодом вибрана не вище -10°C , коли значно знижуються процеси обміну речовин.

В основу винаходу поставлено мету створення способу обробки демінералізованого кісткового матриксу, який дозволить підвищити температуру консервування до -10°C а також подовжити строк консервування його до одного року.

Поставлена мета досягається тим, що в способі обробки демінералізованого кісткового матриксу шляхом його стерилізації та насичення лікарськими препаратами, згідно винаходу додатково виконують його дегідратацію до залишкової вологи в ньому 6 - 8% від початкової маси.

Саме додаткове виконання дегідратації демінералізованого кісткового матриксу дозволяє підвищити температуру консервування до -10°C , а

також подовжити строк консервування його до одного року.

Пропонований спосіб обробки і консервування холодом ДКМ полягає в наступному. Для демінералізації кісткової тканини кістку розрізають на фрагменти, вичищають від кісткового мозку і занурюють в 1,2N розчин соляної кислоти при температурі 4°C , при цьому розчин кислоти кілька разів змінюють впродовж демінералізації. Розчин постійно перемішують поки кісткова тканина повністю демінералізується, зникнення мінералізації контролюється згиним кістковим фрагментом, або проколлюванням. Після демінералізації проводяться відмивання демінералізованим кістковим матриксом від кислоти очищеною водопровідною водою впродовж 2 - 4 годин. Після відмивання ДКМ від кислоти його стерилізують і насичують лікарськими препаратами. Використовують антибіотики широкого спектру дії (1г пеніциліну, 1г стрептоміцину і 0,5г мономіцину на 1л фізіологічного розчину). Для цього ДКМ занурюють в розчин антибіотиків на 15 хвилин. Іншими препаратами насичують методом іонофорезу. Для цього на операційний стіл кладуть пластинчатий свинцевий електрод, підключають його до плюсового полюса апарату для гальванізації. Поверх електрода послідовно накладають зволожену фізіологічним прокладку з 12 - 16 шарів фланелі для поглинання демінералізованого кісткового матриксу продуктів електрофорезу, які створюються в процесі поляризації. Далі кладуть трьохшарову прокладку з марлі, зволожену антибіотиками. На підготовлене ложе кладуть ДКМ, на який послідовно накладають 8-ми шарову марлеву прокладку зволожену 5-ти процентним розчином аскорбінової кислоти зі стабілізатором, далі 4-х шарову марлеву прокладку зволожену фізіологічним розчином, і зверху - пластинчатий свинцевий електрод, який з'єднують з мінусовим полюсом апарату для гальванізації. Щільність струму виставляють $0,1 \text{ ма/см}^2$ впродовж 10 хвилин. Після насичення проводять відняття вологи - дегідратацію з додержанням стерильності. Для цього стерильні лотки з ДКМ установлюють в стерильно оброблений зсередини термостат і нагрівають до температури 56°C і витримують впродовж 4-х годин. Залишкова волога становить 6 - 8%, що можна додатково контролювати.

Одержаний таким чином ДКМ розкладають в стерильні полімерні пакети, запаковують і в подальшому консервують холодом при температурі не вище -10°C впродовж до одного року. Можливе транспортування запечатаних пакетів впродовж трьох діб при температурі 18°C .

Джерела інформації

1 Ивакин Д И Биоплатические свойства демінералізованих і недемінералізованих аллотрансплантатів, консервированих в жидких средах // Заготовка и пересадка демінералізованної костной ткани в эксперименте и клинике Л, 1983, С 13 - 18.

2 Савельева В И, Демінералізована кость как особая разновидность костно-пластического материала // Заготовка и пересадка демінералізованной костной ткани в эксперименте и клинике Л, 1983, С 3 - 12.

3 Авторское свидетельство №831121 от

5

55836

6

21 01 81 Делевский Ю П, Кладченко Л А, Кадурин А К, Битчук Д Д, Кулиш Н И, Вуколова В В
Способ обработки костных трансплантатов
4 Magno A A Becker R O Bachman C H Di-

electric determination of Bond Water of bone // Phys
Med Biol 1967, 12(3), P 367 - 378

5 Вода в полимерах Редактор Роулэнд С
Пер, с англ М - Мир, 1984