



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 62905

(13) A

(51) 7 A61K35/30

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОТРАНСПЛАНТАТА З ТВЕРДОЇ ОБОЛОНКИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

1

2

(21) 20031110112

(22) 10 11 2003

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Лисенко Василь Васильович, Макаров Олександр Іванович, Казаченко Серпій Васильович

(73) Лисенко Василь Васильович, Макаров Олександр Іванович, Казаченко Серпій Васильович

(57) Спосіб одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку, що включає забір матеріалу, його консервацію та стерилізацію, який відрізняється тим, що промивають отриманий

матеріал у проточній воді протягом 2-х годин і трикратно у фізрозчині протягом 3-х годин при температурі 37°C, причому перед цим виконують розкриття венозних синусів і видалення відрогів, потім його розправляють на твердій пластині та заморожують при температурі -60°C - -70°C протягом доби, після чого проводять вакуумну ліофілізацію при температурі +40°C - +42°C і вакуумі 10<sup>-3</sup> мм рт.ст. протягом 17-19 годин та розфасовують матеріал у медичну упаковку, після чого проводять його гамма-стерилізацію дозою 1,5 Мрад

Винахід відноситься до області біології і медицини, а саме, до способів одержання біотрансплантатів, що можуть бути використані для пластики дефектів оболонок головного і спинного мозку при черепно-мозковій і хреботно-спинальній травмі, об'ємних пухлинних процесах

Як прототип обраний спосіб одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку (Тоскин К.Д., Жебровский В.В. Пластическая хирургия сложных дефектов брюшной стенки - Киев Здоров'я, 1982 - с.192), який полягає в тому, що здійснюють забір шматків твердої оболонки головного мозку в трупів людей віком 12-50 років у нестерильних умовах і проводять їхню стерилізацію в 0,75-2,0 % розчині формаліну протягом 6-24 годин, потім протягом 5-8 місяців здійснюють консервацію в консервуючій рідині 31 Е, до складу якої входять натрію цитрат, глюкоза, натрію бромід, етиловий спирт, гліцерин і вода, видалення формаліну роблять у ізотонічному розчині натрію хлориду протягом 3-4 годин шляхом відмивання при температурі 37°C тричі, при збереженні біотрансплантата в консервуючій рідині 31Е більше місяця необхідно робити їхні контрольні бактеріологічні дослідження не менше одного разу на місяць для виключення мікробного забруднення

Ознаками, що збігаються з істотними ознаками запропонованого способу, є забір матеріалу, його консервація та стерилізація

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату (підвищення

ефективності дії біотрансплантату зі збереженням фізико-хімічних властивостей), є діючі на біотрансплантат при його консервації хімічні реагенти в результаті змінюють його фізико-хімічні властивості, через 5-8 місяців консервації в рідині 31 Е біотрансплантата втрачають свою міцність і еластичність, знижуються їхні біохімічні властивості, підсилюються аутолітичні процеси, немає гарантії знищення пухлинних клітин вірусів, лейкозних бластів і інших, немає можливості тривалого збереження, тому що змінюються форма і розміри біотрансплантата

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку шляхом зміни параметрів технологічних етапів, введення додаткових нових, що дозволяє створити новий високо-ефективний біотрансплантат за рахунок більш повного збереження його фізичних, хімічних, нативних властивостей при криоконсервації і стерилізації

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку, що включає забір матеріалу, його консервацію та стерилізацію, згідно до винаходу, роблять розкриття венозних синусів і видалення відрогів, промивають матеріал у проточній воді протягом 2-х годин і трикратно у фізрозчині протягом 3-х годин при температурі 37°C, потім його розправляють на твердій пластині та заморожують при температурі -60°C - -70°C протя-

(13) A

(11) 62905

(19) UA

гом доби, після чого проводять вакуумну ліофілізацію при температурі  $+40^{\circ}\text{C}$  -  $+42^{\circ}\text{C}$  і вакуумі  $10^{-3}$  мм рт.ст. протягом 17-19 годин та розфасовують матеріал у медичне упакування, після чого проводять його гамма-стерилізацію дозою 1,5 Мрад.

Між сукупністю істотних ознак запропонованого способу та очікуваним технічним результатом, що може бути досягнутий, виявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: розкриття венозних синусів і видалення відростків у забраному матеріалі дозволяє забрати залишки венозної крові, що може згодом утворювати тромби, дає зручності надалі для формування форми і різних розмірів біотрансплантата, наступне промивання у воді і фізрозчині забезпечує повне знекровлювання і чистоту біотрансплантата, а розправлення його на твердій пластині додає фіксовану форму біотрансплантату і попереджає дисоціацію іонів, введення додаткового етапу заморожування дозволяє не піддавати препарат обробці хімічними реагентами як у способі-прототипі, завдяки чому він зберігає основні фізико-хімічні властивості, дозволяє знизити його антигенні властивості і дає часткову стерилізацію, проведення вакуумної ліофілізації збезводнює біотрансплантат без порушення фізико-хімічних властивостей його клітин і тканин, дозволяє зберегти форму і нативні властивості препарату, розфасовка в медичне упакування дає зручність для подальшої стерилізації і дозволяє зберегти плоску форму біотрансплантата, останній етап - гамма-стерилізація дозволяє знищити бактерії, віруси, пухлинні клітини, грибові міцели та інші хвороботворні організми, що можуть бути присутні у препараті, використовується доза 1,5 Мрад при гамма-стерилізації не змінює морфологічну структуру тканин твердої оболонки головного мозку і дає можливість тривалого збереження біотрансплантатів у стерильних умовах.

Перед операцією медичне упакування з біотрансплантатом розкривають у стерильних умовах, трансплантат поміщають у стерильний фізрозчин натрію хлориду, тобто проводять його регідратацію і використовують відповідно до вимог техніки операції.

