

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292673** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.11.11

(51) Int. Cl. *A61N 1/32* (2006.01)
A61N 1/04 (2006.01)
A61N 1/18 (2006.01)
A61N 1/20 (2006.01)
A61N 1/30 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.03.19

(54) УСТРОЙСТВА ВАКУУМНОЙ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ

(31) 62/992,513

(72) Изобретатель:

(32) 2020.03.20

**Фишер Пол, Кемме Андреа, Шэйд
Эрик, Маккой Джей, Бродерик Кейт,
Дженеротти Элисон А. (US)**

(33) US

(86) PCT/US2021/023344

(87) WO 2021/189012 2021.09.23

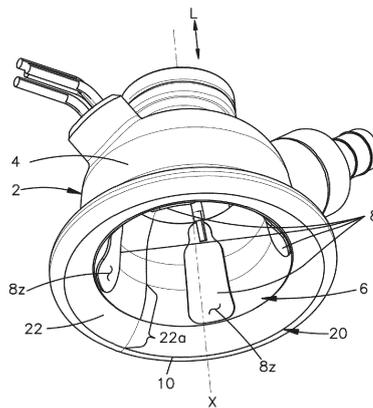
(74) Представитель:

(71) Заявитель:

Медведев В.Н. (RU)

**ИНОВИО ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(57) Устройство для вакуумной электропорации ткани *in vivo* содержит корпус, который определяет камеру и по меньшей мере одно отверстие в камеру. Порт проходит через корпус, является удаленным от по меньшей мере одного отверстия и имеет возможность соединения с источником вакуума. Порт выполнен с возможностью передачи вакуумметрического давления от источника вакуума в камеру. Внутри камеры расположено множество электродов, выполненных с возможностью подачи одного или большего количества электропорационных импульсов к целевой части ткани, проходящей через отверстие и удерживаемой в камере в ответ на вакуумметрическое давление.



202292673

A1

A1

202292673

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-575619EA/085

УСТРОЙСТВА ВАКУУМНОЙ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ И СВЯЗАННЫЕ С НИМИ СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает преимущества предварительной заявки на патент США № 62/992,513, поданной 20 марта 2020 г., полное содержание которой включено в настоящий документ посредством этой ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Настоящее изобретение относится к устройствам для захвата и деформации ткани с помощью вакуумметрического давления, осуществления инъекции текучей среды в ткань и электропорации ткани с помощью электродов, а также к системам и способам, связанным с осуществлением инъекции или иной доставкой текучей среды в ткань и электропорацией ткани.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] В 1970-х годах было обнаружено, что электрические поля можно использовать для создания пор в клетках, не вызывая необратимого повреждения клетки. Это открытие, названное электропорацией (ЭП), сделало возможным введение больших молекул, малых молекул, ионов и воды в цитоплазму клетки через клеточную стенку. В некоторых случаях электропорация может использоваться при местной терапии, например при раке головы и шеи, для введения химических веществ и других соединений в опухоль. Во время этих процедур пациент может находиться под общей анестезией, а может и нет, поэтому боль и произвольные движения мышц должны быть сведены к минимуму.

[0004] Кожа является популярной целью для ЭП, потому что она легкодоступна и содержит большое количество иммунных клеток, подходящих для доставки ДНК-вакцины. Естественная иммунная функция кожи и ее высокая скорость клеточного обмена обычно приводят к быстрым и сильным гуморальным реакциям на доставку ДНК-вакцины, усиленную ЭП. Кожа также способна генерировать клеточные иммунные реакции после доставки ДНК-вакцины, усиленной ЭП. Из-за своего поверхностного характера кожа подходит для минимально инвазивной или неинвазивной ЭП.

[0005] Скелетные мышцы также являются хорошо охарактеризованной целью для опосредованной электропорацией (EP) доставки ДНК *in vivo*. Миоциты способны продуцировать и секретировать белки в течение длительных периодов времени, и неоднократно было продемонстрировано, что вакцинация ДНК, усиленная ЭП, в мышцах способна вызывать иммунную реакцию. Тем не менее, применение доставки ДНК с помощью ЭП в мышцы осложняется переменной толщиной подкожного жира, что препятствует подходу «один размер подходит всем», поскольку разная толщина жира приводит к разной глубине проникновения иглы в мышечную ткань. Скелетные мышцы, особенно у крупных животных и людей, как правило, не подходят для минимально инвазивных или неинвазивных методов ЭП из-за изолирующего слоя подкожного жира и

глубины, необходимой для создания электрических полей. Поэтому для выполнения ЭП в мышцах чаще всего используют проникающие игольчатые электроды.

[0006] Исторически жировая ткань (жир) рассматривалась как инертная ткань, используемая в основном для хранения энергии в форме липидных капель. Таким образом, только недавно процедуры ДНК, усиленные ЭП, были направлены на жировой слой ткани. Однако недавние исследования показали, что подкожный жир на самом деле выполняет множество динамических функций. Жировая ткань содержит много стволовых клеток и иммунных клеток и действует как эндокринный орган, секретируя многочисленные гормоны, выделяя множество локальных сигналов, и содержит сложную сеть капилляров. Попытки достичь трансфекции жировой ткани *in vivo* в основном были ограничены хирургическими методами, которые требуют, чтобы администратор вырезал и физически удалял образцы кожи пациента, чтобы обеспечить непосредственный контакт с жировой тканью. Эти методы терапии чрезвычайно инвазивны и не подходят для клинических устройств.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] В соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия устройство для вакуумной электропорации ткани *in vivo* содержит корпус, который определяет камеру и по меньшей мере одно отверстие в камеру. Порт проходит через корпус и удален от по меньшей мере одного отверстия и имеет возможность соединения с источником вакуума. Порт выполнен с возможностью передачи вакуумметрического давления от источника вакуума в камеру. Внутри камеры расположено множество электродов, выполненных с возможностью подачи одного или большего количества электропорационных импульсов к целевой части ткани, проходящей через отверстие и по меньшей мере кратковременно удерживаемой в камере в ответ на вакуумметрическое давление.

[0008] В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего раскрытия способ электропорации ткани субъекта включает размещение камеры, прилегающей к ткани, приложение вакуумметрического давления к камере, тем самым втягивая ткань через отверстие камеры для контакта со множеством электродов, проходящих вдоль внутренней поверхности камеры, и подачу одного или большего количества электропорационных импульсов через множество электродов к ткани, тем самым создавая электропорационное поле внутри ткани.

[0009] В соответствии с дополнительным вариантом осуществления настоящего раскрытия устройство для вакуумной терапии ткани содержит корпус, определяющий камеру и по меньшей мере одно отверстие в камеру. Первый порт проходит через корпус и удален от по меньшей мере одного отверстия. Первый порт имеет возможность соединения с источником вакуума таким образом, что первый порт выполнен с возможностью передачи вакуумметрического давления от источника вакуума в камеру. Устройство содержит струйно-инъекционное устройство, которое проходит через второй порт в камеру. Второй порт расположен напротив по меньшей мере одного отверстия. Струйно-инъекционное

устройство выполнено с возможностью доставки струйной инъекции текучей среды в целевую часть ткани, проходящую через по меньшей мере одно отверстие и по меньшей мере кратковременно удерживаемую в камере в ответ на вакуумметрическое давление.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0010] Данная заявка на патент содержит по меньшей мере один графический материал, выполненный в цвете. Копии этой патентной заявки с цветным(и) графическим материалом(ами) будут предоставлены Ведомством по запросу и уплате необходимой пошлины. Приведенное выше краткое изложение, а также последующее подробное описание иллюстративных вариантов осуществления настоящей заявки будут лучше понятны при чтении вместе с приложенными графическими материалами. В целях иллюстрации структур настоящей заявки на графических материалах показаны иллюстративные варианты осуществления. Однако следует понимать, что заявка не ограничивается показанными точными схемами и инструментами. На графических материалах:

[0001] **фиг. 1** представляет собой схематический вид электропорационной системы, в которой используется вакуумная банка для электропорации (или «вакуумная банка») в сочетании с игольчатым инъекционным устройством в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0002] **фиг. 2А** представляет собой вид в перспективе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 1**, показывающий вакуумную камеру банки и матрицу электродов, расположенных внутри камеры, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0003] **фиг. 2В** представляет собой плоский вид снизу вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, показывающий схему расположения электродов;

[0004] **фиг. 2С** представляет собой плоский вертикальный вид одного из электродов, проиллюстрированных на **фиг. 2А-2В**;

[0005] **фиг. 2D** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, выполненный вдоль центральной оси банки;

[0006] **фиг. 2Е** представляет собой увеличенный вид в разрезе области 2E-2E, проиллюстрированной на **фиг. 2D**;

[0007] **фиг. 2F** представляет собой увеличенный вид в разрезе области 2F-2F, проиллюстрированной на **фиг. 2D**;

[0008] **фиг. 3А** представляет собой вид в перспективе гильзы, несущей электроды и вставляемой внутрь вакуумной камеры, проиллюстрированной на **фиг. 2А**;

[0009] **фиг. 3В** представляет собой плоский вид снизу гильзы, проиллюстрированной на **фиг. 3А**;

[0010] **фиг. 3С-3D, 3Е-3F, 3G-3H, 3I-3J и 3L-3M** представляют собой соответствующие плоские виды снизу и в разрезе сбоку гильз, имеющих альтернативные схемы электродных матриц, в соответствии с дополнительными вариантами осуществления настоящего раскрытия;

[0011] **фиг. 4А-4Е** представляют собой виды сбоку в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, прилегающей к ткани, показывающие репрезентативные этапы использования вакуумной банки в вакуумной электропорационной терапии;

[0012] **фиг. 4F** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, показывающий различные степени, до которых вакуумная банка может втягивать ткань в вакуумную камеру;

[0013] **фиг. 5А** представляет собой вид в перспективе вакуумной банки, имеющей гибкие электроды в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0014] **фиг. 5В** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумной банки, показанной на **фиг. 5А**, выполненный вдоль центральной оси банки;

[0015] **фиг. 5С** представляет собой увеличенный вид в разрезе области 5С-5С, проиллюстрированной на **фиг. 5В**, показывающий электроды в нейтральном состоянии;

[0016] **фиг. 5D** представляет собой увеличенный вид в разрезе области 5D-5D, проиллюстрированной на **фиг. 5В**, показывающий электроды в согнутом состоянии;

[0017] **фиг. 6А и 6В** представляют собой соответствующие вертикальные виды в перспективе и сбоку электрода, имеющего контактную поверхность, которая определяет выступы, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0018] **фиг. 6С и 6D** представляют собой соответствующие вертикальные виды в перспективе и сбоку электрода, имеющего контактную поверхность, которая определяет вытянутые в поперечном направлении выступы, в соответствии с другим вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0019] **фиг. 7А** представляет собой вид в перспективе вакуумной банки, имеющей треугольное дистальное отверстие и геометрию вакуумной камеры, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0020] **фиг. 7В** представляет собой плоский вид снизу вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 7А**;

[0021] **фиг. 7С** представляет собой вид в перспективе в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 7А**, выполненный вдоль центральной оси банки;

[0022] **фиг. 7D** представляет собой вертикальный плоский вид электродной матрицы, расположенной внутри вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 7А**;

[0023] **фиг. 7Е** представляет собой вид сбоку электродной матрицы, проиллюстрированной на **фиг. 7D**;

[0024] **фиг. 8А** представляет собой вид в перспективе вакуумной банки, имеющей прямоугольное дистальное отверстие и геометрию вакуумной камеры, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0025] **фиг. 8В** представляет собой плоский вид снизу вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 8А**;

[0026] **фиг. 8С** представляет собой вид в перспективе в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 8А**, выполненный вдоль центральной оси банки;

[0027] **фиг. 9А** представляет собой вид сбоку в разрезе электропорационного узла, который содержит вакуумную банку, имеющую приемную часть, в которой принимается безыгольное инъекционное устройство, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0028] **фиг. 9В** представляет собой увеличенный вид сбоку в разрезе, показывающий репрезентативную стадию использования электропорационного узла, проиллюстрированного на **фиг. 9А**, для инъекции агента в ткань, втянутую в вакуумную камеру;

[0029] **фиг. 10А** представляет собой вид в перспективе в разрезе другого варианта осуществления вакуумной банки, имеющей приемную часть, в которой принимается безыгольное инъекционное устройство, при этом вакуумная банка имеет корпус банки, который определяет коллектор, содержащий множество портов, сообщающихся по текучей среде с вакуумной камерой через соответствующее множество отверстий, определенных в электродах;

[0030] **фиг. 10В** представляет собой увеличенный вид в перспективе с частичным разрезом соответствующих портов и отверстий, показанных на **фиг. 10А**;

[0031] **фиг. 10С** представляет собой вид в перспективе с частичным разрезом альтернативного расположения соответствующих портов и отверстий в соответствии с другим вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0032] **фиг. 10D** представляет собой увеличенный вид сбоку в разрезе части вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 10А**, во время использования для проведения электропорационной терапии жировой ткани;

[0033] **фиг. 11А** представляет собой визуальное представление распределения метиленового синего в подкожной ткани свиньи без применения вакуумметрического давления (слева) и с применением вакуумметрического давления (справа) посредством вакуумной банки, выполненной аналогично банке, проиллюстрированной на **фиг. 2А**;

[0034] **фиг. 11В и 11С** показывают параллельное сравнение распределения текучей среды в жировой ткани морской свинки после инъекции метиленового синего; инъекцию на **фиг. 11В** выполняли безыгольной вакуумной банкой, подобной показанной на **фиг. 9А**; инъекцию на **фиг. 11С** выполняли методом подкожной иглы;

[0035] **фиг. 12** представляет собой график, показывающий 12-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после электропорационной терапии в жировой ткани с помощью рGX 2013 (ДНК-вакцина против нуклеопротеина (NP) вируса гриппа), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после электропорационной терапии с помощью: вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**; и электропорационного устройства со штангенциркульным электродом;

[0036] **фиг. 13** представляет собой график, показывающий 8-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапий рGX 2303 (ДНК-вакцина против слитого гликоль-белка респираторно-синцитиального вируса человека (RSV-F)), в частности, показывающий следующие сравнительные гуморальные иммунные

ответы: электропорационная терапия жировой ткани с помощью вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**; и электропорационной терапии в коже с помощью известного электропорационного устройства с матрицей игл;

[0037] **фиг. 14А** представляет собой график, показывающий 6-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапий рGX 2013 (ДНК-вакцина против нуклеопротеина (NP) вируса гриппа), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после терапий, включающих: (1) электропорацию внутрикожной ткани с использованием известного электропорационного устройства с матрицей игл; (2) электропорацию жировой ткани с помощью безыгольной вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 9А**, с применением постэлектропорационного вакуумметрического давления; (3) инъекцию в жировую ткань с помощью игло-инъекционной вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, с применением постинъекционного вакуумметрического давления, но без электропорации; (4) и электропорацию жировой ткани с помощью игло-инъекционной вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, с применением постэлектропорационного вакуумметрического давления;

[0038] **фиг. 14В** представляет собой диаграмму, показывающую клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 14А**;

[0039] **фиг. 15А** представляет собой вид в перспективе вакуумной банки, выполненной с возможностью вакуумной электропорации внутрикожной ткани в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0040] **фиг. 15В** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 15А**;

[0041] **фиг. 15С** представляет собой увеличенный вид в разрезе вакуумной камеры банки, проиллюстрированной на **фиг. 15А**, во время использования;

[0042] **фиг. 16А-16В** представляют собой виды сбоку в разрезе узлов вакуумно-электропорационных узлов, в которых электроды расположены на концевой поверхности внутри соответствующих вакуумных камер, которые находятся напротив соответствующих дистальных отверстий вакуумной камеры, в соответствии с вариантами осуществления настоящего раскрытия;

[0043] **фиг. 17А-17В** представляют собой плоские виды снизу схем электродных матриц и схем вакуумных портов, определенных на соответствующих элементах поддержки электродов для использования с узлами, проиллюстрированными на **фиг. 16А-16В**, в соответствии с вариантами осуществления настоящего раскрытия;

[0044] **фиг. 18А** представляет собой вид в перспективе вакуумно-электропорационного устройства, имеющего множество дистальных вакуумных камер;

[0045] **фиг. 18В** представляет собой вид в перспективе в разрезе вакуумно-электропорационного устройства, проиллюстрированного на **фиг. 18А**;

[0046] **фиг. 18С** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумно-электропорационного устройства, проиллюстрированного на **фиг. 18А**;

[0047] **фиг. 18D** представляет собой увеличенный вид в разрезе области 18D-18D, проиллюстрированной на **фиг. 18C**;

[0048] **фиг. 18E** представляет собой плоский вид снизу вакуумно-электропорационного устройства, проиллюстрированного на **фиг. 18A**;

[0049] **фиг. 19A** представляет собой вид сбоку в разрезе вакуумно-электропорационного устройства, имеющего дистальную матрицу электродов, имеющих вакуумные порты внутри себя, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0050] **фиг. 19B** представляет собой плоский вид снизу вакуумно-электропорационного устройства, проиллюстрированного на **фиг. 19A**, показывающий плоский вид схемы электродной матрицы, в соответствии с вариантом осуществления настоящего раскрытия;

[0051] **фиг. 20** представляет собой вид сверху элемента поддержки электродов, имеющего квадратную электродную матрицу, выполненную для использования с вакуумно-электропорационным устройством, аналогичным проиллюстрированному на **фиг. 19A**;

[0052] **фиг. 21A** представляет собой плоский вид элемента поддержки электродов, имеющего прямоугольную электродную матрицу, которая в остальном аналогична элементу поддержки электрода, проиллюстрированному на **фиг. 20**;

[0053] **фиг. 21B** представляет собой вид сбоку в разрезе элемента поддержки электродов, проиллюстрированного на **фиг. 21A**;

[0054] **фиг. 22** представляет собой диаграмму, показывающую экспрессию гена в коже морской свинки после внутрикожных инъекций различных объемов плазмиды, кодирующей ген для зеленого флуоресцентного белка (GFP), и затем прошедшей терапию с помощью различных методик и устройств;

[0055] **фиг. 23** представляет собой график, показывающий 8-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после обработки ДНК-вакциной против HPV, в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2A**; и вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2A**, с трехкратной (3x) дозировкой других видов терапий;

[0056] **фиг. 24A** представляет собой график, показывающий 11-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности на моделях приматов, отличных от человека, после обработки ДНК-вакциной против HPV (pGX 3001 и 3002), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2A**; и вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2A**, с трехкратной (3x) дозировкой других видов терапий;

[0057] **фиг. 24В-24С** представляет собой диаграммы, показывающие клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 24А**;

[0058] **фиг. 25** представляет собой томографическое изображение, показывающее вид в перспективе пары пузырьков, образовавшихся в результате инъекций Манту предшествующего уровня техники; пузырек, показанный слева, содержит агент, который был предварительно смешан с препаратом гиалуронидазы; а пузырек, показанный справа, был введен без препарата гиалуронидазы;

[0059] **фиг. 26** представляет собой составное изображение, показывающее виды сверху и в перспективе пузырьков, проиллюстрированных на **фиг. 25**;

[0060] **фиг. 27** представляет собой график, показывающий 4-недельные данные о гуморальном иммунном ответе в виде конечных титров у морских свинок после внутрикожных терапий ДНК-вакциной против MERS (pGX 9101), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники, с препаратом гиалуронидазы и без него; и вариантом вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, имеющей диаметр камеры 15 мм, как с препаратом гиалуронидазы, так и без него;

[0061] **фиг. 28** представляет собой график, показывающий 6-недельные данные о гуморальной иммуногенности морских свинок в виде конечных титров после внутрикожных терапий ДНК-вакциной MERS (pGX 9101), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; и версиями вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, имеющей диаметр камеры 15 мм и 10 мм;

[0062] **фиг. 29А** представляет собой график, показывающий 6-недельные данные о гуморальной иммуногенности в виде средних конечных титров у морских свинок после внутрикожных инъекций ДНК-вакцины против нуклеопротеина гриппа (pGX 2013), в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; и версией вакуумной банки, проиллюстрированной на **фиг. 2А**, имеющей диаметр камеры 15 мм;

[0063] **фиг. 29В и 29С** представляют собой диаграммы, показывающие клеточные иммунные ответы в виде пятнообразующих единиц на неделе 2 (**фиг. 29В**) и неделе 4 (**фиг. 29С**) из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 29А**;

[0064] **фиг. 30А** иллюстрирует вид в перспективе круглой электродной матрицы, имеющей четыре (4) электрода, расположенных с интервалом в 90 градусов вокруг центральной оси, для использования с вакуумной банкой с круглым отверстием согласно настоящему изобретению для электропорации жировой ткани; **фиг. 30В-30Г**

иллюстрируют различные смоделированные напряженности электрического поля, создаваемые в жировой ткани в соответствии с различными размерами электродов;

[0065] **фиг. 31А** иллюстрирует вид в перспективе круглой электродной матрицы, показанной на **фиг. 30А**, для использования при электропорации кожной ткани; **фиг. 31В-31F** иллюстрируют различные смоделированные напряженности электрического поля, создаваемые в кожной ткани в соответствии с различными размерами электродов;

[0066] **фиг. 32А** иллюстрирует вид в перспективе прямоугольной электродной матрицы, имеющей четыре (4) плоских электрода, расположенных с интервалом в 90 градусов вокруг центральной оси, для использования с вакуумной банкой с прямоугольным отверстием согласно настоящему изобретению для электропорации жировой ткани; **фиг. 32В-32F** иллюстрируют различные смоделированные напряженности электрического поля, создаваемые в жировой ткани в соответствии с различными размерами электродов;

[0067] **фиг. 33А** иллюстрирует вид в перспективе прямоугольной электродной матрицы, показанной на **фиг. 32А**, для использования при электропорации кожной ткани; **фиг. 33В-33F** иллюстрируют различные смоделированные напряженности электрического поля, создаваемые в кожной ткани в соответствии с различными размерами электродов;

[0068] **фиг. 34А-34В** показывают параллельное сравнение клеточной инфильтрации (синяя) в жировой ткани морской свинки после вакуумных терапий; терапия на **фиг. 34А** представляла собой терапию только вакуумом (т. е. без электропорации) с использованием вакуумной банки, аналогичной той, что показана на **фиг. 2А**; терапия на **фиг. 35В** представляла собой лечение вакуумную электропорационную терапию (т. е. вакуумметрическое давление+электропорация) с использованием вакуумной банки;

[0069] **фиг. 35А** представляет собой график, показывающий 6-недельные данные гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапии ДНК-вакциной против MERS, в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием вакуумных банок, подобных проиллюстрированным на **фиг. 2А**, и имеющих различные диаметры камер и одинаковые параметры электропорации;

[0070] **фиг. 35В** представляет собой диаграмму, показывающую клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 35А**;

[0071] **фиг. 36А** представляет собой диаграмму, показывающую экспрессию гена в коже морской свинки после внутрикожных инъекций плазмиды, кодирующей ген для зеленого флуоресцентного белка (GFP), и затем прошедшей терапию при различных вакуумметрических давлениях и напряжениях электропорации с использованием вакуумной банки;

[0072] **фиг. 36В** представляет собой график, показывающий измерения сигнала флуоресценции кожи по результатам экспрессии GDF, проиллюстрированным на **фиг. 36А**;

[0073] **фиг. 37А** представляет собой график, показывающий 6-недельные данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапии ДНК-вакциной против MERS, в частности, показывающий сравнительные гуморальные иммунные ответы

после соответствующих электропорационных терапий в коже с использованием: (1) электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; и (2) вакуумной банки, аналогичной проиллюстрированной на **фиг. 2А**;

[0074] **фиг. 37В** представляет собой диаграмму, показывающую клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 37А**;

[0075] **фиг. 38** представляет собой диаграмму, показывающую клеточный иммунный ответ в единицах пятнообразования на 6 неделе после терапий с помощью вакцин против рецидивирующего респираторного папилломатоза (RRP), в частности, показывающую сравнительные ответы после соответствующих обработок электропорацией кожи с использованием: (1) электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; и (2) вакуумной банки, аналогичной проиллюстрированной на **фиг. 2А**;

[0076] **фиг. 39А** представляет собой график, показывающий 4-недельные данные гуморальной иммуногенности у морских свинок после лечения ДНК-вакциной против MERS, в частности сравнение гуморальных иммунных ответов после терапий в коже с использованием только инъекции Манту, инъекции Манту с последующим вакуумметрическим давлением и инъекции Манту с последующим вакуумметрическим давлением и электропорацией с использованием вакуумных банок, подобных проиллюстрированным на **фиг. 2А**;

[0077] **фиг. 39В** представляет собой диаграмму, показывающую клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 39А**;

[0078] **фиг. 40А** иллюстрирует вид сбоку в разрезе смоделированного электрического поля, создаваемого электродной матрицей, имеющей пару противоположных электродов, при генерации в холмике ткани, втянутой в вакуумную банку, выполненную аналогично вакуумной банке, показанной на **фиг. 2А**;

[0079] **фиг. 40В** иллюстрирует вид сбоку в разрезе смоделированного электрического поля, создаваемого электродной матрицей, имеющим пару круговых кольцевых электродов и центральный круглый электрод, при генерации в холмике ткани, втянутой в вакуумную банку, выполненную аналогично вакуумной банке, показанной на **фиг. 15А**;

[0080] **фиг. 41А** представляет собой график, показывающий 8-недельные данные по гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапии ДНК-вакциной против MERS, в частности, сравнение гуморальных иммунных ответов после вакуумных электропорационных терапий в коже на основе схем импульсов электродов с использованием электродных матриц, показанных на **фиг. 40А-40В**;

[0081] **фиг. 41В** представляет собой диаграмму, показывающую клеточные иммунные ответы из того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 41А**;

[0082] **фиг. 42А** представляет собой график, показывающий сравнительные дисперсии инъецируемой текучей среды после инъекции Манту и: (1) без применения вакуумметрического давления; (2) с применением вакуумметрического давления с

использованием вакуумной банки, имеющей электродную матрицу, показанную на **фиг. 40А**; и (3) с применением вакуумметрического давления с использованием вакуумной банки, имеющей электродную матрицу, показанную на **фиг. 40В**;

[0083] **фиг. 42В-42D** представляют собой фотографии, показывающие дисперсии текучих сред, показанные на **фиг. 42А**;

[0084] **фиг. 43А и 43В** представляют собой рентгеноскопические изображения, показывающие инъектат, помещенный в кожу морской свинки, расположенную под вакуумной банкой, имеющей электродную матрицу, показанную на **фиг. 40В**; **фиг. 43А** показывает инъектат перед приложением вакуумметрического давления в камере; и **фиг. 43В** показывает инъектат во время применения вакуумметрического давления в камере;

[0085] **фиг. 43С** представляет собой график, показывающий сравнение экспрессии секретируемой щелочной фосфатазы (SEAP) после: (1) вакуумной электропорационной терапии одним большим объемом инъектата с использованием вакуумной банки, показанной на **фиг. 43А-43В**; и (2) шести событий электропорационной терапии с шестью инъекциями с использованием электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники;

[0086] **фиг. 44** представляет собой диаграмму, показывающую 8-недельные данные ELISA гуморальной иммуногенности у морских свинок после электропорационных терапий в кожной ткани с помощью рGX 2013, в частности, показывающую сравнительные гуморальные иммунные ответы после электропорационной терапии с помощью: (1) струйно-инъекционной вакуумной банки, аналогичной проиллюстрированной на **фиг. 9А**; и (2) электропорационного устройства с матрицей игл предшествующего уровня техники; и

[0087] **фиг. 45А-47С** представляют собой рентгеноскопические изображения, показывающие отклонение тканей морских свинок во время и после струйных инъекций, выполненных с помощью струйно-инъекционной вакуумной банки, аналогичной проиллюстрированной на **фиг. 9А**, при различных настройках вакуумметрического давления и настройках расстояния смещения сопла от кожи.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0088] Настоящее раскрытие можно легче понять, обратившись к следующему подробному описанию, взятому в связи с прилагаемыми фигурами и примерами, которые составляют часть этого раскрытия. Следует понимать, что это раскрытие не ограничивается конкретными устройствами, способами, применениями, условиями или параметрами, описанными и/или показанными в настоящем документе, и что используемая в настоящем документе терминология предназначена только для целей описания конкретных вариантов осуществления в качестве примера и не предназначено для ограничения объема настоящего раскрытия. Кроме того, как используется в заявке, включая прилагаемую формулу изобретения, формы единственного числа «а», «an» и «the» включают множественное

число, и ссылка на конкретное числовое значение включает, по меньшей мере, это конкретное значение, если контекст явно не указывает в противном случае.

[0089] Термин «множество», используемый в настоящем документе, означает более, чем один. Когда выражен диапазон значений, другой вариант осуществления включает в себя от одного конкретного значения и/или до другого конкретного значения. Аналогичным образом, когда значения выражены как приблизительные значения с использованием предшествующего слова «около», следует понимать, что конкретное значение формирует другой вариант осуществления. Все диапазоны являются включенными и комбинируемыми.

[0090] Термины «приблизительно» и «по существу», используемые в настоящем документе в отношении размеров, углов и других геометрий, учитывают производственные допуски. Кроме того, термины «приблизительно» и «по существу» могут включать на 10% больше или меньше указанного размера или угла. Кроме того, термины «приблизительно» и «по существу» могут в равной степени относиться к указанному конкретному значению.

[0091] Используемый в настоящем документе термин «агент» означает полипептид, полинуклеотид, небольшую молекулу или любую их комбинацию. Агент может представлять собой последовательность рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. В качестве неограничивающих примеров агент может быть составлен в воде или буфере, таком как солевой раствор-цитрат натрия (SSC) или фосфатно-солевой буфер (PBS).

[0092] Термин «внутрикожный», используемый в настоящем документе, означает внутри слоя кожи, который включает эпидермис (т. е. эпидермальный слой, от рогового слоя до базального слоя) и дерму (т. е. дермальный слой).

[0093] Термин «жировой», используемый в настоящем документе, означает слой, содержащий адипоциты (т. е. жировые клетки), которые находятся в подкожном слое.

[0094] Термин «электропорация», используемый в настоящем документе, означает использование электрического поля внутри ткани, которое временно и обратимо увеличивает проницаемость и/или пористость клеточных мембран клеток в ткани, тем самым позволяя агенту, например, быть введенным в клетки.

[0095] Термин «электропорационное поле», используемый в настоящем документе, означает электрическое поле, способное к электропорации клеток. В случаях, когда электрическое поле включает часть, которая способна к электропорации клеток, и другую часть, которая не способна к электропорации клеток, «электропорационное поле» конкретно относится к той части электрического поля, которая способна к электропорации клеток. Таким образом, электропорационное поле может быть поднабором электрического поля.

[0096] Термин «зона», используемый в настоящем документе, означает объем пространства, такой как объем пространства внутри ткани.

[0097] Термин «зона трансфекции», используемый в данном документе, означает объем ткани, в котором происходит трансфекция, и может использоваться как синоним термина «объем трансфекции».

[0098] Термин «клеточная инфильтрация», используемый в настоящем документе, означает миграцию клеток в объем ткани.

[0099] Термины «электропорационное устройство с внутрикожными игольчатыми электродами» и «ЭП с ВК игольчатым электродом», используемые в настоящем документе, относятся к электропорационному устройству предшествующего уровня техники, в котором используется электродная матрица из трех (3) игольчатых электродов, расположенных треугольным образом для электропорации внутрикожной ткани.

[00100] Варианты осуществления, описанные ниже, относятся к системам и устройствам, которые выполняют вакуумную электропорацию ткани, в частности целевого слоя ткани, такого как внутрикожная ткань или жировая ткань. Эти варианты осуществления подвергают целевой объем ткани (или «объем ткани») действию вакуумметрического давления (т. е. отрицательного давления) для деформации ткани способом, благоприятным для электропорации клеток в целевой зоне в слое ткани. В частности, открытый конец вакуумного устройства, такого как вакуумная банка, помещается в контакт с внешней поверхностью ткани (например, «кожей»), покрывающей объем ткани, и к внутренней части банки прикладывается вакуумметрическое давление, тем самым втягивая объем ткани в вакуумную банку, которая позиционно прикрепляет объем ткани к банке, позволяя электродам, расположенным внутри вакуумной банки, генерировать предсказуемое, по существу однородное электропорационное поле в объеме ткани, что приводит к предсказуемой, по существу равномерной зоне трансфекции внутри объема ткани. Вакуумметрическое давление, обеспечиваемое описанными ниже вариантами осуществления, также обеспечивает благоприятное перераспределение текучей среды в объеме ткани, включая благоприятное диспергирование инъектата *in vivo* в объеме ткани, а также благоприятное проникновение и выход текучей среды *in vivo* внутрь и наружу целевой зоны. Иными словами, вакуумметрическое давление усиливает дисперсию инъектата по всей ткани, увеличивая зону трансфекции, а также втягивает больше текучей среды *in vivo* в целевую зону, увеличивая количество клеток, подвергающихся воздействию трансфицированных клеток. Авторы изобретения обнаружили, что вакуумные электропорационные терапии, описанные в этом раскрытии, привели к усилению реакции субъектов на инъектаты.

