

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



# ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2197819

Российским агентством по патентам и товарным знакам на основании Патентного закона Российской Федерации, введенного в действие 14 октября 1992 года, выдан настоящий патент на изобретение

## СПОСОБ ПОДГОТОВКИ И ХРАНЕНИЯ КЛАПАННЫХ АОРТАЛЬНЫХ И ЛЕГОЧНО-АРТЕРИАЛЬНЫХ ГОМОГРАФТОВ

Патентообладатель(ли):

*Общество с ограниченной ответственностью  
"Центр хирургии сердца"*

по заявке № 2000133195, дата поступления: 29.12.2000

Приоритет от 29.12.2000

Автор(ы) изобретения:

*см. на обороте*

Патент действует на всей территории Российской Федерации в течение 20 лет с 29 декабря 2000 г. при условии своевременной уплаты пошлины за поддержание патента в силе

Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации

г. Москва, 10 февраля 2003 г.

*Генеральный директор*

*A.D. Корзагин*





(19) RU (11) 2197819 (13) C2

(51) 7 A 01 N 1/02

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ  
к патенту Российской Федерации

1

(21) 2000133195/14 (22) 29.12.2000  
(24) 29.12.2000

(46) 10.02.2003 Бюл. № 4

(72) Малышев М.Ю., Сафуанов А.Х., Синюков Д.М., Гладышев И.В., Боровиков Д.А.  
(71) (73) Общество с ограниченной ответственностью "Центр хирургии сердца"

(56) LANGEY S.M. et al. Long-Term results of valve replacement using antibiotic - sterilised homografts in the aortic position. Ninth Annual Meeting of The European Association for Cardiothoracic Surgery. Paris, France, 24-27 September: 1995, p.1097-1099. RU 2120212 C1, 20.10.1998. SU 1568961 A1, 07.06.1990. SU 1785625 A1, 07.01.1993. EP 0215138 A1, 25.03.1987. WO 88/04889 A1, 14.07.1988.

Адрес для переписки: 454014, г.Челябинск,  
а/я 12416, Т.А.Крымской

2

(54) СПОСОБ ПОДГОТОВКИ И ХРАНЕНИЯ КЛАПАННЫХ АОРТАЛЬНЫХ И ЛЕГОЧНО-АРТЕРИАЛЬНЫХ ГОМОГРАФТОВ

(57) Изобретение относится к средствам подготовки имплантируемых гомографтов и может использоваться в сердечно-сосудистой хирургии. У донора не старше 50 лет забирают в течение 24 ч донорский орган и берут с него образцы ткани и крови для проверки на бактерии и наличие инфекционных заболеваний. Одновременно препарируют из донорского органа клапан с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии и помещают полученный гомографт в контейнер объемом 2000-3000 мл с раствором питательной среды и с концентрацией антибиотиков в дозах, близких к терапевтическим. Затем проводят

RU

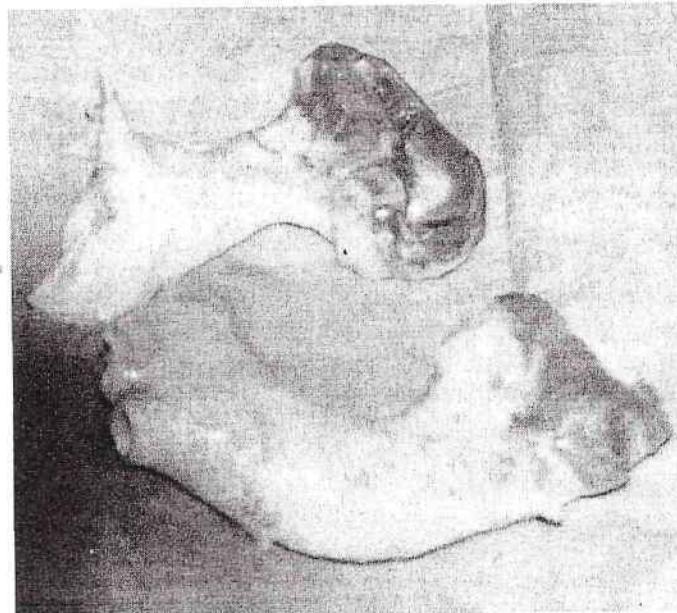
2197819

C2

C2

RU 2197819

RU



оксигенацию раствора с гомографтом, отправляют контейнер на хранение при температуре 4°C и хранят его в течение одного месяца до использования. Техниче-

