

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038186**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.07.21

(51) Int. Cl. *A61C 8/00* (2006.01)

(21) Номер заявки
201890923

(22) Дата подачи заявки
2016.11.03

(54) УСТРОЙСТВО И СПОСОБ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ИСКУССТВЕННОГО КОСТНОГО ИМПЛАНТАТА КРОВЬЮ

(31) 62/249,980

(56) US-A1-2001031445
US-A1-2014166509

(32) 2015.11.03

(33) US

(43) 2018.12.28

(86) PCT/IL2016/051196

(87) WO 2017/077542 2017.05.11

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ХЕЛС КОРПОРЕЙШН ОФ
ГАЛИЛЕЯ МЕДИКАЛ СЕНТР (IL)**

(72) Изобретатель:
Сруджи Самер (IL)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Предложено устройство для обработки искусственного костного имплантата кровью, содержащее емкость, выполненную с возможностью размещения в ней искусственного костного имплантата и возможностью ее наполнения кровью и имеющую отверстие, и крышку, выполненную с возможностью закрытия отверстия емкости. В изобретении раскрыты дополнительные варианты реализации устройства и способы его использования.

B1

038186

038186

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по предварительной патентной заявке США номер 62/279480, поданной 03 ноября 2015 г.

Область техники

Настоящее изобретение относится к искусственным костным имплантатам. В частности, настоящее изобретение относится к обработке искусственных костных имплантатов перед их помещением в тело пациента.

Уровень техники

Иногда возникает потребность в обработке искусственных костных имплантатов, например зубных имплантатов и заменителей кости, препаратами и субстанциями различных видов для улучшения восстановления ткани, в которую внедряют искусственный костный имплантат. Особый интерес представляет обработка искусственных костных имплантатов препаратами, которые ускоряют их остеоинтеграцию.

Искусственные костные имплантаты выполнены из биологически совместимых материалов. Например, зубные имплантаты выполнены из титана. Одним из процессов, обеспечивающих правильное помещение искусственного костного имплантата в костную ткань, является остеоинтеграция, известная также как оссеоинтеграция. Остеоинтеграция заключается в прямом структурном и функциональном соединении между живой костью и поверхностью искусственного костного имплантата. Другими словами, остеоинтеграция может быть определена как формирование прямого сопряжения между искусственным костным имплантатом и костью без вмешательства в мягкие ткани. Этого достигают посредством структурной связи, образованной в месте контакта между костью и поверхностью искусственного костного имплантата.

Остеоинтегрированные имплантаты использовали для лечения адентии, а также для восстановления головы и шеи для облегчения удержания ушно-нижнечелюстного, верхнечелюстного, носового и глазного имплантатов и закрепляемых на кости слуховых аппаратов.

В частности, что касается зубных имплантатов, остеоинтеграция является основным необходимым условием для обеспечения стабильности установленного зубного имплантата. Аналогично травматическим повреждениям костных тканей, сверление полости имплантата сводится к различным фазам, содержащим ряд сложных физиологических механизмов, схожих с заживлением прямого перелома. Сначала происходит полимеризация фибрина и образование сгустка крови благодаря механизмам клеточного и плазматического гемостазов. Сгусток крови выполняет функцию внеклеточной матрицы, поддерживающей захват формирующих костную ткань клеток и формирование новых кровеносных сосудов. В дальнейшем остеогенные клетки создают новую костную ткань в пределах высверленного отверстия на поверхности установленного имплантата. Остеобласты перемещаются на поверхность полости имплантата, дифференцируются и вдобавок приводят к формированию новой костной ткани сопозиционным образом. Величина формирования новой костной ткани у поверхности раздела имплантата и высверленного отверстия в значительной степени определяет стабильность установленных зубных имплантатов. По истечению 3-6 месячной фазы реконструкции поверхность зубного имплантата оказывается покрытой на 60-70% вновь образованной костью, что полностью отражает степень остеоинтеграции.

Следует учитывать, что ускорение процесса остеоинтеграции искусственных костных имплантатов является важным, например, для сокращения периода восстановления после помещения искусственного костного имплантата в костную ткань. Чрезвычайно важно ускорить остеоинтеграцию зубных имплантатов, поскольку вслед за помещением зубного имплантата необходимо осуществить дальнейшие этапы, такие как прикрепление зубного протеза, например зуба, моста или набора искусственных зубов, к имплантату или установка опорного зуба, который будет удерживать зубной протез. Однако, переход к этим дальнейшим этапам зависит от заживления ткани, окружающей имплантат. Ускоренная остеоинтеграция зубного имплантата сокращает время заживления ткани после помещения в нее зубного имплантата и ускоряет весь процесс имплантации зубов.

Один из способов ускорения остеоинтеграции искусственного костного имплантата, например зубного имплантата, заключается в покрытии поверхности искусственного костного имплантата субстанциями или препаратами, которые улучшают остеоинтеграцию, например факторами роста. Кроме того, обработка искусственного костного имплантата дополнительными видами материалов или препаратов имеет определенные преимущества. Примерами таких дополнительных видов материалов или препаратов являются, помимо прочего, материалы или препараты, которые влияют на заживление окружающей имплантат ткани, сокращают время ее заживления после имплантации и улучшают состояние пациента, которому была проведена имплантация, например антибиотическими веществами, болеутоляющими средствами и т.п.

Известные устройства и способы для предварительной обработки искусственных костных имплантатов являются трудоемкими и требуют много времени.

Следовательно, существует необходимость в создании устройства и способов для простой и быстрой предварительной обработки искусственного костного имплантата, например зубного имплантата и заменителя кости, перед помещением искусственного костного имплантата в целевую костную ткань.

Сущность изобретения

Если не указано иное, все технические и научные термины, использованные в настоящей заявке, имеют одинаковое значение, что обычно понятно специалисту из уровня техники, к которому это изобретение относится. Несмотря на то, что при практическом применении и в испытаниях настоящего изобретения могут быть использованы способы и материалы, схожие с теми, что описаны в настоящей заявке, или аналогичные им, далее описаны подходящие способы и материалы. В случае расхождения, следует руководствоваться настоящим документом, включая определения. Кроме того, материалы, способы и примеры являются всего лишь иллюстративными и не являются ограничивающими.

В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения предложено устройство для обработки искусственного костного имплантата кровью, содержащее емкость, выполненную с возможностью размещения в ней искусственного костного имплантата и возможностью ее наполнения кровью и имеющую отверстие; и крышку, выполненную с возможностью закрытия отверстия емкости.

В соответствии с одним вариантом реализации устройство выполнено с возможностью его центрифугирования.

В соответствии с другим вариантом реализации емкость и крышка выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости по сравнению с давлением окружающей среды.

В соответствии еще с одним вариантом реализации крышка выполнена с возможностью прикрепления к искусственному костному имплантату таким образом, что она удерживает искусственный костный имплантат.

В соответствии ещё с одним вариантом реализации искусственный костный имплантат представляет собой зубной имплантат.

В соответствии еще с одним вариантом реализации емкость дополнительно содержит разделитель, разделяющий емкость на верхнюю и нижнюю части и имеющий отверстия, обеспечивающие возможность контакта крови из верхней части с кровью из нижней части.

В соответствии с дополнительным вариантом реализации искусственный костный имплантат представляет собой костный материал.

В соответствии ещё с одним дополнительным вариантом реализации разделитель выполнен с возможностью удержания костного материала в верхней части емкости.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предложен способ покрытия искусственного костного имплантата ускорителями остеоинтеграции, согласно которому осуществляют забор крови у пациента; перемещают кровь в устройство для обработки искусственного костного имплантата кровью, содержащее емкость, выполненную с возможностью размещения в ней искусственного костного имплантата и возможностью ее наполнения кровью и имеющую отверстие, и крышку, выполненную с возможностью закрытия отверстия емкости, при этом емкость содержит искусственный костный имплантат; центрифугируют указанное устройство и удаляют имплантат из указанного устройства.

В соответствии с одним вариантом реализации емкость и крышка выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости по сравнению с давлением окружающей среды, при этом кровь перемещают в емкость благодаря отрицательному давлению воздуха в емкости.

В соответствии с другим вариантом реализации после забора крови у пациента ее центрифугируют, а плазму, отделенную от центрифугированной крови, перемещают в устройство, при этом вместо центрифугирования устройства обеспечивают возможность коагуляции плазмы.

В соответствии еще с одним вариантом реализации обеспечивают возможность коагуляции плазмы ускоренными темпами.

В соответствии ещё с одним вариантом реализации коагуляцию крови или плазмы ускоряют путем встряхивания, обработки ультразвуком или посредством их сочетания.

Краткое описание чертежей

Варианты реализации описаны в настоящей заявке исключительно для примера со ссылкой на сопутствующие чертежи. Со ссылкой на чертежи следует подчеркнуть, что показанные частные случаи приведены в качестве примера для иллюстративного описания предпочтительных вариантов реализации и представлены для обеспечения наиболее полезного и понятного описания принципов и концептуальных аспектов вариантов реализации. В связи с этим не предполагалось показывать конструктивные особенности подробнее, чем это необходимо для полного понимания, при этом описание вместе с чертежами, делающими очевидным для специалистов в данной области техники то, как некоторые формы могут быть реализованы на практике.