[00101] Авторы изобретения также неожиданно и неожиданно обнаружили, что применение вакуумметрического давления может вызывать трансфекцию в объеме ткани даже без электропорации. Не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, авторы изобретения полагают, что вакуумметрическое давление, создаваемое вакуумной банкой, создает механические напряжения на клеточных мембранах в объеме ткани, что увеличивает проницаемость клеточных мембран и, таким образом, наблюдаемую трансфекцию в объеме ткани. Авторы изобретения также полагают, что вышеупомянутое

перераспределение текучей среды также может быть, по меньшей мере, частично ответственным за наблюдаемую трансфекцию без электропорации. Изобретатели также полагают, что вышеупомянутое перераспределение текучей среды и механические напряжения, вероятно, взаимодействуют друг с другом, создавая благоприятную среду в объеме ткани для трансфекции внешних агентов в клетки.

[00102] Кроме того, варианты осуществления, описанные ниже, также могут быть адаптированы между использованиями и/или во время использования без механической реконфигурации. Например, во время и/или между использованиями электрические параметры электродов можно регулировать по мере необходимости, чтобы манипулировать электропорационным полем в объеме ткани для достижения благоприятных результатов терапии. Дополнительно или альтернативно, вакуумметрическое давление можно регулировать по мере необходимости во время и/или между использованиями, чтобы физически манипулировать объемом ткани для достижения благоприятных результатов терапии. Например, более высокое вакуумметрическое давление может быть применено для втягивания большего объема ткани в вакуумную банку, а более низкое вакуумметрическое давление может быть применено для втягивания меньшего объема ткани в вакуумную банку. Таким образом, одна и та же вакуумная банка может использоваться для нацеливания на различные слои ткани для электропорационной терапии путем выборочного воздействия электропорационного поля на разные слои ткани. Кроме того, вакуумметрическое давление может пульсировать во время использования, чтобы управлять механическим поведением нацеленной ткани, например, для улучшения перераспределения текучей среды внутри ткани.

[00103] Ссылаясь теперь на **фиг. 1**, электропорационная система 100 для терапии пациента в соответствии с настоящим раскрытием содержит вакуумное электропорационное устройство 2, которое содержит корпус 4, определяющий внутреннюю вакуумную камеру 6, и множество электродов 8 (см. например, **фиг. 2A-2C**), расположенных внутри камеры 6. Множество электродов 8 расположены в матрицу 9 электродов 8, которая также может называться электродной матрицей 9. Устройство 2 также можно назвать «вакуумной банкой» или просто «банкой». Корпус 4 можно назвать «корпусом банки». Вакуумная банка 2 выполнена таким образом, что врач может поместить дистальный конец 10 вакуумной банки 2 на внешнюю поверхность 101 ткани 102, предназначенной для электропорационной терапии, и может прикладывать вакуумметрическое давление к вакуумной камере 6 для втягивания, вытягивания или иным образом введения ткани 102 в вакуумную камеру 6 и приведения в контакт с электродами 8 в ней. Электроды 8 выполнены с возможностью подачи одного или большего количества электропорационных импульсов к ткани 102, втянутой в камеру 6 и удерживаемой в ней вакуумметрическим давлением. Ткань 102 содержит слой, предназначенный для терапии, такой как жировая ткань 103 (также называемая в настоящем документе «жировой слой» 103) или внутрикожная ткань 104 (также называемая в настоящем документе «кожный слой» 104).

[00104] Вакуумная банка 2 содержит одно или большее количество соединительных элементов, таких как порты, для соединения с одним или большим количеством внешних компонентов. Например, вакуумная банка 2 имеет первый порт 12 для обеспечения сообщения по текучей среде между вакуумной камерой 6 и источником 106 вакуума, таким как вакуумный насос. Вакуумная банка 2 также может иметь второй порт 14 для обеспечения доступа к электрической схеме 108, обеспечивающей электрическую связь между электродами 8 и источником 110 энергии, таким как генератор энергии. Вакуумная банка 2 может дополнительно содержать третий порт 16 для обеспечения внешнего инструмента, такого как инъекционное устройство 18, несущего инъеكتат, в частности инъеكتат, содержащий агент, с доступом к вакуумной камере 6. Как показано, инъекционное устройство 18 может быть иглой для подкожных инъекций, хотя вакуумная банка 2 может быть приспособлена для использования с другими типами инъекционных устройств 18, включая струйные инъекционные устройства, как более подробно описано ниже. Также следует понимать, что вакуумную банку 2 можно необязательно использовать после инъекции агента в ткань 102.

[00105] Источник 110 энергии может иметь электрическую связь с генератором 112 сигналов, таким как генератор формы волны, для генерирования и передачи электрического сигнала в форме одного или большего количества электрических импульсов, имеющих определенные электрические параметры, к электродам 8 для электропорации клеток внутри ткани 102 в вакуумной камере 6. К таким электрическим параметрам относятся электрический потенциал (напряжение), тип электрического тока (переменный ток (AC) или постоянный ток (DC)), величина электрического тока (сила тока), длительность импульса, количество импульсов (т. е. количество подаваемых импульсов) и временной интервал или «задержка» между импульсами (при мульти-импульсных подачах). Генератор 112 сигналов может содержать регистратор формы волны для регистрации электрических параметров подаваемого(ых) импульса(ов). Генератор 112 сигналов может иметь электрическую связь с блоком 114 управления (также именуемым в настоящем документе «контроллер»), который может содержать процессор 116, выполненный с возможностью управления работой электропорационной системы 100, включая работу генератора 112 сигналов. Процессор 116 может иметь электронную связь с памятью 118 компьютера и может быть выполнен с возможностью исполнения программного и/или микропрограммного обеспечения, включая один или большее количество алгоритмов для управления работой системы 100. Процессор 116 может иметь электрическую связь с пользовательским интерфейсом 120, который может содержать дисплей 122 для представления информации, относящейся к работе системы 100, и клавиатуру 124, позволяющую оператору, такому как врач, вводить информацию, такую как команды, относительно работы системы 100. Следует понимать, что дисплей 122 может быть дисплеем с сенсорным экраном, позволяющим оператору вводить информацию непосредственно на дисплей 122. Также следует понимать, что интерфейс 120 может быть

компьютерным интерфейсом, таким как настольный компьютер или портативный компьютер, или ручным электронным устройством, таким как смартфон и т. п.

[00106] Ссылаясь теперь на **фиг. 2А-2В**, дистальный конец 10 вакуумной банки 2 образует по меньшей мере одно отверстие 20, ведущее в вакуумную камеру 6. Отверстие 20 может быть круглым, как показано, хотя другие формы отверстий входят в объем настоящего раскрытия, как более подробно описано ниже. Дистальный конец 10 вакуумной банки 2 (и, следовательно, также отверстие 20) может быть образован корпусом 4, который может определять внутреннюю поверхность 22, проходящую от дистального конца 10 корпуса до проксимального конца 24 камеры 6. Соответственно, камера 6 также проходит от дистального конца 10 до проксимального конца 24. Внутренняя поверхность 22 по меньшей мере частично определяет границы вакуумной камеры 6. Внутренняя поверхность 22 предпочтительно имеет геометрическую форму колокола или кривую колокола. Дистальная часть 22а внутренней поверхности 22, ведущая в камеру 6 от дистального конца 10, может иметь клиновидный закругленный контур для уменьшения или иного смягчения повреждения, такого как кровоизлияние, ткани на периферии дистального конца 10 во время использования вакуумной банки 2. Дистальную часть 22а можно назвать «вводной» частью 22а внутренней поверхности 22. Проксимальная часть внутренней поверхности 22, например, на проксимальном конце 24 вакуумной камеры 6, может называться «проксимальной концевой поверхностью» или просто «концевой поверхностью» вакуумной камеры 6.

[00107] По меньшей мере от одного до всех электродов 8 проходят вдоль внутренней поверхности 22. Как показано, электроды 8 могут проходить вдоль внутренней поверхности 22 между дистальным концом 10 и проксимальным концом 24 относительно продольного направления L, ориентированного вдоль центральной оси X корпуса 4. Электроды 8 настоящего варианта осуществления предпочтительно в значительной степени жесткие, хотя в других вариантах осуществления электроды 8 могут иметь определенную степень гибкости. Электроды 8 могут содержать тонкие слои проводящего материала, соединенного (например, посредством покрытия, осаждения, соединения и/или адгезии) со связанными по существу жесткими непроводящими поддерживающими телами, которые могут быть изготовлены из пластика или других подходящих непроводящих материалов. Электроды 8 могут иметь геометрические формы поверхности, по существу соответствующие внутренней поверхности 22. Электроды 8 могут быть вытянуты в направлении, имеющем направляющий компонент вдоль продольного направления L. Электроды 8 могут также проходить вдоль внутренней поверхности 22 вдоль окружного направления C вокруг центральной оси X. Как показано на **фиг. 2В-2С**, каждый из электродов 8 может определять окружной размер C1 (или «ширину» C1), измеренный вдоль окружного направления C. Электроды 8 могут быть расположены через равные угловые интервалы A1 вокруг центральной оси X. Угловые интервалы A1 могут быть измерены от соответствующих центральных осей 8x электродов 8. Как показано на **фиг. 2В**, электроды 8 могут быть расположены, например, с угловыми интервалами A1 в девяносто градусов вокруг

центральной оси X. Таким образом, можно сказать, что электроды 8 расположены симметрично относительно центральной оси X. Следует понимать, что другие угловые интервалы A1 между электродами 8 входят в объем настоящего раскрытия, как более подробно описано ниже. Более того, в некоторых вариантах осуществления угловые интервалы A1 между электродами 8 могут изменяться вдоль внутренней поверхности 22. То есть электроды 8 могут быть размещены с неравномерными интервалами вокруг центральной оси X. Кроме того, электроды 8 не обязательно должны располагаться симметрично вокруг центральной оси X.

[00108] Как показано на **фиг. 2С**, каждый электрод 8 может определять длину L1 электрода, измеренную от первого конца 8a до второго конца 8b электрода 8, расположенных друг от друга вдоль оси 8x центрального электрода. Электроды 8 также могут иметь первую и вторую стороны 8c, d, расположенные на расстоянии друг от друга, чтобы определить ширину C1 электрода вдоль окружного направления C. Каждый электрод 8 может иметь внутреннюю поверхность 8z электрода, которая предназначена для контакта с поверхностью 101 ткани для подачи одного или большего количества электропорационных импульсов. Внутренняя поверхность 8z электрода может проходить от первого конца 8a до второго конца 8b и от первой стороны 8c до второй стороны 8d электрода 8. Каждый электрод 8 может определять первичную или «контактную» часть 8e, которая проходит от второго конца 8b электрода к первому концу 8a электрода, а также проходит от первой ко второй стороне 8a, b электрода 8. Как показано, ширина C1 электрода может быть измерена между первой и второй сторонами 8a, b электрода и не обязательно должна быть одинаковой вдоль контактной части 8e. Длина L1 и ширина C1 электрода могут находиться в диапазоне от около 1,0 мм до около 30 мм, более конкретно в диапазоне от около 2 мм до около 25 мм и более конкретно в диапазоне от около 4 мм до около 20 мм. Электроды 8 могут определять толщину T1 (см. **фиг. 2F**) в диапазоне от около 0,0005 мм до около 2,000 мм. Следует понимать, что длина L1 электрода может быть больше, меньше или эквивалентна ширине C1 электрода.

[00109] Часть внутренней поверхности 8z электрода в пределах контактной части 8e может называться «контактной поверхностью» 8z электрода. Контактная поверхность 8z может проходить дугообразно и концентрически (т. е. может иметь одну и ту же центральную точку) с внутренней поверхностью 22 корпуса 4 в базовой плоскости, ортогональной центральной оси X. Контактная поверхность 8z также может иметь криволинейный контур, который по существу совпадает с внутренней поверхностью 22 в направлении вдоль центральной оси 8x электрода. Как показано, контактные поверхности 8z могут быть гладкими, хотя в других вариантах осуществления контактные поверхности 8z могут быть текстурированы для улучшения сцепления с тканью 102, например, с помощью выступов, ямочек, насечек, микроигл и/или шероховатой поверхностью, в качестве неограничивающих примеров. В дополнительных вариантах осуществления на контактные поверхности 8z можно наносить покрытие или клей для улучшения сцепления и/или проводимости между электродом 8 и тканью 102. Электроды 8 также могут

определять вторичную часть 8f, которая проходит от контактной части 8e до первого конца 8a и может быть выполнена с возможностью соединения с соответствующим выводом электрической схемы 108 для передачи электропорационного импульса(ов) на электроды 8.

[00110] Ссылаясь теперь на **фиг. 2D**, корпус 4 может содержать тело 26 корпуса, которое может быть изготовлено из материала, предпочтительно обладающего некоторой гибкостью, такого как полимерный материал, включая, в качестве неограничивающих примеров, полиэфирэфиркетоны (PEEK), полифталамиды (PPA), полиэтилены, поликарбонаты, политеримиды (PEI), поливинилхлориды (PVC), политетрафторэтилены (PTFE), полиамиды, полиимиды, полисилоксаны (силикон), полиэтилентерефталаты, полиуретаны, сшитые или несшитые каучуки (эластомеры), полиэферы. Следует понимать, что для тела 26 корпуса могут использоваться другие биосовместимые и/или медицинские материалы. Тело 26 корпуса необязательно может представлять собой монолитную структуру, определяющую корпус 4, хотя тело 26 корпуса не обязательно должно быть монолитной структурой и вместо этого может содержать два или большее количество компонентов тела, соединенных вместе для образования корпуса 4. Тело 26 корпуса проходит от проксимального конца 28 к дистальному концу 10 в продольном направлении L. Тело 26 корпуса также определяет стенку 30, которая проходит от внутренней поверхности 22 к внешней поверхности 32 корпуса 4. Стенка 30 проходит по окружности по всему периметру вакуумной камеры 6.

[00111] Тело 26 корпуса определяет порты 12, 14, 16. Как показано, каждый из первого, второго и третьего портов 12, 14, 16 может быть прилегающим к проксимальному концу 28 тела 26 корпуса и удаленным от дистального конца 10. Другими словами, порты 12, 14, 16 могут быть расположены ближе к проксимальному концу 28, чем к дистальному концу 10 корпуса 4. Первый порт 12, который также можно назвать «вакуумным портом», проходит от вакуумной камеры 6 через тело 26 корпуса и к соединительному элементу 34 порта для соединения с фитинговым элементом 36, который взаимно соединяет вакуумный порт 12 с источником вакуума 106. Соединительный элемент 34 порта может содержать седло 38 и трубчатое удлинение 40, которое проходит наружу от седла 38 и определяет приемную часть таким образом, что седло 38 определяет внутренний конец приемной части. Фитинговый элемент 36 может содержать соединительный элемент 42 фитингового элемента и проходящий от него канюлированный стержень 44. Соединительный элемент 42 фитингового элемента может быть трубчатым удлинителем, который взаимно соединяется с трубчатым удлинителем 40 соединительного элемента 34 порта, например, проходя сопрягающимся образом внутри приемной части, определенной трубчатым удлинителем 40. Односторонний клапанный элемент 46 может быть расположен на седле 38 (которое можно назвать «седлом клапана»). Клапанный элемент 46 может проходить от седла 38 клапана и находиться во внутреннем пространстве соединительного элемента 42 фитингового элемента, тем самым помещаясь в канал для текучей среды между вакуумным портом 12 и канюлированным стержнем 44 фитингового элемента 36. Клапанный элемент 46 может быть клапаном с утиным носом, как показано, хотя в других вариантах

осуществления, в качестве неограничивающих примеров, клапан 46 может быть шаровым клапаном или зонтичным клапаном.

[00112] Второй порт 14 может проходить напротив первого порта 12 и может быть выполнен с возможностью обеспечения прохождения электрической схемы 108, такой как провода, через корпус 4 и в контакт с электродами 8 в вакуумной камере 6. Второй порт 14 также может быть выполнен с возможностью обеспечения прохождения одного или большего количества дополнительных компонентов, таких как один или большее количество инструментов и/или один или большее количество датчиков, через корпус 4 в вакуумную камеру 6. Находясь внутри вакуумной камеры 6, такие инструменты и/или датчики могут быть закреплены в определенном положении по отношению к ткани за счет вакуумметрического давления, подаваемого в камеру 6. Третий порт 16 может проходить от проксимального конца 24 камеры 6 вдоль центральной оси X. Корпус 4 может определять монтажную формацию 48 на внешнем конце третьего порта 16. Монтажная формация 48 может быть выполнена с возможностью монтажа колпачка 50, такого как ограничитель прокола, на третий порт 16. Монтажная формация 48 и ограничитель прокола 50 могут иметь взаимодополняющие сопряженные геометрические формы, которые обеспечивают герметичное уплотнение между ограничителем прокола 50 и третьим портом 16. Ограничитель прокола 50 может быть изготовлен из материала, который может быть проколот иглой 18 для подкожных инъекций, позволяя игле 18 осуществлять инъекцию агента в ткань 102, втянутую в вакуумную камеру 6.

[00113] Продолжая ссылаться на **фиг. 2D**, электродная матрица 9 может быть расположена на вставке 52, такой как гильза, расположенной в камере 6 и проходящей вдоль внутренней поверхности 22 корпуса 4. Гильза 52 или по меньшей мере ее внешняя поверхность 53 может иметь по существу ту же геометрическую форму профиля, что и внутренняя поверхность 22 корпуса 4. Гильза 52 может быть изготовлена из гибкого материала, такого как, в качестве неограничивающих примеров, резина, силикон и термопластичные эластомеры. Как показано на **фиг. 2E**, внешняя поверхность 53 гильзы 52 может приклеиваться непосредственно к внутренней поверхности 22 корпуса 4 посредством фрикционной посадки, хотя для прикрепления гильзы 52 к внутренней поверхности можно дополнительно использовать один или большее количество клеев 22. Гильза 52 может проходить от первого или проксимального конца 54, прилегающего к проксимальному концу 24 вакуумной камеры 6, до второго или дистального конца 56, прилегающего к дистальному концу 10 корпуса 4. Дистальный конец 56 гильзы 52 может проходить внутри вводной части 22а внутренней поверхности 22 корпуса 4. Первый конец 54 может определять проксимальное отверстие 52а гильзы 52, которое может быть концентричным с центральной осью X, и дистальное отверстие 52b гильзы 52. Как более четко показано на **фиг. 2F**, первый конец 54 гильзы 52 может частично перекрывать первый порт 12, а также может частично перекрывать третий порт 16, обеспечивая проход для электрической схемы 206 в вакуумную камеру 6. Таким образом, гильзу 52 можно

использовать в качестве механизма для управления или по меньшей мере воздействия на вакуумметрическое давление внутри камеры 6.

[00114] Вакуумная камера 6 определяет объем V камеры, который определяется между проксимальным концом 24 камеры 6 и отверстием 10 в продольном направлении L , а также может быть по меньшей мере частично определен внутренней поверхностью 22 тела 26 корпуса, например, вдоль направления, по существу перпендикулярного продольному направлению L . В проиллюстрированном примере направление, перпендикулярное продольному направлению L , представляет собой радиальное направление R , которое пересекает центральную ось X . Объем V камеры также может быть по меньшей мере частично определен гильзой 52, например, вдоль радиального направления R . Камера 6 может иметь глубину $L2$, измеряемую от проксимального конца 24 камеры 6 до базовой плоскости, описывающей дистальный конец 10 корпуса 4. Глубина $L2$ камеры может находиться в диапазоне от около 1,0 мм до около 50,0 мм, более конкретно в диапазоне от около 3 мм до около 20 мм и более конкретно в диапазоне от около 5 мм до около 17 мм. Камера 6 также имеет базовую ширину, такую как базовый диаметр $D1$, который можно измерить в радиальном направлении R на дистальном конце 56 гильзы 52. Диаметр $D1$ камеры может находиться в диапазоне от около 1,0 мм до около 50,0 мм, более конкретно в диапазоне от около 3,0 мм до около 20,0 мм и более конкретно в диапазоне от около 6,0 мм до около 17,0 мм. В настоящем варианте осуществления диаметр $D1$ камеры может быть измерен между противоположными частями внутренней поверхности 55 гильзы 52 на ее дистальном конце 56. В других вариантах осуществления гильза 52 может отсутствовать, а электроды 8 могут быть прикреплены непосредственно к внутренней поверхности 22 корпуса 4, например, путем их заделки или по меньшей мере частичной заделки в стенку 30 корпуса. В таких вариантах осуществления вакуумная камера 6 и, следовательно, объем V камеры могут быть по меньшей мере частично определены внутренней поверхностью 22 корпуса 4 и внутренними поверхностями 8z электродов 8. Соответственно, в таких вариантах осуществления диаметр $D1$ камеры может быть измерен между противоположными частями внутренней поверхности 22 корпуса 4 на дистальных концах 8b электродов 8.

[00115] Ссылаясь теперь на **фиг. 3А-3В**, гильза 52 может нести каждый из электродов 8 и, таким образом, электродную матрицу 9. Соответственно, гильза 52 также может называться основанием, опорой или подложкой электродной матрицы. В проиллюстрированном варианте осуществления электродная матрица 9 определяет электродную схему, которая содержит первый электрод 8-1, второй электрод 8-2, третий электрод 8-3 и четвертый электрод 8-4, так что электроды 8-1, 8-2, 8-3, 8-4 с первого по четвертый расположены с интервалом $A1$ в девяносто градусов вокруг центральной оси $X2$ гильзы 52 (которая по существу совпадает с центральной осью X корпуса 4 банки, когда туда вставлена гильза 52). Электродная матрица 9 настоящего варианта осуществления может быть охарактеризована как имеющая общее количество электродов $8n$, то есть четыре (4) электрода 8. Общее количество электродов $8n$ также может упоминаться в

настоящем документе как «общее количество» 8*n* или просто «всего» 8*n*. Гильза 52 также может быть взаимозаменяемой с другими гильзами 52, имеющими другие схемы и конфигурации электродной матрицы 9, например, для создания электрических полей с другими характеристиками внутри ткани 102, втянутой в вакуумную камеру 6. Например, как показано на **фиг. 3С-3D**, гильза 52 может иметь электродную матрицу 9, которая содержит четыре электрода 8, расположенных с интервалом в девяносто градусов вокруг центральной оси X2 гильзы 52, как указано выше; однако каждый из электродов 8 может иметь более узкий окружной размер C1 и, таким образом, также меньшую совокупную площадь поверхности, чем электроды 8 в варианте осуществления, описанном выше. Как показано на **фиг. 3E-3F**, гильза 52 может иметь электродную матрицу 9, которая содержит шесть (6) электродов 8, расположенных с интервалами в шестьдесят градусов вокруг центральной оси X2. Как показано на **фиг. 3G-3H**, электродная матрица 9 может содержать десять (10) электродов 8, расположенных с интервалом в тридцать шесть градусов вокруг центральной оси X2.

[00116] Как показано на **фиг. 3I-3J**, электродная матрица 9 может содержать семь (7) электродов 8, расположенных на расстоянии друг от друга в продольном направлении L и каждый из которых проходит по всей окружности гильзы 52. Такая конструкция матрицы 9 может позволить электродам 8 пульсировать или «зажигаться» в последовательности(ях), которая перемещает результирующее электропорационное поле «вверх» и/или «вниз» через объем ткани, захваченной вакуумной банкой 2.

[00117] Как показано на **фиг. 3K-3L**, электродная матрица 9 может содержать множество вытянутых по окружности электродов 8, включая четыре (4) поднабора 9a-d вытянутых по окружности электродов 8. Электроды 8 в каждом поднаборе 9a-d могут быть по существу выровнены друг с другом в продольном направлении, и каждый поднабор 9a-d может быть отделен по окружности от каждого соседнего поднабора 9a-d электродов 8. В настоящем примере каждый поднабор 9a-d электродов 8 может содержать пять (5) электродов 8, расположенных в продольном направлении. Соответственно, гильза 52 может содержать в общей сложности двадцать (20) вытянутых по окружности электродов 8. В настоящем варианте осуществления электроды 8 в каждом поднаборе 9a-d могут иметь угловой размах A2 в диапазоне от около 1 градуса до около 90 градусов вокруг центральной оси X2, с межэлектродным размахом A3 в диапазоне от около 1 градуса до около 90 градусов между прилегающими поднаборами 8a-d. Разнесение подмножеств 9a-d по окружности друг от друга позволяет, среди прочего, запускать поднаборы 9a-d (или иным образом приводить в действие источник тока или источник напряжения) независимо друг от друга. Это может помочь гарантировать, что каждая из областей в пределах объема ткани, прилегающая к поднаборам 9a-d и связанная с ними (в этом варианте осуществления, такие области ткани могут быть охарактеризованы как «квадранты» объема ткани), получает покрытие электропорационного поля, что приводит к более симметричному электропорационному полю и может избежать случая, когда локальные различия в

проводимости ткани внутри объема ткани отклоняют электропорационное поле от одной или большего количества областей внутри объема ткани.

[00118] Кроме того, разнесенные по окружности поднаборы 9a-d, показанные на **фиг. 3К-3L**, также могут обеспечивать генерацию уникальных направленных электропорационных полей в объеме ткани, например, для электроимпульсного воздействия на клетки под разными углами (т. е. подвергая клетки воздействию градиентов электропорационного поля по разным направлениям) в последующих импульсах, что может обеспечить более эффективную электропроницаемость клеток, чем электроимпульсное воздействие на клетки с одного направления. Следует понимать, что такие мульти-направленные электропорационные поля также могут создаваться с помощью различных конструкций матриц, показанных на **фиг. 3А-3Н**. Однако, разнесенные по окружности поднаборы 9a-d, показанные на **фиг. 3К-3L** также позволяют электродам 8 загораться не только в боковом направлении и/или по окружности по объему ткани, но также «вверх» и/или «вниз» по объему ткани. За счет увеличения количества электродов 8 в матрице 9 также может быть увеличено количество возможных уникальных схем импульсов, что также обеспечивает более однородное покрытие электропорационного поля, учитывая, что электропорационные поля концентрируются на контактных поверхностях 8z электродов 8.

[00119] Следует принимать во внимание, что различные схемы электродных матриц 9, описанные выше, представлены в качестве неограничивающих примеров, и что другие конфигурации электродных матриц 9 входят в объем настоящего раскрытия. Например, один или большее количество параметров электродных матриц 9, описанных выше, могут быть адаптированы по мере необходимости, включая, помимо прочего: количество электродов 8 в каждой матрице 9; длину L1 и ширину С1 электрода; и межэлектродное расстояние. Эти параметры могут влиять на трехмерную (3D) форму электрического поля (и, следовательно, также на 3D форму электропорационного поля). Иными словами, размер, форма и расположение электродов 8 могут быть подобраны по мере необходимости, чтобы сфокусировать распределение электрического поля в ткани 102 таким образом, чтобы обеспечить улучшенную электропорационную терапию.

[00120] Теперь со ссылкой на **фиг. 4А-4F** будет описан пример способа использования вакуумной банки 2 для обеспечения электропорационной терапии жировой ткани 103.

[00121] Как показано на **фиг. 4А**, врач может поместить дистальный конец 10 вакуумной банки 2 на внешнюю поверхность 101 кожи 104 пациента в месте, расположенном над целевой зоной 105 жировой ткани 103. Целевая зона 105 может быть выбрана заранее или может быть результатом размещения вакуумной банки 2. Предпочтительно врач располагает по всей окружности дистальный конец 10 в контакт с кожей 104.

[00122] Как показано на **фиг. 4В**, врач может подавать импульс вакуумметрического давления (также называемый в настоящем документе «вакуумный импульс») в вакуумную

камеру 6, в частности, активируя источник вакуума для создания вакуумметрического давления в диапазоне от около -0,1 фунта на кв. дюйм до около -14,7 фунта на кв. дюйм и, более предпочтительно, в диапазоне от около -3 фунта на кв. дюйм до около -14,7 фунта на кв. дюйм внутри вакуумной камеры 6, достаточный для того, чтобы втянуть объем или «холмик» 140 ткани 102 в камеру 6 и в контакт с контактными поверхностями 8z электродов 8. Следует понимать, что величины вакуумметрического давления, включенные в данное раскрытие, относятся к таким давлениям относительно атмосферного давления, измеренного на уровне моря. Контактное давление между холмиком 140 ткани (в частности, его кожным слоем 104) и внутренней поверхностью 22 банки 2 может находиться в диапазоне от около 0,1 фунта на кв. дюйм до около 200 фунтов на кв. дюйм. Таким образом, вакуумная банка 2 втягивает по меньшей мере часть целевой зоны 105 в зону 107 терапии, определенную банкой 2. В настоящем примере холмик 140 ткани содержит кожу 104 и жировую ткань 103. Для целей настоящего раскрытия зона 107 терапии определяется как часть объема ткани (например, холмик 140 ткани), которая проходит между электродами 8. Как показано, нижняя граница 107a зоны 107 терапии может быть определена воображаемым путем, проходящим вдоль и между вторыми концами 8b электродов 8. Таким образом, после того, как холмик 140 ткани втянут в вакуумную камеру 6, зона 107 терапии настоящего варианта осуществления будет содержать по меньшей мере часть холмика 140 ткани и по меньшей мере часть места 109 инъекции (см. **фиг. 4C**) в нем. В проиллюстрированном варианте осуществления ткань, расположенная в зоне 107 терапии во время терапии, ограничена кожным слоем 104 и жировым слоем 103. В других вариантах осуществления зона 107 терапии может содержать слой 111 гладкой мускулатуры. Зона 107 терапии предпочтительно не содержит внутри себя никаких скелетных мышц. Как описано выше, вакуумметрическое давление предпочтительно является достаточным для обеспечения надежного захвата вакуумной банки 2 на холмике 140 ткани, тем самым сохраняя относительное положение вакуумной банки 2 и холмика 140 ткани. Хотя проиллюстрированный вариант осуществления иллюстрирует, что кожа 104 холмика 140 ткани находится в непосредственном контакте с контактными поверхностями 8z электродов 8, следует понимать, что для улучшения электрической связи между электродами 8 и кожей 104 можно использовать дополнительные вещества, такие как проводящий гель.

[00123] Как показано на **фиг. 4C**, врач может осуществить инъекцию агента в жировую ткань 103 холмика 140. Чтобы выполнить инъекцию, врач может ввести иглу 18 для подкожных инъекций через ограничитель прокола 50, вдоль третьего порта 16, через кожу 104 и в жировую ткань 103 в объеме V камеры. Затем врач может осуществить инъекцию агента в место инъекции в жировой ткани 103, а затем извлечь иглу 18 для подкожных инъекций из вакуумной банки 2. Авторы изобретения с удивлением и неожиданно обнаружили, что инъецируемый 142, выбрасываемый из иглы для подкожных инъекций 18 в жировую ткань 103, распределяется по направлению к коже 104 в ответ на вакуумметрическое давление, а не остается в скопившемся болюсе 142a в жировой ткани

103. Соответственно, врач может осуществить инъекцию инъектата 142 вблизи или на дне зоны 107 терапии или даже немного ниже зоны 107 терапии и позволить вакуумметрическому давлению эффективно вытянуть инъектат 142 вверх в зону 107 терапии, даже обеспечивая концентрацию инъектата 142 в зоне 107 терапии. Изобретатели также полагают, основываясь на наблюдениях во время испытаний, что вакуумметрическим давлением можно управлять, чтобы помочь смешать инъектат 142 с текучими средами *in vivo*, внеклеточными компонентами и клетками, а также удерживать инъектат 142 в зоне 107 терапии таким образом, чтобы увеличить задержку инъектата 142 в ней, тем самым увеличивая трансфекцию.

[00124] Следует иметь в виду, что в некоторых вариантах осуществления игла 18 может оставаться вставленной в ткань 102 после инъекции, и по меньшей мере часть иглы 18 может содержать датчик 152 для определения параметра ткани 102, такого как электрический параметр во время или после электропорации, как более подробно описано ниже.