ский результат: повышение надежности и долговечности использования гомографта за счет обеспечения его жизнеспособности. 1 ил., 1 табл.

Изобретение относится к средствам подготовки имплантируемых гомографтов и может использоваться в сердечно-сосудистой хирургии.

Известен способ подготовки и хранения клапанных митральных гомографтов, описанный в статье Скопина И.И. и др. "Криосохраненные митральные аллографты в хирургическом лечении активного инфекционного эндокардита триkuspidального клапана" в журнале "Грудная и сердечно-сосудистая хирургия", 1998, №5, стр.33-38.

Известный способ заключается в следующем. У доноров не старше 50 лет, умерших здоровыми в результате несчастного случая, в течение 24 часов после смерти забирают донорский орган - сердце и помещают его в раствор RPMI-1640, берут образцы ткани и крови на бакпосев и инфекционные заболевания (ВИЧ, гепатит и сифилис), затем препарируют митральный клапан с миокардом предсердий, обрезают сосочковые мышцы у места внедрения в миокард желудочеков, тщательно удаляют по окружности предсердного желудочкового соединения жировую ткань и помещают полученный гомографт на 24 часа при 4°C в 200 мл среды RPMI-1640, содержащей небольшую концентрацию 5-7 специально подобранных антибиотиков широкого спектра действия для воздействия на потенциально присутствующую микрофлору. Затем гомографт отмывают в стерильном физрастворе (200 мл на 1 гомографт), передают на анализ стерильности образец ткани; через одни сутки гомографт помещают в криосохраняющую смесь (200 мл среды RPMI-1640 + 20 мл димексида + 20 мл 20%-ного альбумина), запаивают смесь с гомографтом в пластиковый пакет, который замораживают в программируемом криостате при скорости замораживания 1°C в 1 мин до -40°C, после чего помещают его в криохранилище с температурой паров жидкого азота (-164°C). Через 10 дней по результатам анализов на стерильность гомографты отбраковывают.

Перед использованием, т.е. перед операцией гомографт размораживают в термостате при 37°C, затем отмывают в среде RPMI-1640 троекратно с уменьшающейся концентрацией димексида и альбумина с добавлением крови реципиента.

Недостаток известного способа заключается в том, что замораживание оказывает отрицательное влияние на прочностные характеристики гомографтов, что приводит к

скорому механическому разрушению последних при работе в организме реципиента.

Известен способ подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов, описанный в статье авторов M. Yacoub и C.F. Kittle "Стерилизация клапанных гомографтов антибиотиками" в "Supplement II to Circulation", Vols. XLI и XLII, май 1970 г., стр. II-29 - II-30.

Известный способ заключается в том, что у умершего здорового донора в течение 6-48 часов после смерти забирают клапан, промывают его в 2 л стерильного раствора, берут маленькую полоску аортальной стенки для анализа на бакпосев, затем помещают клапан в 100 мл стерильной среды с большой дозой антибиотиков (1 г цефалоридина, 0,5 г неомицина и 5000 ед. амфотерацина В) и выдерживают в нем при температуре 4°C в течение 24 часов при осмолитичности раствора 294 и значении pH 6,5. В конце этого периода берут повторно образец ткани в виде маленькой полоски аортальной стенки на посев. Далее клапан помещают в стерильный контейнер с герметичной пробкой, быстро замораживают введением контейнера в ацетон, содержащий двууглекислый лед, и хранят при температуре -70°C до использования. Недостаток известного способа заключается в том, что получаемые с его помощью гомографты при замораживании также теряют прочность на растяжение и достаточно быстро разрушаются при использовании.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому является способ подготовки и хранения клапанных аортальных гомографтов, описанный в материалах "Ninth Annual Meeting of European Association for Cardiothoracic Surgery" Paris, France, 24-27 September, 1995, и выбранный в качестве прототипа.