На чертежах показано следующее:

на фиг. 1А-В показан вид сбоку и перспективный вид иллюстративного варианта реализации устройства для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью;

на фиг. 2 схематично показан иллюстративный вариант реализации системы для забора цельной крови из вены, в частности напрямую из вены пациента, в устройство, содержащее искусственный костный имплантат;

на фиг. 3 схематично показан иллюстративный вариант реализации способа покрытия искусственного костного имплантата ускорителями остеоинтеграции перед имплантацией искусственного костного

имплантата в целевую костную ткань с использованием устройства согласно настоящему изобретению;

на фиг. 4А показан образец цельной крови после центрифугирования в испытательной трубке при отсутствии антикоагулянта;

на фиг. 4В показан свернувшийся слой аутологичных концентрированных факторов роста, отделенный от остальной центрифугированной цельной крови;

на фиг. 4С показан свернувшийся слой аутологичных концентрированных факторов роста, уложенный на сетку;

на фиг. 5А схематично показано устройство, содержащее емкость, закрытую крышкой, к которой прикреплен искусственный костный имплантат, в случае, когда емкость заполнена цельной кровью, а на фиг. 6А показана фотография такого устройства;

на фиг. 5В схематично показано устройство, содержащее емкость, закрытую крышкой, к которой прикреплен искусственный костный имплантат, в случае, когда емкость заполнена цельной кровью после центрифугирования, а на фиг. 6В показана фотография такого устройства;

на фиг. 5С схематично показан искусственный костный имплантат, прикрепленный к крышке устройства после отделения крышки и искусственного костного имплантата от емкости, после центрифугирования цельной кровью, а на фиг. 6С показана фотография такого имплантата;

на фиг. 7 показана растрово-электронная микрофотография покрывающего слоя, покрывающего искусственный костный имплантат, показанный на фиг. 6С, после центрифугирования цельной кровью;

на фиг. 8 показана фотография другого варианта реализации искусственного костного имплантата, покрытого аутологичными концентрированными факторами роста после центрифугирования цельной кровью;

на фиг. 9 показаны графики зависимости совокупного выпуска факторов роста от покрытых имплантатов от времени;

на фиг. 10А-Д показаны изображения растрово-электронной микрофотографии покрытых аутологичными концентрированными факторами роста зубных имплантатов, искусственно выращенных с использованием мезенхимальных стволовых клеток. На фиг. 10А показан зубной имплантат. На фиг. 10В показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат. На фиг. 10С показан засеянный мезенхимальными стволовыми клетками зубной имплантат. На фиг. 10Д показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат, выращенный с использованием мезенхимальных стволовых клеток;

на фиг. 11А-Д показаны изображения растрово-электронной микрофотографии поверхностей обрабатываемого имплантата. На фиг. 11А показана поверхность зубного имплантата. На фиг. 11В показана поверхность покрытого аутологичными концентрированными факторами роста зубного имплантата. Стрелка указывает на тромбоцит. На фиг. 11С показана поверхность засеянного мезенхимальными стволовыми клетками зубного имплантата. Стрелка указывает на посеянную клетку. На фиг. 11Д показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат, выращенный с использованием мезенхимальных стволовых клеток;

фиг. 12 представляет собой график, показывающий число мезенхимальных стволовых клеток, растущих на поверхностях в течение двух дней;

на фиг. 13А-С схематично показан другой иллюстративный вариант реализации устройства, выполненного с возможностью покрытия зубного имплантата;

на фиг. 14А-В показана камера Бойдена для оценки влияния покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов на скорость перемещения и роста мезенхимальных стволовых клеток;

на фиг. 15 схематично показан другой иллюстративный вариант реализации устройства, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала, например из заменителя кости;

на фиг. 16 схематично показан в разобранном виде иллюстративный вариант реализации устройства, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала;

на фиг. 17 схематично показан в собранном виде иллюстративный вариант реализации устройства, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала;

на фиг. 18 схематично показан иллюстративный вариант реализации системы для забора цельной крови из вены, в частности напрямую из вены пациента, в устройство, выполненное с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала;

на фиг. 19А-І показана растрово-электронная микрофотография костной шпатлевки 700, полученной с использованием устройства 1, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала.

Осуществление изобретения

Перед подробным пояснением по меньшей мере одного варианта реализации следует понять, что область применения настоящего изобретения не ограничена конструктивными особенностями и компоновкой компонентов, изложенными в нижеследующем описании или показанными на чертежах. Настоящее изобретение может иметь и другие варианты изобретения или может быть использовано на практике

или выполнено различными способами. Кроме того, следует понимать, что формулировки и терминология, использованные в настоящей заявке, служат для целей описания, при этом их не следует рассматривать в качестве ограничения. В приведенном ниже описании различных чертежей одинаковые части обозначены одинаковыми ссылочными номерами. Чертежи в целом выполнены без соблюдения масштаба.

Для ясности на некоторых чертежах были опущены несущественные элементы.

Термин "искусственный костный имплантат" согласно настоящей заявке относится к известным искусственным костным имплантатам любого вида. Иллюстративные искусственные костные имплантаты содержат, помимо прочего, искусственный костный имплантат, выполненный из биологически совместимого материала, например из титана, который используют в различных процедурах, например искусственный зубной имплантат. Другие примеры содержат, помимо прочего, заменители кости в любой известной форме, такой как порошок, гранулы и т.п.

Один из известных способов ускорения остеоинтеграции искусственного костного имплантата заключается в его покрытии цельной кровью перед расположением этого искусственного костного имплантата в целевой костной ткани. Цельная кровь содержит компоненты, называемые в настоящей заявке "ускорителями остеоинтеграции", которые ускоряют остеоинтеграцию, например прогениторные клетки, факторы роста, которые содержатся в плазме крови, и т.п.

Образец крови, используемый для обработки искусственного костного имплантата, предпочтительно представляет собой аутологичный образец крови, а именно образец цельной крови, забранной у того пациента, которому подлежит имплантировать искусственный костный имплантат.

Следует отметить, что термин "пациент" согласно настоящей заявке относится к любому организму, которому имплантируют искусственный костный имплантат, а именно к любому животному пациенту, включая человека.

Текущая практика заключается в погружении искусственного костного имплантата в образец цельной крови, предпочтительно в аутологичный образец цельной крови, непосредственно перед помещением искусственного костного имплантата в целевую костную ткань. Во время погружения цельную кровь, содержащую ускорители остеоинтеграции, прилепляют к искусственному костному имплантату. Затем искусственный костный имплантат отделяют от оставшегося образца цельной крови и помещают в целевую костную ткань. Однако необходимо учитывать, что этот способ является обременительным, беспорядочным, длительным, в результате которого искусственный костный имплантат, покрытый цельной кровью, может быть подвергнут негативному воздействию нестерильных условий, что может повысить вероятность заражения искусственного костного имплантата, например, патогенными вирусами и бактериями, которые могут вызвать локальное инфицирование ткани, окружающей место имплантации, и даже соматическую инфекцию, опасную для жизни.

Настоящее изобретение обеспечивает устройство для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью простым, быстрым и легкорезализуемым способом.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает устройство для биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью простым, быстрым и легкорезализуемым способом.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает устройство для биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью для ускорения остеоинтеграции искусственного костного имплантата простым, быстрым и легкорезализуемым способом.

В частности, настоящее изобретение обеспечивает устройство для биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью для улучшения остеобластического перемещения, адгезии, пролиферации и дифференциации, представляющих собой основу для улучшенной остеоинтеграции, а также для сокращения периода восстановления места имплантации.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способы обработки искусственного костного имплантата цельной кровью с использованием описанного в настоящей заявке устройства.

Настоящее изобретение, кроме того, дополнительно обеспечивает способы биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью с использованием описанного в настоящей заявке устройства.

Настоящее изобретение также дополнительно обеспечивает способы биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью для ускорения остеоинтеграции искусственного костного имплантата с использованием описанного в настоящей заявке устройства.

В частности, настоящее изобретение обеспечивает способы биологической активации поверхности искусственного костного имплантата цельной кровью для улучшения остеобластического перемещения, адгезии, пролиферации и дифференциации, представляющих собой основу для улучшенной остеоинтеграции, а также для сокращения периода восстановления места имплантации.

Необходимо отметить то, что исключительно ради простоты далее в настоящей заявке термин "цельная кровь" иногда будет обозначен коротким термином "кровь".

На фиг. 1А-В показан вид сбоку и перспективный вид иллюстративного устройства 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации устройство 1 выполнено таким образом, что оно обеспечивает возможность покрытия искус-

ственного костного имплантата ускорителями остеоинтеграции, которые присутствуют в цельной крови. В соответствии с одним вариантом реализации устройство 1 содержит емкость 10, имеющую отверстие 15 (не показано) и содержащую крышку 20, выполненную с возможностью закрытия отверстия 15 емкости 10. Емкость 10 выполнена с возможностью размещения в ней любого известного искусственного костного имплантата 30, имеющего любой размер и конструкцию. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации искусственный костный имплантат 30 выполнен из биологически совместимого материала, например, из титана. Исключительно с целью упрощения далее в настоящей заявке искусственный костный имплантат 30 иногда обозначают "имплантатом 30". На фиг. 1 дополнительно показан иллюстративный имплантат 30 в виде зубного имплантата 30, который размещен в емкости 10. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации крышка 20 выполнена с возможностью прикрепления к имплантату 30 таким образом, чтобы имплантат 30 был удержан крышкой 20. В соответствии с одним вариантом реализации высота емкости 10 равна длине имплантата 30. В соответствии с другим вариантом реализации высота емкости 10 превышает длину имплантата 30, как показано на фиг. 1А-В. В соответствии еще с одним вариантом реализации емкость 10 выполнена с возможностью его наполнения цельной кровью таким образом, что обеспечивается возможность погружения имплантата 30 в цельную кровь при прикреплении имплантата 30 к крышке 20 и при закрытии емкости 10 крышкой 20.