Отримані запропонованим способом біотрансплантати після регідратації мають блискучу гладку поверхню і легко прошиваються голками.

Спосіб закінчується в наступному.

Спочатку здійснюють забір твердої оболонки головного мозку зі зводу черепа через 2 години після смерті людини, дотримуючи вимоги Закону України "Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людини".

Для забору матеріалу відбирають донорів з обов'язковим обстеженням для виключення тих, котрі відносяться до групи ризику по медичних і соціальних показаннях.

Проводять тестування з метою виявлення антитіл до ВІЛ-інфекцій,

тестування на виявлення сифілісу, на виявлення бактеріальної контамінації, а також на виявлення антигенів гепатитів В і С, тестування на цитомегаловірус.

В забраному матеріалі розкривають венозні синуси і видаляють відрости. Після чого здійснюють його промивання в проточній воді протягом 2-х

годин, а потім промивають у фізрозчині трикратно протягом 3-х годин при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ .

Потім розправляють тверду мозкову оболонку на пластині з твердого матеріалу, наприклад, нержавіючої сталі, що дозволяє уникнути окислювання, після чого здійснюють заморожування в холодильнику при температурі  $-60^{\circ}\text{C}$  -  $-70^{\circ}\text{C}$  протягом 24-х годин.

Наступним етапом проводять вакуумну ліофілізацію.

Для цього поміщають препарат в сублимаційну установку, в якій створюють вакуум  $10^{-3}$  рт.ст. і виконують підогрів до температурі  $+40^{\circ}\text{C}$  -  $+42^{\circ}\text{C}$  протягом 17-19 годин.

Потім отриманий біотрансплантат розфасовують у медичне упакування і проводять його гамма-стерилізацію дозою 1,5 М рад у промислових умовах.

Перед операцією медичне упакування з біотрансплантатом розкривають у стерильних умовах, поміщають у стерильний фізрозчин натрію хлориду, тобто проводять його регідратацію і використовують відповідно до вимог техніки операції.

Запропонований спосіб дозволяє одержати біотрансплантати з твердої оболонки головного мозку, що мають наступні переваги: високу міцність та еластичність, мають особливості морфогенезу, такі як низька антигенність, тромборезистентність, стійкість до інфекції, можливо їхнє застосування в хворих з ускладненнями виразково-некротичного характеру при периферичній артеріальній недостатності, коли використання синтетичних матеріалів обмежене чи неможливе, відсутність яких-небудь специфічних ускладнень при їхньому застосуванні, доступність і простота передопераційної обробки біоімплантатів важливо в екстрених ситуаціях для швидкості відновлення регіонального та органного кровотоку.

Можливе заміщення отриманого запропонованим способом біотрансплантата протягом одного року після операції власними тканинами організму, тобто біотрансплантат має здатність тривалий час зберігати свої фізичні якості в умовах організму реципієнта.

Приклад одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку.

У біоманекена-донора віком 30 років, що помер раптово в результаті автоаварії в умовах бюро судово-медичної експертизи було виконано забір твердої оболонки головного мозку зводу черепа в строгій відповідності з вимогами Закону України "Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людини".

Перед забором було зроблене тестування відповідно до вимог МОЗ України, пов'язане з визначенням наявності особливо-небезпечних інфекцій: на виявлення антитіл до ВІЛ-інфекцій, на виявлення сифілісу, на виявлення бактеріальної контамінації, а також на виявлення антигенів гепатитів В і С, цитомегаловірусу.

Після чого здійснюють промивання отриманого матеріалу в проточній воді протягом 2-х годин, потім промивають у фізрозчині трикратно протягом 3-х годин при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ .

Розправляють тверду мозкову оболонку на пластині з нержавіючої сталі і заморожують у хо-

лодильнику при температурі  $-65^{\circ}\text{C}$  протягом 24-х годин, далі проводять вакуумну ліофілізацію

Для цього поміщають препарат в сублімаційну установку, в якій створюють вакуум  $10^{-3}$  мм рт.ст. і виконують підогрів до температурі  $+40^{\circ}\text{C}$  протягом 18 годин

Потім отриману сировину розфасовують у медичне упакування з харчової пластмаси і проводять його гамма-стерилізацію дозою 1,5 М рад у промислових умовах

Після чого роблять аналізи на бактеріальне забруднення і прогенність з видачею офіційного висновку

Розфасовану сировину зберігають у звичайних умовах аптечних складів

Перед операцією медичне упакування з біотрансплантатом розкривають у стерильних умовах і проводять його регідратацію, поміщаючи в стерильний фізрозчин натрію хлориду на 40 - 60 хвилин

Запропонований спосіб дозволяє одержати біотрансплантат, що може бути використаний для пластики дефектів оболонок головного і спинного мозку при черепно-мозковій і хребетно-спинальній

травмі, об'ємних пухлинних процесах, відновлення анатомічної цілісності стінки кровоносних судин великого і середнього калібру при локальних ушкодженнях їхньої стінки, протезуванні великих судин, повторної пластики дефектів передньої черевної стінки, наприклад, пахові грижі, грижі білої лінії живота, також біотрансплантат може бути придатний при нейрорафії периферичних нервів, відновленні позасуглобового зв'язкового апарата та інших структур опорно-рухового комплексу

Застосування запропонованого способу одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку забезпечує технічне рішення оперативних втручань, дозволяє створювати банк готових біотрансплантатів, застосовувати їх при хірургічних операціях, при масових ураженнях у військово-польових умовах

Спосіб одержання біотрансплантата з твердої оболонки головного мозку простий і не вимагає великих витрат, дозволяє проводити стерилізацію відомими методами, отриманий матеріал легко піддається упакуванню, підлягає тривалому збереженню