[00125] Как показано на **фиг. 4D**, врач может подать один или большее количество электропорационных импульсов к холмику 140 ткани. В частности, врач может заставить генератор 112 сигналов подавать электропорационный сигнал в форме одного или большего количества электропорационных импульсов на электроды 8, которые, в свою очередь, подают один или большее количество электропорационных импульсов на ткань 102, находящуюся в контакте с электродами 8, тем самым создавая в проиллюстрированном варианте осуществления электропорационное поле 144 в жировой ткани 103 в зоне 107 терапии. Электропорационное поле 144 по существу вызывает обратимую часть клеточных мембран клеток (например, жировых клеток) в зоне 107 терапии, вызывая трансфекцию инъектата во временно порированные клетки. Таким образом, электропорационное поле 144 создает зону трансфекции в зоне 107 терапии. Электропорационное поле 144, создаваемое электродами 8 настоящего варианта осуществления, имеет по существу сферическую форму. Следует понимать, что электропорационное поле 144 представляет собой подобласть электрического поля 145, создаваемого электродами 8 во время подачи импульса.

[00126] Один или большее количество электропорационных импульсов, подаваемых электродами 8, могут иметь электрический потенциал (напряжение) в диапазоне от около 5 В до около 1000 В (1 кВ).

[00127] Один или большее количество электропорационных импульсов могут иметь электрический ток (силу тока) в диапазоне от около 0,01 А до около 2,0 А.

[00128] Каждый из одного или большего количества электропорационных импульсов может иметь продолжительность в диапазоне от около 100 микросекунд до около 500 миллисекунд.

[00129] Количество электропорационных импульсов может находиться в диапазоне от 1 импульса до около 10 импульсов.

[00130] Для мульти-импульсной доставки каждый электропорационный импульс может быть отделен во времени от соседних импульсов задержкой импульса в диапазоне от около 1 миллисекунды до около 1 секунды.

[00131] В некоторых вариантах осуществления электропорационный сигнал может содержать 3 импульса при напряжении приблизительно 200 В продолжительностью приблизительно 100 миллисекунд с задержкой между импульсами в 200 миллисекунд. В других вариантах осуществления электропорационный сигнал может содержать 3 импульса при напряжении приблизительно 50 В продолжительностью приблизительно 100 миллисекунд с задержкой между импульсами в 200 миллисекунд. В еще других вариантах осуществления электропорационный сигнал может содержать 10 импульсов при напряжении приблизительно 50 В продолжительностью 100 миллисекунд с задержкой между импульсами в 1 миллисекунд. В еще других вариантах осуществления электропорационный сигнал может содержать 8 импульсов при напряжении 75 В продолжительностью приблизительно 100 миллисекунд с задержкой между импульсами приблизительно в 100 миллисекунд. В еще других вариантах осуществления электропорационный сигнал может содержать 3 импульса напряжением от приблизительно 500 В до приблизительно 1000 В продолжительностью приблизительно от 10 микросекунд до приблизительно 100 микросекунд с задержкой между импульсами приблизительно от 100 миллисекунд до приблизительно 1 секунды. Следует понимать, что приведенные выше электропорационные сигналы представлены в качестве неограничивающих примеров, в частности, для обратимого образования пор для доставки ДНК в клетки. Следует также понимать, что варианты осуществления, раскрытые в настоящем документе, могут быть адаптированы для обеспечения других типов терапии, включая доставку других типов агентов в клетки, таких как, в качестве неограничивающих примеров, доставка малых молекул в клетки, электрохимиотерапия и необратимая электропорация.

[00132] При терапиях, включающих множество электропорационных импульсов, эти импульсы могут подаваться электродами 8 в виде последовательности или схемы импульсов, в которой: первый электропорационный импульс подается первым положительным поднабором электродов 8 через ткань 102 к первому отрицательному поднабору электродов 8; второй электропорационный импульс подается вторым положительным поднабором электродов 8 через ткань 102 ко второму отрицательному поднабору электродов 8; и так далее, вплоть до конечного электропорационного импульса терапии. Во время каждого электропорационного импульса каждый положительный и отрицательный поднабор электродов 8 может варьироваться от одного электрода 8 до любой комбинации электродов 8, которая по меньшей мере на один меньше (т. е. $8n-1$), чем общее количество электродов $8n$ матрицы 9. Схема электропорационных импульсов может подаваться в соответствии с запрограммированной последовательностью, которую пользователь может вводить в контроллер 114 (например, через пользовательский интерфейс 120). Кроме того, последовательность электропорационных импульсов необязательно может быть подана в децентрализованной схеме. В таких

децентрализованных последовательностях схем каждый импульс из множества электропорационных импульсов может подаваться между набором, состоящим по меньшей мере из двух электродов 8, и каждый последующий импульс из множества электропорационных импульсов подается другим набором из по меньшей мере двух электродов 8. Децентрализованные схемы электропорационных импульсов могут свести к минимуму или, предпочтительно, исключить возникновение теплового стресса, связанного с электропорацией, в ткани 102, подвергаемой электропорации, и могут повысить однородность электрического поля, генерируемого в ткани 102.

[00133] Вакуумная банка 2 может быть выполнена с возможностью восприятия, измерения или иным образом обнаружения одного или большего количества электрических параметров ткани 102 во время подачи электропорационного импульса и передачи обнаруженной информации обратно в контроллер 114 для диагностики и обратной связи. Электрические параметры, обнаруженные в ткани 102, могут включать, в качестве неограничивающих примеров, напряжение, ток, импеданс и/или сопротивление. Один из методов обнаружения таких параметров во время подачи электропорационного импульса заключается в том, чтобы заставить по меньшей мере один из электродов 8 измерять желаемый электрический параметр во время импульса. Такой электрод 8 можно охарактеризовать как воспринимающий электрод 8 или просто «датчик». Воспринимающий электрод 8 может быть нейтральным во время импульса. В качестве неограничивающего примера децентрализованной последовательности схемы электропорационных импульсов, каждый импульс из множества электропорационных импульсов может подаваться между набором из по меньшей мере двух электродов 8, в то время как по меньшей мере один другой электрод 8 является воспринимающим электродом 8, который является нейтральным и измеряет электрический параметр ткани 102, такой как импеданс, и при этом каждый последующий импульс из множества электропорационных импульсов подается другим набором по меньшей мере двух электродов 8, при этом по меньшей мере один электрод 8 является воспринимающим электродом 8, который нейтрален и измеряет электрический параметр. По меньшей мере один нейтральный электрод 8 может меняться от импульса к импульсу, хотя один и тот же электрод 8 (или набор электродов 8) может оставаться нейтральным в последовательных импульсах. В качестве альтернативы, во время электропорационного импульса по меньшей мере один электрод 8 из матрицы 9 может активно подавать импульс, одновременно измеряя электрический параметр ткани 102.

[00134] Другой необязательный метод определения электрических параметров во время подачи электропорационного импульса заключается в использовании по меньшей мере одного отдельного датчика для определения параметра. Отдельный датчик может быть неинвазивным датчиком 150, таким как, например, контактный датчик 150, как показано на **фиг. 4D**. Контактный датчик 150 выполнен с возможностью измерения параметра и передачи информации об измеренном параметре на контроллер 114. Контактный датчик 150 может быть вставлен в вакуумную камеру 6 через порт, такой как

второй порт 14. Врач может поместить контактный датчик 150 в контакт с тканью 102, например, с кожей 104, где контактный датчик 150 может измерить параметр. В других вариантах осуществления отдельным датчиком может быть инвазивный датчик 152, такой как датчик 152 зондового типа. В одном таком примере датчика 152 зондового типа датчик 152 может представлять собой часть инъекционной иглы 18, такую как ее область дистального кончика (см. **фиг. 4С**), которая может иметь электрическую связь с контроллером 114 для передачи информации об измеряемом параметре в контроллер 114. Следует понимать, что множество датчиков, включая один или большее количество неинвазивных датчиков 150 и один или большее количество датчиков 152 зондового типа, могут использоваться во время терапии для передачи информации, касающейся одного или большего количества электрических параметров ткани 102, в контроллер 114.

[00135] Информация об электрических параметрах, полученная контроллером 114, может использоваться для целей диагностики рабочих характеристик и/или для активного управления обратной связью электропорационного сигнала, подаваемого на электроды 8 и, таким образом, доставляемого в ткань 102. Например, для обеспечения активного управления с обратной связью один или большее количество датчиков 8, 150, 152 могут измерять один или большее количество соответствующих электрических параметров в ткани 102 и передавать информацию о параметре(ах) на контроллер 114. Процессор 116 может запускать программное обеспечение, включающее информацию о параметрах, например, путем выполнения одного или большего количества алгоритмов, включающих информацию о параметрах, для обработки или иного получения выходных данных, таких как управляющие команды для управления электропорационным импульсом. Алгоритм(ы) также может использовать данные параметров, извлеченные из памяти 118 компьютера. Следует понимать, что команды управления, полученные из алгоритма(ов), могут регулировать электропорационный импульс в реальном времени, например, практически мгновенно для целей электропорации, на основе информации о параметрах от датчика(ов) 8, 150, 152. Таким образом, электропорационная система 100 может использовать датчик(и) 8, 150, 152 в активной цепи обратной связи для постоянного контроля и регулировки электропорационного импульса по мере необходимости для достижения желаемого результата электропорационной терапии в целевой ткани 102. Методы и/или электронные компоненты для осуществления такого контроля с обратной связью могут быть использованы, как более полно раскрыто в патенте США 9,452,285, выданном 27 сентября 2016 г., озаглавленном «Electroporation Devices and Methods of Using Same for Electroporation of Cells in Mammals» (ссылка '285) и публикации патента США № 2011/0009807 A1, опубликованной 13 января 2011 г., озаглавленную «Variable Current Density Single Needle Electroporation System and Method» (ссылка '807), полное раскрытие каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00136] Как показано на **фиг. 4Е**, после одного или большего количества электропорационных импульсов врач может вернуть давление внутри вакуумной камеры 6 к атмосферному давлению, позволяя вакуумной банке 2 освободить ткань 102, которая

может вернуться к своей анатомической форме. Трансфицированные жировые клетки могут определять зону 105z трансфекции в жировом слое 103.

[00137] Ссылаясь теперь на **фиг. 4F**, отметим, что одно из существенных преимуществ вакуумной банки 2, раскрытой в настоящем документе, заключается в том, что она в сочетании с источником 106 вакуума позволяет врачу управлять объемом ткани 102 (т. е. размер холмика 140), втягиваемой в зону 107 терапии для электропорационной терапии. Соответственно, если целевая зона 105 находится исключительно в кожном слое 104, врач может приложить вакуумметрическое давление к вакуумной камере 6, необходимое для втягивания кожного слоя 104 в объем V камеры и его контакта с электродами 8, например, с их дистальными концами 8b. Если целевая зона 105 находится в жировом слое 103, врач может приложить повышенное вакуумметрическое давление, необходимое для втягивания жирового слоя 103 в зону 107 терапии. Если целевая зона 105 находится в мышечном слое, таком как слой гладкой мускулатуры, врач может приложить дополнительное повышенное вакуумметрическое давление, а также еще более повышенное вакуумметрическое давление, если целевая зона 105 находится в слое скелетных мышц. Следует понимать, что целевая зона 105 может находиться в одном слое ткани (например, в кожном слое 104 или жировом слое 103) или может находиться в нескольких слоях ткани, включая кожный слой 104, жировой слой 103 и, необязательно, слой гладкой мускулатуры. Вакуумметрическим давлением можно управлять по мере необходимости в соответствии с глубиной целевой зоны 105.

[00138] Еще одно существенное преимущество вакуумной банки 2 по настоящему раскрытию заключается в том, что вакуумная банка 2 в сочетании с источником 106 вакуума позволяет врачу подавать множество вакуумных импульсов на ткань 102 для улучшения взаимодействия между тканью и инъектатом, включая благоприятные механизмы диспергирования жидкости *in vivo*, описанные выше. Вакуумные импульсы можно применять до, во время и/или после инъекции, а также можно применять до, во время и/или после электропорации. Вакуумные импульсы могут подаваться в количестве от 1 импульса до 20 импульсов, и каждый импульс может иметь продолжительность в диапазоне от около 0,1 секунды до около 30 секунд. Вакуумные импульсы также можно применять с различным вакуумметрическим давлением и/или продолжительностью (и/или с различным временем между импульсами) для достижения желаемого результата.

[00139] Изобретатели сделали ряд удивительных и неожиданных наблюдений в отношении вакуумных банок 2 настоящего раскрытия. Например, изобретатели наблюдали неожиданное и удивительное усиление иммунного ответа у испытуемых, получавших терапию с помощью вакуумной электропорации с использованием вакуумной банки 2. Этот результат был удивительным и неожиданным, поскольку первоначальная цель изобретателей состояла в том, чтобы использовать вакуумную банку 2 для первичной цели достижения более надежного захвата исследуемой ткани по сравнению с захватом, обеспечиваемым электропорационными устройствами штангенциркульного типа предшествующего уровня техники. Изобретатели не смогли объяснить повышенные

иммунные реакции, измеренные ими у испытуемых, получавших терапию с помощью вакуумной банки 2, просто как результат повышенной стабильности положения между электродами 8 вакуумной банки и тканью. Следует отметить, что изобретатели также наблюдали неожиданное и удивительное количество клеточной инфильтрации в местах терапии, получивших терапию с помощью вакуумной банкой 2. После некоторых терапий с использованием вакуумной банки 2 изобретатели наблюдали синяки и изменение цвета кожи, характерные для эритем и/или гематом, причем последние связаны с проникновением крови через лопнувшие капилляры.

[00140] Не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, авторы изобретения полагают, что неожиданное усиление иммунного ответа и клеточной инфильтрации, вероятно, связано. Кроме того, авторы изобретения полагают, что повышенная клеточная инфильтрация по меньшей мере частично обусловлена естественной секрецией химических сигналов из лопнувших капилляров и близлежащих лейкоцитов в зоне терапии, которые привлекают дополнительные клетки, такие как дополнительные лейкоциты, для ответной миграции в зону терапии. Авторы изобретения также полагают, что наблюдаемая клеточная инфильтрация может быть по меньшей мере частично вызвана воспалительной реакцией. Кроме того, авторы изобретения полагают, основываясь на наблюдаемом распределении инъектата через ткань, реагирующую на вакуумметрическое давление, что *in vivo* текучие среды за пределами зоны 107 терапии механически втягиваются в зону 107 терапии, реагируя на вакуумметрическое давление.

[00141] Ссылаясь теперь на **фиг. 5A-5D**, будет описан вариант осуществления вакуумной банки 502, использующей гибкие электроды 508. Вакуумная банка 502 настоящего варианта осуществления подобна вакуумным банкам 2, описанным выше. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 502 настоящего варианта осуществления и вакуумными банками 2, описанными выше.

[00142] Как показано на **фиг. 5A-5B**, вакуумная банка 502 имеет тело 526 корпуса, которое определяет внутреннюю поверхность 522, частично определяющую вакуумную камеру 506. Тело 526 корпуса также определяет множество разгрузочных портов 560, которые проходят от внешней поверхности 532 тела 526 корпуса до множества каналов 562, определенных на внутренней поверхности 522 тела 526 корпуса. Каналы 562 могут содержать проксимальный канал 562 и дистальный канал 562, расположенные на расстоянии друг от друга в продольном направлении L. Каждый из каналов 562 может проходить по кольцу вдоль всего оборота вокруг центральной оси X, хотя в других вариантах осуществления один или большее количество из каналов 562 могут проходить по кольцу менее чем на полный оборот вокруг центральной оси X.

[00143] Вакуумная банка 502 содержит гибкую гильзу 552, которая находится внутри вакуумной камеры 506 и несет множество электродов 508, расположенных в электродной матрице 509. Гибкая гильза 552 имеет внешнюю поверхность 553, которая

прикреплена к внутренней поверхности 522 тела 526 корпуса. Гибкая гильза 552 перекрывает каналы 562, образуя гибкий барьер или мембрану между каналами 562 и вакуумной камерой 6. Электроды 508 расположены на внутренней поверхности 555 гильзы 552. Гильза 552 также может нести электрическую схему, такую как проводную электрическую схему или печатную электрическую схему, например, для обеспечения электрической связи между электродами 508 и контроллером 114. Электроды 508 настоящего варианта осуществления могут быть удлиненными по окружности, подобно электродам 8, описанным выше со ссылкой на **фиг. 3К-3L**. Один или большее количество электродов 508 и до каждого из них перекрывают по меньшей мере один из каналов 562 и выполнены из гибкого материала. Материалом электрода может быть металл, такой как, в качестве неограничивающих примеров, медь, нержавеющая сталь и золото. В качестве альтернативы или дополнительно материал электрода может содержать, в качестве неограничивающих примеров, проводящий полимер или аллотроп углерода, такой как графен, который может содержать углеродные нанотрубки. В других вариантах осуществления электроды 508 могут иметь непроводящие сердечники, покрытые проводящим материалом, например таким, что описан выше.

[00144] Электродная матрица 509 может содержать четыре (4) поднабора 509a-d электродов 508. Электроды 508 в каждом поднаборе 509a-d могут быть по существу выровнены вдоль продольного направления L, и каждый поднабор 509a-d может быть разнесен от каждого соседнего поднабора 509a-d вдоль периферийного направления C. Поднаборы 509a-d могут быть расположены на равном расстоянии друг от друга, например, с интервалами девяносто градусов вокруг центральной оси X. В проиллюстрированном примере каждый поднабор 9a-d содержит проксимальный электрод 508 и дистальный электрод 508, разнесенные друг от друга в продольном направлении, обеспечивая матрицу 509 в общем из восьми (8) электродов 508. Электроды 508 матрицы 509 также могут быть охарактеризованы как расположенные в проксимальном кольцевом ряду электродов 508, который перекрывает проксимальный канал 562, и в дистальном кольцевом ряду электродов 508, который перекрывает дистальный канал 562. Как описано выше, электроды 508 подключены к электрической схеме, которая обеспечивает электрическую связь между электродами 508 и контроллером 114. Следует понимать, что электрическая схема электродной матрицы 509 может быть выполнена таким образом, чтобы контроллер 114 мог управлять параметрами электропорационного импульса(ов) для каждого поднабора 509a-d электродов 508 по отдельности, а также мог дополнительно управлять параметрами электропорационного импульса(ов) для каждого электрода 508 отдельно в каждом поднаборе 509a-d.

[00145] Ссылаясь теперь на **фиг. 5C-5D**, гибкая гильза 552 и электроды 508 выполнены с возможностью изгибаться внутрь вакуумной камеры 6 (по направлению к центральной оси X) при приложении вакуумметрического давления внутри камеры 6, увеличивая контакт между контактными поверхностями 508z электродов 508 и тканью, втягиваемой в камеру 6. Разгрузочные порты 560 обеспечивают сообщение по текущей

среде между каналами 562 и внешней частью вакуумной банки 502, тем самым позволяя давлению внутри каналов 562 оставаться по существу на уровне атмосферного давления. Таким образом, вакуумметрическое давление внутри камеры создает градиент давления в стенке гильзы 552 между камерой 6 и каналом 562, позволяя гильзе 552 и электродам 508 на ней изгибаться внутрь в камеру 6.

[00146] Ссылаясь теперь на **фиг. 6А-6D**, электроды 608 для размещения внутри вакуумной камеры 6 вакуумной банки 2, 502 могут содержать множество выступов 664, которые могут определяться контактной поверхностью 608z электрода 608. Подобно способу, описанному выше, электроды 608 проходят от первого конца 608a до второго конца 608 вдоль центральной оси 608x электрода 608. Электроды 608 могут быть вытянуты в направлении, ориентированном вдоль центральной оси 608x. Электроды 608 также могут проходить от первой стороны 608c до второй стороны 608d вдоль поперечной оси 608y электрода 608. Контактная поверхность 608z может содержать базовую часть 665, которая является по существу гладкой, а выступы 664 могут проходить наружу от базовой части 665 (т. е. внутрь в камеру 6). Базовая часть 665 может быть по существу плоской, как показано, хотя в других вариантах осуществления базовая часть 665 может иметь криволинейный контур, который практически совпадает с внутренней поверхностью 22 корпуса 4 банки. Проходя наружу от базовой части 665, выступы 664 могут увеличивать площадь контакта между контактной поверхностью 608z электрода 608 и тканью, втягиваемой в камеру 6. Во время использования выступы 664 могут вдавливаться в ткань 102, разрушая и изменяя верхний слой кожи 104, улучшая распределение электрического поля в целевой ткани. Более конкретно, выступы 664 увеличивают величину электрического поля, формируемого в ткани 102, для заданного входного напряжения, как более подробно описано в международной (PCT) патентной публикации № WO 2018/057900 A1, опубликованной 29 марта 2018 г., озаглавленной «Method and Device for Minimally Invasive In Vivo Transfection of Adipose Tissue Using Electroporation» (ссылка '900), полное раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00147] Как показано на **фиг. 6А-6В**, выступы 664 могут иметь выпуклую, дугообразную, куполообразную геометрическую форму. Выступы 664 могут быть расположены столбцами и рядами выступов 664. Как показано на **фиг. 6С**, выступы могут быть удлинены вдоль направления, ориентированного вдоль поперечной оси 608y. Как показано на **фиг. 6В и 6D** выступы 608, показанные на **фиг. 6А и 6С** могут иметь одинаковые боковые профили. Следует понимать, что другие геометрические формы выступов, в том числе заостренные, конические, усеченно-конические, пирамидальные и т. п., входят в объем настоящего раскрытия. Следует также понимать, что электрод 608 может быть выполнен с возможностью размещения в камере 6 таким образом, чтобы он был вытянут вдоль продольного направления L вакуумной банки 2, вытянут вдоль окружного направления С вакуумной банки 2 или вытянут вдоль направления, наклонного к продольному и окружному направлениям L, С.

[00148] Различные параметры вакуумных банок 2, 502, описанные в настоящем документе, такие как глубина L2 камеры, диаметр D1 камеры и геометрическая форма банки, например, форма поперечного сечения в базовой плоскости, ортогональной центральной оси X, и/или форма отверстия 20, может быть адаптировано по мере необходимости для достижения желаемой электропорационной терапии, например, для широкого спектра млекопитающих и анатомий кожи. Например, вакуумные банки по настоящему раскрытию могут иметь некруглые отверстия и/или геометрические формы камеры, такие как, в качестве неограничивающих примеров, многоугольные отверстия и/или геометрические формы камеры. Теперь со ссылкой на **фиг. 7А-7Е** будет описана вакуумная банка 702, имеющая треугольное отверстие и геометрическую форму камеры. Теперь со ссылкой на **фиг. 8А-8С** будет описана вакуумная банка 802, имеющая прямоугольное отверстие и геометрическую форму камеры. В таких вариантах осуществления размер D1 камеры может называться «шириной камеры» D1.

[00149] Ссылаясь теперь на **фиг. 7А-7С** показана вакуумная банка 702, имеющая дистальный конец 710, образующий треугольное отверстие 720. Вакуумная банка 702 настоящего варианта осуществления подобна вакуумным банкам 2, 502, описанным выше. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 702 настоящего варианта осуществления и вакуумными банками 2, 502, описанными выше.

[00150] Вакуумная банка 702 содержит тело 726 корпуса, который определяет три (3) боковые стенки 730, расположенные по треугольной схеме, если смотреть в базовой плоскости, ортогональной центральной оси X вакуумной банки 702. Соответственно, тело 726 корпуса определяет вакуумную камеру 706, которая также имеет треугольную форму в ортогональной базовой плоскости. Боковые стенки 730 пересекаются друг с другом в трех (3) углах 735 тела 726 корпуса, причем углы 735 предпочтительно являются закругленными. Треугольная схема может быть равносторонней, как показано, хотя другие треугольные схемы входят в объем настоящего варианта осуществления, включая правильный, равнобедренный и разносторонний.

[00151] Внутренние поверхности 722 боковых стенок 730 могут определять основную часть 722b, проходящую от дистальной вводной части 722a к проксимальному концу 724 камеры 706. Основная часть 722b может быть плоской, тем самым образуя линейный профиль поверхности, и может определять длину L4 в диапазоне от около 1 мм до около 20 мм, измеренную вдоль линейного профиля поверхности. Следует понимать, что основная часть 722b в качестве альтернативы может быть неплоской и может иметь нелинейные профили. Основная часть 722b предпочтительно сужается внутрь по направлению к центральной оси X по направлению к проксимальному концу 724 камеры 706. Основная часть 722b может определять угол A4 конусности, измеренный относительно оси, параллельной центральной оси X, в диапазоне от около 0 градусов до около 80

градусов, более конкретно, в диапазоне от около 0,25 градусов до около 10 градусов, и более конкретно в диапазоне от около 0,5 градуса до около 5 градусов.

[00152] Вакуумная банка 702 содержит множество электродов 708, расположенных в электродную матрицу 709, которая может содержать три (3) поднабора 709а-с электродов 708. Первый поднабор 709а электродов 708 может быть расположен на внутренней поверхности 722 первой боковой стенки 730, второй поднабор 709b электродов 708 может быть расположен на внутренней поверхности 722 второй боковой стенки 730, а третий поднабор 709с электродов 708 может быть расположен на внутренней поверхности 722 третьей боковой стенки 730. Поднаборы 709а-с электродов 708 могут быть закреплены на соответствующих подложках или «подкладках» 752, которые могут быть изготовлены, в качестве неограничивающих примеров, из электроизоляционного материала, такого как кремний, полиэфирэфиркетон (PEEK), полифталамид (PPA), полиэтилен; поликарбонат; и политеримид (PEI). Подложки 752 могут быть гибкими или жесткими. Подложки 752 также может нести электрическую схему, такую как проводную электрическую схему или печатную электрическую схему, например, для обеспечения электрической связи между электродами 708 и контроллером 114. Соответственно, подложки 752 могут быть электрическими схемами на платах, такими как печатные электрические схемы на платах (PCB). Как описано выше, электрическая схема может быть выполнена таким образом, чтобы контроллер 114 мог управлять параметрами электропорационного импульса(ов) для каждого поднабора 709а-d электродов 708 индивидуально, а также управлять параметрами импульса каждого электрода 708 в каждом поднаборе 709а-d индивидуально. Внешняя поверхность 753 подложки 752 может быть прикреплена к внутренней поверхности 722 соответствующей боковой стенки 730 с помощью клея, хотя другие методы крепления входят в объем настоящего раскрытия.

[00153] Каждый поднабор 709а-с электродов 708 может содержать один электрод 708 или предпочтительно несколько электродов 708. В проиллюстрированном варианте осуществления каждый поднабор 709а-с имеет четыре (4) электрода 708. Следует понимать, что каждый поднабор 709а-с может иметь меньше или больше четырех (4) электродов 708, например, один (1) электрод, два (2), три (3), пять (5), шесть (6), семь (7), восемь (8), девять (9), десять (10), одиннадцать (11), двенадцать (12) или более двенадцати электродов 708, например, сто (100) электродов 708 или более. Благодаря достижениям в области технологий микроэлектромеханических систем (MEMS) и нанотехнологий размер каждого дискретного электрода 708 может быть уменьшен до такой степени, что каждый поднабор 709а-с может иметь практически неограниченное количество дискретных электродов 708.

[00154] Электроды 708 определяют контактные поверхности 708z, которые, как показано, могут быть гладкими. Главные части контактных поверхностей 708z могут быть плоскими, например, соответствующие части, лежащие над основной частью 722b внутренней поверхности 722. Однако следует понимать, что контактная поверхность 708z по меньшей мере одного и вплоть до всех электродов 708 может быть текстурирована и/или определять выступы, подобно тому, как это описано выше. Кроме того, подложки 752 и

электроды 708 могут быть гибкими и могут перекрывать каналы и разгрузочные отверстия, определенные в теле 726 корпуса, чтобы позволить электродам 708 изгибаться внутрь, когда к камере 706 прикладывается вакуумметрическое давление, аналогично способу, описанному выше со ссылкой на **фиг. 5A-5D**.

[00155] Ссылаясь теперь на **фиг. 7D**, электроды 708 в каждом поднаборе 709a-c могут быть параллельны друг другу. Электроды 708 могут определять длину L1 электрода, измеренную между первым и вторым концами 708a,b электрода 708 вдоль его центральной оси 708x. Длина L1 электрода может находиться в диапазонах, описанных выше. Электроды 708 также могут определять ширину W1 электрода, измеренную между первой и второй сторонами 708c,d электрода 708. Ширина W1 электрода может находиться в диапазонах для C1, описанных выше. Электроды 708 каждого поднабора 709a-c также могут определять пространственный зазор W2 между электродами, который может находиться в диапазоне от около 1,0 мм до около 30 мм.

[00156] Ссылаясь теперь на **фиг. 7E**, электроды 708 могут проходить внутрь (в вакуумную камеру 706) от подложки 752. Электроды 708 могут определять толщину T1 электрода, измеренную от внутренней поверхности 755 подложки 752 до контактной поверхности 708z. Толщина T1 электрода может находиться в диапазоне от около 0,001 мм до около 2,000 мм. Как показано, внешняя поверхность 708w электрода 708 может быть прикреплена к внутренней поверхности 755 подложки 752. В других вариантах осуществления внешняя поверхность 708w электрода 708 может быть частично заделана в подложку 752. То есть внешняя поверхность 708w электрода 708 может находиться на глубине между внешней и внутренней поверхностями 753, 755 подложки 752. В дополнительных вариантах осуществления внешняя поверхность 708w электрода 708 может быть полностью заделана в подложку 752. То есть внешняя поверхность 708w электрода 708 может иметь такую же протяженность, что и внешняя поверхность 753 подложки 752.

[00157] Электродные матрицы 709a-c настоящего варианта осуществления выполнены таким образом, что, когда вакуумметрическое давление втягивает ткань 102 в вакуумную камеру, ткань 102 втягивается в контакт с контактными поверхностями 708z, а также в межэлектродные промежутки W2, тем самым также соприкасаясь со сторонами 708c,d электродов, тем самым увеличивая общую площадь границы контакта между тканью 102 и электродами 708.

[00158] Геометрическая форма вакуумной камеры 706 и конфигурация электродных матриц 709a-c настоящего варианта осуществления позволяют размещать по существу плоские электроды 708 вдоль боковых стенок 730 вакуумной банки 702, что обеспечивает более столбчатое электропорационное поле (т. е. более вытянутое вдоль центральной оси X) в ткани 102 по сравнению с вакуумными банками 2, 502, описанными выше. Треугольная форма по настоящему варианту осуществления также может выгодно ограничивать ткань в границах электропорационного поля, определяемого треугольной схемой импульса, в большей степени, чем электропорационные устройства предшествующего уровня техники.

Кроме того, многоугольная геометрическая форма матрицы, включая треугольную матрицу настоящего варианта осуществления, может создавать более неоднородное электропорационное поле из-за не прямых или «острых» углов между соседними электродами на противоположных сторонах углов 735 по сравнению с другими конструкциями матриц, включая круглые конструкции. Например, может быть желательно создать области с увеличенной величиной электрического поля (что приводит к увеличению электрического тока) в целевой ткани, а наличие «острых» или остроугольных прилегающих граней электродов является одним из способов создания такого усиленного электрического поля/тока в ткани.

[00159] Ссылаясь теперь на **фиг. 8А-8С** показана вакуумная банка 802, имеющая дистальный конец 810, образующий прямоугольное отверстие 820. Вакуумная банка 802 настоящего варианта осуществления подобна вакуумным банкам 2, 502, 702, описанным выше. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 802 настоящего варианта осуществления и вакуумными банками 2, 502, 708, описанных выше, в частности на отличиях от вакуумной банки 702, описанной выше со ссылкой на **фиг. 7А-7Е**.

[00160] Вакуумная банка 802 содержит тело 826 корпуса, который ограничивает четыре (4) стенки, в частности пару противоположных боковых стенок 830, проходящих между парой противоположных концевых стенок 831, расположенных по прямоугольной схеме, тем самым образуя вакуумную камеру 806, которая также имеет прямоугольную форму в ортогональной базовой плоскости. В проиллюстрированном варианте осуществления боковые стенки 830 являются более длинными, чем концевые стенки 831, хотя в других вариантах осуществления боковые стенки 830 и концевые стенки 831 могут иметь одинаковую длину, так что прямоугольник представляет собой квадрат. Следует также понимать, что стенки тела 826 корпуса могут иметь другие четырехугольные геометрические формы (т. е. непрямоугольные).