В соответствии с одним вариантом реализации цельную кровь перемещают в емкость 10 через отверстие 15, например, шприцом или пипеткой. Однако этот способ перемещения цельной крови в емкость 10 является утомительным, длительным и, что важнее, повышает вероятность подвержения образца цельной крови и искусственного костного имплантата 30 воздействию нестерильных условий. Для решения этой проблемы в соответствии с другим вариантом реализации цельную кровь перемещают в емкость 10 при сохранении герметичности емкости 10 посредством крышки 20. Это может быть достигнуто, например, путем поддержания отрицательного давления воздуха внутри емкости 10, и перемещения цельной крови в емкость 10 с использованием устройства, которое проникает во внутреннюю часть емкости 10, например, через крышку 20 или через нижнюю часть 17 емкости (см. фиг. 1А-В) или через любую часть емкости 10.

Следует отметить, что далее в настоящей заявке термин "отрицательное давление воздуха" иногда будет коротко обозначен термином "вакуум". Соответственно, компонент, например емкость 10, имеющая отрицательное давление воздуха, далее в настоящей заявке иногда будет называться "вакуумным" компонентом, например "вакуумной емкостью".

Таким образом, в соответствии еще с одним вариантом реализации емкость 10 и крышка 20 выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости 10 по сравнению с давлением окружающей среды. В соответствии еще с одним вариантом реализации крышка 20 выполнен таким образом, что она обеспечивает возможность проникновения иглоподобного устройства во внутреннюю часть емкости 10. В соответствии еще с одним вариантом реализации отрицательное давление воздуха в емкости 10 имеет значение, обеспечивающее возможность поступления цельной крови в емкость 10 в количестве, достаточном для покрытия искусственного костного имплантата 30, удерживаемого крышкой 20. Эти варианты реализации обеспечивают возможность перемещения цельной крови в емкость 10 для покрытия искусственного костного имплантата 30, удерживаемого внутри емкости 10 крышкой 20, без необходимости вскрытия крышки 20, что обеспечивает исключение подвержения цельной крови и искусственного костного имплантата 30 воздействию нестерильных условий.

В соответствии с одним вариантом реализации цельную кровь перемещают из источника цельной крови в герметичную емкость 10, имеющую внутри отрицательное давление воздуха.

Примеры источников цельной крови содержат шприц, содержащий цельную кровь, пакет для крови, вену пациента и т.п. Предпочтительным вариантом реализации источника цельной крови является вена пациента. В соответствии с другим предпочтительным вариантом реализации цельную кровь перемещают из вены того пациента, которому имплантируют искусственный костный имплантат 30, а именно образец цельной крови, используемый для обработки искусственного костного имплантата 30, представляет собой аутологичный образец крови.

В соответствии с одним вариантом реализации предложен способ покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань, согласно которому

обеспечивают устройство 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью, которое содержит емкость 10, имеющую отверстие 15, и крышку 20, выполненную с возможностью закрытия отверстия 15 и удержания искусственного костного имплантата 30;

прикрепляют искусственный костный имплантат 30 к крышке 20;

обеспечивают образец цельной крови;

заполняют емкость 10 от этим образцом цельной крови;

закрывают емкость 10 крышкой 20, удерживающей искусственный костный имплантат 30 таким образом, что по меньшей мере часть искусственного костного имплантата 30 оказывается погруженной в цельную кровь;

выдерживают искусственный костный имплантат 30 в цельной крови в течение периода времени,

обеспечивающего возможность покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеointеграции;

удаляют крышку 20 с покрытым ускорителями остеointеграции искусственным костным имплантатом 30 из емкости 10 и

открепляют покрытый ускорителями остеointеграции искусственный костный имплантат от крышки.

При использовании устройства 1, содержащего емкость 10 с отрицательным давлением воздуха внутри этой емкости, для покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеointеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань, применяют приведенные далее варианты реализации.

В соответствии с одним вариантом реализации обеспечивают способ хранения искусственного костного имплантата 30 в устройстве 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью в условиях отрицательного давления воздуха, согласно которому обеспечивают устройство 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью, содержащее емкость 10, имеющую отверстие 15, и крышку 20, выполненную с возможностью герметизации отверстия 15, при этом емкость 10 и крышка 20 выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости 10, а крышка 20 выполнена таким образом, что она обеспечивает возможность проникновения иглоподобного устройства во внутреннюю часть емкости 10, и выполнен с дополнительной возможностью удержания искусственного костного имплантата 30;

прикрепляют искусственный костный имплантат 30 к крышке 20;

герметизируют отверстие 15 емкости 10 посредством крышки 20, к которой прикреплен искусственный костный имплантат 30 таким образом, что искусственный костный имплантат 30 содержится в емкости 10 и

создают отрицательное давление воздуха в емкости 10.

Создание отрицательного давления воздуха в емкости 10 осуществляют любым способом, известным в уровне техники, например, путем удаления воздуха из емкости 10 с использованием иглоподобного устройства, которое проникает в крышку 20 при сохранении емкости 10 герметичной посредством крышки 20.

Способ хранения искусственного костного имплантата 30 в устройстве 1 в условиях отрицательного давления воздуха может быть осуществлен, например, во время производства устройств 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью, которые содержат искусственный костный имплантат 30, находящийся в условиях отрицательного давления воздуха. Такие устройства 1 готовы к использованию, что превращает процесс обработки искусственного костного имплантата 30 цельной кровью в быструю и простую процедуру с исключением подвержения искусственного костного имплантата 30 и цельной крови воздействию нестерильных условий.

Использование устройства 1, изготовленного вышеупомянутым способом, может быть реализовано в соответствии с приведенными далее иллюстративными вариантами реализации.

В соответствии с одним вариантом реализации обеспечивают способ покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеointеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань, согласно которому

обеспечивают устройство 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью, которое содержит емкость 10, герметизированную крышкой 20, и искусственный костный имплантат 30, прикрепленный к крышке 20 в условиях отрицательного давления воздуха;

вставляют во внутреннюю часть емкости 10 иглоподобное устройство, соединенное посредством текучей среды с источником цельной крови;

обеспечивают возможность заполнения цельной кровью внутренней части емкости 10 и покрытия ею по меньшей мере части искусственного костного имплантата;

выдерживают искусственный костный имплантат 30 в цельной крови в течение периода времени, обеспечивающего возможность покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеointеграции;

удаляют крышку 20 с покрытым ускорителями остеointеграции искусственным костным имплантатом 30 из емкости 10 и

открепляют покрытый ускорителями остеointеграции искусственный костный имплантат от крышки.

В соответствии с одним вариантом реализации источник цельной крови содержит образец аутологичной цельной крови.

В соответствии с другим вариантом реализации источник цельной крови представляет собой шприц, содержащий цельную кровь.

В соответствии еще с одним вариантом реализации источник цельной крови представляет собой пакет для крови, содержащий цельную кровь.

В соответствии с предпочтительным вариантом реализации источник цельной крови представляет собой вену пациента.

В случае, когда источник цельной крови представляет собой вену пациента, предпочтительно вену того пациента, которому имплантируют искусственный костный имплантат 30, иглоподобное устройство, введенное в вену пациента, соединено трубкой посредством текучей среды с иглоподобным устройством, вставленным во внутреннюю часть емкости 10 через крышку 20. За счет отрицательного давления воздуха внутри емкости 10 забор цельной крови из вены пациента в емкость 10 осуществляют через трубку.

На фиг. 2 схематично показан иллюстративный вариант реализации системы для забора цельной крови из вены, в частности напрямую из вены пациента, в устройство 1, содержащее искусственный костный имплантат 30. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации цельную кровь забирают из вены пациента, например, из вены на руке 50 пациента путем ее прокалывания известным в уровне техники способом с использованием, например, иглы 52 для подкожных инъекций, выполненной с возможностью ее введения в вену и прикрепленной посредством текучей среды к корпусу 54, выполненному с возможностью приема цельной крови. Корпус снабжен заглушкой 56, выполненной с возможностью закупоривания корпуса и обеспечения введения трубки 58 корпуса 54. Трубка 58 содержит первый конец, выполненный с возможностью его вставки в корпус 54 через заглушку 56, и второй конец, выполненный с возможностью проникновения в емкость 10 устройства. Этого достигают, например, посредством второй иглы 60, прикрепленной ко второму концу трубки 58. Вторая игла 60 выполнена с возможностью проникновения в емкость 10 устройства 1, а устройство 1 выполнено таким образом, что оно обеспечивает возможность проникновения второй иглы 60 через него. Этого достигают, например, путем использования емкости, содержащей, например, резиновую мембрану 66 у ее основания, а именно, на стороне емкости 10, являющейся противоположной по отношению к крышке 20, к которой прикреплен искусственный костный имплантат 30. Резиновая мембрана 66 выполнена таким образом, что она обеспечивает возможность проникновения второй иглы 60 во внутреннюю часть емкости 10. Таким образом, при введении иглы 52 для подкожных инъекций в вену пациента, проникновении первого конца трубки 58 в корпус 54, соединенный посредством текучей среды с иглой 52 для подкожных инъекций, и проникновении второй иглы 60, прикрепленной ко второму концу трубки 58, во внутреннюю часть емкости 10 обеспечивают прямой путь, через который осуществляют забор цельной крови из вены пациента напрямую в емкость 10, содержащую искусственный костный имплантат 30. Отрицательное давление воздуха в емкости 10 помогает в осуществлении забора крови из вены пациента напрямую в емкость 10.