Известный способ заключается в том, что у здоровых, умерших не от болезни, доноров в возрасте от 11 до 50 лет в течение 4-х дней после смерти забирают сердце и препарируют из него аортальный клапан неповрежденным, а митральная створка остается ограниченной полоской примерно 5 мм. Препарированный гомографт помещают в контейнер со 100 мл стерильной дистилированной воды; 6,5 мл среды 199; 5,5 мл предварительно подогретой неактивированной телячьей сыворотки №1; 2,0 мл 7,5%-ного бикарбоната sodы и 33,5 мл антибиотиков: 1 г метициллина, 600 мг эритромицина, 400 мг гентамицина, 20000

ед. сульфата стрептомицина, 250000 ед. нистатина. В этой среде его выдерживают при комнатной температуре в течение 24 часов для более эффективного стерилизующего действия антибиотиков, после чего берут образец ткани на бакпосев и грибок. Затем клапан в контейнере с этим раствором помещают в рефрижератор при температуре 4°C и хранят до использования до 3 месяцев.

Недостатком известного способа является то, что полученный с его помощью гомографт недостаточно долговечен и потому не очень надежен, т. к. имеет низкие прочностные свойства. Это объясняется тем, что в результате его хранения в малом объеме питательной среды и усиленного воздействия на него антибиотиков для стерилизации гомографт представляет собой фактически неживую биоткань, уязвимую при растягивающих и сдавливающих усилиях в процессе эксплуатации, что приводит к его достаточно быстрому механическому разрушению. Этому же способствуют и поздние сроки забора донорского органа и весьма длительное хранение до момента использования.

Целью заявляемого способа является повышение надежности и долговечности использования гомографта за счет обеспечения его жизнеспособности.

Поставленная цель достигается тем, что в способе подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов, заключающемся в том, что у здорового, погибшего не от болезней, донора 17-50 лет забирают в течение некоторого времени после смерти донорский орган, берут с него образцы ткани и крови для проверки на бакпосев и наличие инфекционных заболеваний, одновременно препарируют из донорского органа клапанный гомографт, помещают его в контейнер с раствором питательной среды и с некоторой концентрацией специально подобранных антибиотиков для воздействия на потенциально присутствующую микрофлору, затем контейнер с находящимся в названном растворе гомографтом отправляют на хранение при температуре 4°C до момента его использования, согласно изобретению, донорский орган забирают у донора в течение 24 часов после его смерти, клапан при препарировании извлекают с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии, полученный гомографт помещают в питательную среду с содержанием антибиотиков в концентрации, близкой к терапевтическим дозам, при общем объеме раствора 2000-3000 мл, перед отправкой на хранение проводят оксигенацию раствора с гомографтом и

хранят последний до использования не более одного месяца.

Помещение клапанного гомографта в большой объем раствора с питательной средой при концентрации в нем терапевтических доз стерилизующих антибиотиков в совокупности с проведением оксигенации раствора с гомографтом перед отправкой их на хранение обеспечивает сохранение гомографта для имплантации как живой структуры, имеющей хорошую прочность на разрыв в процессе работы в организме реципиента. При этом более ранний по времени после смерти забор донорского органа и использование гомографта не позднее одного месяца со дня помещения его на хранение дополнительно повышают жизнеспособность гомографта и, как следствие, его долговечность и надежность при эксплуатации. Препарирование клапана с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии дает возможность при имплантации гомографта, осуществляющей обычно по методике "аортального корня", реимплантировать коронарные сосуды в гомографт, что приводит к развитию клеточных иммунологических реакций вдали от створок клапана гомографта без создания препятствий нормальному функционированию клапана и существенно увеличивает долговечность и надежность его в эксплуатации.