[00161] Внутренние поверхности 822 стенок 830, 321 могут определять основную часть 822b, проходящую от дистальной вводной части 822a к проксимальному концу 824 камеры 806. Основная часть 822b боковых стенок 830 и/или концевых стенок 831 может сужаться внутрь и проксимально под углом А4 сужения, который может находиться в диапазонах, описанных выше. Вакуумная банка 802 содержит множество электродов 808, расположенных в электродную матрицу 809, которая может содержать два (2) противоположных поднабора 809a,b электродов 808, расположенных на внутренних поверхностях 822 боковых стенок 830. Концевые стенки 831 могут быть лишены электродов 808, как показано, хотя в других вариантах осуществления одна или обе концевые стенки 831 могут иметь дополнительный поднабор электродов 808. В других вариантах осуществления концевые стенки 831 могут иметь электроды, а боковые стенки 839 могут быть лишены электродов. В еще дополнительных вариантах осуществления одна

или большее количество и вплоть до каждой из стенок 830, 831 могут иметь один электрод, который может быть выполнен в соответствии с различными размерами и формами.

[00162] Как указано выше, поднаборы 809a,b электродов 808 могут удерживаться соответствующими непроводящими подложками 852, прикрепленными к внутренним поверхностям 822. Каждый поднабор 809a,b может иметь четыре (4) электрода 808, хотя каждый поднабор 809a,b может иметь больше или меньше четырех (4) электродов 808. Как описано выше, электродная матрица 809 может содержать электрическую схему, выполненную таким образом, чтобы контроллер 114 мог управлять параметрами электропорационного импульса(ов) для каждого поднабора 809a,d электродов 808 индивидуально, а также управлять параметрами импульса каждого электрода 808 в каждом поднаборе 809a,d индивидуально.

[00163] Как показано, контактные поверхности 808z электродов 808 могут быть гладкими, а их главные части могут быть плоскими. Однако в других вариантах осуществления контактные поверхности 808z могут быть текстурированы и/или определять выступы, как описано выше. Тело 826 корпуса, подложки 852 и электроды 808 также могут быть совместно выполнены с возможностью обеспечить изгибание внутрь электродам 808 в ответ на вакуумметрическое давление, подобно тому, как это описано выше со ссылкой на **фиг. 5A-5D**. Электроды 808 могут иметь длины $L1$, ширины $W1$ и толщины $T1$, аналогичные описанным выше со ссылкой на **фиг. 7D-7E**, и могут работать аналогично описанному выше.

[00164] Прямоугольная геометрическая форма вакуумной камеры 806 и конфигурация электродных матриц 809a,b настоящего варианта осуществления обеспечивают сфероидальное электропорационное поле, которое более вытянуто в направлении, поперечном центральной оси X (в частности, в направлении, ортогональном концевым стенкам 831) по сравнению с вакуумными банками 2, 502, 702, описанными выше. Кроме того, прямоугольная матрица в соответствии с настоящим вариантом осуществления позволяет размещать по существу плоские электроды, расположенные непосредственно напротив друг друга и способные запускать прямо противоположные электрические импульсы. В этом отношении матрица по настоящему варианту осуществления может использоваться аналогично электропорационным устройствам с оппозитными пластинами или штангенциркульного типа, известными в данной области техники. Например, конструкция с прямоугольной матрицей в соответствии с настоящим вариантом осуществления может позволить врачу «зажать» удлиненный участок ткани подобно конфигурациям электродов штангенциркульного типа. Может быть выгодно «захватить» ткань преимущественно вдоль одной оси и зажать ее, чтобы создать в ткани удлиненную зону терапии. Например, при увеличении соотношения сторон прямоугольная банка 802 может осуществлять терапию большей общей площади ткани без увеличения зазора между электродами. Это может позволить, например, использовать более низкие напряжения и осуществлять терапию большей площади ткани, чем конструкция с круглой матрицей, работающая при том же напряжении.

[00165] Кроме того, подобно тому, как описано выше, многоугольная геометрическая форма матрицы, включая матрицу настоящего варианта осуществления, может создавать более неоднородное электропорационное поле из-за острых углов между прилегающими электродами (в этом варианте осуществления почти параллельными) на противоположных боковых стенках 830 банки 802. Кроме того, как описано выше, матрицу можно использовать для создания областей с повышенной величиной электрического поля в ткани, как описано выше.

[00166] Следует понимать, что вакуумные банки других вариантов осуществления могут иметь отверстия и/или геометрические формы камер других многоугольных форм, таких как пятиугольная, шестиугольная, семиугольная, восьмиугольная и т. д., вплоть до круглых геометрических форм. Кроме того, такие многоугольные формы не обязательно должны иметь равносторонние конфигурации. В еще других вариантах вакуумные банки могут иметь отверстия и/или геометрические формы камеры других форм, таких как, в качестве неограничивающих примеров, эллиптическая, продолговатая или неправильная форма. Следует понимать, что эллиптические формы чаши могут обеспечить преимущества, аналогичные прямоугольной банке 802, описанной выше, включая способность «захватывать» ткань преимущественно вдоль одной оси и зажимать ее для создания удлиненной зоны терапии в ткани, тем самым обеспечивая более низкие напряжения для терапии большей площади ткани.

[00167] Ссылаясь теперь на **фиг. 30А-33F**, будут описаны смоделированные результаты испытаний различных четырехэлектродных матриц 9 на жировой ткани 103 и коже 104. На каждой из **фиг. 30А-33F** противоположные электроды 8 расположены друг от друга на расстоянии 15 мм (это расстояние аналогично диаметру D1 камеры), а прикладываемое к электродам напряжение одинаково. Таким образом, на **фиг. 30А-33F** показано влияние формы, размера и расстояния между электродами на создание электрического поля.

[00168] **Фиг. 30А-31F** показывают круглые матрицы 9, в которых контактные поверхности электродов проходят, в основном, по круговому периметру. Ширины электродов, показанных на **фиг. 30А-31F**, определяются долей диаметра камеры; таким образом, камера, которая сужается внутрь кверху, будет иметь меньшие ширины электродов вверху и большие ширины электродов внизу, при этом всегда занимая один и тот же процент окружности камеры в любом месте вдоль внутренней поверхности камеры. Каждый из электродов на **фиг. 30В и 31В** имеет угловой размах A2, равный 15 градусов; каждый из электродов на **фиг. 30С и 31С** имеет угловой размах A2, равный 30 градусов; каждый из электродов на **фиг. 30D и 31D** имеет угловой размах A2, равный 45 градусов; каждый из электродов на **фиг. 30Е и 31Е** имеет угловой размах A2, равный 60 градусов; и каждый из электродов на **фиг. 30F и 31F** имеет угловой размах A2, равный 75 градусам.

[00169] **Фиг. 32А-33F** показывают прямоугольные (в частности, квадратные) матрицы 9, в которых контактные поверхности электродов определяют стороны прямоугольника. Каждый из электродов, показанных на **фиг. 32В и 33В**, имеет ширину,

равную 2,5 мм; каждый из электродов, показанных на **фиг. 32С и 33С**, имеет ширину, равную 5,0 мм; каждый из электродов, показанных на **фиг. 32D и 33D**, имеет ширину, равную 7,5 мм; каждый из электродов, показанных на **фиг. 32Е и 33Е**, имеет ширину, равную 10,0 мм; и каждый из электродов, показанных на **фиг. 32F и 33F**, имеет ширину, равную 12,5 мм. Ширины электродов, показанных на **фиг. 32А-33F**, постоянны сверху вниз. Таким образом, камера, сужающаяся внутрь кверху, приведет к тому, что прилегающие электроды, сконструированные таким образом, будут располагаться ближе друг к другу вверху, чем внизу. В зависимости от размеров банки и угла конусности стенки прилегающие электроды могут располагаться очень близко друг к другу или даже касаться друг друга в верхней части камеры, что нежелательно.

[00170] Из этих фигур видно, что квадратные матрицы (**фиг. 32А-33F**) создают более неоднородные электрические поля как в жировой ткани 103, так и в коже 104, чем их аналоги с круглыми матрицами (**фиг. 30А-31F**). Таким образом, также можно сказать, что круглые матрицы создают более однородные электрические поля как в жировой ткани 103, так и в коже 104, чем их аналоги с прямоугольными матрицами. Эти различия в неоднородности/однородности поля, создаваемые круглой и прямоугольной матрицами, можно с пользой использовать по мере необходимости в зависимости от желаемой терапии. Например, когда для конкретной электропорационной процедуре требуется более однородное электрическое поле, врач может выбрать круглую вакуумную банку (и электродную матрицу). Когда для конкретной электропорационной процедуре требуется более неоднородное электрическое поле, врач может выбрать многоугольную вакуумную банку (и электродную матрицу). Следует понимать, что в отношении конструкции электродов предпочтительно поддерживать адекватное расстояние между соседними электродами, особенно когда вакуумная камера сужается внутрь кверху, как показано в конструкциях, показанных на **фиг. 30А-31F**.

[00171] Ссылаясь теперь на **фиг. 9А**, показан пример вакуумной электропорационного узла 900, который содержит вакуумную банку 902, выполненную для безыгольной инъекции агента, в частности посредством струйной инъекции. Соответственно, вакуумная банка 902 может упоминаться как «безыгольная» вакуумная банка 902 или «струйно-инъекционная» вакуумная банка 902. Вакуумная банка 902 настоящего варианта осуществления подобна вакуумным банкам 2, 502, 702, 802, описанным выше, в частности вакуумной банке 2, описанной выше со ссылкой на **фиг. 1-4F**. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 902 настоящего варианта осуществления и вакуумной банкой 2, описанной выше со ссылкой на **фиг. 1-4F**.

[00172] Как указано выше, вакуумная банка 902 имеет тело 926 корпуса, который определяет вакуумную камеру 906 с расположенными в ней электродами 908, а также первый порт 912, второй порт 914 и третий порт 916, каждый из которых сообщается с вакуумной камерой 906. Как указано выше, первый порт 912 выполнен для подключения к

источнику 106 вакуума, второй порт 914 выполнен для прохода электрической схемы, среди прочего, в вакуумную камеру 906. Однако третий порт 916 настоящего варианта осуществления выполнен с возможностью приема струйного инъекционного устройства 970 для осуществления инъекции небольшого потока или «струи» инъеكتата 142 в ткань 902, втянутую в вакуумную камеру 906. Кроме того, тело 926 корпуса определяет монтажную формацию 948 на внешнем конце третьего порта 916, выполненную с возможностью обеспечения герметичного соединения с инъекционным устройством 970. Монтажная формация 948 может нести один или большее количество уплотнительных элементов, таких как уплотнительные кольца 951 круглого сечения, которые могут находиться в приемных частях 953, определенных в монтажной формации 948, и выполнены с возможностью обеспечения герметичного соединения с внешней стороной инъекционного устройства 970.

[00173] Струйное инъекционное устройство 970 содержит корпус 972 для инъекции, который определяет камеру для текучей среды или резервуар 974, в котором хранится инъеكتат 142, содержащий агент. Внешняя поверхность 975 корпуса 972 для инъекции имеет размер, соответствующий размеру третьего порта 916 и уплотнительных колец 951 круглого сечения для обеспечения уплотняющего соединения между корпусом 972 для инъекции и вакуумной камерой 906. Дистальная часть 976 корпуса 972 для инъекции определяет сопло 978, сообщающееся по текучей среде с резервуаром 974. Сопло 978 выполнено с возможностью выталкивания инъеكتата 142 из резервуара 974 в вакуумную камеру 906. Дистальная часть 976 также может содержать защитный экран 980, по меньшей мере частично окружающий сопло 978. Защитный экран 980 может действовать как физический барьер, который препятствует любому потенциальному обратному разбрызгиванию или отскоку инъеكتата 142, образуемому во время струйной инъекции. Защитный экран 980 также может защищать электрическую схему банки 902 от воздействия инъеكتата 142.

[00174] Дистальный конец 979 сопла 978 предпочтительно проходит дистально за дистальный конец 981 защитного экрана 980. Струйное инъекционное устройство 970 содержит плунжер 982, несущий поршень 984 на его дистальном конце. Дистальный кончик 986 поршня 984 и внутренняя поверхность 988 резервуара 974 на его дистальном конце 990 имеют комплементарные геометрические формы, так что продвижение поршня 984 к дистальному концу 990 выбрасывает струю инъеكتата 142 из сопла 978 в ткань 102. Следует понимать, что резервуар 974 может быть выполнен так, чтобы вмещать предварительно измеренный объем или дозу инъеكتата. Кроме того, плунжером 982 можно управлять, например, с помощью пускового механизма или исполнительного механизма, для выталкивания предварительно заданной дозы инъеكتата через сопло 978 в ткань 102 пациента. Такой пусковой механизм может содержать, в качестве неограничивающих примеров, предварительно нагруженную или нагружаемую пружину или пружины, баллон со сжатым газом и т. п.

[00175] Струйное инъекционное устройство 970 может быть сконструировано так, как более подробно раскрыто в любом из документов: патент США 10,045,911, выданный 14 августа 2018 г. и озаглавленный «Intradermal Injection Device» («Ссылка '911»); публикации патента США № 2019/0000489 A1, опубликованная 3 января 2019 г., озаглавленная «Intradermal Jet Injection Electroporation Device»; и публикация патента США № 2009/0137949 A1, опубликованная 28 мая 2009 г., озаглавленная «Needle-Free Injection Device with Nozzle Auto-Disable» («Ссылка '949»), полное раскрытие каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00176] Безыгольная вакуумная банка 902 и струйное инъекционное устройство 970 обладают взаимодополняющими свойствами, которые улучшают обеспечиваемую ими электропорационную терапию. Например, со ссылкой на **фиг. 9В**, когда вакуумметрическое давление втягивает холмик 140 ткани 102 в вакуумную камеру 6, кожный слой 104 на холмике 140 натягивается, временно уменьшая эластичность кожного слоя 104, что позволяет струе или потоку инъектата, выходящего из сопла 978, более эффективно прокалывать кожный слой 104 с меньшим отскоком инъектата. Чтобы помочь натянуть слой 104 кожи, врач может использовать достаточное вакуумметрическое давление, чтобы втянуть кожный слой 104 в контакт с дистальным концом 979 сопла 978, так что кожный слой 104 деформируется вокруг дистального конца 979 сопла 978, тем самым формируя углубление 104а в кожном слое 104 на границе контакта с дистальным концом 979 и дополнительно растягивая кожный слой 104 в углублении 104а. Такая натянутость в кожном слое 104 в сочетании с использованием струйного инъекционного устройства 970 позволяет выталкиваемому инъектату 142 проколоть кожный слой 104 и проникнуть через холмик 140 ткани при инъекции в большей степени, чем при инъекции иглой (сравните с **фиг. 4С**), и в большей степени, чем со струйным инъекционным устройством, которое не поддерживается вакуумметрическим давлением.

[00177] Проникновение инъектата в холмик 140 ткани можно охарактеризовать как инъектат под давлением, образующий тысячи микроскопических надрезов или путей в ткани 102, когда инъектат проникает через ткань 102, в частности жировую ткань 103, эффективно пронизывая ткань. Кроме того, при последующем воздействии на ткань 102 вакуумметрическим давлением (например, при продолжении вакуумного импульса, который втягивает холмик 140 ткани в камеру 906, и, необязательно, одного или большего количества последующих вакуумных импульсов), уже более широко диспергированный инъектат 142 может быть дополнительно диспергирован в холмик 140 ткани под воздействием вакуумметрического давления в соответствии с механизмами дисперсии текучей среды, описанными выше.

[00178] Ссылаясь теперь на **фиг. 10А-10D**, будет описан другой вариант осуществления безыгольной вакуумной банки 1002, в которой вакуумная банка 1002 имеет вакуумную камеру 1006, выполненную таким образом, что ткань 102, втянутая в нее, вытягивается по меньшей мере частично во множество отверстий 1063, определенные в электродах 1008 внутри вакуумной камеры 1006. Вакуумная банка 1002 настоящего

варианта осуществления подобна вакуумным банкам, описанным выше, в частности вакуумной банке 902, описанной выше со ссылкой на **фиг. 9А-9В**. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 1002 настоящего варианта осуществления и вакуумными банками 902, описанными выше.

[00179] Ссылаясь теперь на **фиг. 10А-10В**, вакуумная банка 1002 настоящего варианта осуществления имеет тело 1026 корпуса, который, как указано выше, определяет первый порт 1012 для соединения с источником 106 вакуума, второй порт (не показан) для обеспечения электрической схемы с доступом к вакуумной камере 1006 и третьим портом 1016 для обеспечения герметичного соединения со струйным инъекционным устройством 970. В настоящем варианте осуществления вместо третьего порта 1016, проходящего непосредственно в вакуумную камеру 1006, третий порт 1016 проходит внутрь до кольцевого канала 1062, определенного телом 1026 корпуса. Кольцевой канал 1062 по меньшей мере частично окружает вакуумную камеру 1006 и отстоит от нее наружу в радиальном направлении R. Тело 1026 корпуса дополнительно определяет множество портов 1060 корпуса, которые проходят внутрь от кольцевого канала 1062 к вакуумной камере 1006. Соответственно, тело 1026 корпуса может определять коллектор, определяющий множество портов 1060 корпуса. Как указано выше, электроды 1008 могут удерживаться гильзой 1052, прикрепленной к внутренней поверхности 1022 тела 1026 корпуса. Гильза 1052 определяет порты 1057 гильзы, которые обеспечивают сообщение по текучей среде между портами 1060 корпуса и отверстиями 1063. Таким образом, порты 1057 гильзы также обеспечивают сообщение по текучей среде между кольцевым каналом 1062 и вакуумной камерой 1006. Вакуумметрическое давление подается в вакуумную камеру 1006, в свою очередь, через третий порт 1016, кольцевой канал 1062, порты 1060 корпуса, порты 1057 гильзы и отверстия 1063 для электродов. В вариантах осуществления, в которых электроды 1008 соединены непосредственно с внутренней поверхностью 1022 тела 1026 корпуса, отверстия 1063 для электродов могут непосредственно примыкать к портам 1060 корпуса. Кольцевой канал 1062 может проходить по кольцу на весь оборот вокруг центральной оси, хотя в других вариантах осуществления канал 1062 может проходить менее чем на полный оборот вокруг центральной оси X.

[00180] Как показано на **фиг. 10А**, каждый электрод 1008 может определять один столбец отверстий 1063, которые могут быть вытянуты вдоль окружного направления С. Как показано, каждый столбец может содержать пять (5) отверстий 1063, которые можно охарактеризовать как матрицу «5×1» (т. е. 5 рядов на 1 столбец) отверстий 1063 или «матрицу отверстий». Другие матрицы отверстий входят в объем настоящего раскрытия. Например, как показано на **фиг. 10С**, отверстия 1063 каждого электрода 1008 могут быть расположены в виде матрицы отверстий, имеющей несколько рядов и несколько столбцов отверстий 1063, которые выровнены с соответствующими рядами и столбцами портов 1057 гильзы и соответствующими рядами и столбцами портов 1060 корпуса. Матрица отверстий

может быть матрицей 4×5, хотя другие конфигурации матриц отверстий входят в объем настоящего раскрытия.

[00181] Как показано на **фиг. 10D**, отверстия 1008 выполнены таким образом, что ткань 102, втянутая в вакуумную камеру 1006, может по меньшей мере частично проходить внутри одного или большего количества отверстий 1063, показанных в выделенных областях 104а. Это увеличивает силу сцепления между кожным слоем 104 и электродами 1008, а также увеличивает площадь контактной поверхности между тканью 102 и электродами 1006. Более того, вытягивая ткань 102, такую как слой кожи 104, в одно или большее количество отверстий 1063, через которые вакуумметрическое давление поступает в камеру 1006, вакуумная банка 1002 в соответствии с настоящими вариантами осуществления может эффективно вытягивать и растягивать кожный слой 104 холмика 140, например, в сторону от центральной оси X, что позволяет струйно-инъецируемому потоку инъектата 142 проникать в ткань 102 более эффективно, чем в других вариантах осуществления. Например, путем распределения вакуумных портов 1060 по всей камере 1006 маловероятно, что вакуумметрическое давление в камере 1006 вытянет инъектат из ткани в месте инъекции. Кроме того, части кожного слоя 104, проходящие в отверстия 1063, могут разрушать и изменять верхнюю часть кожного слоя 104, тем самым улучшая распределение электрического поля внутри холмика 140 ткани, подобно тому, как это описано выше в отношении выступов 664 в соответствии с **фиг. 6A-6D**.

[00182] Продолжая ссылаться на **фиг. 10A-10D**, следует понимать, что вакуумная банка 1002 может быть выполнена с возможностью восприятия наличия и/или отсутствия ткани в отдельных отверстиях 1063, в отдельных портах 1057 гильзы и/или внутри индивидуальных портах 1060 корпуса. Например, одно или большее количество и до всех отдельных отверстий 1063 в каждом электроде 1008 могут содержать отдельный датчик, который может воспринимать наличие и/или отсутствие ткани внутри соответствующего отверстия 1063. Такие датчики ткани могут содержать отдельные электроды, которые могут быть выполнены с возможностью восприятия электрического параметра, указывающего на наличие/отсутствие ткани, такого как, в качестве неограничивающего примера, импеданс. Отдельные воспринимающие ткань электроды из приведенного выше примера могут быть электрически изолированы от электропорационных электродов 1008 или, в качестве альтернативы, находиться на отдельных каналах от электропорационных электродов 1008. В других вариантах осуществления датчики ткани могут быть другого типа, например, датчики силового типа, которые могут обнаруживать непосредственный контакт с тканью, или датчики давления, которые могут обнаруживать, в качестве неограничивающих примеров, когда отдельные отверстия 1063, порты 1057 гильзы и/или порты 1060 корпуса герметизированы.

[00183] Датчики ткани могут быть подключены к электрическим схемам, таким как проводная электрическая схема или печатная электрическая схема, в электрической связи с контроллером 114. Например, такая электрическая схема может быть печатной электрической схемой на той же печатной электрической схеме на плате (PCB), что и

электрическая схема управления электродами 1008. Датчики ткани можно использовать для картирования адгезии тканей по всей камере 1006. Такая информация о картировании адгезии тканей может использоваться для целей сбора данных и может дополнительно или альтернативно использоваться в механизме активной обратной связи по давлению для регулирования уровня вакуумметрического давления вверх или вниз на основе показаний датчика в каждом отверстии. В таких вариантах осуществления картирования адгезии тканей электрическая схема датчика ткани предпочтительно содержит индивидуальную электрическую схему для каждого датчика ткани. В качестве альтернативы картированию адгезии тканей, датчики тканей могут быть коллективно подключены к общей электрической схеме, и контроллер 114 может рассчитать изменение измерений коллективных датчиков (т. е. общую «дельту») по сравнению с исходными базовыми измерениями, чтобы обеспечить общую оценку того, насколько сильно произошла адгезия тканей к стенкам камеры.

[00184] В дополнительных вариантах осуществления струйно-инъекционной вакуумной банки, таких как банки 902, 1002, описанные выше, дистальный конец 979 сопла 978 может быть выполнен с возможностью определения электрода матрицы. В качестве неограничивающего примера такого варианта осуществления, дистальный конец 979 сопла 978 может быть покрыт или изготовлен из электропроводящего материала, такого как проводящая краска, металл или полимер, и может иметь электрическую связь с контроллером 114. Таким образом, дистальный конец 979 сопла 978 можно использовать для подачи электропорационных импульсов к и/или от других электродов на внутренней поверхности вакуумной камеры. В таких вариантах осуществления другие электроды могут быть круговыми электродами кольцевого типа или полукруговыми электродами, такими как электроды, описанные выше со ссылкой на **фиг. 3I-3L**, и/или электроды, описанные ниже со ссылкой на **фиг. 15A-15C**. Такие варианты осуществления позволяют использовать концентрические схемы электропорационных импульсов («схемы запуска»), включая те, которые более подробно обсуждаются ниже. Авторы изобретения успешно использовали такую концентрическую электродную матрицу в вакуумной банке для выполнения внутривенной струйной инъекции текучей среды кроликам и морским свинкам, а затем для выполнения электропорации внутривенной ткани в месте инъекции.

[00185] Как указывалось выше, авторы изобретения обнаружили ряд полезных результатов от вакуумных электропорационных терапий с использованием вакуумных банок, описанных выше. Такие полезные результаты включают увеличение дисперсии текучей среды инъеكتата в подкожной ткани и кожной ткани, а также усиление инфильтрации текучих сред *in vivo* в месте терапии.

[00186] Обращаясь теперь к **фиг. 11A**, можно увидеть влияние вакуумметрического давления на места инъекций. В этом примере эквивалентные объемы инъеكتата метиленового синего вводили в ткани свиньи в двух местах с использованием одной и той же техники инъекции на одинаковую глубину подкожного введения. Место инъекции, показанное слева, не подвергалось вакуумметрическому давлению. Место инъекции,

показанное справа, подвергалось вакуумметрическому давлению приблизительно -10,6 фунтов на квадратный дюйм в течение 15 секунд с использованием вакуумной банки 2, описанной выше со ссылкой на **фиг. 2А-2F**, с базовым диаметром D1 около 15 мм и глубиной L2 камеры около 15 мм и углом конусности внутренней стенки около 4 градусов. Ни одно место не подвергалось терапии с помощью электропорации. В этом примере вакуумметрическое давление эффективно перераспределяло текучую среду и впоследствии удерживало инъеكتат в области, лежащей под банкой. Это обеспечило бы более высокую концентрацию инъеكتата в зоне терапии банки, если бы была проведена электропорация.

[00187] Ссылаясь теперь на **фиг. 11В-11С**, сравнительное исследование вакуумметрического давления на дисперсию текучей среды было проведено на морских свинках. Обоим испытуемым вводили инъекцию метиленового синего в жировую ткань. Инъекцию на **фиг. 11В** выполняли с помощью безыгольной вакуумной банки, аналогичной показанной на **фиг. 9А**. В частности, ткань находилась в вакуумной камере, реагируя на вакуумметрическое давление во время струйной инъекции. Инъекцию на **фиг. 11С** выполняли методом подкожной иглы, без приложения вакуумметрического давления. Ни один из субъектов в этом исследовании не подвергался терапии с помощью электропорации. Как показано, вакуумная струйная инъекция (**фиг. 11В**) вызывала значительно большую дисперсию инъеكتата в жировом слое, чем подкожная инъекция иглой без приложения вакуумметрического давления (**фиг. 11С**).

[00188] Ссылаясь теперь на **фиг. 34А-34В**, сравнительное исследование кумулятивного эффекта электропорации и вакуумметрического давления на клеточную инфильтрацию в жировой ткани проводили на морских свинках. Плазмиду, кодирующую ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), вводили в жировую ткань посредством подкожной инъекции с использованием инсулинового шприца 29 размера в межлопаточное жировое тело. Терапия мест инъекций обоих субъектов осуществлялась с помощью одинаковых вакуумметрических давлений. Субъект на **фиг. 34В** дополнительно подвергался терапии посредством электропорации в месте инъекции с использованием вакуумной банки, аналогичной показанной на **фиг. 2А**. Субъект на **фиг. 34А** не подвергался терапии с помощью электропорации. Гистологические срезы были взяты в месте терапии для сравнения экспрессии GFP (видимой в виде зеленой флуоресценции) и клеточной инфильтрации (видимой в виде синей флуоресценции после окрашивания 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI)). Как показано, экспрессия GFP (зеленая) обнаруживается после вакуумметрического давления у обоих субъектов (т. е. независимо от того, была ли электропорация в месте терапии). Однако дальнейшее применение электропорации в сочетании с вакуумметрическим давлением (**фиг. 34В**) увеличивало клеточную инфильтрацию (синяя) по сравнению с применением только вакуумметрического давления (**фиг. 34А**). Эти исследования показывают, что приложение вакуумметрического давления в сочетании с электропорацией может повысить иммуногенность.

[00189] Ссылаясь теперь на **фиг. 12**, данные испытаний показывают, что в течение 12-недельного исследования ELISA, сравнивающего гуморальные иммунные ответы у

испытуемых морских свинок, субъекты, подвергнутые терапии с помощью вакуумной банки 2, показанной на **фиг. 2А** (синий график - «Вакуум»), показали повышенную гуморальную иммуногенность по сравнению с субъектами, подвергнутых терапии с помощью электропорационного устройства штангенциркульного типа (красный график - «Штангенциркули») в течение 12-недельного исследования. Субъектам в обеих группах вводили эквивалентные объемы рGX 2013 (ДНК-вакцина против нуклеопротеина (NP) вируса гриппа) посредством инъекции с помощью иглы в жировой слой и подвергали терапии с помощью электропорации.

[00190] Ссылаясь теперь на **фиг. 13**, в ходе 8-недельного исследования ELISA, сравнивающего гуморальные иммунные ответы у субъектов морских свинок, субъектов, подвергнутых терапии с помощью инъекции рGX 2303 (ДНК-вакцина против слитого гликоль-белка респираторно-синцитиального вируса человека (RSV-F)) в жировой ткани и электропорации с использованием вакуумной банки 2, показанной на **фиг. 2А** (синий график - «Вакуум»), была показана сравнимая гуморальная иммуногенность с таковой у субъектов, подвергнутых терапии с помощью внутрикожной инъекции вакцины и электропорации с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами (красный график - «ЭП с ВК игольчатым электродом»). Инъекции были эквивалентны дозе (20 мкг). Внутрикожные инъекции составляли 100 мкл, а в жировую ткань составляли 300 мкл. Вакуумная банка 2 имела диаметр D1 камеры 15 мм с 4 электродами.

[00191] Ссылаясь теперь на **фиг. 14А-14В**, 6-недельное исследование сравнивает данные гуморальной иммуногенности у морских свинок после терапий (на 0, 2 и 4 неделе) с помощью ДНК-вакцины против нуклеопротеина гриппа (рGX 2013). На **фиг. 14А** показаны данные ELISA, а на **фиг. 14В** показаны данные ELISpot из того же исследования. На графиках представлены следующие группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (красный график) - 8 мкг инъекции Манту с последующей внутрикожной электропорацией с помощью электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; (2) «Вакуумструйная+ЭП» (синий график) - струйная инъекция 40 мкг в жировую ткань с последующей вакуумной электропорацией с использованием устройства, аналогичного показанному на **фиг. 9А**; (3) «Вакуумная игла» (зеленый график) - подкожная инъекция 40 мкг с помощью иглы в жировую ткань с последующим приложением отрицательного вакуумметрического давления, без электропорации с использованием устройства, показанного на **фиг. 2А**; и (4) «Вакуумная игла+ЭП» (фиолетовый график) - подкожная инъекция 40 мкг с помощью иглы в жировую ткань с последующей вакуумной электропорацией с использованием устройства, показанного на **фиг. 2А**.

[00192] Эти исследования демонстрируют, что описанные в настоящем документе игло-инъекционные вакуумно-электропорационные устройства 2 и струйно-инъекционные вакуумно-электропорационные устройства 902 вызывают гуморальные иммунные ответы при воздействии на жировую ткань, которые сравнимы с гуморальными реакциями,

вызываемыми терапиями с помощью электропорационных устройств с внутрикожными игольчатыми электродами.

[00193] Теперь со ссылкой на **фиг. 15A-22** будут описаны вакуумные банки, выполненные с возможностью целевой электропорации в кожном слое 104.

[00194] Ссылаясь теперь на **фиг. 15A-15B**, показан пример вакуумной банки 1502, которая содержит электродную матрицу 1509, имеющую один или большее количество круговых кольцевых электродов 1508 и центральный электрод 1511, проходящий вдоль центральной оси X вакуумной банки 1502. Вакуумная банка 1502 настоящего варианта осуществления подобна вакуумным банкам 2, 502, 702, 802, 902, 1002, описанным выше, в частности вакуумной банке 902, описанной выше со ссылкой на **фиг. 9A-9B**. Соответственно, одинаковые ссылочные номера, использованные выше, обозначают общие признаки в настоящем варианте осуществления. Для краткости следующее описание сосредоточено на различиях между вакуумной банкой 1502 настоящего варианта осуществления и вакуумными банками 902, описанными выше.

[00195] Вакуумная банка 1502 настоящего варианта осуществления имеет тело 1526 корпуса, которое определяет внутреннюю поверхность 1522, по меньшей мере частично определяющую вакуумную камеру 1506. Тело 1526 корпуса также определяет третий порт 1516, который проходит в проксимальном направлении от вакуумной камеры 1506 вдоль центральной оси X. Центральный электрод 1511 проходит через третий порт 1516 в вакуумную камеру 1506 от концевой поверхностной части внутренней поверхности 1522. Третий порт 1516 также проходит через монтажную формацию 1548 для обеспечения герметичного соединения с центральным электродом 1511. Подобно способу, описанному выше, монтажная формация 1548 может нести один или большее количество уплотняющих элементов, таких как уплотнительные кольца 1551 круглого сечения, которые герметизируют внешнюю поверхность 1513 центрального электрода 1511. Дистальная часть 1513z внешней поверхности 1513 центрального электрода 1511 выполнена с возможностью контакта с тканью 102, втянутой в вакуумную камеру 1506. Соответственно, дистальная часть 1513z может называться «контактной поверхностью» 1513z центрального электрода 1511. Контактная поверхность 1513z может иметь закругленный профиль, такой как полусферический профиль, с радиусом R1 в диапазоне от 0,5 мм до около 10 мм, и более конкретно в диапазоне от около 1 мм до около 7 мм, а более конкретно в диапазоне от около 1 мм до около 4 мм. Центральная ось X вакуумной банки 1502 предпочтительно проходит через вершину контактной поверхности 1513z. Центральный электрод 1511 имеет проксимальную часть 1518, которая может быть уже, чем часть центрального электрода 1511, контактирующая с уплотнительными кольцами 1551 круглого сечения. Соответственно, проксимальная часть 1518 может называться «стержнем» центрального электрода 1511.