Одно преимущество этого варианта реализации заключается в том, что он исключает подвержение цельной крови и искусственного костного имплантата воздействию нестерильных условий, с одной стороны, и обеспечивает возможность покрытия искусственного костного имплантата цельной кровью простым, быстрым и легко реализуемым способом, с другой стороны.

Во время проведения испытаний вышеупомянутого способа покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань было неожиданно выявлено, что использование образца цельной крови, лишенного антикоагулянта, более предпочтительно по сравнению с использованием образца цельной крови, содержащего антикоагулянты, например гепарин, цитрат и т.п. Было выявлено, что свертывание крови поверх искусственного костного имплантата 30 приводит к более эффективному покрытию искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции.

Таким образом, в соответствии с другим предпочтительным вариантом реализации, относящимся к способу покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции перед его имплантацией в целевую костную ткань, образец цельной крови лишен антикоагулянтов.

Во время эксперимента было дополнительно выявлено, что центрифугирование устройства 1 для обработки искусственного костного имплантата 30 цельной кровью при нахождении в емкости искусственного костного имплантата 30, покрытого цельной кровью, лишенной антикоагулянта, приводит к образованию очень эффективного покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции.

Таким образом, в соответствии с дополнительным вариантом реализации устройство 1 для обработки искусственного костного имплантата цельной кровью выполнено с возможностью его центрифугирования при нахождении в нем искусственного костного имплантата, покрытого цельной кровью.

В соответствии еще с одним дополнительным вариантом реализации, относящимся к способу покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань, выдерживание заключается в центрифугировании устройства 1 в течение периода времени, обеспечивающего возможность покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции.

В соответствии еще с одним дополнительным вариантом реализации центрифугирование находится в диапазоне по существу 2,500-3,500 г и длится в течение по существу 7-10 мин.

На фиг. 3 схематично показан иллюстративный вариант реализации способа покрытия искусственного костного имплантата 30 ускорителями остеоинтеграции перед имплантацией искусственного костного имплантата 30 в целевую костную ткань, с использованием устройства 1 согласно настоящему изобретению.

бретению, согласно которому

осуществляют забор крови у пациента (112), предпочтительно из вены в теле того пациента, которому будет имплантирован искусственный костный имплантат 30;

перемещают кровь в устройство 1, содержащее имплантат (114), которое предпочтительно содержит вакуумную емкость, содержащую имплантат, при этом кровь предпочтительно перемещают в эту вакуумную емкость для покрытия имплантата;

центрифугируют устройство 1 (116): в соответствии с предпочтительным вариантом реализации емкость центрифугируют в диапазоне по существу 2,500-3,000 г в течение по существу 7-10 мин и

удаляют имплантат из устройства.

На фиг. 4А показан образец цельной крови после центрифугирования в испытательной трубке при отсутствии антикоагулянта. В течение центрифугирования цельную кровь разделяют на три основных слоя: верхний слой плазмы, также известный как обедненная тромбоцитами плазма, нижний слой красных кровяных клеток и твердый средний слой, обозначенный в настоящей заявке слоем концентрированных факторов роста. Твердый слой аутологичных концентрированных факторов роста содержит три части:

верхнюю белую часть, содержащую белые кровяные клетки и тромбоциты, нижнюю красную часть и среднюю часть "лейкоцитной пленки". Поскольку цельную кровь центрифугировали при отсутствии антикоагулянта, слой аутологичных концентрированных факторов роста свертывается.

На фиг. 4В показан свернувшийся слой аутологичных концентрированных факторов роста, отделенный от остальной центрифугированной цельной крови.

На фиг. 4С показан свернувшийся слой аутологичных концентрированных факторов роста, уложенный на сетку.

Биоматериал для покрытия зубных имплантатов состоит в основном из аутологичных концентрированных факторов роста. Его изготавливают из цельной венозной крови, собранной в стерильные пробирки без антикоагулянта. После центрифугирования образуется плотный фибриновый сгусток или узел, богатый факторами роста. Фибриновый сгусток или узел образуется в результате высокой концентрации фибриногена, фактора XIII и тромбина. Фактор XIII, активируемый тромбином, связывает фибриноген к фибриновому сгустку, повышает прочность и устойчивость, а также защищает от плазмин опосредованной деградации. По существу, усиленная фибриновая матрица захватывает множество факторов роста, например тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста бета, сосудистые эндотелиальный фактор роста и эпидермальный фактор роста.

На фиг. 5А схематично показано устройство 1, содержащее емкость 10, закрытую крышкой 20, к которой прикреплен искусственный костный имплантат 30, когда емкость 10 заполнена цельной кровью 500, а на фиг. 6А показана фотография этого устройства.

На фиг. 5В схематично показано устройство 1, содержащее емкость 10, закрытую крышкой 20, к которой прикреплен искусственный костный имплантат 30, когда емкость 10 заполнена цельной кровью после центрифугирования, например, в диапазоне по существу 2,500-3,000 г по существу в течение 7-10 мин, а на фиг. 6В показана фотография такого устройства. В результате центрифугирования цельную кровь 500 разделяют на два основных слоя - нижний слой 510, содержащий красные кровяные клетки и тромбоциты, и верхний слой 520, содержащий плазму.

На фиг. 5С схематично показан искусственный костный имплантат 30, прикрепленный к крышке 20 устройства 1 после отделения крышки 20 и искусственного костного имплантата 30 от емкости 10 после центрифугирования цельной кровью 500, а на фиг. 6С показана фотография такого искусственного имплантата. Искусственный костный имплантат 30 покрыт некоторым верхним слоем 520, содержащим плазму.

Искусственный костный имплантат 30 удерживают посредством крышки 20 внутри емкости 10 таким образом, что после центрифугирования искусственный костный имплантат 30 контактирует с верхним слоем плазмы, средним слоем лейкоцитной пленки и некоторой верхней частью нижнего слоя красных кровяных клеток. Таким образом, центрифугирование отделяет искусственный костный имплантат от большинства красных кровяных клеток, но обеспечивает возможность прямого контакта искусственного костного имплантата в основном с плазмой и белыми кровяными клетками и тромбоцитами образца цельной крови.

В результате центрифугирования плазма и лейкоцитная пленка прилипают к поверхности искусственного костного имплантата. Таким образом, компоненты плазмы и лейкоцитной пленки прилипают к поверхности искусственного костного имплантата, содержащей ускорители остеointеграции, например факторы роста, содержащиеся в слое плазмы, и прогениторные клетки, содержащиеся в слое лейкоцитной пленки.

На фиг. 7 показана растрово-электронная микрофотография покрывающего слоя, покрывающего искусственный костный имплантат после центрифугирования цельной кровью, как показано на фиг. 6С. Покрывающий слой содержит фибриновую сетку (без заблокированных красных кровяных клеток за счет центрифугирования). Покрывающий слой на искусственном костном имплантате является хорошо сплетенным и характеризуется плотной текстурой фибрина с тонкими нитями с порами приблизительно

в 0,1 мкм.

На фиг. 8 показна фотография другого варианта реализации искусственного костного имплантата, покрытого аутологичными концентрированными факторами роста после центрифугирования цельной кровью. Можно легко увидеть фибриновый сгусток, покрывающий искусственный костный имплантат.

Для клинического обоснования использования покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов была оценена биологическая активность покрывающего слоя с использованием твердофазного иммуноферментного анализа. Скорость совокупного выпуска факторов роста из слоя покрытия аутологичных концентрированных факторов роста была исследована в лабораторных условиях путем выдерживания покрытых имплантатов в среде, и проведения количественного анализа факторов роста, выпущенных в эту среду. Были исследованы конкретные факторы роста, которые оказывают биологическое влияние на адгезию, пролиферацию и остеогенную дифференциацию клеток, представляющих собой основу для остеointеграции имплантата. Эти факторы роста выпускают в основном из тромбоцитов, которые заблокированы внутри фибриновой сетки. Образование фибринового сгустка начинается в течение центрифугирования, при котором тяжелые красные кровяные клетки оседают первыми и, следовательно, не оказываются заблокированными внутри фибриновой сетки, в то время как более легкие белые кровяные клетки и тромбоциты оседают последними одновременно с образованием фибринового сгустка и, следовательно, оказываются заблокированными в сетке. Эти богатые тромбоцитами концентраты внутри фибринового сгустка дифференциально выпускают факторы роста и влияют на дифференциацию клеток и их функции. Эти факторы роста содержат: тромбоцитарный фактор роста, который улучшает рост клеток, заживление и генерацию кровеносных сосудов и производство коллагена; сосудистый эндотелиальный фактор роста, который ускоряет рост и генерацию новых сосудистых клеток; альфа-фактор некроза опухоли, который вовлечен в соматическое воспаление; трансформирующий фактор роста бета-1, который ускоряет рост и регенерацию эпителиальных клеток, сосудистых клеток и заживление ран; и инсулиноподобный фактор роста 1, имеющий ключевое значение в заживлении и росте клеток. Динамика совокупного выпуска факторов роста от покрытых имплантатов показана на фиг. 9.