Заявляемый способ подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов обладает новизной в сравнении с прототипом, отличаясь от него наличием таких существенных признаков, как более ранний по времени после смерти донора забор донорского органа, препарирование гомографта в виде клапана с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии, стерилизация гомографта в большом объеме раствора терапевтическими дозами антибиотиков, оксигенация раствора с гомографтом перед передачей его на хранение и хранение в большом объеме раствора сроком до одного месяца до его использования, обеспечивающих в совокупности получение заданного результата.

Хотя в литературе известны такие отличительные признаки как более ранний забор после смерти донорского органа и стерилизация препарированного гомографта небольшой концентрацией антибиотиков (см. упомянутый выше аналог из журнала "Грудная и сердечно-сосудистая хирургия"), однако производимое в описанных способах последующее замораживание гомографта, превращающее его в мертвую структуру,

показывает, что влияние известных из этих способов указанных выше отличительных признаков, совпадающих с отличительными признаками заявляемого способа, на указанный заявителем технический результат (обеспечение жизнеспособности гомографта) неизвестно, тем более, что эти признаки не являются единственными отличительными признаками. Поэтому заявитель считает, что заявляемое техническое решение соответствует критерию "изобретательский уровень".

Заявляемый способ подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов может найти широкое применение в сердечно-сосудистой хирургии и потому соответствует критерию "промышленная применимость".

Заявляемое изобретение иллюстрируется фотографией легочно-артериального и аортального гомографтов перед имплантацией (см. чертеж).

Заявляемый способ подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов заключается в следующем.

У здорового, умершего не от болезни, донора 17-50 лет забирают в течение 24 часов после смерти донорский орган и берут с него образцы ткани и крови для проверки на бактерии и наличие инфекционных заболеваний. Одновременно препарируют из донорского органа клапан с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии и помещают полученный гомографт в контейнер объемом 2000- 3000 мл с раствором питательной среды и с концентрацией антибиотиков в дозах, близких к терапевтическим, для воздействия их на потенциально присутствующую микрофлору, проводят оксигенацию раствора с гомографтом, отправляют контейнер на хранение при температуре 4°C и хранят его в течение одного месяца до использования.

Практически заявляемый способ осуществляется следующим образом. У донора не старше 50 лет, умершего в результате несчастного случая, без острых или хронических заболеваний в стадии обострения, онкологических заболеваний или СПИД, не позднее 24 часов после смерти забирают донорский орган - сердце. Берут с него образцы ткани и крови на бактерии, экспресс - анализ ВИЧ, гепатит, сифилис, туберкулез, множественный склероз, нарко- и алкогольную зависимость. Одновременно препарируют клапан с линейными фрагментами восходящей аортальной и легочной артерии длиной 70-100 мм и помещают его в контейнер с раствором из питательной среды,

например, раствором Хенкса, и с концентрацией антибиотиков в дозах, близких к терапевтическим. Общий объем раствора, в который помещен гомографт, составляет 2000-3000 мл. Возможный состав такого консервирующего раствора из питательной среды и с концентрацией стерилизующих антибиотиков приведен ниже в таблице. Проводят оксигенацию раствора с гомографтом в этом же контейнере и при том же объеме раствора, нагнетая в контейнер кислород с помощью иглы через бактериальный фильтр так, что сверху в контейнере остается слой кислорода. После этого передают контейнер на хранение при температуре при 4°C в течение одного месяца до момента использования.

Стерилизация гомографта терапевтическими дозами антибиотиков при нахождении его в большом объеме питательной среды и оксигенация раствора с гомографтом перед передачей его на хранение обеспечивают сохранение жизнеспособности тканей гомографта.