[00196] Ссылаясь теперь на **фиг. 15C**, электродная матрица 1509 выполнена таким образом, что во время подачи электропорационного импульса центральный электрод 1511 действует как положительный или отрицательный электрод, в то время как один или оба из

круговых кольцевых электродов 1508 действуют как другой положительный или отрицательный электрод (т. е. полярность, противоположная центральному электроду 1511). Таким образом, центральный электрод 1511 эффективно перемещает электрическое поле 145 во время импульса (импульсов) вверх, фокусируя электропорационное поле 144 в каждом слое 104. Вакуумная банка 1502 по настоящему варианту осуществления может быть помещена на ткань 102 в целевой зоне после введения агента в кожный слой 104, например, посредством инъекции с помощью иглы, такой как, например, инъекция Манту, или внутрикожной струйной инъекции. Следует понимать, что в других вариантах осуществления вакуумная банка 1502 может использовать элемент или «стойку» вместо центрального электрода 1511. Стойка может представлять поверхность, имеющую форму, аналогичную поверхности 1513z внутри вакуумной камеры 1506. Поверхность стойки выполнена с возможностью контакта с кожей, втянутой в камеру 1506 под действием вакуумметрического давления. Например, стойка может быть выполнена таким образом, чтобы заставить ткань прилегать или иным образом изгибаться вокруг части поверхности стойки во время приложения вакуумметрического давления. Было показано, что такой контакт ткани со стойкой выгодно увеличивает дисперсию текучей среды в ткани во время приложения вакуумметрического давления, как более подробно обсуждается ниже со ссылкой на **фиг. 42А и 42D**.

[00197] Ссылаясь теперь на **фиг. 16А** показаны варианты вакуумного электропорационного узла 1600, каждый из которых содержит вакуумную банку 1602, имеющую электродную матрицу 1609, расположенную на концевой поверхности 1624 внутри вакуумной камеры 1606 напротив ее дистального отверстия 1620. Концевая поверхность 1624 может быть по существу плоской и может определяться элементом 1652 поддержки электродов, расположенным внутри камеры 1606. Элемент 1652 поддержки может называться «вставкой» и может нести электроды 1608 матрицы 1609. Например, элемент 1652 поддержки может представлять собой электрическую схему на плате, такую как печатная электрическая схема на плате (РСВ), имеющую электрическую связь с блоком управления, таким как контроллер 114, описанный выше. Элемент 1652 поддержки также образует множество портов 1660, проходящих через него, обеспечивая сообщение по текучей среде между вакуумной камерой 1606 и внешним портом 1616 для соединения с источником вакуума. Таким образом, порты 1660 в элементе 1652 поддержки передают вакуумметрическое давление в камеру 1606, втягивая ткань 102 в нее и контактируя с электродами 1608. Электроды 1608 могут иметь выступающую и/или заостренную геометрию, такую как коническая, пирамидальная и т. п., для вдавливания в кожный слой 104 холмика 140 ткани, втягиваемого в камеру 1606, тем самым разрушая и изменяя верхний слой кожи 104, улучшая распределение электрического поля в ней, как описано выше.

[00198] Вакуумный электропорационный узел 1600 может быть выполнен с возможностью приема инъекционного устройства, такого как безыгольное инъекционное устройство, такое как струйное инъекционное устройство 970, описанное выше.

Соответственно, вакуумная банка 1602 имеет тело 1626 корпуса, который может определять приемную часть 1616 для приема по меньшей мере дистальной части струйного инъекционного устройства 970, так что его сопло 978 выровнено с инъекционным отверстием 1617, выполненным в элементе 1652 поддержки. Как показано, сопло 978 и инъекционное отверстие могут быть концентрически выровнены с центральной осью вакуумной банки 1602.

[00199] Тело 1626 корпуса также может определять вторичную или «отделяющую» камеру 1607, смещенную от вакуумной камеры 1606, так что элемент 1652 поддержки отделяет вакуумную камеру 1606 и отделяющую камеру 1607 или размещается между ними. Отделяющая камера 1607 выполнена с возможностью обеспечения отделяющего расстояния L5 между дистальным концом сопла 978 и концевой поверхностью 1624 для обеспечения благоприятного формирования потока инъеكتата 142 между соплом 978 и тканью 102 в целях внутрикожной дисперсии инъеكتата 142. В частности, отделяющие расстояния L5 могут допускать образование неровностей в потоке жидкости по мере его приближения к коже 104. Например, такие неровности могут включать в себя сотни, тысячи или даже большее количество капель микро- и/или наноразмеров, каждая из которых приближается к коже 104 со скоростью, достаточной для того, чтобы эффективно позволить потоку проходить сотни или тысячи микро- и/или наноразмерных надрезов на внешней поверхности 101 кожи 104, обеспечивающих усиленную дисперсию инъеكتата, локализованного в кожном слое 104. Отделяющее расстояние L5 в сочетании с другими факторами, такими как геометрическая форма сопла струйного инжектора и сила инжектора, также может использоваться как средство управления максимальной глубиной проникновения инъеكتата. Следует понимать, что отделяющее расстояние L5 также может быть охарактеризовано как минимальное отделяющее расстояние между дистальным концом сопла 978 и внешней поверхностью 101 кожи 104 во время использования. Отделяющее расстояние L5 может находиться в диапазоне от около 1,0 мм до около 20 мм.

[00200] Как показано на **фиг. 16В**, тело 1626 корпуса может дополнительно определять канюлированный защитный экран 1685, который проходит через отделяющую камеру 1607 и может упираться в заднюю поверхность 1625 элемента 1652 поддержки, так что канюляция защитного экрана 1685 находится в сообщении по текучей среде с инъекционным отверстием 1617 элемента 1652 поддержки. Таким образом, канюлированный защитный экран 1685 может обеспечить прямой, выровненный экранированный проход от дистального конца сопла 978 к вакуумной камере 1606, тем самым защищая элемент 1652 поддержки (и его электрическую схему) от непреднамеренного воздействия потока инъеكتата.

[00201] Ссылаясь теперь на **фиг. 17А-17В**, показаны различные варианты осуществления элемента 1652 поддержки, в которых электроды 1608 и порты 1660 расположены с разными схемами вокруг инъекционного отверстия 1617. Как показано на **фиг. 17А**, электроды 1608 могут быть расположены в виде круглой или кольцевой схемы вдоль окружной оси С2, концентричной с центральной осью Х. Электроды 1608 могут быть

расположены в матрицу в виде одного концентрического кольца или, как показано на **фиг. 17В**, могут быть расположены в матрицу в виде нескольких колец, которые могут быть концентрическими с центральной осью X или, в качестве альтернативы, эксцентричными по отношению к центральной оси X. Продолжая ссылаться на **фиг. 17В**, порты 1660 также могут быть расположены в одном или большем количестве круглых колец вокруг центральной оси X. Кроме того, электроды 1608 и/или порты 1660 также могут (или в качестве альтернативы) располагаться в виде спицевых схем вдоль соответствующих осей R4, R5, проходящих радиально наружу от центральной оси X. Соответствующие оси R4, R5 соседнего электрода 1608 «спиц» и соседнего порта 1660 спиц могут быть смещены друг относительно друга на соответствующие угловые интервалы A5, A6 относительно центральной оси, которые могут находиться в диапазоне от около 5 градусов до около 180 градусов и, в частности, от около 15 градусов до около 120 градусов. Как показано, оси R4, R5 могут быть прямолинейными, хотя в других вариантах осуществления оси R4, R5 могут быть дугообразными. Следует принимать во внимание, что примеры схем электрода 1608 и порта 1660 предоставлены в качестве неограничивающих примеров, и что другие схемы, включая асимметричные и/или нерегулярные схемы, также входят в объем настоящего раскрытия.

[00202] Ссылаясь теперь на **фиг. 18А-18В**, в дополнительных вариантах осуществления вакуумное электропорационное устройство 1802 может содержать множество дистальных вакуумных камер 1807 для индукции в них ткани, в частности кожи. Электроды 1808 закреплены на опорном элементе 1852 поддержки электродов, который может быть прикреплен к дистальному концу 1810 тела 1826 вакуумного корпуса, определяющего основную вакуумную камеру 1806. Таким образом, дистальная концевая поверхность 1824 элемента 1852 поддержки определяет дистальный конец устройства 1802. Тело 1826 корпуса определяет основной вакуумный порт 1812 для обеспечения вакуумметрического давления в основной вакуумной камере 1806 и может определять второй порт 1814, например, для обеспечения доступа к электрической схеме, которая проходит внутри основной вакуумной камеры 1806 к элементу 1852 поддержки.

[00203] Ссылаясь теперь на **фиг. 18В**, электроды 1808 настоящего варианта осуществления скомпонованы в пары, каждая из которых содержит внешний круговой электрод 1808a и внутренний круговой электрод 1808b, расположенные концентрически по отношению друг к другу. Внешний и внутренний круговые электроды 1808a,b могут представлять собой трубчатые элементы, вытянутые вдоль продольного направления L и проходящие через элемент 1852 поддержки к его задней поверхности 1825 и, необязательно, далее в основную вакуумную камеру 1806. Внешние и внутренние круговые электроды 1808a,b каждой пары радиально разнесены друг от друга электрически изолирующим кольцевым слоем 1894 материала, тем самым электрически изолируя внутренние и внешние круговые электроды 1808a,b друг от друга. В каждой концентрической паре электродов внешние круговые электроды 1808a проходят к дистальной концевой поверхности 1824 элемента 1852 поддержки, в то время как

внутренние круговые электроды 1808b утоплены проксимально от дистальной концевой поверхности 1824. Таким образом, дистальные вакуумные камеры 1807 совместно определяются внутренними поверхностями 1808z внешних кольцевых электродов 1808a, дистальными концами внутренних кольцевых электродов 1808b и дистальными концевыми поверхностями изоляционных слоев 1894 и, необязательно, также могут быть необязательными дистальными вводными поверхностями 1808y внешних кольцевых электродов 1808a.

[00204] Как показано на **фиг. 18C-18D**, дистальные концы внутренних круговых электродов 1808b (а также, необязательно, дистальные концы изоляционных слоев 1894) могут быть утоплены от дистальной поверхности 1824 на расстояние смещения L6, которое может находиться в диапазоне от около 0,05 мм до около 5,0 мм и, более конкретно, в диапазоне от около 0,5 мм до около 2,0 мм и предпочтительно в диапазоне от около 0,8 мм до около 1,2 мм. Устройство может определять длину L7 устройства, измеренную от проксимального конца 1828 до дистальной концевой поверхности 1824 в продольном направлении L. Длина L7 устройства может находиться в диапазоне от около 15,0 мм до около 200 мм и, более конкретно, в диапазоне от около 20 мм до около 40 мм, хотя длины L7 меньше 15,0 мм и больше 200 мм также входят в объем настоящего варианта осуществления.

[00205] Как упоминалось выше, внутренние круговые электроды 1808b могут быть трубчатыми, в частности, таким образом, что они определяют порт 1860, обеспечивающий сообщение по текучей среде с основной вакуумной камерой 1806. Таким образом, вакуумметрическое давление, прикладываемое к основной вакуумной камере 1806, передается в дистальные вакуумные камеры 1807 через внутренние круговые электроды 1808b, тем самым позволяя устройству 1802 втягивать части кожного слоя 104 в дистальные вакуумные камеры 1807 и контактировать с внутренним и внешним круговыми электродами 1808a,b. Такая деформация кожного слоя 104 может разрушить и изменить его верхнюю часть, тем самым улучшив распределение электрического поля внутри кожного слоя 104, подобно тому, как это описано выше.

[00206] Внутренний и внешний круговые электроды 1808a,b каждой пары предпочтительно имеют противоположную полярность, так что электропорационные импульс(ы) подаются от одного из круговых электродов 1808a,b через ткань и к другому круговому электроду 1808a,b пары.

[00207] Как показано на **фиг. 18**, электродная матрица 1809 может представлять собой круглую матрицу, которая содержит центральную электродную пару 1808a,b и круглую схему периферийных электродных пар 1808a,b, расположенных вдоль окружной оси C2 concentрически вокруг центральной электродной пары 1808a,b. Следует понимать, что другие схемы матриц входят в объем настоящего варианта осуществления. Соседние электродные пары 1808a,b на периферии могут быть разнесены друг от друга на соответствующие угловые интервалы A5, подобно тому, как это описано выше.

[00208] Ссылаясь теперь на **фиг. 19А-19В**, в дополнительных вариантах осуществления вакуумное электропорационное устройство 1902 может содержать элемент 1952 поддержки электродов на дистальном конце 1910 тела 1926 корпуса, аналогично устройству 1802 в вышеприведенном варианте осуществления. В настоящем варианте осуществления каждый электрод 1908 является трубчатым и проходит через элемент 1924 поддержки от его дистальной концевой поверхности 1924 до его задней поверхности 1925, тем самым образуя порт 1960, сообщающийся по текучей среде с вакуумной камерой 1906 тела 1926 корпуса. Порты 1960 электродов 1908 имеют такой размер, что внешняя часть кожного слоя 104 может проходить в порты 1960 в ответ на вакуумметрическое давление в вакуумной камере 1906. Каждый электрод 1908 настоящего варианта осуществления является однополярным (положительным или отрицательным) во время электрического импульса. Электроды 1908 соединены с электрической схемой, которая может подавать электропорационный сигнал таким образом, что во время электрического импульса один или большее количество электродов 1908 имеют одну полярность (положительную или отрицательную), тогда как один или большее количество других электродов 1908 имеют противоположную полярность. Например, продолжая ссылаться на **фиг. 19А-19В**, электроды 1908 могут быть скомпонованы в виде круглой электродной матрицы 1908, которая содержит центральный электрод 1908 и круглую схему периферийных электродов 1908, расположенных концентрически вокруг центрального электрода 1908. Между центральным электродом 1908 и по меньшей мере одним из периферийных электродов 1908 может подаваться один или большее количество электропорационных импульсов. Электропорационный сигнал может содержать множество электропорационных импульсов, подаваемых в последовательности с использованием децентрализованного расположения электродов 1908, подобно тому, как это описано выше.

[00209] Ссылаясь теперь на **фиг. 20 и 21А-21В**, элементы 2052, 2152 поддержки электродов могут нести электродные матрицы 2009, 2109, имеющие некруглые схемы. Как показано на **фиг. 20**, элемент 2052 поддержки может иметь квадратную электродную матрицу 2009, которая расположена по существу на равном расстоянии вдоль первого и второго направлений AD1, AD2 матриц, которые по существу перпендикулярны друг другу. В проиллюстрированном варианте осуществления матрица 2009 имеет схему матрицы 4×4, хотя в объем настоящего раскрытия входят и другие схемы квадратных матриц, включая, в качестве неограничивающих примеров, 2×2, 3×3, 5×5, 6×6, 7×7, 8×8, 9×9, 10×10 и т. д.

[00210] Как показано на **фиг. 21А-21В**, элемент 2152 поддержки может иметь прямоугольную электродную матрицу 2109, которая является более длинной вдоль первого направления AD1 матрицы, чем вдоль второго направления AD2 матрицы. Матрица 2109 может содержать, например, первый ряд электродов и соответствующий второй ряд электродов, например, в виде матрицы 2109 размером 2×6 (т. е. 2 ряда на 6 столбцов), хотя другие прямоугольные схемы матриц 2109 находятся в пределах объема настоящего изобретения, включая, в качестве неограничивающих примеров, электродные матрицы

2109 размером 1×2, 1×3, 1×4, 2×3, 2×4, 2×5, 2×7, 2×8, 2×9, 2×10, 3×4, 3×5, 3×6, 3×7, 3×8, 3×9, 3×10, 4×5, 4×6, 4×7, 4,8, 4×9, 4×10, 5×6, 5×7, 5,8, 5×9, 5×10.

[00211] Следует понимать, что квадратные и прямоугольные электродные матрицы 2009, 2109, описанные выше, могут иметь практически любое количество электродов 2008, 2108, расположенных в их соответствующих схемах. Такие квадратные и прямоугольные электродные матрицы 2009, 2109 могут создавать в целом прямоугольное электрическое поле, которое можно активировать по рядам или по столбцам, создавая высокоупорядоченные электрические поля вдоль заданной оси. Например, если инъеكتат намеренно вводится или накапливается в одном осевом направлении ткани, можно легко активировать дополнительные ряды или столбцы электродов 2008, 2108 для терапии требуемого объема ткани. В этом отношении эти электродные матрицы 2009, 2109 можно охарактеризовать как обеспечивающие модульную активационную функциональность. Кроме того, прямоугольная электродная матрица 2109 может быть размещена на коже 104 над целевой зоной таким образом, чтобы первое направление AD1 матрицы (вдоль которого вытянута матрица) по существу совпадало с осью, вдоль которой была преднамеренно введена текучая среда, или где текучая среда естественным образом распределяется из-за наличия анизотропных элементов, таких как фиброзная ткань, тем самым инкапсулируя инъеكتат в электропорационном поле на более длительный срок по мере того, как инъеكتат распределяется по ткани. Более того, поскольку матрица 2109 также определяет матрицу вакуумных портов, которые разрушают верхние слои кожи 104 во время приложения вакуумметрического давления, прямоугольная матрица 2109 также может эффективно формировать пути разрыва во внутрикожной ткани, которые дополнительно направляют диспергирующийся инъеكتат вдоль электропорационного поля.

[00212] Обращаясь теперь к **фиг. 22**, экспрессия гена в коже морской свинки показана после внутрикожных инъекций различных объемов плазмиды, кодирующей ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), и затем электропорационных терапий с помощью различных устройств. В этом исследовании при объемах инъекций 100 мкл, 300 мкл, 500 мкл и 900 мкл вакуумная электропорация внутрикожной ткани с использованием описанных в настоящем документе вакуумных банок 2, 902 значительно повышала экспрессию генов пропорционально объему инъекции. В аналогичном исследовании изобретатели обнаружили, что экспрессия гена GFP также увеличивалась с увеличением вакуумметрического давления. Напротив, экспрессия генов с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами не увеличивалась при увеличении объема инъекции. Кроме того, увеличение объема инъекции само по себе без приложения вакуума или электропорации не увеличивало экспрессию генов. Эти исследования показывают, что вакуумметрическое давление и объем инъекции влияют на экспрессию генов.

[00213] Ссылаясь теперь на **фиг. 35A-35B**, 6-недельное исследование оценивало влияние диаметра D1 камеры на иммуногенность в коже морской свинки при заданном напряжении и силе тока электропорации с использованием вакуумного

электропорационного устройства. На **фиг. 35А** сравниваются данные ELISA по гуморальной иммуногенности после внутрикожных вакуумных электропорационных терапий с использованием вакуумных банок с диаметрами D1 камеры, составляющими 8 мм, 10 мм, 12 мм и 15 мм. Внутрикожные терапии для каждой вакуумной банки включали инъекцию Манту 50 мкг ДНК-вакцины MERS с последующей электропорацией с использованием того же напряжения и силы тока. На **фиг. 35В** показаны данные ELISpot о клеточном иммунном ответе на 2-й и 4-й неделе в ходе того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 35А**. Это исследование демонстрирует прямую обратную корреляцию между гуморальным иммунным ответом и диаметром вакуумной банки при заданном напряжении и силе тока электропорации. Что касается клеточного иммунного ответа, это исследование также продемонстрировало, что вакуумные банки с диаметрами D1 камеры от 8 мм до 12 мм давали аналогичные результаты, при этом снижение клеточного ответа происходило при увеличении диаметра D1 с 12 мм до 15 мм.

[00214] Ссылаясь теперь на **фиг. 36А-36В**, в исследовании оценивали благоприятные комбинации параметров вакуумметрического давления и напряжения электропорации для экспрессии генов в коже морской свинки. В этих исследованиях использовались внутрикожные инъекции (в частности, инъекция Манту) плазмиды, кодирующей ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), а затем проводилась электропорационная терапия при различных вакуумметрических давлениях и напряжениях с использованием вакуумной банки, подобной банке 2, описанной выше. К коже прикладывали вакуумметрические давления 0 кПа (без вакуума), 40 кПа и 70 кПа и напряжения 0 В (без напряжения), 50 В, 100 В и 200 В. Реакции в месте терапии и экспрессия GFP наблюдались через 3 дня после терапий. На **фиг. 36А** показаны визуальные наблюдения за местом обработки при различных значениях вакуумного давления и напряжения. На **фиг. 36В** представлены измерения сигнала флуоресценции кожи для различных напряжений и вакуумметрических давлений. Эти исследования показывают, что вакуумметрическое давление и напряжение независимо увеличивают экспрессию генов. Эти исследования также демонстрируют, что при каждом тестируемом напряжении более высокое вакуумметрическое давление усиливало экспрессию GFP.

[00215] Обращаясь теперь к **фиг. 23**, 8-недельное исследование сравнивает данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после внутрикожных терапий ДНК-вакциной HPV с последующей электропорацией. Представлены следующие группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (черный график) - терапии с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами после инъекции Манту 100 мкл, содержащей 66,7 мкг плазмиды; (2) «Вакуумная банка» (красный график) - терапии с использованием электропорационного устройства с вакуумной банкой 15-мм, состоящего из 4 настенных электродов (см., например, **фиг. 2А**) после инъекции 1 мл эквивалентной дозы, содержащей 66,7 мкг плазмиды, которая также была приготовлен с 139 ед/мл Hуlenex; (3) «Вакуумная банка доза 3х» (бордовый график) - терапии с использованием того же устройства и способа, что и в группе «Вакуумная банка», но

дозировка была увеличена в 3 раза по сравнению с ранее упомянутыми группами, что составляло 200 мкг плазмиды. Все группы получали лечение на 0, 4 и 7 неделе.

[00216] Обращаясь теперь к **фиг. 24А**, 11-недельное исследование сравнивает данные ELISA по гуморальной иммуногенности у приматов, отличных от человека, после внутрикожных терапий ДНК-вакциной HPV (pGX 3001 и 3002) с последующей электропорацией. Представлены следующие группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (черный график) - терапии с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; (2) «Вакуумная банка» (красный график) - терапии с использованием вакуумной банки, показанной на **фиг. 2А**, после инъекции эквивалентной дозы как в «ЭП с ВК игольчатым электродом»; (3) «Вакуумная банка доза 6х» (бордовый график) - терапии с использованием того же устройства и способа, что и в группе «Вакуумная банка», но дозировка была увеличена в 6 раз по сравнению с ранее упомянутыми группами. Все группы получали лечение на 0, 4 и 9 неделе. Ссылаясь теперь на **фиг. 24В-24D**, данные ELISpot для клеточного иммунного ответа показаны для каждой группы на 2, 6 и 11 неделе, соответственно, того же самого исследования, показанного на **фиг. 24А**. Эти исследования показывают, что лечение высокодозной вакуумной электропорационной терапией (группа 3) вызывало более быстрый гуморальный и клеточный ответ, чем устройство ЭП с ВК игольчатым электродом (группа 1), в то время как при эквивалентных дозах вакуумная электропорационная терапия (группа 2) выполнялась в целом аналогично устройству ЭП с ВК игольчатым электродом (группа 1). Кроме того, лечение высокодозная вакуумная электропорационная терапия (группа 3) вызывала клеточный ответ через одиннадцать (11) недель примерно в десять раз (10×) выше, чем у устройства ЭП с ВК игольчатым электродом (группа 1).

[00217] Ссылаясь теперь на **фиг. 37А-37В**, 6-недельное исследование сравнило эффективность вакуумного электропорационного устройства с электропорационным устройством с внутрикожными игольчатыми электродами с точки зрения иммуногенности. На **фиг. 37А** сравниваются данные ELISA по гуморальной иммуногенности у морских свинок после внутрикожных терапий 50 мкг ДНК-вакцины MERS посредством инъекции Манту с последующей электропорацией. На графиках представлены группы: (1) «ВК-ВЭП» - терапии с использованием вакуумной банки, аналогичной показанной на **фиг. 2А**; и (2) терапии «ВК-ЭП» с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами. Обе группы получали лечение на 0, 2 и 4 неделе. Это исследование демонстрирует, что вакуумная банка вызывает более быстрый, но более сильный гуморальный ответ по сравнению с электропорационным устройством с внутрикожными игольчатыми электродами. На **фиг. 37В** показаны данные о клеточном иммунном ответе на 2-й и 4-й неделе в ходе того же исследования, что проиллюстрировано на **фиг. 37А**.

[00218] На **фиг. 38** показано 6-недельное исследование, сравнивающее данные клеточного иммунного ответа у морских свинок после внутрикожных терапий 100 мкг ДНК-вакцины против рецидивирующего респираторного папилломатоза (RRP)

посредством инъекции Манту с последующей электропорацией. Группы, представленные на **фиг. 38**, включают: (1) терапию «ВК-ЭП» с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; и (2) «ВК-ВЭП» - терапию с использованием вакуумной банки, аналогичной показанной на **фиг. 2А**.

[00219] Исследования, показанные на **фиг. 37В и 38**, демонстрируют, что вакуумная банка вызывает по существу эквивалентный клеточный иммунный ответ по сравнению с электропорационным устройством с внутрикожными игольчатыми электродами. Кроме того, во время исследований, показанных на **фиг. 37А-38**, было отмечено отсутствие видимых повреждений тканей в месте терапии вакуумной банкой в течение 7-10 дней после терапии.

[00220] Ссылаясь теперь на **фиг. 39А-39В**, 4-недельное исследование оценивало кумулятивные эффекты вакуумметрического давления и электропорации на иммуногенность кожи. В этом исследовании сравниваются гуморальные и клеточные иммунные реакции у морских свинок после внутрикожных терапий с помощью 50 мкг ДНК-вакцины MERS посредством инъекции Манту. На **фиг. 39А** показаны данные ELISA по гуморальной иммуногенности на 0, 2 и 4 неделе для следующих групп: (1) «ВК-ВЭП» - вакуумная электропорационная терапия с использованием вакуумной банки, аналогичной показанной на **фиг. 2А**; (2) «ВК-Вакуум» - вакуумно-импульсная, неэлектропорационная терапия с использованием вакуумной банки; и (3) «ВК» - только инъекция Манту. На **фиг. 39В** показаны данные ELISpot о клеточном иммунном ответе на 4-й неделе того же исследования, что показано на **фиг. 39А**. Эти исследования показывают, что после инъекции Манту вакуумметрическое давление само по себе (т. е. без электропорации) может генерировать по меньшей мере частичный гуморальный ответ, хотя электропорация необходима для вакуумметрического давления, чтобы вызвать иммуногенность. Авторы изобретения считают, что эти исследования также позволяют предположить, что вышеупомянутые иммунные реакции лишь частично объясняются поверхностной трансфекцией ДНК-вакцины. Дальнейшие исследования подтвердили, что напряжение электропорации является более сильным фактором иммуногенности, чем вакуумметрическое давление.

[00221] Ссылаясь теперь на **фиг. 40А-40В**, показаны виды в поперечном разрезе сравнительных электрических полей, генерируемых двумя различными примерами электродных матриц в холмике ткани, втянутой в вакуумную камеру. На **фиг. 40А** показано электрическое поле, генерируемое электродной матрицей, имеющей пару противоположных электродов, выполненных аналогично электродам вакуумной банки 2, показанной на **фиг. 2А**. Схема подачи электропорационного импульса (также называемая «схемой запуска») между противоположными электродами 8 заставляет электрический ток проходить между электродами в боковом направлении через холмик 140 ткани. На **фиг. 40В** показано электрическое поле, генерируемое электродной матрицей, имеющей два круговых кольцевых электрода и центральный электрод, выполненных аналогично вакуумной банке 1502, показанной на **фиг. 15А**. Схема запуска электропорационного импульса в этом

примере заставляет электрический ток проходить концентрически между кольцевыми круглыми электродами и центральным электродом, тем самым концентрируя электрическое поле в кожном слое 104 рядом с центральным электродом. Таким образом, **на фиг. 40А-40В** показано, что схемы запуска электропорационных импульсов между противоположными электродами (**фиг. 40А**) создают электрическое поле, которое является более однородным через кожный слой 104 по сравнению с электрическим полем, создаваемым между круговыми кольцевыми электродами и центральным электродом (**фиг. 40В**). Эти различия в генерировании электрического поля могут быть успешно использованы в зависимости от желаемой конкретной электропорационной терапии.

[00222] Ссылаясь теперь на **фиг. 41А-41В**, 8-недельное исследование оценивало влияние схемы запуска электропорационного импульса на иммуногенность. В этом исследовании гуморальный и клеточный иммунный ответ у морских свинок тестировали после внутрикожных терапий ДНК-вакцины MERS посредством инъекции Манту и последующей вакуумной электропорации с использованием вакуумных банок с электродными матрицами, показанными на **фиг. 40А-40В**. На **фиг. 41А** показаны данные ELISA по гуморальной иммуногенности на 0, 2, 4 и 8 неделе для обеих конфигураций матриц. Обе группы получали лечение на 0, 2 и 4 неделе. На **фиг. 41В** представлены данные ELISpot о клеточном иммунном ответе на 4-й неделе и после 4-й недели в ходе того же исследования, показанного на **фиг. 41А**. Это исследование демонстрирует, что конфигурации матриц показали одинаковые результаты с точки зрения гуморального ответа, в то время как концентрическая матрица значительно превзошла противоположную матрицу с точки зрения клеточного ответа.

[00223] Ссылаясь теперь на **фиг. 42А-42D**, исследование оценивало сравнительное влияние центрального электрода на дисперсию текучей среды в коже морской свинки. Дисперсия текучей среды окрашенного инъектата измерялась для трех групп: (1) только инъекция Манту (т. е. без вакуумметрического давления); (2) матрица с противоположными электродами без центрального электрода (см. **фиг. 40А**); и (3) матрица с центральным электродом (см. **фиг. 40В**). Эквивалентные объемы инъектата вводили посредством инъекции Манту каждой группе. Вакуумметрическое давление прикладывалось к группам 2 и 3. Электропорация в этом исследовании не проводилась. **Фиг. 42В, 42С и 42D** показывают распределение текучей среды в ткани для групп 1, 2 и 3 соответственно. Результаты представлены на **фиг. 42А** в соответствии с визуальным аспектным соотношением окрашенного инъектата. Результаты показывают, что наличие центрального электрода или элемента может влиять на дисперсию текучей среды инъектата при приложении вакуумметрического давления. Эти результаты также предполагают, что внутренняя геометрическая форма вакуумной камеры может влиять на дисперсию текучей среды при приложении вакуумметрического давления.

[00224] Следует понимать, что внутрикожные вакуумно-электропорационные узлы, устройства и банки, описанные выше, могут использоваться с различными препаратами для улучшения вакуумных электропорационных терапий. Например, инъектаты 142 могут

содержать смесь агента с препаратом для благоприятного воздействия на характеристику агента. Неограничивающие примеры таких препаратов включают гиалуронидазу и Hylenex (человеческую рекомбинантную гиалуронидазу), которые могут временно разрушать матрицу агента, позволяя вводить большие объемы агента с меньшими, менее болезненными шишками или пузырьками на коже. Как показано на **фиг. 25-26**, инъекции Манту, содержащие гиалуронидазу, приводят к образованию пузырьков (показаны слева), которые меньше как по высоте, так и в диаметре, чем те, что образуются при инъекциях, не включающих гиалуронидазу. Препарат гиалуронидазы более подробно описан в публикации патента США № 2019/0284263 A1, опубликованной 19 сентября 2019 г., под названием «In Vivo Use of Chondroitinase and/or Hyaluronidase to Enhance Delivery of an Agent» («ссылка '263»), полное раскрытие которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Благодаря использованию гиалуронидазы в инъекциях, выполняемых с помощью описанных в настоящем документе вакуумно-электропорационных устройств, агенты можно вводить в больших объемах во внутрикожные ткани, что позволяет врачам осуществлять терапию больших объемов тканей с помощью устройств, имеющих более крупные зоны 107 терапии. Например, изобретатели в ходе многочисленных испытаний обнаружили, что с использованием вакуумных банок с различными диаметрами D1 камеры (например, 8 мм, 10 мм и 12 мм) в сочетании с инъектатами 142, содержащими препарат, который содержит гиалуронидазу (т. е. 50% Omnipaque 350+50% 150 ед/мл гиалуронидазы (конечная 75 ед/мл гиалуронидазы)), вакуумная банка диаметром 8 мм может вместить объем инъектата, составляющий 0,2 мл, при этом практически весь инъектат вытягивается в вакуумную камеру; вакуумная банка диаметром 10 мм может вместить объем инъектата, составляющий около 0,4 мл, при этом практически весь инъектат вытягивается в вакуумную камеру; и вакуумная банка диаметром 12 мм может вместить объем инъектата, составляющий 0,8 мл, при этом практически весь инъектат вытягивается в вакуумную камеру. Было обнаружено, что присутствие гиалуронидазы в препарате инъектата резко увеличивает дисперсию текучей среды инъектата в каждом слое. Данные этих испытаний убедительно свидетельствуют о том, что более высокие объемы инъектата должны использовать гиалуронидазу в препарате инъекций, в противном случае инъекционный пузырек будет больше и не будет распространяться так благоприятно в поперечном направлении через кожу.