На фиг. 9 показаны графики зависимости совокупного выпуска факторов роста от покрытых имплантатов от времени. Покрытые имплантаты были выдержаны в среде при температуре 37°C в течение различных временных интервалов (5 часов, 1, 3, 6, 7 или 8 дней), и проведен количественный анализ факторов роста, выпущенных в среду. Проверка выпуска была проведена с использованием крови трех доноров, образец крови каждого из которых был выдержан вместе с имплантатом в отдельных вакуумных емкостях (v1, v2 и v3). Были представлены индивидуальные и усредненные результаты. На фиг. 9А показан выпуск тромбоцитарного фактора роста АВ в динамике по времени. На фиг. 9В показан выпуск сосудистого эндотелиального фактора роста в динамике по времени. На фиг. 9С показан выпуск альфа-фактора некроза опухоли в динамике по времени. На фиг. 9D показан выпуск трансформирующего фактора роста бета-1 в динамике по времени. На фиг. 9Е показан выпуск инсулиноподобного фактора роста 1 в динамике по времени.

Все испытанные факторы роста присутствовали в слое покрытия аутологичных концентрированных факторов роста и были выпущены с низкой скоростью. Выпуск тромбоцитарного фактора роста АВ и сосудистого эндотелиального фактора роста увеличился за восемь дней, а выпуск альфа-фактора некроза опухоли, трансформирующего фактора роста бета-1 и инсулиноподобного фактора роста 1, остался неизменным с течением времени. Во время будущих исследований будет измерен выпуск факторов роста в среду, которая содержит ингибиторы протеазы, отвечающие за ухудшение выпуска факторов роста. Выпуск факторов роста будут оценены в течение более длительного периода времени - вплоть до 20 дней.

Растрово-электронная микрофотография была применена для описания поверхности покрытых аутологичными концентрированными факторами роста зубных имплантатов, засеянных клетками. Мезенхимальные стволовые клетки, изолированные от костного мозга, были засеяны на покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатах с плотностью в 100 000 мезенхимальных стволовых клеток/мл на зубной имплантат, а затем выращены в течение двух дней. Это было выполнено для проверки влияния покрытия аутологичных концентрированных факторов роста на адгезию и рост клеток. Затем образцы были зафиксированы, и трехмерная структура покрытия имплантата, а также распределение клеток были показаны на фигурах (фиг. 10А-Д и 11А-Д).

На фиг. 10А-Д показаны изображения растрово-электронной микрофотографии покрытых аутологичными концентрированными факторами роста зубных имплантатов, выращенных с мезенхимальными стволовыми клетками. На фиг. 10А показан зубной имплантат. На фиг. 10В показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат. На фиг. 10С показан засеянный мезенхимальными стволовыми клетками зубной имплантат. На фиг. 10D показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат, выращенный с использованием мезенхимальных стволовых клеток.

На фиг. 11А-Д показаны изображения растрово-электронной микрофотографии поверхностей обрабатываемого имплантата. На фиг. 11А показана поверхность зубного имплантата. На фиг. 11В показана поверхность покрытого аутологичными концентрированными факторами роста зубного имплантата.

Стрелка указывает на тромбоцит. На фиг. 11С показана поверхность засеянного мезенхимальными стволовыми клетками зубного имплантата. Стрелка указывает на засеянные клетки. На фиг. 11D показан покрытый аутологичными концентрированными факторами роста зубной имплантат, выращенный с использованием мезенхимальных стволовых клеток. Стрелки указывают на засеянные клетки.

Непокрытая поверхность титанового имплантата (фиг. 11А) отличается от поверхности покрытого аутологичными концентрированными факторами роста имплантата, отображающей фибриновые нити (фиг. 11В). Клетки прикреплены к поверхности непокрытого имплантата (фиг. 11С), но они были исследованы по большей части на покрытых аутологичными концентрированными факторами роста поверхностях (фиг. 11D).

После демонстрации трехмерной структуры слоя покрытия аутологичных концентрированных факторов роста и скорости выпуска факторов роста была исследована биологическая активность покрытия аутологичных концентрированных факторов роста в отношении мезенхимальных стволовых клеток, полученных из костного мозга. Поскольку покрытие аутологичных концентрированных факторов роста содержит фибриновую матрицу и факторы роста, адгезия и пролиферация мезенхимальных стволовых клеток на слое были испытаны посредством анализа метаболической активности AlamarBlue. Мезенхимальные стволовые клетки были засеяны с плотностью в 100 000 мезенхимальных стволовых клеток/мл на зубной имплантат и было оценено число клеток, которые прилипли к поверхностям имплантата и разрослись в течение двух дней (фиг. 12).

На фиг. 12 показан график, показывающий число мезенхимальных стволовых клеток, растущих на поверхностях в течение двух дней. Покрытие аутологичных концентрированных факторов роста существенно улучшило адгезию и пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток по сравнению с контрольными образцами. Предполагают, что биосовместимость фибриновой матрицы и влияние заблокированных факторов на рост клеток улучшат остеогенную дифференциацию мезенхимальных стволовых клеток. Проводят исследование влияния покрытия аутологичных концентрированных факторов роста на остеогенные гены с использованием таких технологий, как флуоресцентный клеточный сканер и полимеразная цепная реакция в реальном времени.

На фиг. 13А-С схематично показан другой иллюстративный вариант реализации устройства 1, выполненного с возможностью покрытия зубного имплантата. На фиг. 13А показана вакуумная емкость, содержащая две трубки. Кровь перемещают во внутреннюю трубку, в которой размещен зубной имплантат. Трубка большего размера защищает внутреннюю трубку в течение центрифугирования. На фиг. 13В показана собранная вакуумная емкость, центрифугированная с силиконовой крышкой, направленной вниз. На фиг. 13С показана силиконовая крышка, из которой перемещают кровь.

На фиг. 13А-С показана вакуумная емкость, в которой зубной имплантат расположен таким образом, что покрытие поверхности корня появляется непосредственно после центрифугирования. Подходящее давление вакуума внутри вакуумной емкости устанавливают для удаления точного количества крови, необходимого для осуществления оптимального покрытия. Ускорение свертывания крови может быть достигнуто путем покрытия внутреннего просвета вакуумной емкости силиконом и тонкоизмельченным кремнеземом. По существу, кровь, забранная в вакуумную емкость, подвергают сложному каскаду свертывания с формированием длинных нитей фибрина вокруг имплантата, что в конечном итоге приводит к образованию гомогенной сетчатой текстуры. Взятые в совокупности параметры вакуума и центрифугирования (например, относительная центробежная сила, время, скорость, расположение емкости в центрифуге и т.п.) обеспечивают возможность осуществления процесса покрытия, который приводит к образованию слоя фибрина толщиной в 400-500 мкм, который задерживает биоактивные компоненты, например тромбоциты и белые кровяные клетки, но лишен красных кровяных клеток.

Для обеспечения эффективности процедуры и биоактивности покрытого имплантата, сконструированного с возможностью его имплантации сразу после покрытия, дополнительно описано покрытие аутологичных концентрированных факторов роста. Исследуют способность роста, пролиферацию, перемещение и дифференциацию мезенхимальных стволовых клеток, засеянных на слое покрытия аутологичных концентрированных факторов роста. Перемещение мезенхимальных стволовых клеток оценивают с использованием анализа в камере Бойдена.

На фиг. 14А-В показана камера Бойдена для оценки влияния покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов на скорость перемещения и роста мезенхимальных стволовых клеток. На фиг. 14А показано влияние факторов роста, выпущенных от покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов, на перемещение мезенхимальных стволовых клеток. На фиг. 14В показано влияние факторов роста, выпущенных от покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов, на скорость роста мезенхимальных стволовых клеток.

Клетки размещают во вставке для клеточных культур или в верхней камере, отделенной пористой мембраной от нижней камеры, которая содержит покрытый аутологичными концентрированными факторами роста имплантат. Клетки и имплантат погружают в одну бессывороточную среду. Затем обеспечивают возможность перемещения клеток из верхней камеры к поверхности оборотной стороны вставки через 4 ч в выдерживаемых условиях. Затем клетки на верхней поверхности мембраны вставки удаляют механическим способом, а перемещенные клетки на поверхность оборотной стороны вставки фиксируют.

ют, окрашивают и подсчитывают. Эта технология обеспечивает оценку доли мигрировавших мезенхимальных стволовых клеток относительно факторов роста, выпущенных от покрытого аутологичными концентрированными факторами роста имплантата. Влияние этих факторов на скорость роста мезенхимальных стволовых клеток в нижней камере при наличии покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов вместо их отсутствия в верхней камере также может быть оценено и сравнено в динамике по времени (фиг. 14В). Проявление остеогенных генов в мезенхимальных стволовых клетках, засеянных на слое покрытия аутологичных концентрированных факторов роста, определяют с использованием таких технологий, как флуоресцентный клеточный сканер и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Остеогенная способность мезенхимальных стволовых клеток, засеянных на слое покрытия аутологичных концентрированных факторов роста, испытывают в лабораторных условиях с использованием анализа активности щелочной фосфатазы и оценки минерализации клеток.

Мини имплантаты и стандартные имплантаты с подходящими емкостями для покрытия аутологичных концентрированных факторов роста используют для обоснования концептуальных исследований по проверке ускорения остеоинтеграции после размещения покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов в костной ткани голени крыс. Имплантаты стандартного размера испытывают на людях вместе с подходящими емкостями для покрытия аутологичных концентрированных факторов роста. Эти покрытые имплантаты размещают в костной ткани нижней челюсти собаки для установления клинического протокола для человеческих пациентов.