Перед имплантацией, т.е. перед операцией гомографт промывают в физиологическом растворе и затем имплантируют реципиенту. Имплантация всегда выполняется по методике, сохраняющей целостность гомографта как клапаносодержащего кондукта, в результате чего реакция отторжения в виде прорастания гомографта тканями реципиента происходит вдали от створок клапана и не препятствует нормальной работе последнего, что в совокупности с сохранением жизнеспособности тканей гомографта обуславливает его надежную и долговременную работу в организме реципиента.

Пример 1. Ребенок Р-н Саша, 6 лет.

Диагноз: Сложный врожденный порок сердца синего типа. Транспозиция магистральных сосудов, дефект межжелудочковой перегородки, стеноз легочной артерии. Функционирующий подключично-легочный анастомоз.

21.11.1995г. - операция Растелли - анатомическая коррекция порока. Для воссоздания отсутствующего из-за порока соединения между правым желудочком и легочной артерией использован аортальный клапанный гомографт, подготовленный и хранившийся по заявляемому способу. Клапанный конец гомографта имплантирован в правый желудочек, второй конец - в бифуркацию легочной артерии.

Течение послеоперационного периода неосложненное. Ребенок наблюдается уже пять лет. При ультразвуковом исследовании гомо-

графта признаков его деградации нет, створки клапана подвижные, смыкание хорошее. Самочувствие ребенка хорошее.

Пример 2. Больной М-н А.П., 43 лет.

Диагноз: сочетанный аортальный порок с преобладанием недостаточности.

12.08.1998 г. - операция замены аортального клапана аортальным гомографтом, подготовленным и сохраненным по заявляемому способу. Операция проводилась по

методике имплантации гомографта в виде "аортального корня" с реимплантацией устьев коронарных артерий в стенку гомографта.

Больной наблюдается в течение двух лет. Функция клапанов гомографта хорошая, признаков деградации нет.

В сравнении с прототипом заявляемый способ позволяет получить и сохранить жизнеспособный гомографт, который является более долговечным и надежным.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ подготовки и хранения клапанных аортальных и легочно-артериальных гомографтов, заключающийся в том, что у здорового, умершего не от болезни, донора не старше 50 лет забирают донорский орган, одновременно препарируют из донорского органа клапан, помещают полученный гомографт в контейнер с питательной средой и с некоторой концентрацией специально подобранных антибиотиков для воздействия на потенциально присутствующую микрофлору, причем в процессе подготовки гомографта берут с донорского органа образцы ткани и крови на бакпосев и наличие инфекционных заболеваний, и далее отправляют на хранение при температуре

4°C до использования, отличающийся тем, что донорский орган забирают у донора в течение 24 ч после его смерти и берут с него образцы ткани и крови на бакпосев и наличие инфекционных заболеваний, клапан при препарировании извлекают с линейными фрагментами восходящей аорты и легочной артерии, полученный гомографт помещают в питательную среду с содержанием антибиотиков в концентрации, близкой к терапевтическим дозам, при общем объеме раствора 2000-3000 мл, перед отправкой на хранение проводят оксигенацию раствора с гомографтом и хранят последний до использования не более одного месяца.

### Возможный состав консервирующего раствора

Компоненты	Количество
1. Официальный раствор Хенкса без фенола	2000-3000 мл
2. Гентамицин	20 мг / л
3. Ампициллин	200 мг / л
4. Ципрофлоксацин	40 мг / л
5. Цефазолин	200 мг / л
pO <sub>2</sub> раствора	500 - 700 мм рт. ст.

---

Заказ 4 Подписьное  
ФИПС, Рег. ЛР № 040921  
Научно-исследовательское отделение по  
подготовке официальных изданий  
Федерального института промышленной собственности  
Бережковская наб., д.30, корп.1, Москва, Г-59, ГСП-5, 123995

Отпечатано на полиграфической базе ФИПС  
Отделение по выпуску официальных изданий