[00225] Ссылаясь теперь на **фиг. 27**, 4-недельное исследование сравнивает гуморальные иммунные ответы у морских свинок с точки зрения конечных титров после внутрикожных терапий ДНК-вакциной против MERs (pGX 9101) с последующей электропорацией. Все группы получали 50 мкг плазмиды в виде 100 мкл инъекций Манту в бок на 0-й и 2-й неделе. На графиках представлены группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (черный график) - терапии с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; (2) «ЭП с ВК игольчатым электродом+НУА» (серый график) - терапии с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами, как и в предыдущей группе, но в

препарат входит 270 ед/мл гиалуронидазы от Intropharma; (3) «Вакуумная банка 15 мм» (красный график) - терапии с использованием вакуумной банки 2, показанной на **фиг. 2А**, с диаметром D1 камеры 15 мм; (4) та же вакуумная банка на графике «Вакуумная банка 15 мм» с использованием препарата, который содержал 270 ед/мл гиалуронидазы от Intropharma.

[00226] Ссылаясь теперь на **фиг. 28**, 6-недельное исследование сравнивает гуморальные иммунные ответы у морских свинок с точки зрения конечных титров после внутрикожных терапий ДНК-вакциной против MERs (pGX 9101) с последующей электропорацией на 0, 2 и 4 неделях. На графиках представлены группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (синий график) - инъекция 100 мкл, содержащей 50 мкг плазмиды, с последующей терапией с помощью электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; (2) «Вакуум 15 мм - 500 мкг» (красный график) - инъекция Манту 1 мл, содержащая 500 мкг плазмиды, причем препарат содержит 270 ед/мл гиалуронидазы от Intropharma. Электропорацию осуществляли с помощью вакуумной банки, показанной на **фиг. 2А**, с диаметром L1 камеры 15 мм; (4) «Вакуум 15 мм - ВК инфузия 500 мкг» (зеленый график) - глубокая кожная инъекция 1 мл 500 мкг плазмиды, но инфузия в течение не менее 2 минут, причем препарат содержит 270 ед/мл гиалуронидазы от Intropharma. Электропорация проводилась той же вакуумной банкой 2, что и в предыдущей группе; (4) «Вакуум 10 мм - 50 мкг» (фиолетовый график) - 100 мкл инъекции Манту, содержащей 50 мкг плазмиды, с последующей терапией с помощью вакуумной банки 2, показанной на **фиг. 2А**, с диаметром L камеры 10 мм.

[00227] Ссылаясь теперь на **фиг. 29А**, 6-недельное исследование сравнивает гуморальные иммунные ответы у морских свинок с точки зрения средних конечных титров после внутрикожных инъекций ДНК-вакцины против нуклеопротеина гриппа (pGX 2013) с последующей электропорацией на 0, 3 и 6 неделях. На графиках представлены группы: (1) «ЭП с ВК игольчатым электродом» (красный график) - терапии посредством инъекции Манту с 1 мкг плазмиды и затем электропорация с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами; (2) «Вакуум с НУА 10 мкг» (синий график) - инъекцию Манту 1 мл с 10 мкг плазмиды в препарате, который содержал 139,5 ед/мл Нуленех, обрабатывали вакуумной банкой 2, показанной на **фиг. 2А**, с диаметром D1 камеры 15 мм; (3) «Вакуум с НУА 1 мкг» (зеленый график) - 100 мкл инъекции Манту с 1 мкг плазмиды, которая содержала 139,5 ед/мл Нуленех, затем подвергали электропорации с использованием той же вакуумной банки 2, что и в предыдущей группе; (4) «Вакуум без НУА 1 мкг» (фиолетовый график) - 100 мкл инъекции Манту с 1 мкг плазмиды затем подвергали электропорации с использованием той же вакуумной банки 2, что и в группах (2) и (3). **Фиг. 29В и 29С** показывают клеточные иммунные ответы в виде пятнообразующих единиц на неделе 2 (**фиг. 29В**) и неделе 4 (**фиг. 29С**) из исследования на **фиг. 29А**.

[00228] Ссылаясь теперь на **фиг. 43А-43С**, 7-дневное исследование оценивало сравнительный эффект однократной инъекции большого объема и вакуумной

электропорационной терапии по сравнению с лечением мульти-инъекциями, мульти-электропорационной терапией с использованием электропорационного устройства с внутрикожными игольчатыми электродами у морских свинок. Однократную вакуумную электропорационную терапию большого объема проводили с использованием вакуумной банки диаметром 15 мм, имеющей пару круговых кольцевых электродов и центральный (концентрический) электрод, подобно вакуумной банке, показанной на фиг. 15А. Однократная инъекция представляла собой инъекцию Манту, содержащей 0,8 мл плазмиды, кодирующей секретируемую щелочную фосфатазу (SEAP), смешанную с 135 ед/мл гиалуронидазы, с последующей вакуумной электропорацией. Мульти-инъекционная, мульти-электропорационная терапия включала шесть (6) отдельных инъекций Манту по 0,1 мл, каждая с последующей электропорацией с использованием внутрикожных игольчатых электродов (всего 0,6 мл инъектата и шесть (6) применений электропорации). На **фиг. 43А** показана вакуумная банка, расположенная над инъектатом перед приложением вакуумметрического давления. На **фиг. 43В** показан инъектат внутри вакуумной банки во время приложения вакуумметрического давления, на котором видно, что инъектат внутри ткани деформировался вокруг центрального электрода, тем самым концентрируя инъектат в электропорационном поле (см. **фиг. 40В**). На **фиг. 43С** показана экспрессия SEAP (как показатель системной продукции белка у субъектов) для обоих видов терапий в дни 0, 1, 2, 6 и 7. Это исследование демонстрирует, что однократная, высокообъемная вакуумная электропорационная терапия с использованием вакуумной банки по эффективности практически эквивалентна обработке с шестью инъекциями и шестью электропорациями с использованием устройства с игольчатыми электродами.

[00229] Эти исследования демонстрируют, что вакуумная электропорация с использованием устройств и узлов по настоящему изобретению обеспечивает доставку больших объемов ДНК в кожу. Кроме того, препараты гиалуронидазы (например, Hylenex) повышают иммуногенность после вакуумной электропорации кожи. Кроме того, вакуумные банки, описанные в настоящем документе, адаптированы для использования значительно более высоких объемов инъектата во внутрикожную ткань, обеспечиваемых препаратами гиалуронидазы, включая объемы инъектата 1000 мкл (1 мл) или выше. Иными словами, при использовании препаратов гиалуронидазы с вакуумными банками по настоящему изобретению вакуумные банки могут осуществлять терапию значительно больших объемов внутрикожной ткани. Кроме того, устройства и узлы по настоящему раскрытию вызывают более быстрые гуморальные реакции, чем электропорационное устройство с внутрикожными игольчатыми электродами, и сравнимые общие гуморальные иммунные реакции по сравнению с электропорационным устройством с внутрикожными игольчатыми электродами. Кроме того, эти исследования демонстрируют, что кинетика и величина клеточного ответа могут быть улучшены за счет вакуумной электропорации внутрикожной ткани. Изобретатели также обнаружили, что использование препаратов гиалуронидазы с вакуумной электропорацией внутрикожной ткани позволяет эффективно проводить трансфекцию слоев дермы ниже поверхностного слоя.

[00230] Ссылаясь теперь на **фиг. 44**, 8-недельное исследование сравнивает влияние данных гуморального иммунного ответа на иммуногенность схемы запуска электропорационного импульса. В этом исследовании гуморальный и клеточный иммунный ответ у морских свинок тестировали после внутрикожных терапий ДНК-вакцины MERS посредством инъекции Манту и последующей вакуумной электропорации с использованием вакуумных банок с электродными матрицами, показанными на **фиг. 40А-40В**. На **фиг. 41А** показаны данные ELISA по гуморальной иммуногенности на 0, 2, 4 и 8 неделе для обеих конфигураций групп. Обе группы получали лечение на 0, 2 и 4 неделе. На **фиг. 41В** представлены данные ELISpot о клеточном иммунном ответе на 4-й неделе и после 4-й недели в ходе того же исследования, показанного на **фиг. 41А**. Это исследование демонстрирует, что конфигурации групп показали одинаковые результаты с точки зрения гуморального ответа, в то время как концентрическая группа значительно превзошла противоположную группу с точки зрения клеточного ответа.

[00231] Ссылаясь теперь на **фиг. 45А-47С**, рентгеноскопические изображения показывают сравнительное отклонение ткани у морских свинок во время струйной инъекции при различных вакуумметрических давлениях и расстояниях смещения сопла от кожи с использованием струйно-инъекционной вакуумной банки, выполненной аналогично вакуумной банке 902, показанной на **фиг. 9**. Инъектат, используемый в этих изображениях, представляет собой 50% раствор Omnipaque 350, позволяющий получить рентгенографическое изображение. На каждом из этих изображений наложенная боковая контрольная линия указывает на дистальный конец вакуумной банки (и, таким образом, на дистальный конец вакуумной камеры и исходную границу кожа-камера до приложения вакуума). **Фиг. 45А-45С** показывают струйную инъекцию, выполненную без приложения вакуумметрического давления внутри камеры. **Фиг. 46А-46С** показывают струйную инъекцию, выполненную с приложенным вакуумметрическим давлением внутри камеры и без расстояния смещения сопла от кожи. **Фиг. 47А-47С** показывают струйную инъекцию, выполненную с приложенным вакуумметрическим давлением внутри камеры и с расстоянием смещения сопла от кожи, составляющим 3 мм. Следует отметить, что на **фиг. 45А, 46А и 47А** показана предварительная инъекция ткани; на **фиг. 45В, 46В и 47В** показана ткань во время струйной инъекции; и на **фиг. 45С, 46С и 47С** показана ткань после инъекции.

[00232] Как показано на **фиг. 45А-45С**, без приложения вакуумметрического давления в камере струя вызывает значительное отклонение ткани (**фиг. 45В**), после чего ткань пружинит обратно к соплу после инъекции (**фиг. 45С**), хотя инъектат в целом находится ниже вакуумной камеры.

[00233] Как показано на **фиг. 46А-46С**, когда во время инъекции внутри камеры прикладывается вакуумметрическое давление (**фиг. 46В**), прогиб ткани устраняется. Однако, как показано на **фиг. 46С**, отсутствие расстояния смещения от сопла до кожи приводит к тому, что инъектат остается ниже вакуумной камеры после инъекции.

[00234] Ссылаясь теперь на **фиг. 47А-47С**, когда струйная инъекция выполняется со смещением от сопла от кожи на расстояние, составляющее 3 мм, и когда внутри камеры прикладывается вакуумметрическое давление, отклонение ткани во время инъекции по существу устраняется (**фиг. 47В**). Когда кожа вытягивается в вакуумную камеру перед инъекцией, как в этом исследовании, существует тесный контакт между струйным соплом и кожей во время инъекции, а вакуумметрического давления достаточно, чтобы предотвратить отклонение ткани. Более того, после инъекции (**фиг. 47С**) инъеكتат остается внутри камеры и имеет большее вертикальное распределение по сравнению с настройкой без смещения, показанной на **фиг. 46С**, в которой инъеكتат сжимается в меньшее вертикальное пространство. Эти тесты демонстрируют значительные преимущества, обеспечиваемые описанными в настоящем документе струйно-инъекционными вакуумными банками, с точки зрения распределения инъектата текучей среды.

[00235] Следует понимать, что, хотя варианты осуществления, описанные в настоящем документе, предназначены для целевой электропорации во внутрикожной и/или подкожной ткани, любой из параметров конструкции вакуумных банок 2, 502, 702, 802, 902, 1002, 1502, 1602 и вакуумных устройств 1802, 1902 можно масштабировать вверх или вниз по размеру, чтобы нацеливаться на более конкретные и/или разные слои ткани, такие как определенные слои ткани в коже или даже слои мускулатуры, такие как слои гладкой мускулатуры и скелетных мышц. Кроме того, конструктивные параметры вакуумных банок 2, 502, 702, 802, 902, 1002, 1502, 1602 и вакуумных устройств 1802, 1902 в настоящем документе могут быть адаптированы по мере необходимости для целевой электропорации других типов тканей, включая слизистые оболочки, органы и т. д.

[00236] Хотя это раскрытие было описано подробно, следует понимать, что в нем могут быть сделаны различные изменения, замены и модификации без отклонения от сущности и объема изобретения, как определено прилагаемой формулой изобретения. Например, признаки различных вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, могут быть включены в один или большее количество и даже во все другие варианты осуществления, описанные в настоящем документе. Кроме того, объем настоящего раскрытия не предназначен для ограничения конкретными вариантами осуществления, описанными в спецификации. Специалисту в данной области техники будет легко понятно, что процессы, машины, производство, состав вещества, средства, способы или этапы, существующие в настоящее время или которые будут разработаны в будущем, выполняют по существу ту же функцию или достигают по существу того же результата, что и соответствующие варианты осуществления, описанные в настоящем документе, могут быть использованы согласно настоящему раскрытию.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для вакуумной электропорации ткани *in vivo*, содержащее:
корпус, определяющий камеру и по меньшей мере одно отверстие в камеру;
по меньшей мере один порт, проходящий через корпус, при этом по меньшей мере один порт удален от по меньшей мере одного отверстия и имеет возможность соединения с источником вакуума таким образом, что по меньшей мере один порт выполнен с возможностью передачи вакуумметрического давления от источника вакуума в камеру; и
множество электродов, расположенных внутри камеры, при этом множество электродов выполнено с возможностью подачи одного или большего количества электропорационных импульсов к целевой части ткани, проходящей через по меньшей мере одно отверстие и по меньшей мере временно удерживаемой в камере в ответ на вакуумметрическое давление.

2. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что по меньшей мере одно отверстие представляет собой единственное отверстие, и отверстие является круглым.

3. Устройство по п. 2, отличающееся тем, что корпус имеет стенку, определяющую внутреннюю поверхность, которая по меньшей мере частично определяет камеру, а множество электродов содержит четыре электрода, проходящих вдоль внутренней поверхности, при этом четыре электрода расположены на расстоянии друг от друга с интервалами девятнадцать градусов.

4. Устройство по п. 2, дополнительно содержащее второй порт в дополнение к по меньшей мере одному порту, причем второй порт выполнен для введения струйного инъекционного устройства или иглы для подкожных инъекций в камеру.

5. Устройство по п. 2, отличающееся тем, что корпус имеет концевую поверхность, противоположную по меньшей мере одному отверстию, и стенку, проходящую от концевой поверхности к отверстию, причем стенка определяет внутреннюю поверхность, которая по меньшей мере частично определяет камеру, при этом по меньшей мере один первый электрод из множества электродов проходит от концевой поверхности, а по меньшей мере один второй электрод из множества электродов проходит вдоль внутренней поверхности, при этом по меньшей мере один первый электрод и по меньшей мере один второй электрод концентричны друг с другом.

6. Устройство по п. 5, отличающееся тем, что по меньшей мере один первый электрод представляет собой единственный электрод, расположенный центральным образом по отношению к концевой поверхности, а по меньшей мере один второй электрод проходит по всей окружности внутренней поверхности.

7. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что множество электродов имеет поверхности электродов, которые являются открытыми внутри камеры, и по меньшей мере некоторые из поверхностей электродов представляют собой одно или более из текстурированных и выступающих в камеру.

8. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что корпус выполнен из материала, который является гибким, и материал содержит один или большее количество из

поликарбоната, полиэфирэфиркетона, полифталамида, полиэтилена, политеримида, поливинилхлорида, политетрафторэтилена, полиамида, полиимида, полисилоксана (силикона), полиэтилентерефталата, полиуретана, сшитых или несшитых каучуков, полиэфиров.

9. Устройство по п. 1, дополнительно содержащее:

генератор сигналов, имеющий электрическую связь со множеством электродов и выполненный с возможностью передачи одного или большего количества электропорационных импульсов на множество электродов; и

процессор, имеющий электрическую связь с генератором сигналов и по меньшей мере одним датчиком, расположенным в камере, причем по меньшей мере один датчик выполнен с возможностью восприятия по меньшей мере одного параметра ткани во время подачи одного или большего количества электропорационных импульсов и передачи данных обратной связи по меньшей мере одного параметра в процессор, и при этом процессор выполнен с возможностью исполнения одного или большего количества алгоритмов с использованием данных обратной связи и регулировки по меньшей мере одного параметра импульса одного или большего количества импульсов во время подачи одного или большего количества импульсов.

10. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что множество электродов выполнено с возможностью подачи импульсов с величиной потенциала в диапазоне от около 2 В до около 1000 В.

11. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что множество электродов выполнено с возможностью подачи импульсов с величиной тока в диапазоне от около 0,01 ампер до около 2,0 ампер, причем импульсы имеют длительности импульсов в диапазоне от около 0,1 миллисекунд до около 100 миллисекунд.

12. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что по меньшей мере один порт содержит матрицу портов, каждый из которых проходит через корпус в камеру таким образом, что корпус содержит коллектор, который определяет матрицу портов.

13. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что целевая часть ткани представляет собой по меньшей мере одну из кожной ткани и жировой ткани.

14. Способ электропорации ткани субъекта, включающий:

размещение камеры, прилегающей к ткани субъекта;

приложение вакуумметрического давления к камере, тем самым втягивая ткань через отверстие камеры для контакта со множеством электродов, проходящих вдоль внутренней поверхности камеры, и

подачу одного или большего количества электропорационных импульсов через множество электродов к ткани, тем самым создавая электропорационное поле внутри ткани.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что этап приложения включает приложение вакуумметрического давления на уровне, достаточном для прикрепления ткани к

внутренней поверхности и распределения текучей среды внутри ткани в электропорационном поле.

16. Способ по п. 14, дополнительно включающий инъекцию вещества в ткань перед этапом подачи, при этом этап подачи включает перенос вещества в клетки ткани внутри электропорационного поля через обратимые поры, образованные в клеточных мембранах клеток в ответ на электропорационное поле.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что вещество содержит нуклеиновую кислоту, вызывающую иммунный ответ у субъекта.

18. Способ по п. 14, отличающийся тем, что этап приложения включает приложение импульсов переменного вакуумметрического давления к ткани и изменение длительности импульсов.

19. Способ по п. 14, дополнительно включающий инъекцию текучей среды в ткань из инъекционного устройства, которое проходит через второй порт в камеру, при этом этапы инъекции и приложения выполняются до этапа подачи, а инъекционное устройство представляет собой одно из инъекционной иглы и струйного инъекционного устройства.

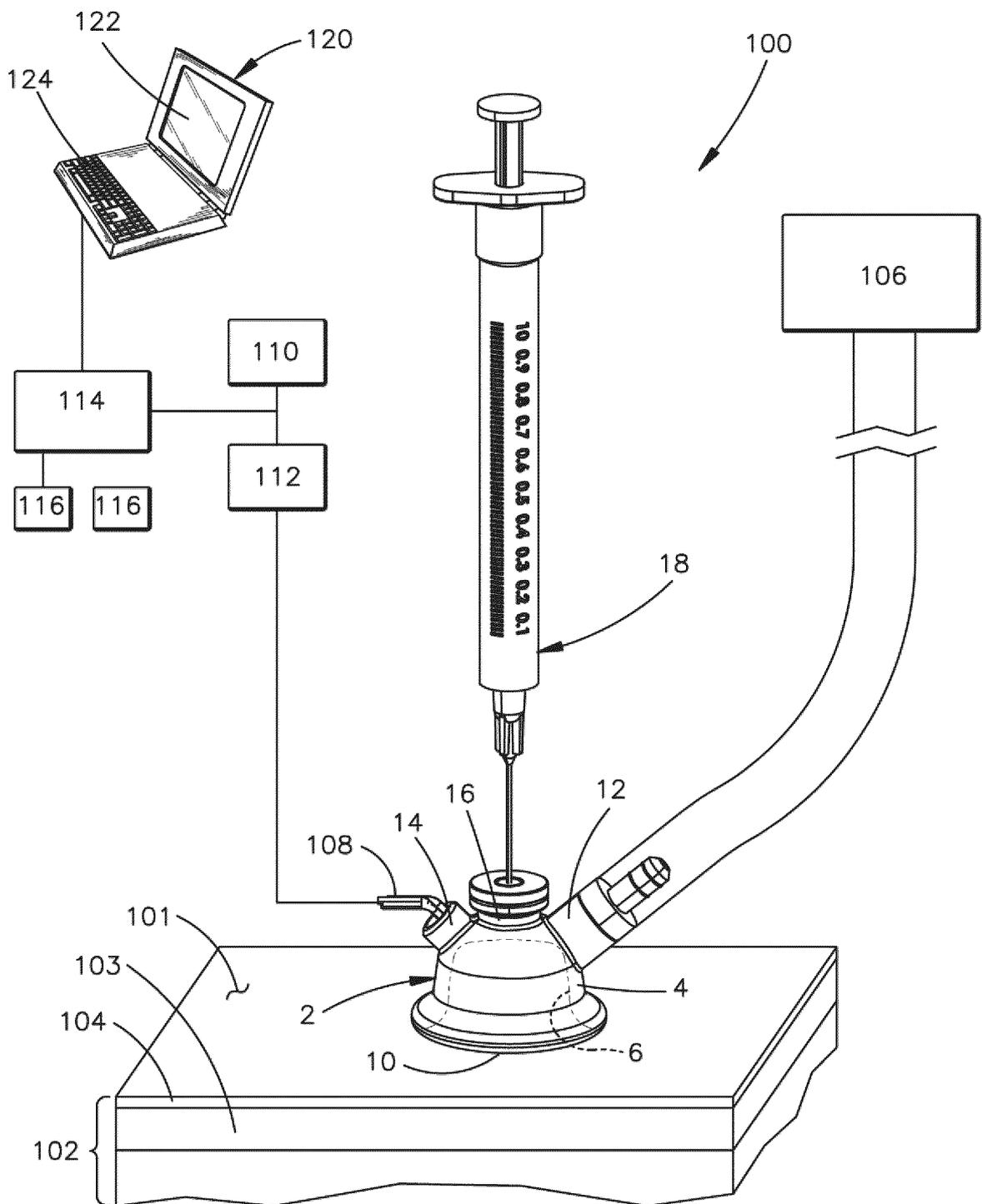
20. Устройство для вакуумной терапии ткани, содержащее:

корпус, определяющий камеру и по меньшей мере одно отверстие в камере;

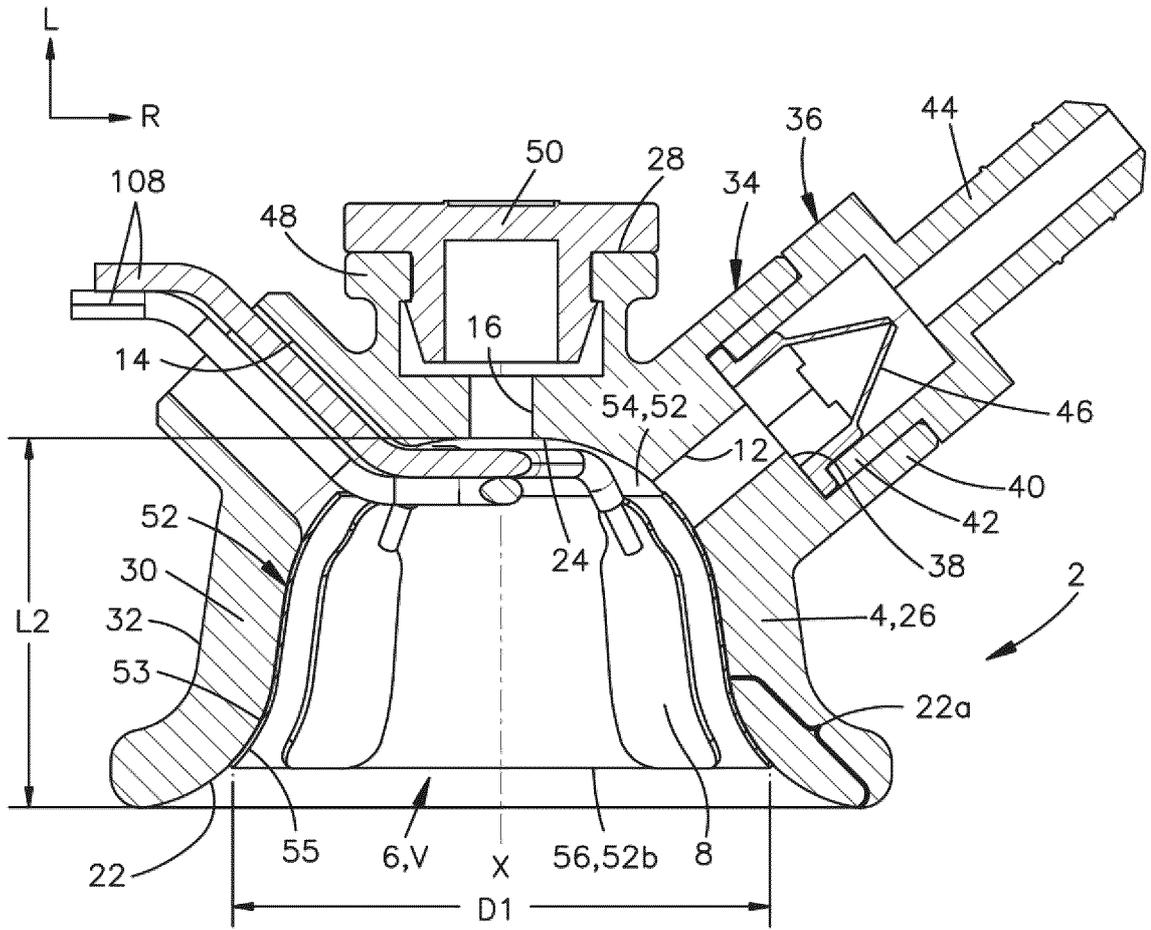
первый порт, проходящий через корпус, при этом первый порт удален от по меньшей мере одного отверстия и имеет возможность соединения с источником вакуума таким образом, что первый порт выполнен с возможностью передачи вакуумметрического давления от источника вакуума в камеру; и

струйно-инъекционное устройство, которое проходит через второй порт в камеру, при этом второй порт расположен напротив по меньшей мере одного отверстия, при этом струйно-инъекционное устройство выполнено с возможностью доставки струйной инъекции текучей среды в целевую часть ткани, проходящую через по меньшей мере одно отверстие и по меньшей мере временно удерживаемую в камере в ответ на вакуумметрическое давление.