После проведения исследований в лабораторных условиях, описывающих дифференциацию мезенхимальных стволовых клеток при наличии покрытия аутологичных концентрированных факторов роста, проводят исследование осуществимости, при котором покрытые аутологичными концентрированными факторами роста имплантаты трансплантируют в голень крысы для испытания скорости их остеоинтеграции внутри костной ткани. "Голым" крысам Уистера делают анестезию и выполняют разрез на передне-проксимальной поверхности их правой голени. Особое внимание уделяется защите периостальной поверхности. Отверстия высверливают через один кортикальный слой с использованием сверла диаметром в 1 мм, и размещают имплантаты. На кожу вокруг имплантата накладывают нерассасывающиеся швы и снимают болевые ощущения. Испытание проводят на двух группах животных и сравнивают результаты, т.е. сравнивают животных, которым имплантировали покрытые аутологичными концентрированными факторами роста имплантаты, с животными, которым имплантировали непокрытые имплантаты. Процедуру покрытия аутологичными концентрированными факторами роста выполняют с использованием человеческой крови. Остеоинтеграцию имплантата оценивают в различные моменты времени (например, через 2, 4, 6 и 10 недель после установки имплантатов). Для исследования требуется всего 40 крыс. В конце эксперимента крысам делают анестезию; кость голени, в которую установлены имплантаты, удаляют, фиксируют в формалине и покрывают парафином для гистологического анализа или анализируют посредством микро рентгеновских компьютерных томографов, используемых для исследований типа "ex vivo", для осуществления оценки образования костной ткани или остеоинтеграции имплантата. Крыс усыпляют путем внутрисердечного введения соли пентобарбитал натрия.

Остеоинтеграцию покрытых аутологичными концентрированными факторами роста имплантатов оценивают в экспериментальной модели на собаках. Двум группам собак, состоящих каждая из четырех кабелей породы бигль приблизительно двухлетнего возраста и весящих 15-18 кг, провели радиографический скрининг перед удалением зуба для исключения любой патологии. Два мандибулярных имплантата были имплантированы каждой собаке: одна группа получила покрытые аутологичными концентрированными факторами роста имплантаты, а вторая группа получила ничем не покрытые имплантаты. Покрытие имплантата аутологичными концентрированными факторами роста выполняют аутологичной кровью, собранной у тех же собак, которым проводят имплантацию. Собакам проводят операцию под анестезией галотановым газом. Во время операции отслеживают сердечный ритм, температуру и частоту дыхания. Процедуру удаления зуба у собак оценивают радиографически. Венозную кровь собак используют для покрытия имплантата. Остеоинтеграция и заживление костной ткани вокруг имплантатов оценивают радиографически через 1, 3, 6 месяцев после проведения имплантации. По истечении 6 месяцев имплантаты оценивают также гистологически. Гистоморфометрический анализ проводят для определения протяженности контакта с костью вдоль имплантата в процентном отношении.

На фиг. 15 схематично показан другой иллюстративный вариант реализации устройства 1, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала, например костного заменителя. Костный материал 600 в форме порошка, осколков и т.п. размещают внутри вакуумной емкости 10. Емкость 10 снабжена неподвижным разделителем 40, который разделяет емкость 10 на две части: нижнюю и верхнюю. Разделитель 40 снабжен отверстиями, такими что при заполнении емкости 10 цельной кровью 500, кровь 500 из нижней части емкости 10 находится в полном контакте с кровью 500 из верхней части емкости 10. Костный материал 600 находится в верхней части емкости 10 сверху разделителя 40. После замены вакуума в емкости 10 кровью 500 пациента, емкость 10 центрифугируют в тех же условиях, что описаны ранее в настоящей заявке. В результате центрифугирования кровь 500 разделяют на нижнюю фазу 510, содержащую красные кровяные клетки и тромбоциты, сконцентрированную в основном в нижней части емкости 10, под разделителем 40, и верхнюю фазу 520, содержащую плазму в

верхней части емкости 10, над разделителем 40. Кроме того, плазма содержит ускорители остеоинтеграции, которые прилипают к костному материалу 600 с образованием костной шпатлевки 700, готовой к использованию.

На фиг. 16 схематично показано разобранное иллюстративное устройство 1, выполненное с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала. Показаны емкость 10, иллюстративные компоненты крышки 20 и разделитель 40.

На фиг. 17 схематично показано собранное иллюстративное устройство 1, выполненное с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала. Показаны емкость 10, иллюстративные компоненты крышки 20 и разделитель 40.

На фиг. 18 схематично показана иллюстративная система забора цельной крови из вены, в частности, забранной напрямую из вены пациента в устройство 1, выполненное с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала.

Компоненты системы описаны на фиг. 2, а устройство 1, выполненное с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала, описано на фиг. 15.

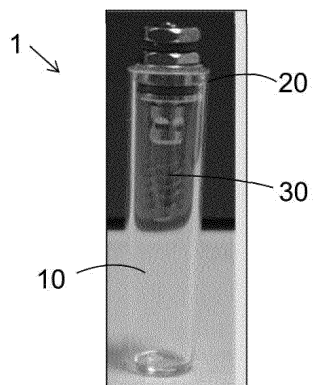
На фиг. 19А-І показана растрово-электронная микрофотография костной шпатлевки 700, изготовленной путем использования устройства 1, выполненного с возможностью формирования костной шпатлевки из костного материала.

Необходимо учитывать, что конкретные существенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, могут быть также обеспечены в сочетании в отдельном варианте реализации. С другой стороны, различные существенные признаки изобретения, которые для краткости были описаны в контексте отдельного варианта реализации, могут быть также обеспечены отдельно или в любой подходящей субкомбинации.

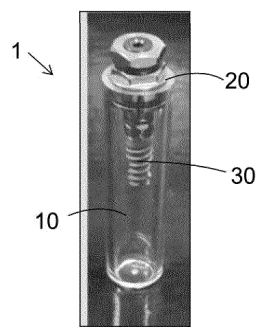
Несмотря на то, что изобретение было описано вместе с конкретными вариантами его реализации, понятно, что многие альтернативы, модификации и вариации будут очевидны для специалистов в данной области техники. Соответственно, предполагается, что все такие альтернативы, модификации и вариации находятся в пределах сущности и объема настоящего изобретения, охарактеризованного в прилагаемой формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

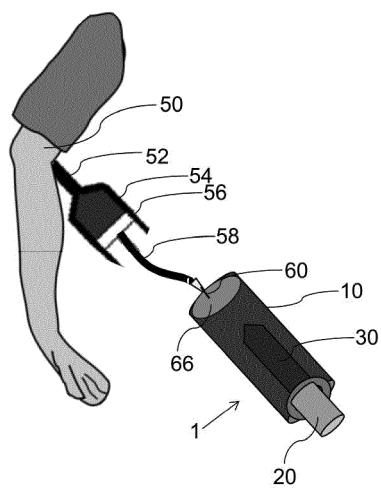
1. Устройство для обработки искусственного костного имплантата кровью, содержащее емкость, выполненную с возможностью размещения в ней искусственного костного имплантата и возможностью ее наполнения кровью и имеющую отверстие; и крышку, выполненную с возможностью закрытия отверстия емкости, причем устройство выполнено с возможностью центрифугирования с искусственным костным имплантатом внутри него.
2. Устройство по п.1, в котором емкость и крышка выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости по сравнению с давлением окружающей среды.
3. Устройство по любому из пп.1, 2, в котором крышка выполнена с возможностью прикрепления к искусственному костному имплантату таким образом, что искусственный костный имплантат удерживается крышкой.
4. Устройство по любому из пп.1-3, в котором искусственный костный имплантат представляет собой зубной имплантат.
5. Устройство по любому из пп.1, 2, в котором емкость дополнительно содержит разделитель, разделяющий емкость на верхнюю часть и нижнюю часть, причём разделитель имеет отверстия, обеспечивающие контакт крови в верхней части с кровью в нижней части.
6. Устройство по п.5, в котором искусственный костный имплантат представляет собой костный материал.
7. Устройство по п.6, в котором разделитель выполнен с возможностью удержания костного материала в верхней части емкости.
8. Способ покрытия искусственного костного имплантата ускорителями остеоинтеграции, согласно которому осуществляют загрузку указанного имплантата в устройство по пп.1-7, осуществляют забор крови у пациента; перемещают кровь в указанное устройство по пп.1-7; центрифугируют указанное устройство и удаляют имплантат из указанного устройства.
9. Способ по п.8, согласно которому емкость и крышка выполнены с возможностью сохранения отрицательного давления воздуха в емкости по сравнению с давлением воздуха окружающей среды, при этом кровь перемещают в емкость благодаря отрицательному давлению воздуха в емкости.