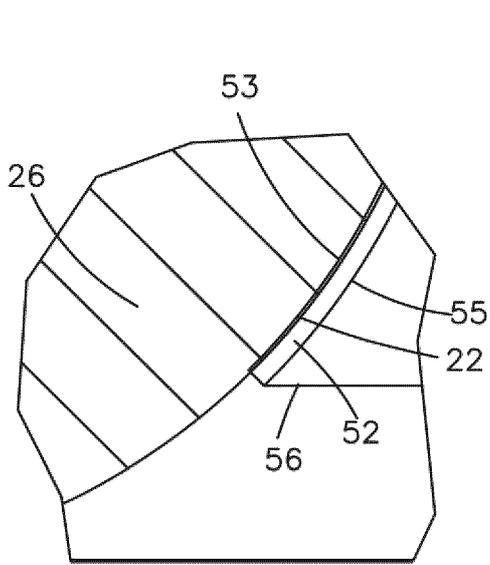
По доверенности



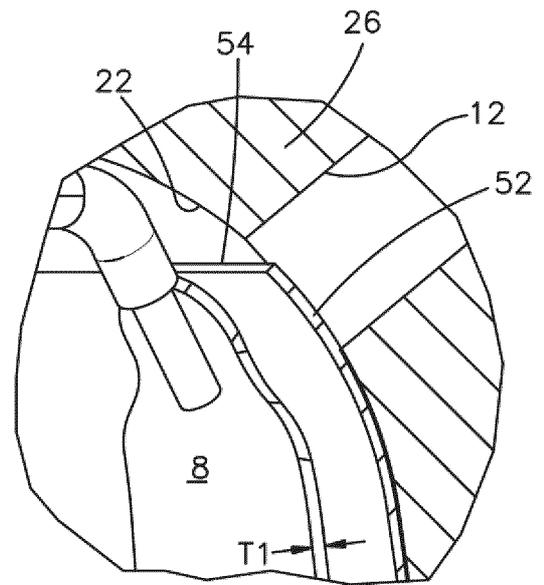
ФИГ. 1



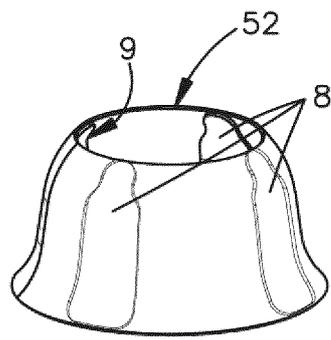
Фиг. 2D



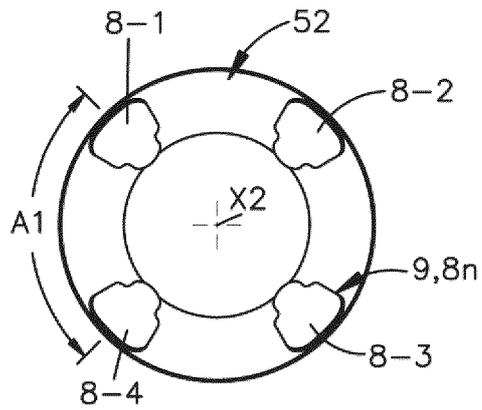
Фиг. 2E



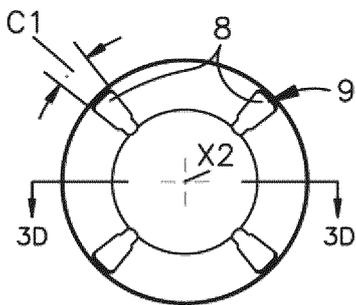
Фиг. 2F



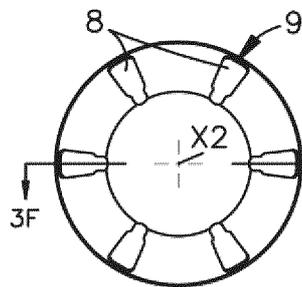
Фиг. 3А



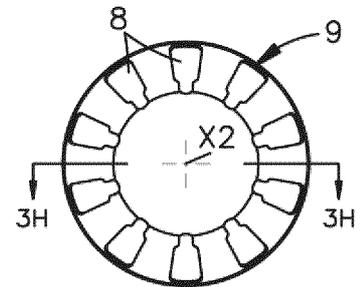
Фиг. 3В



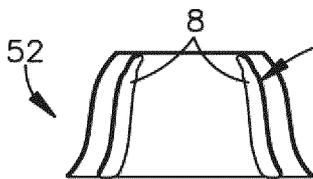
Фиг. 3С



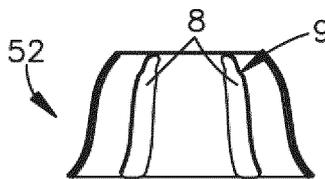
Фиг. 3Е



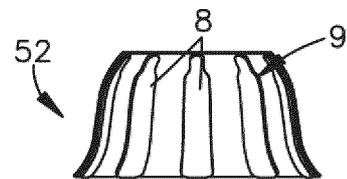
Фиг. 3Г



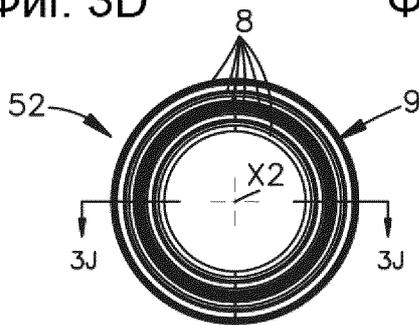
Фиг. 3Д



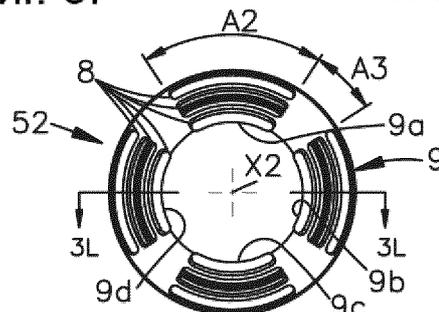
Фиг. 3Ф



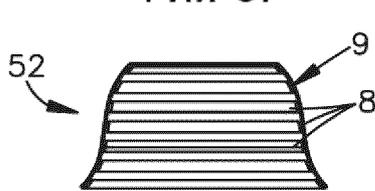
Фиг. 3Н



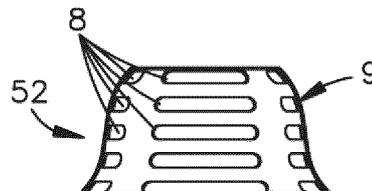
Фиг. 3И



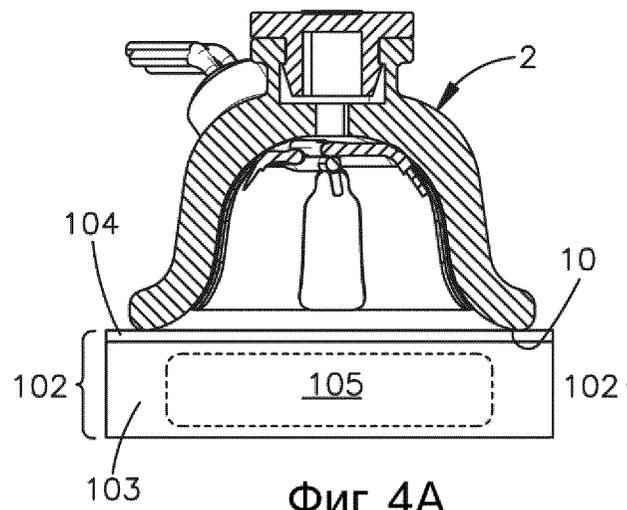
Фиг. 3К



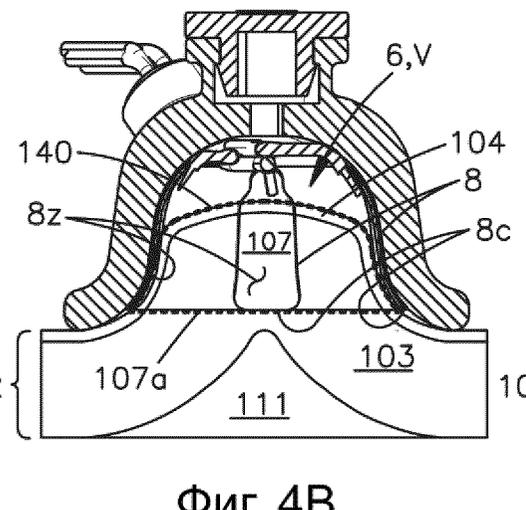
Фиг. 3Ж



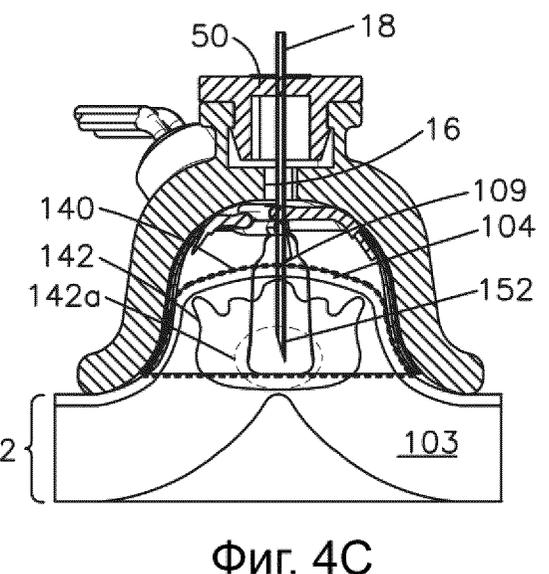
Фиг. 3Л



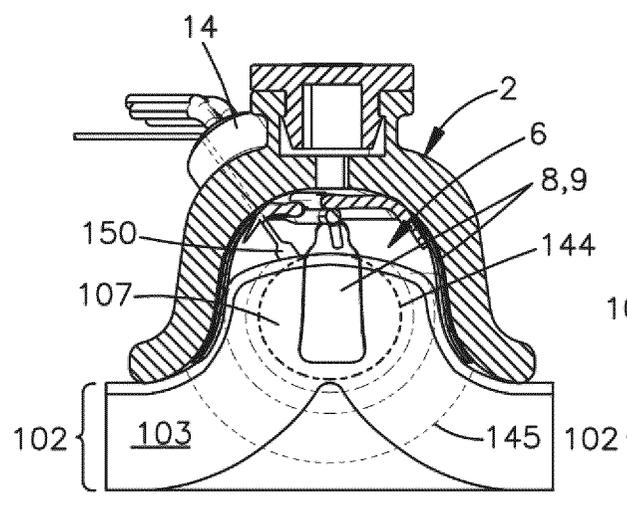
Фиг. 4А



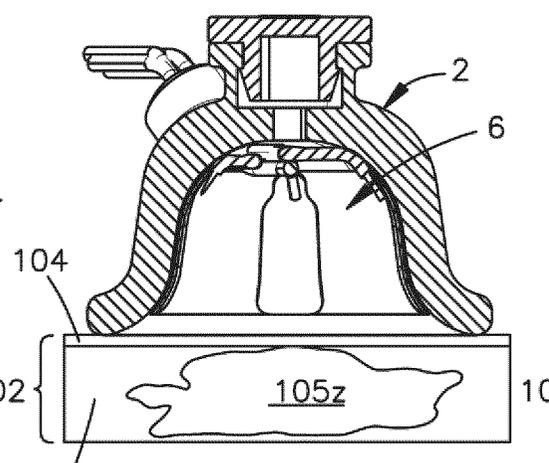
Фиг. 4В



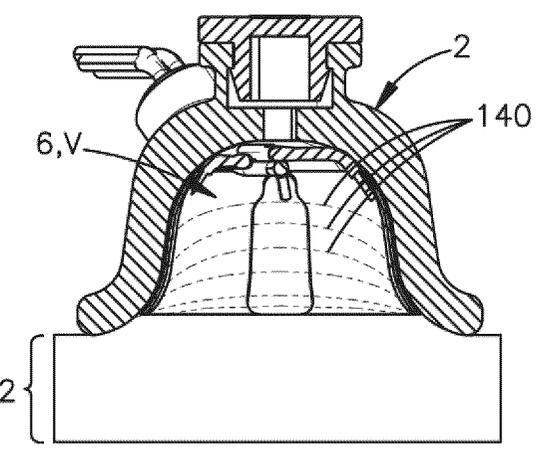
Фиг. 4С



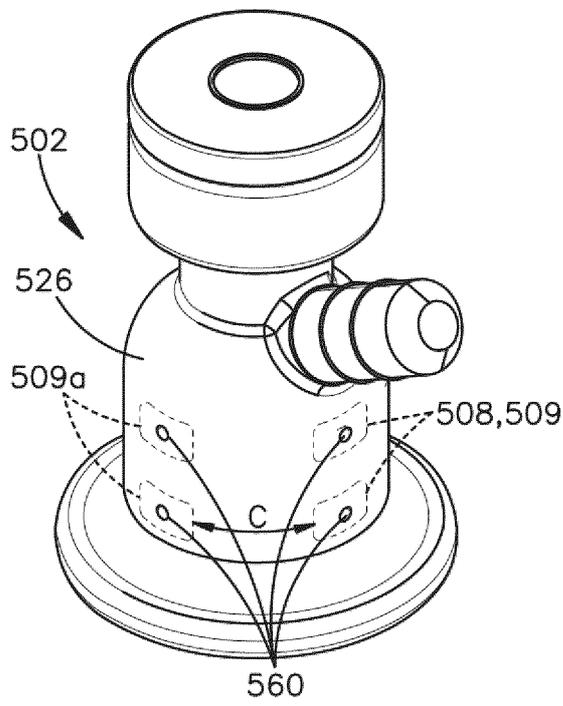
Фиг. 4D



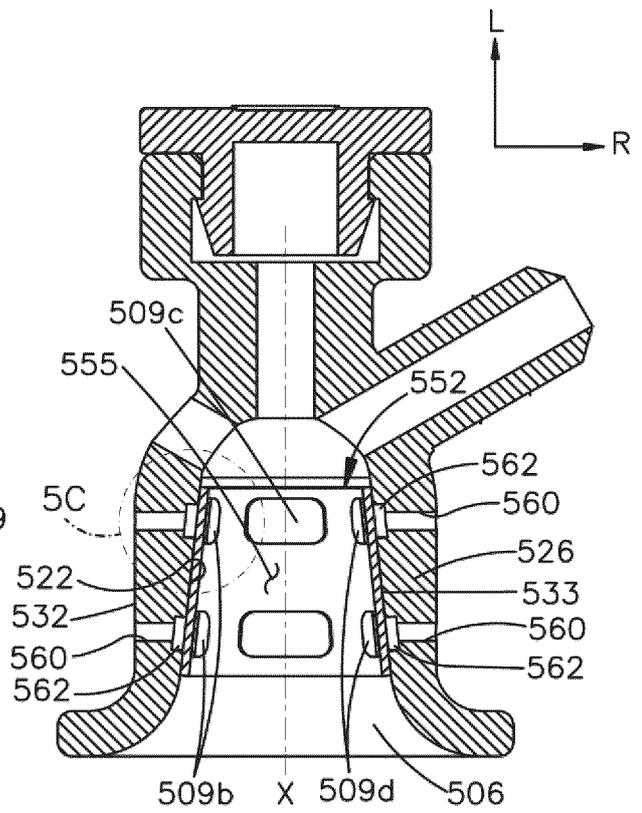
Фиг. 4Е



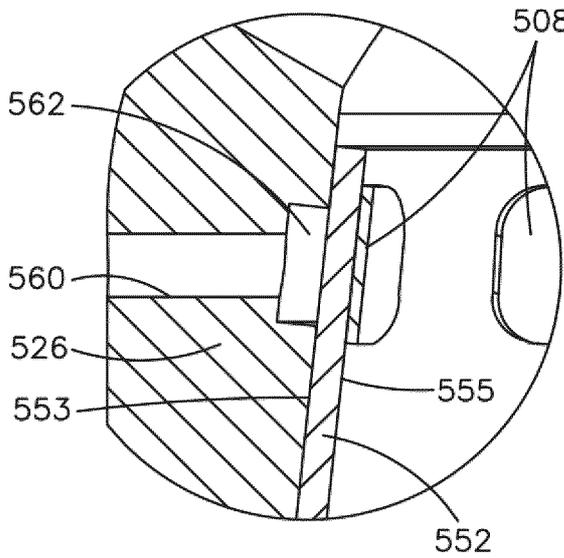
Фиг. 4F



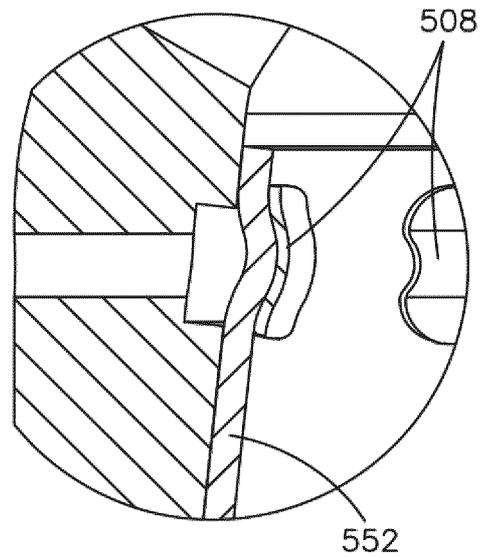
Фиг. 5А



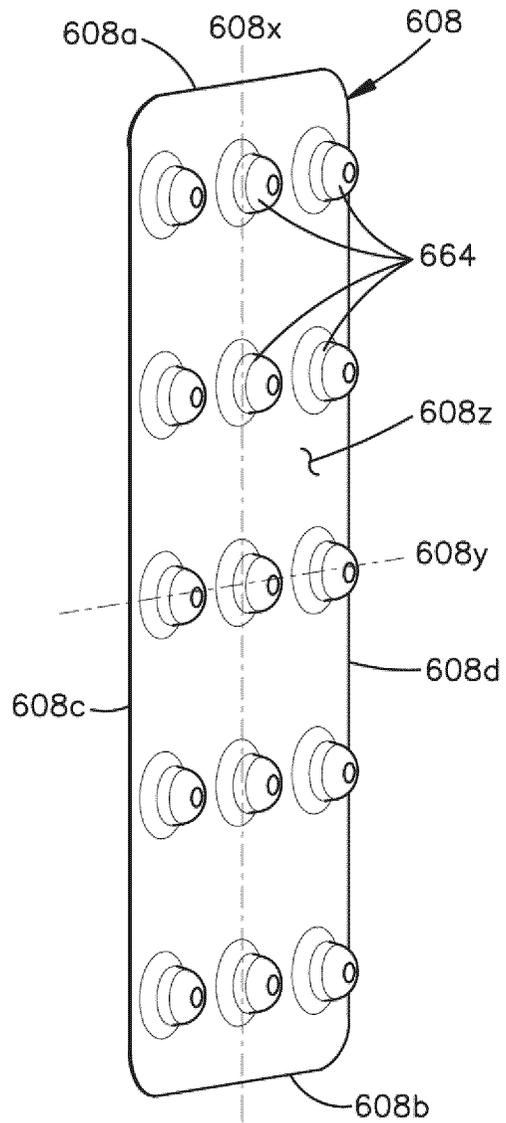
Фиг. 5В



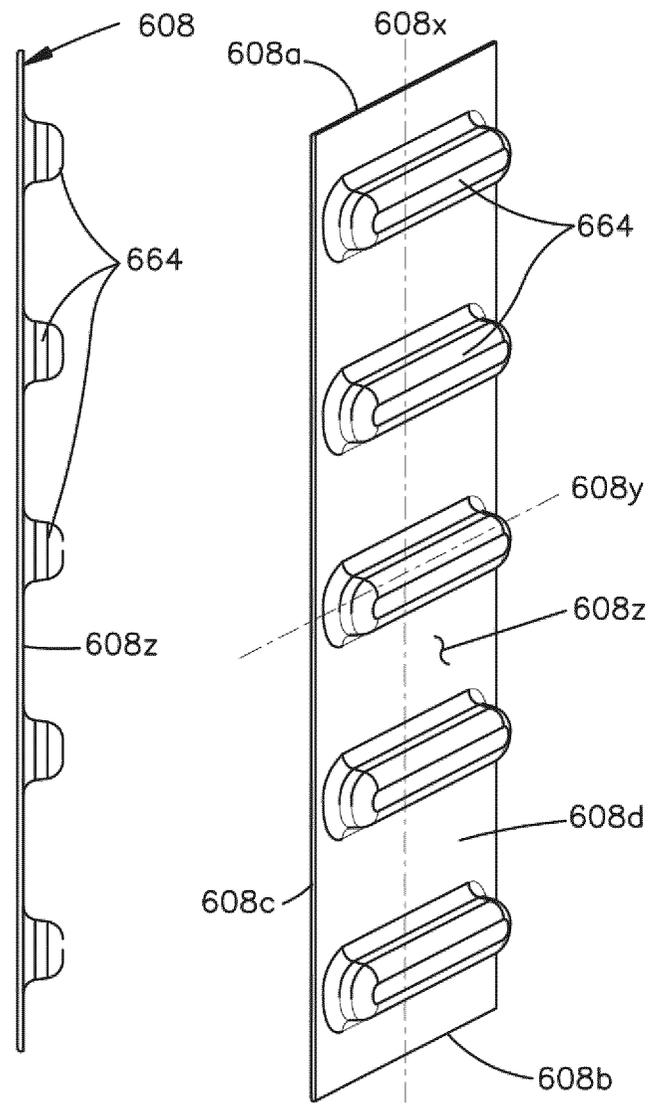
Фиг. 5С



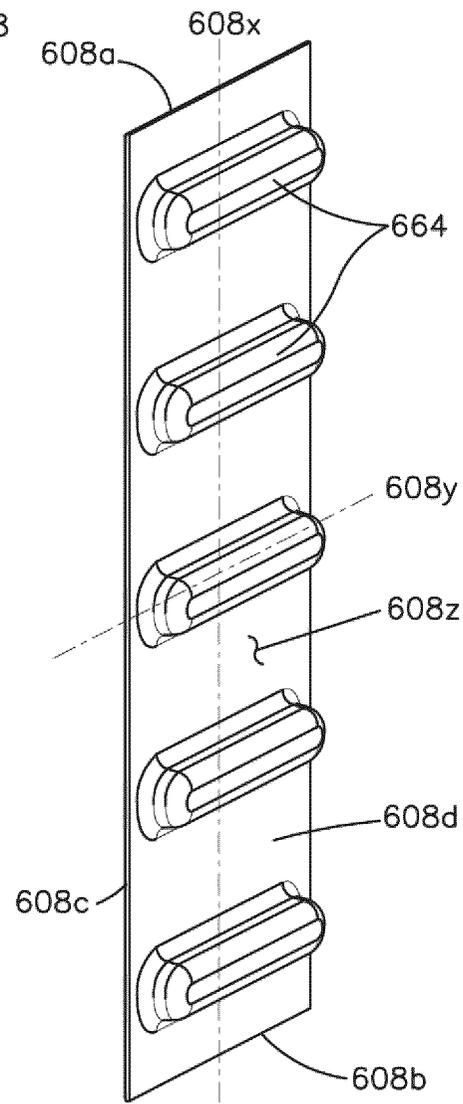
Фиг. 5D



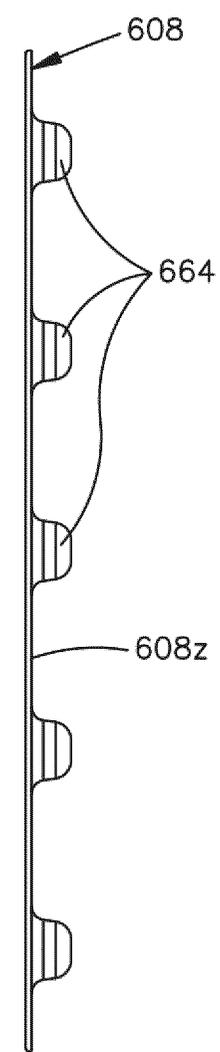
Фиг. 6А



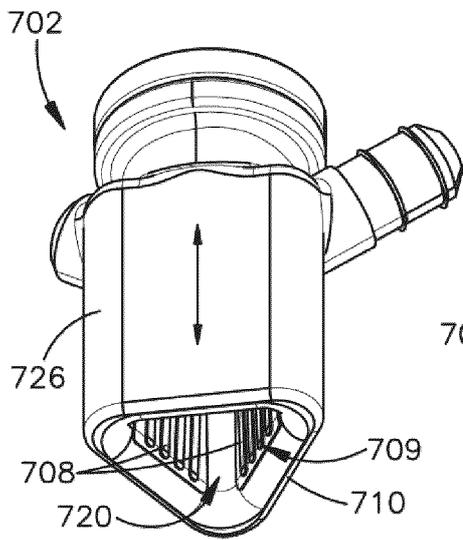
Фиг. 6В



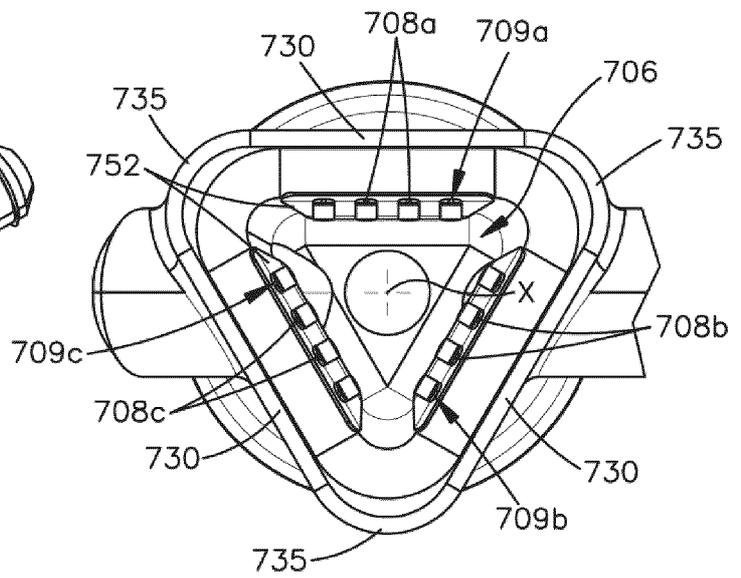
Фиг. 6С



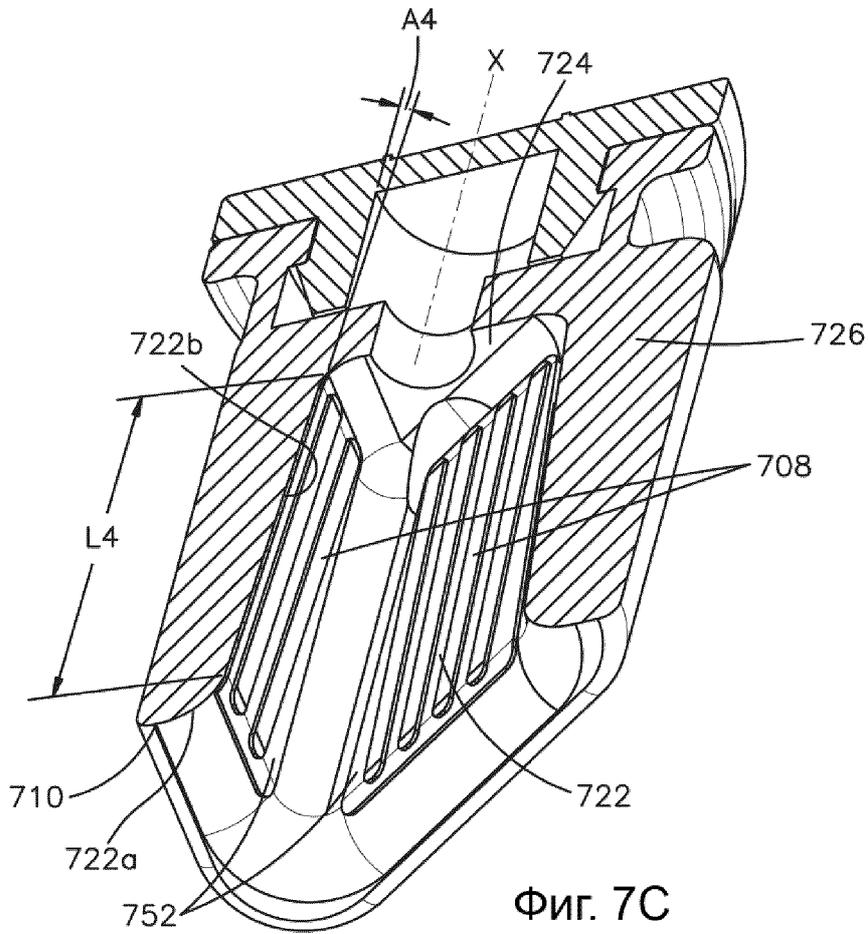
Фиг. 6D



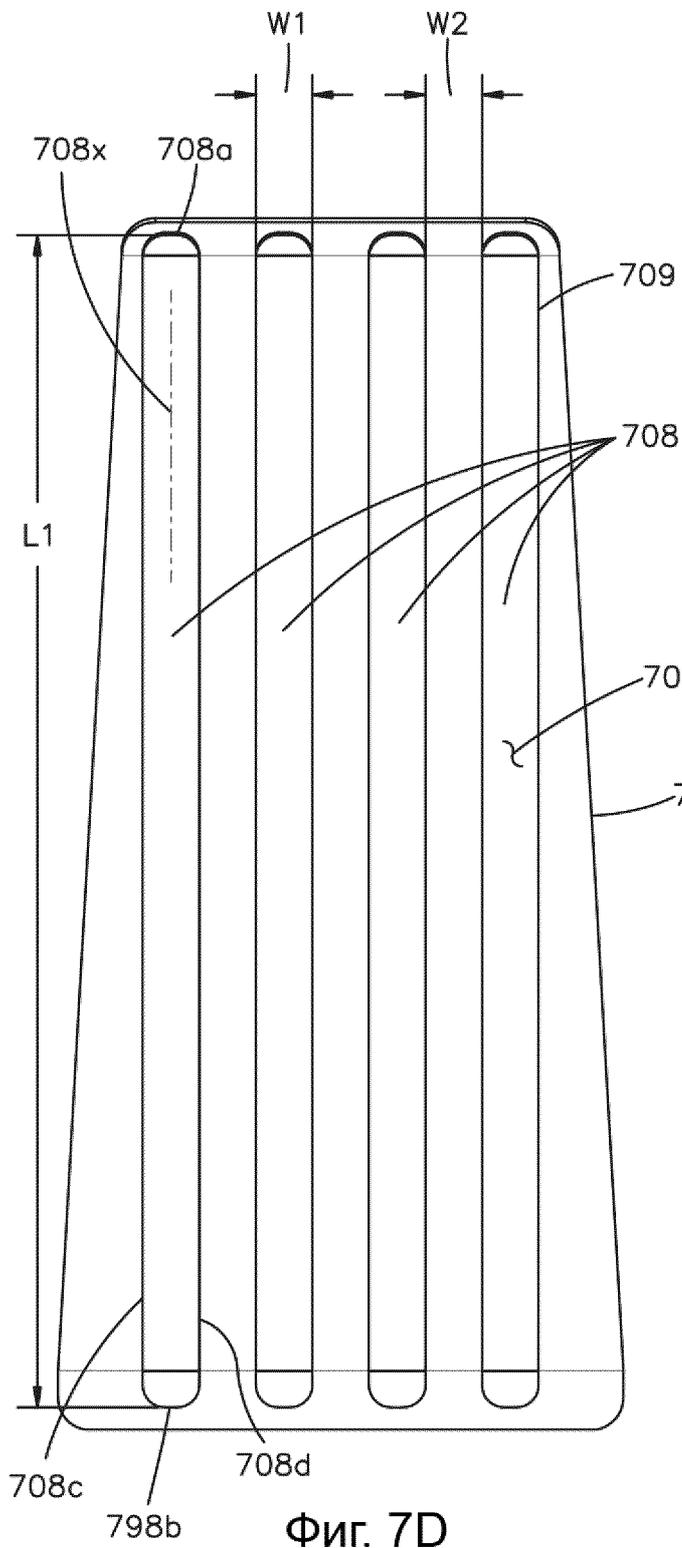
Фиг. 7А



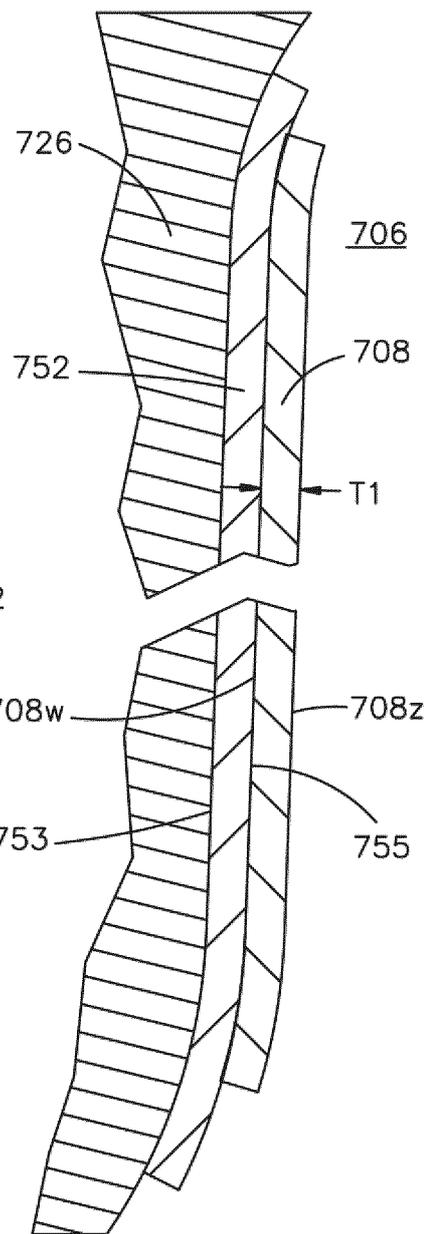
Фиг. 7В



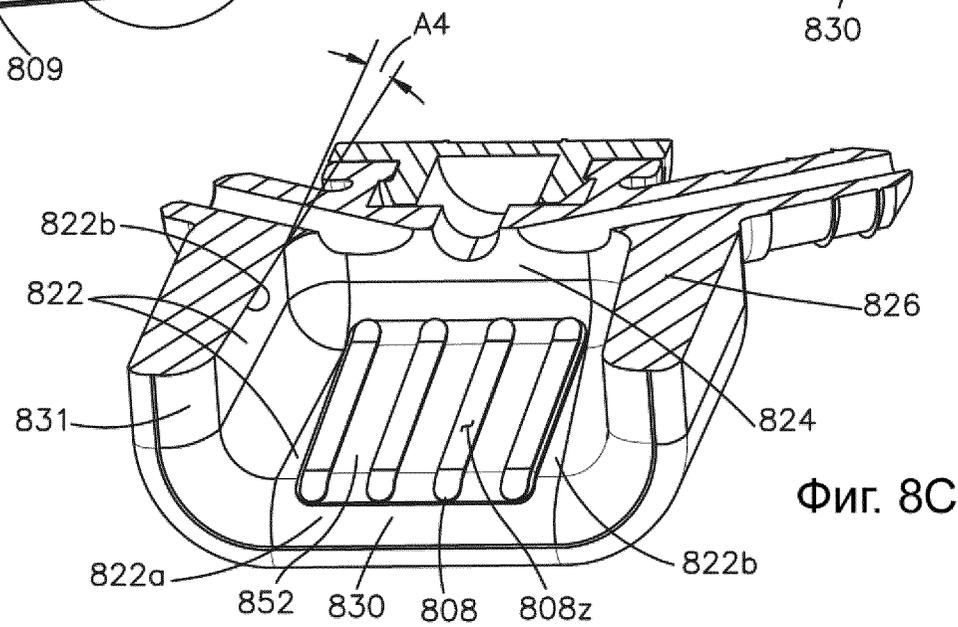
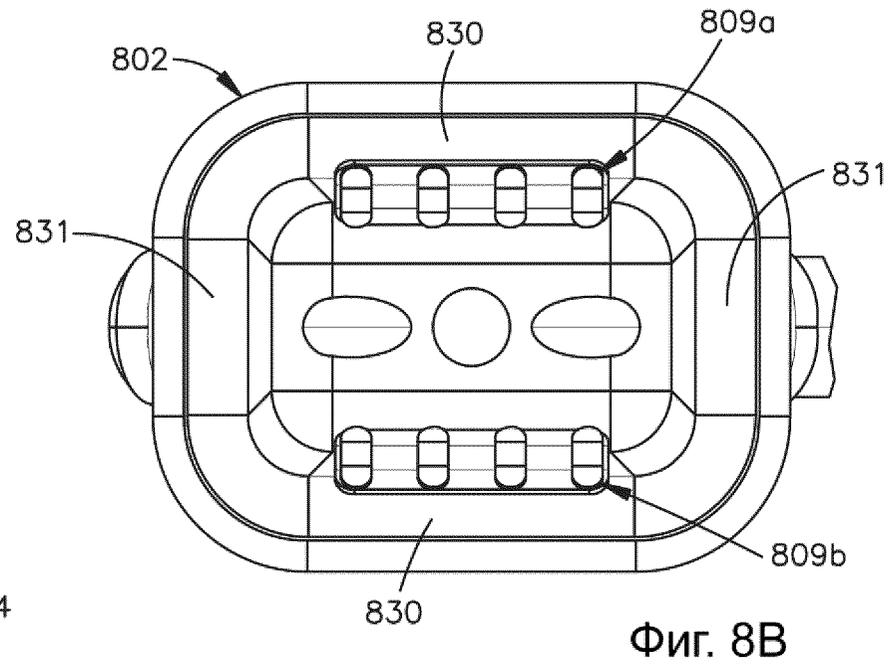
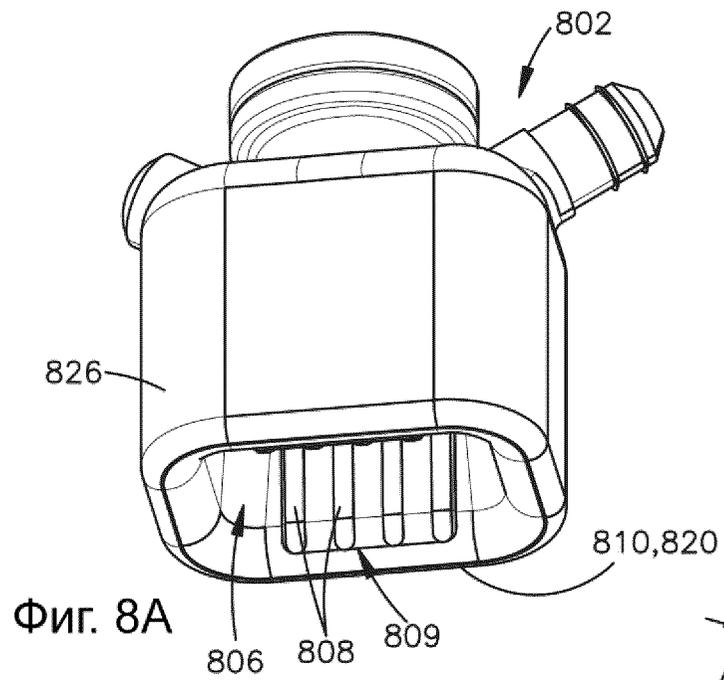
Фиг. 7С