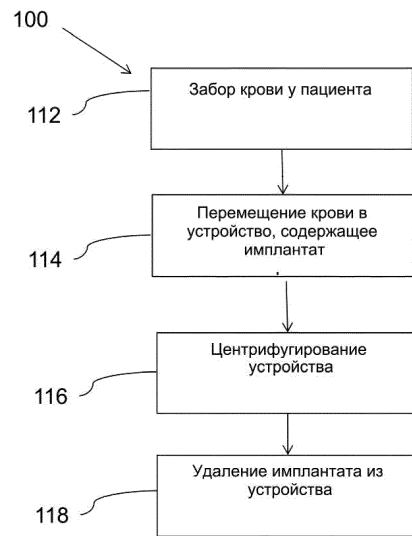
Фиг. 1А



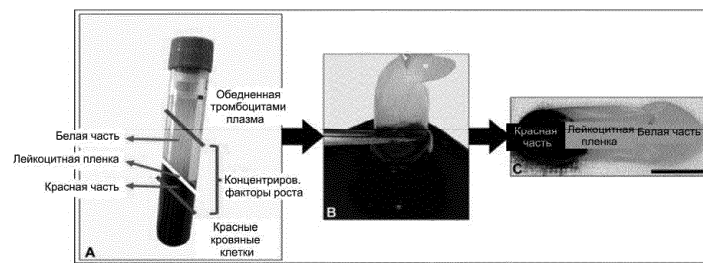
Фиг. 1В



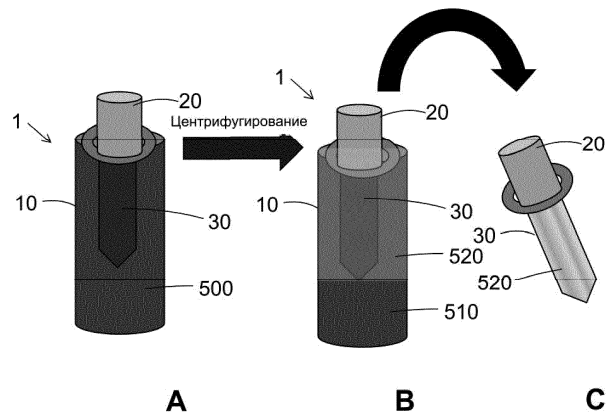
Фиг. 2



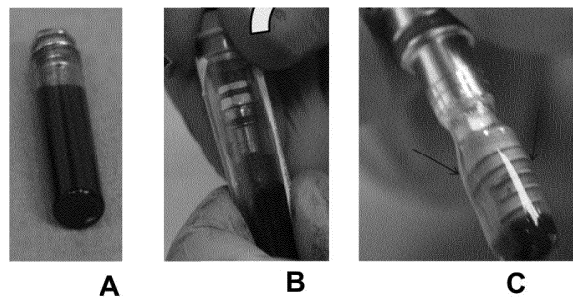
Фиг. 3



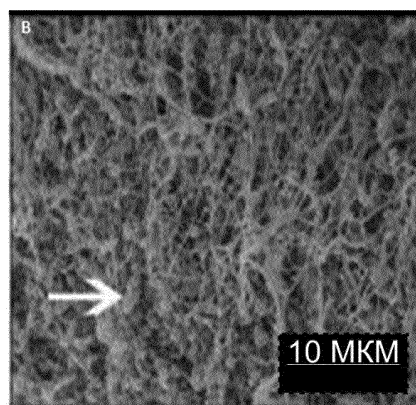
Фиг. 4



Фиг. 5



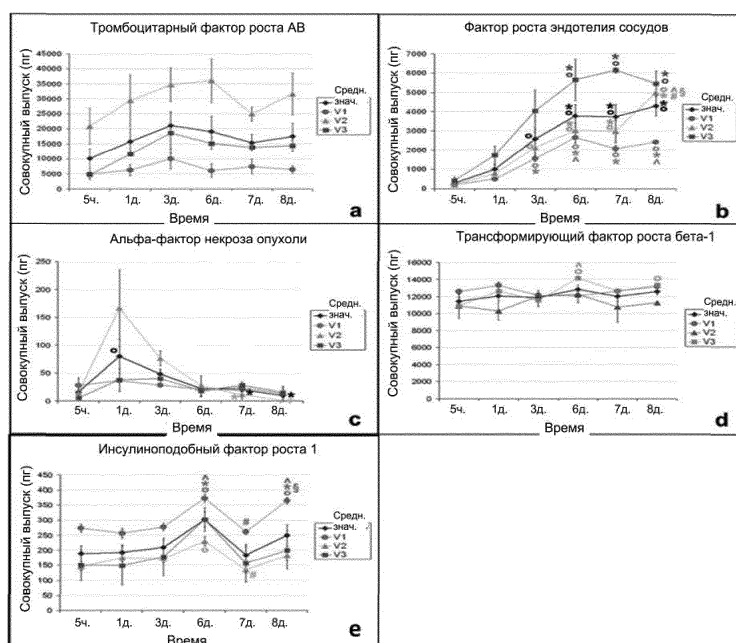
Фиг. 6



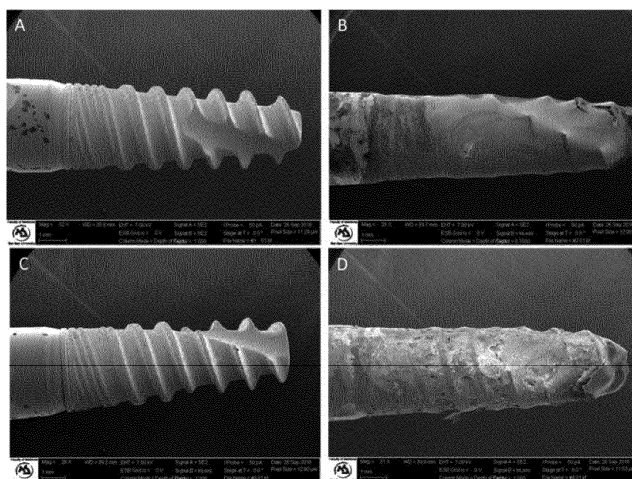
Фиг. 7



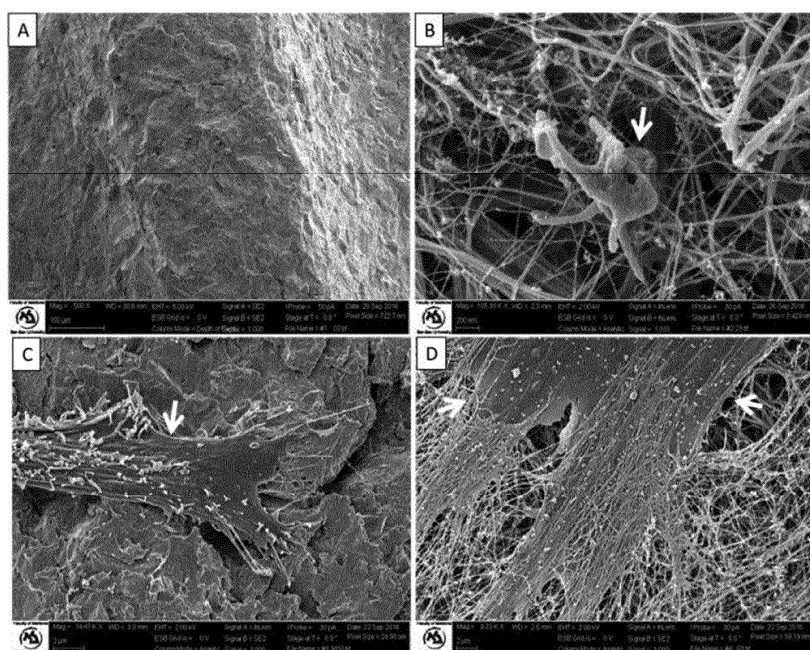
Фиг. 8



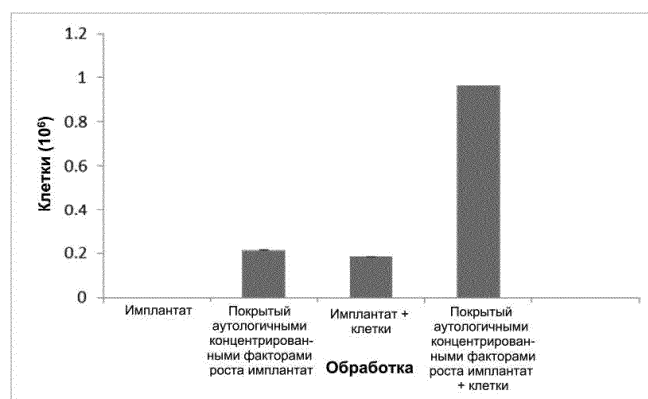
Фиг. 9



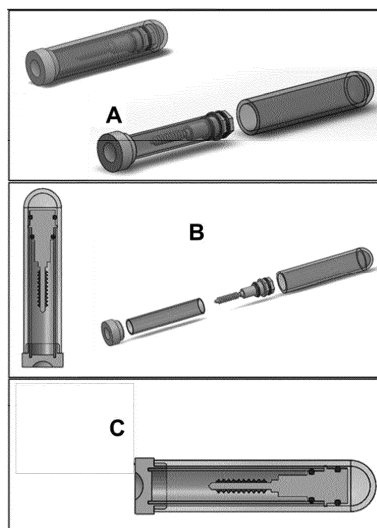
Фиг. 10



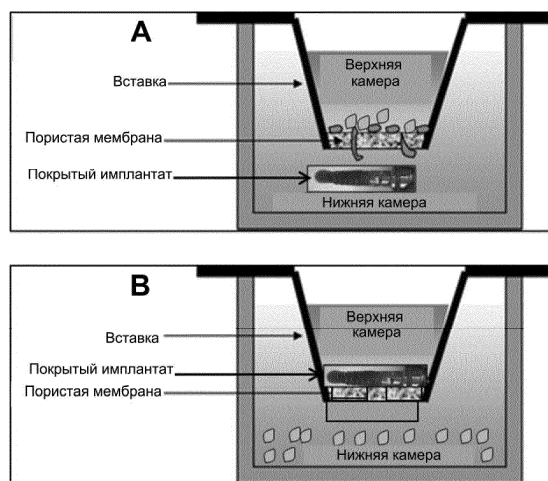
Фиг. 11



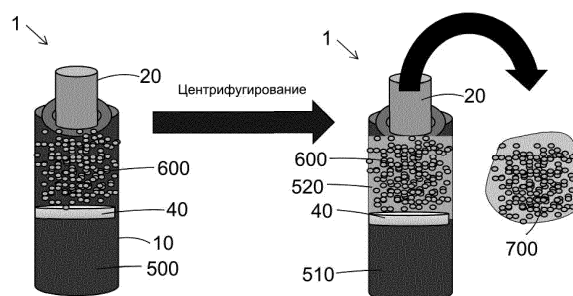
Фиг. 12



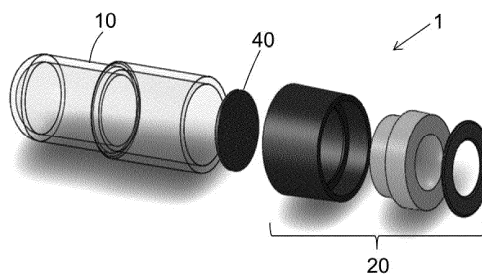
Фиг. 13



Фиг. 14

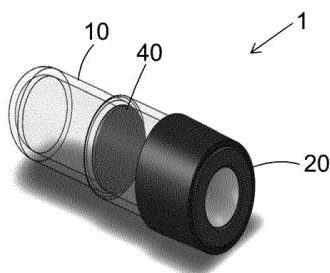


Фиг. 15

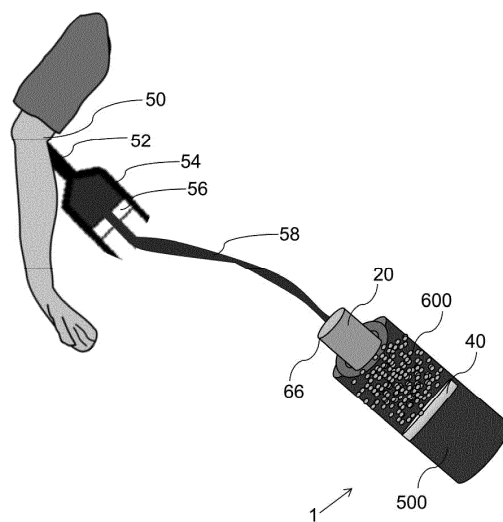


Фиг. 16

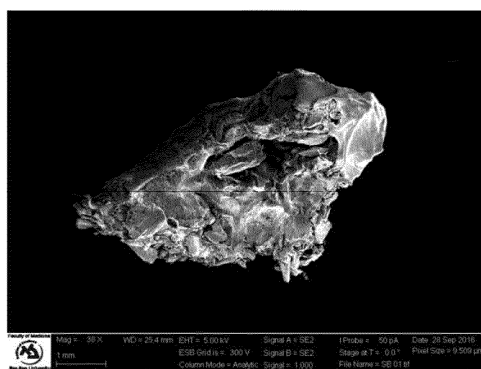
038186



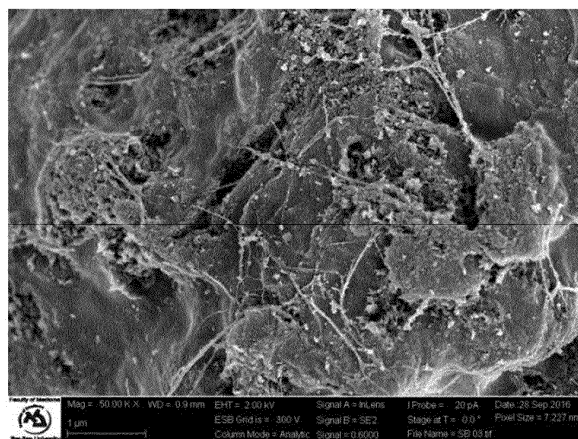
Фиг. 17



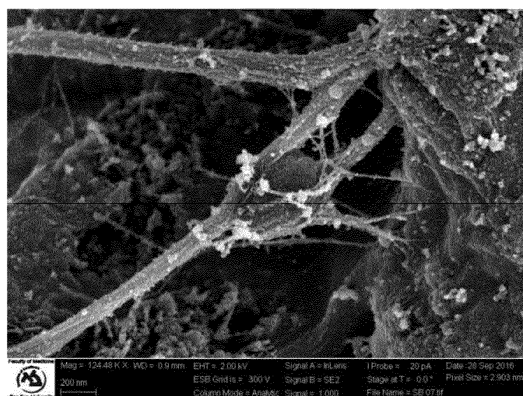
Фиг. 18



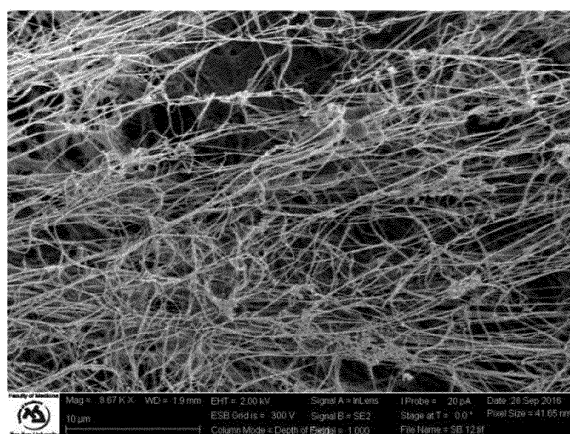
Фиг. 19А



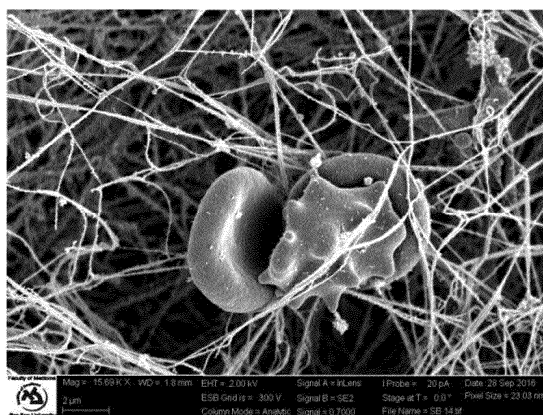
Фиг. 19В



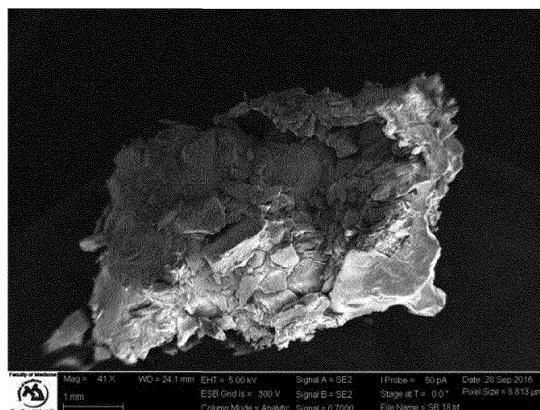
Фиг. 19С



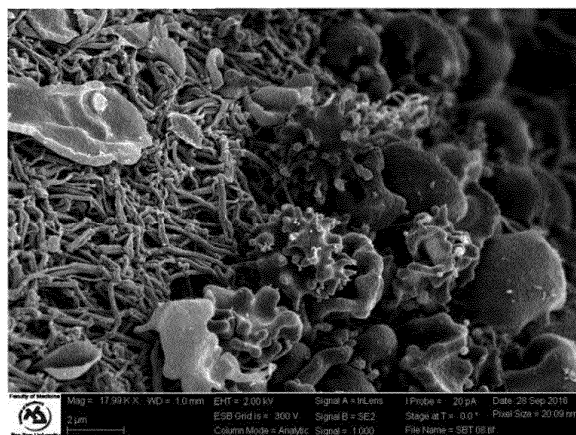
Фиг. 19D



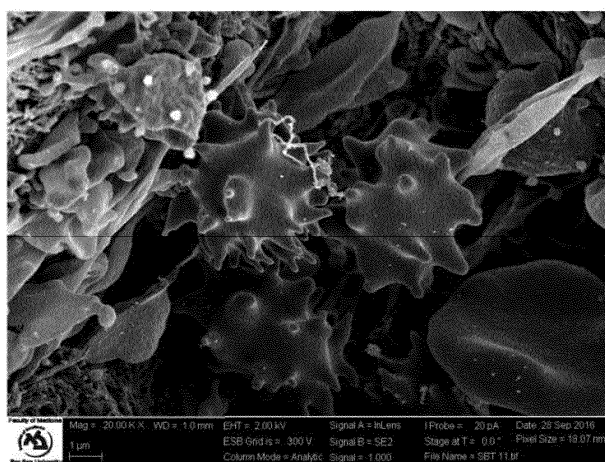
Фиг. 19Е



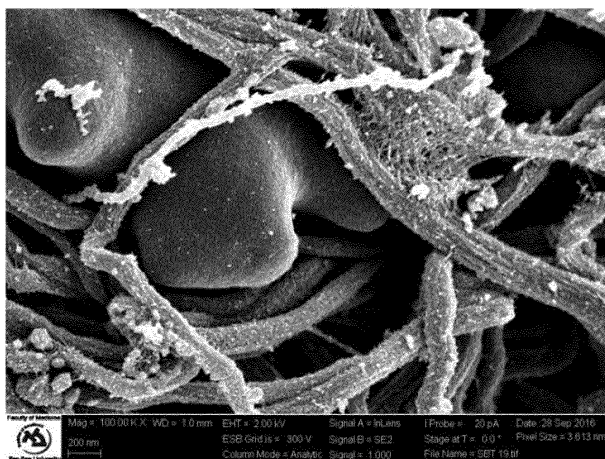
Фиг. 19F



Фиг. 19G



Фиг. 19H



Фиг. 19I