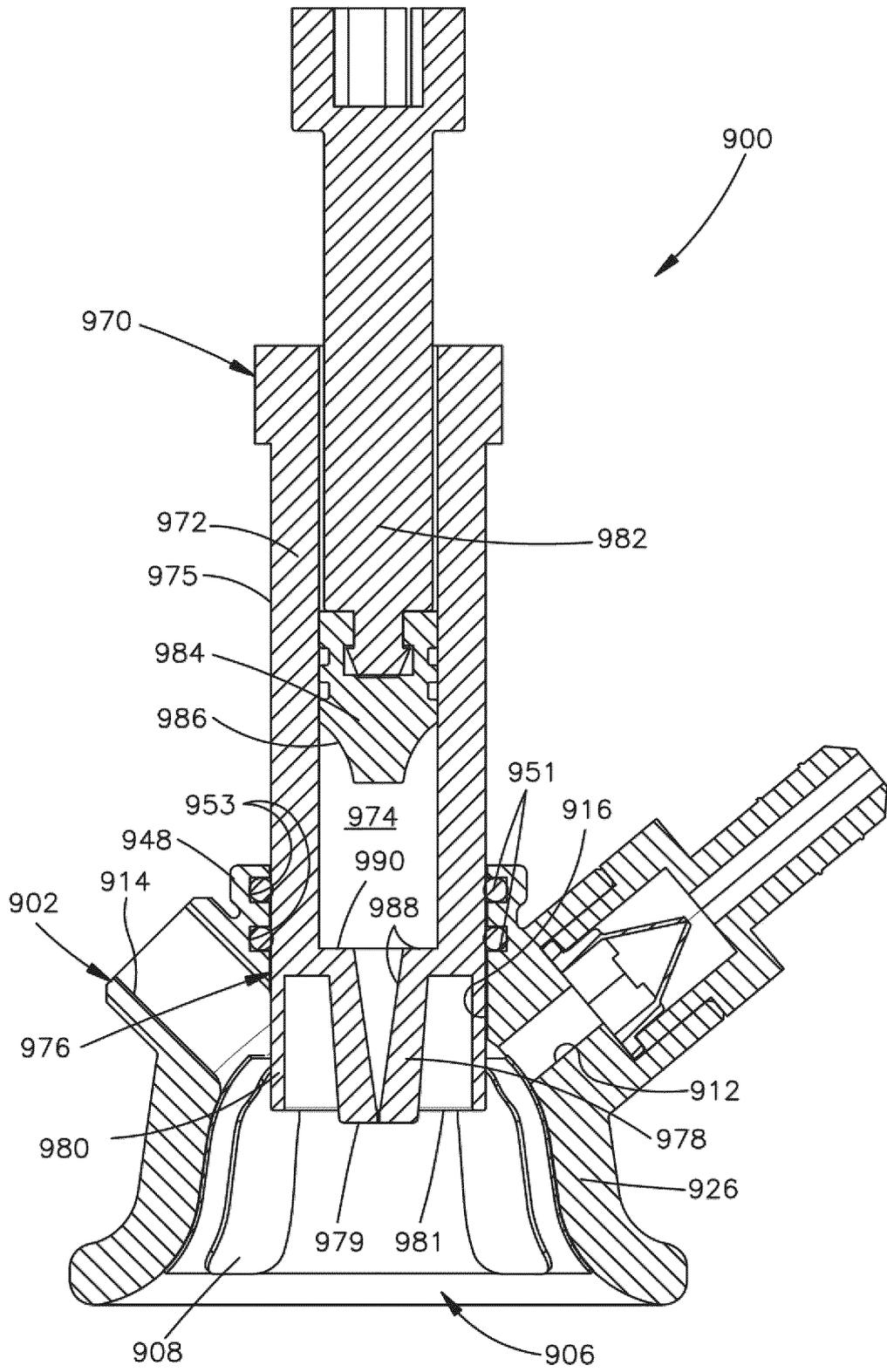


Фиг. 7D

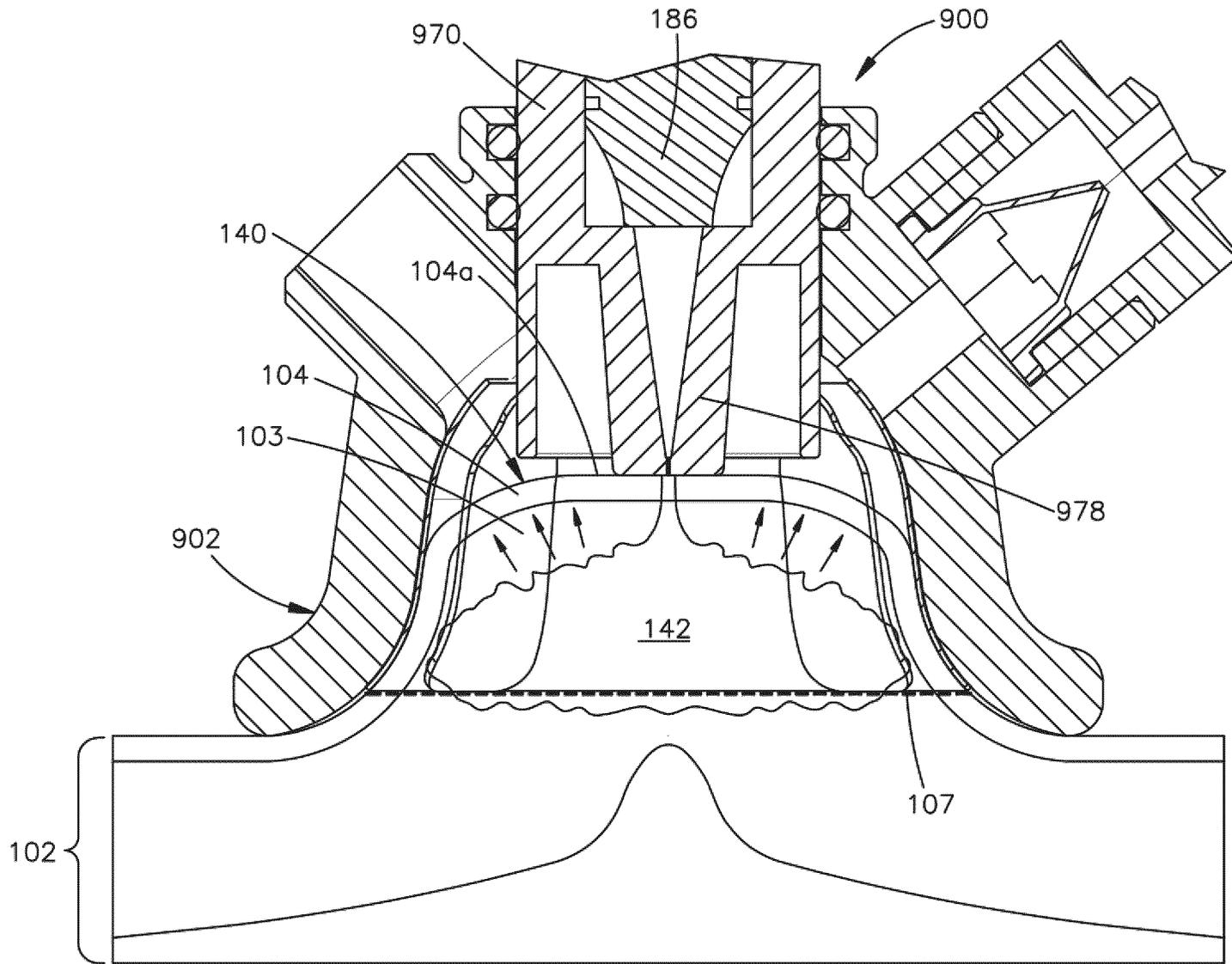


Фиг. 7E

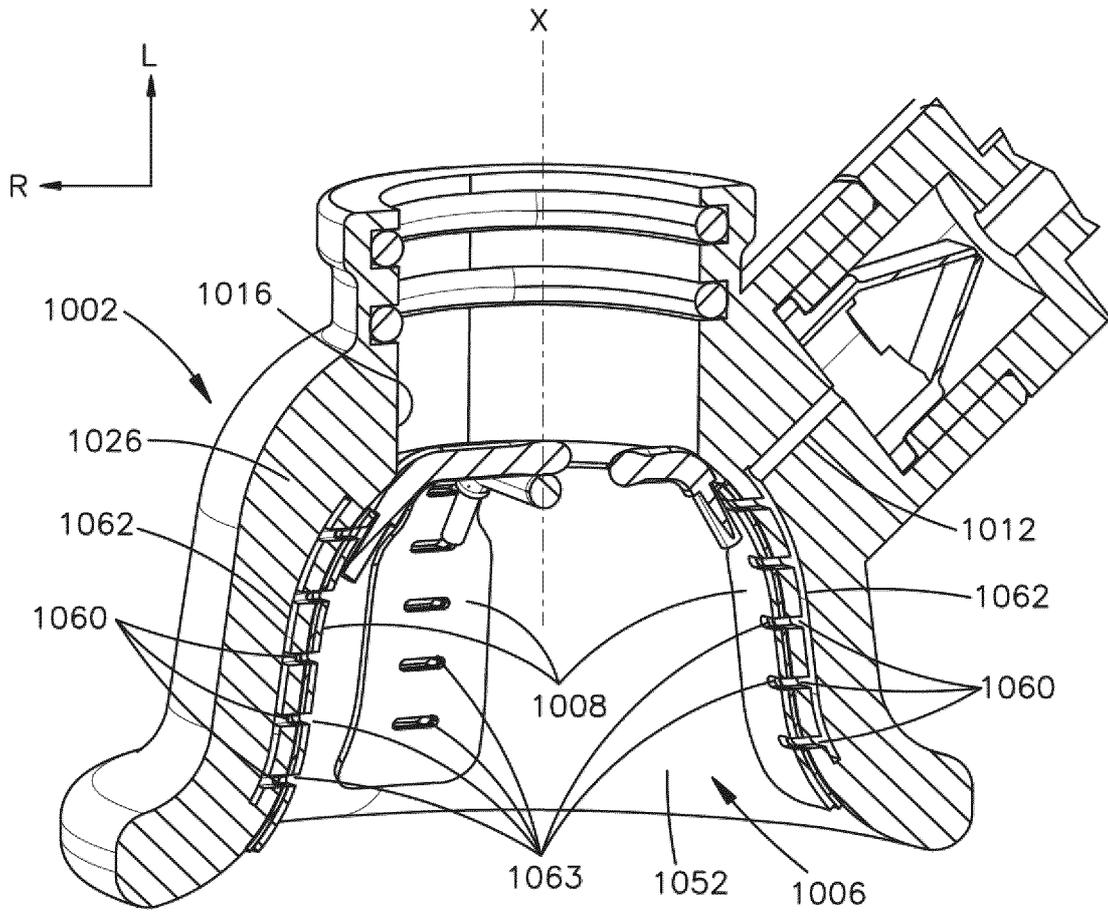




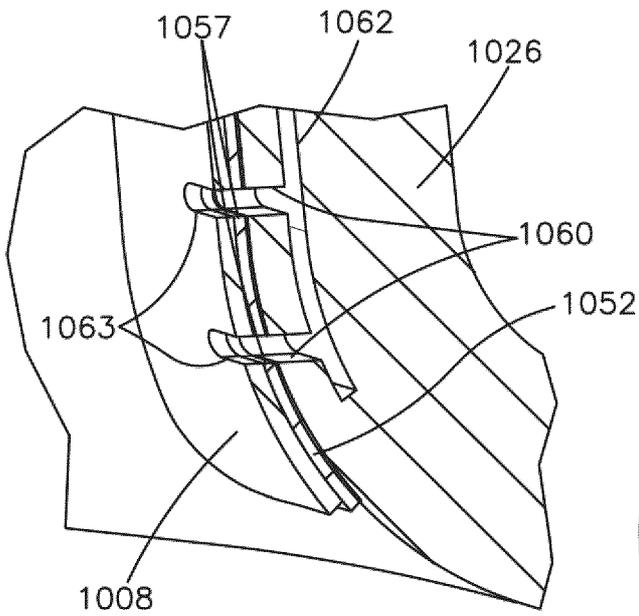
Фиг. 9А



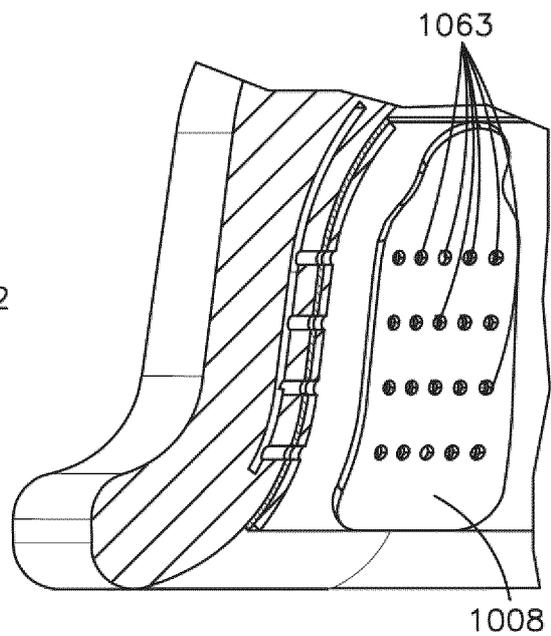
Фиг. 9В



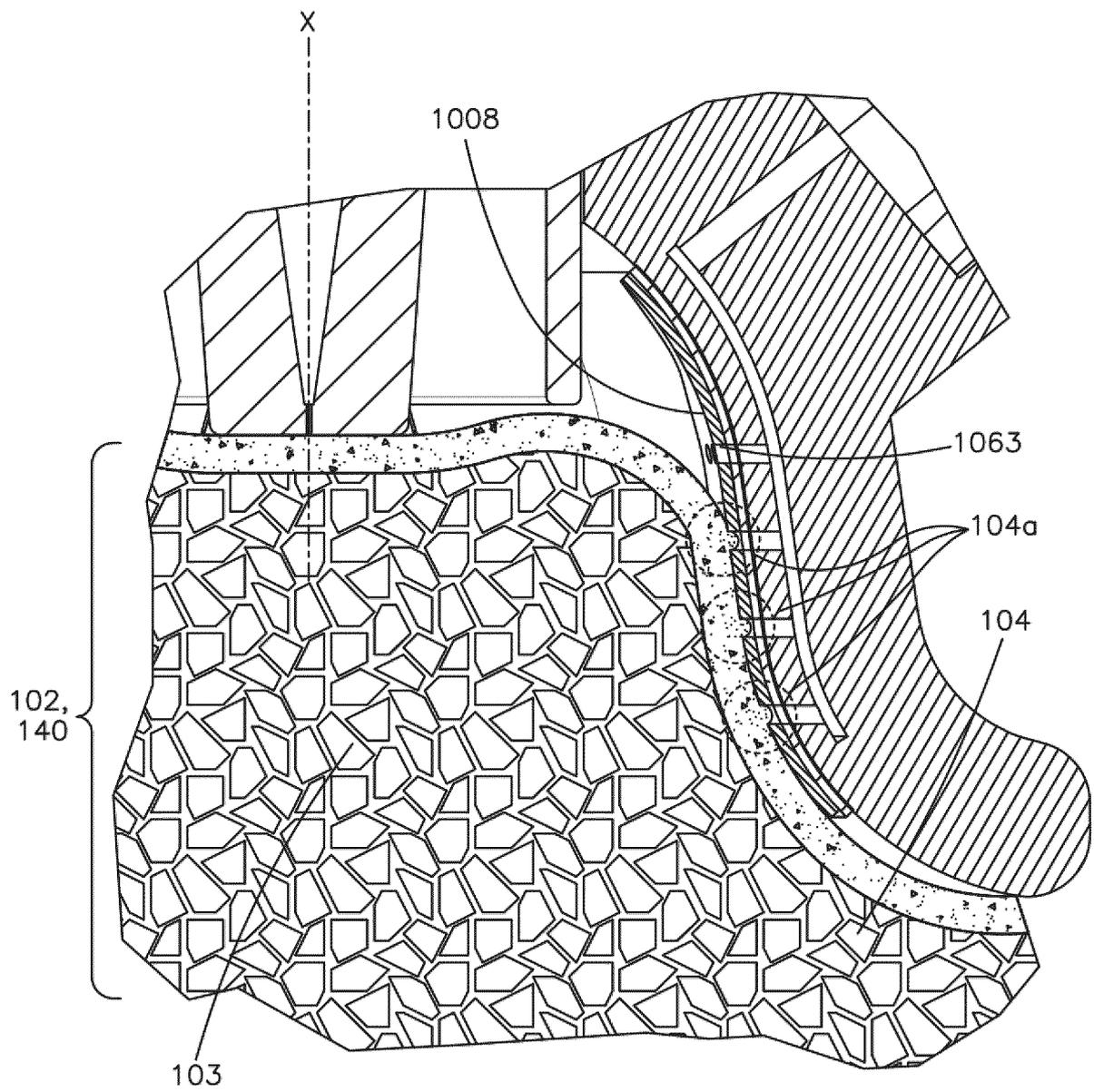
Фиг. 10А



Фиг. 10В



Фиг. 10С



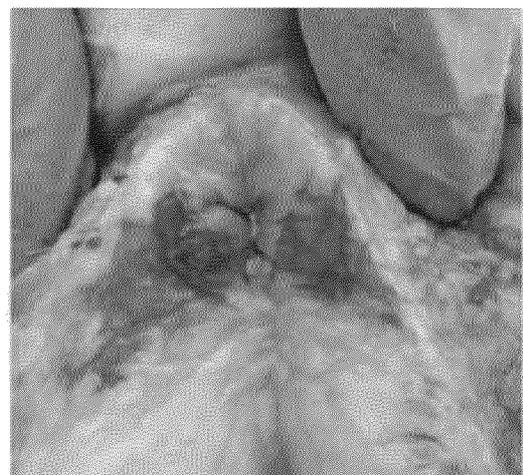
Фиг. 10D



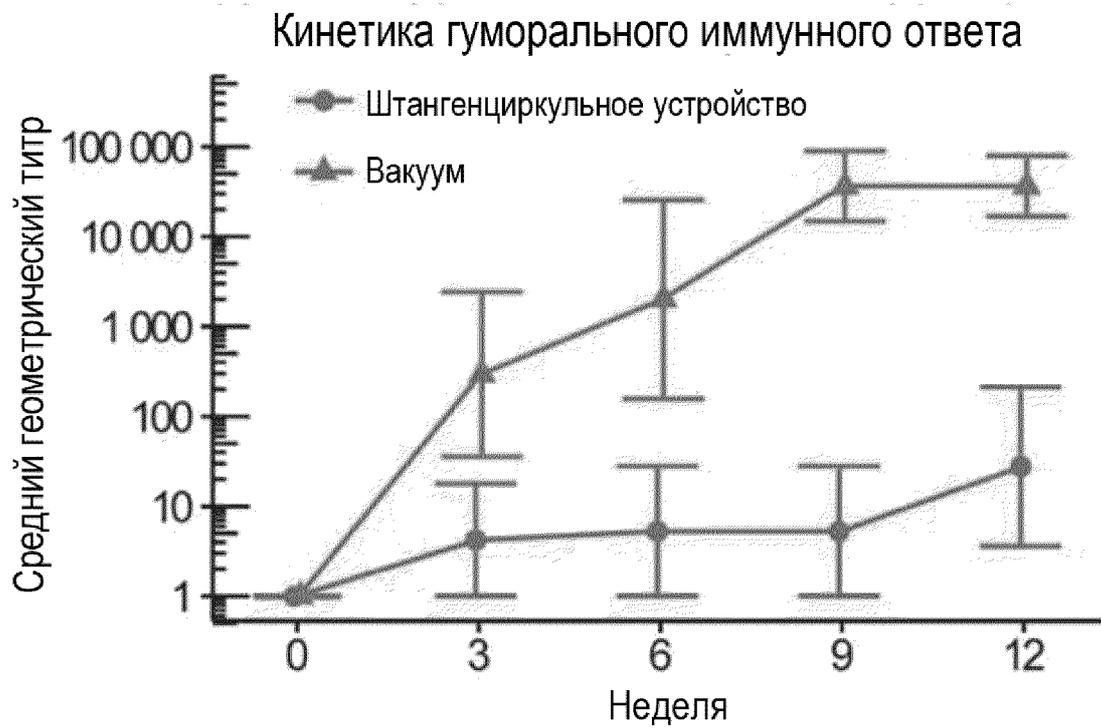
Фиг. 11А



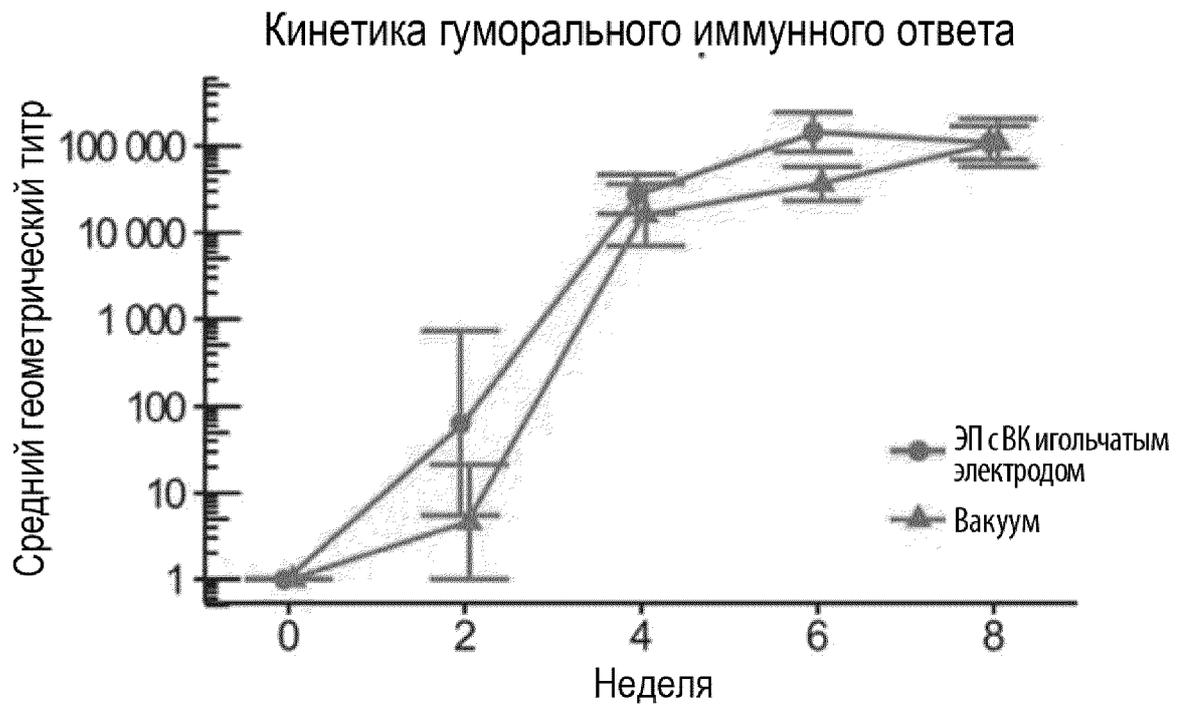
Фиг. 11В



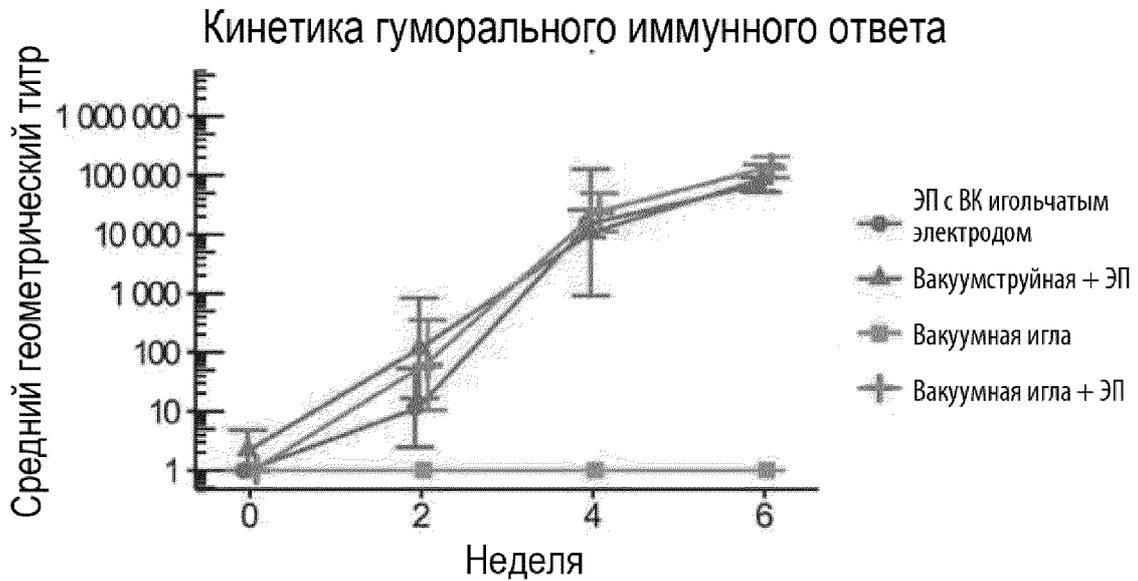
Фиг. 11С



Фиг. 12

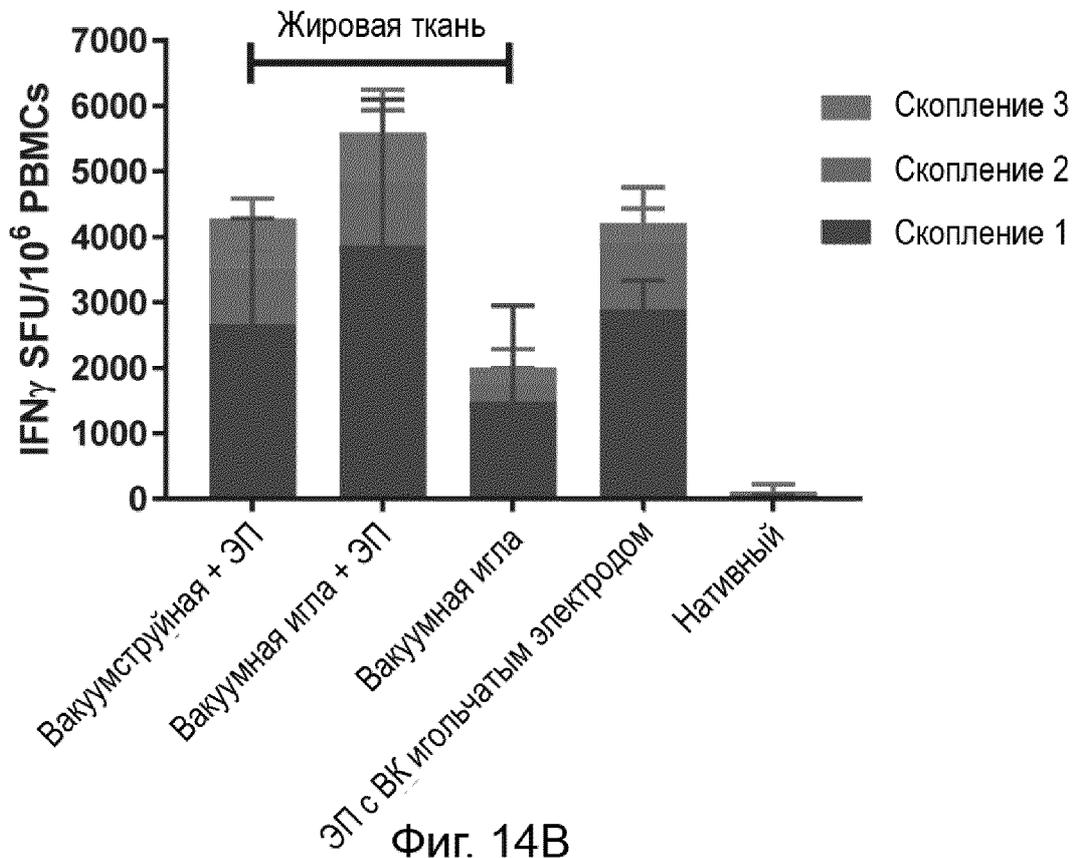


Фиг. 13

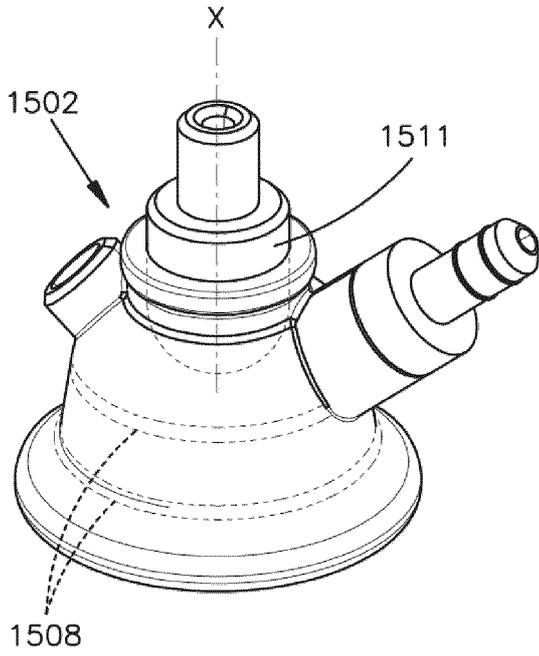


Фиг. 14А

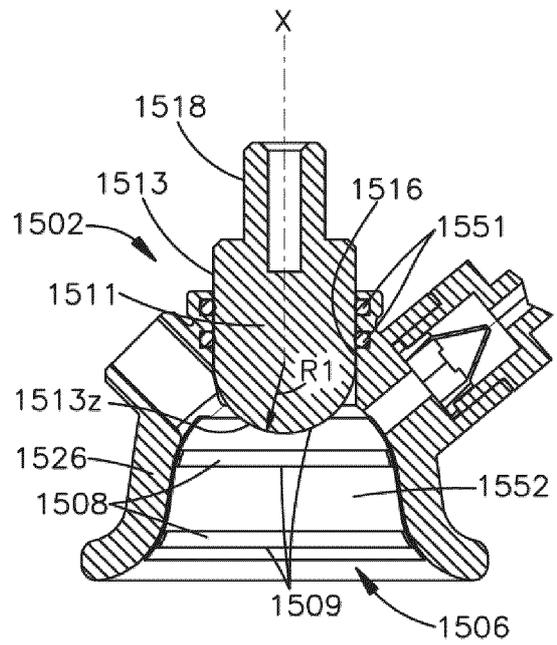
Формирующие пятно единицы, включающие NP, неделя 6



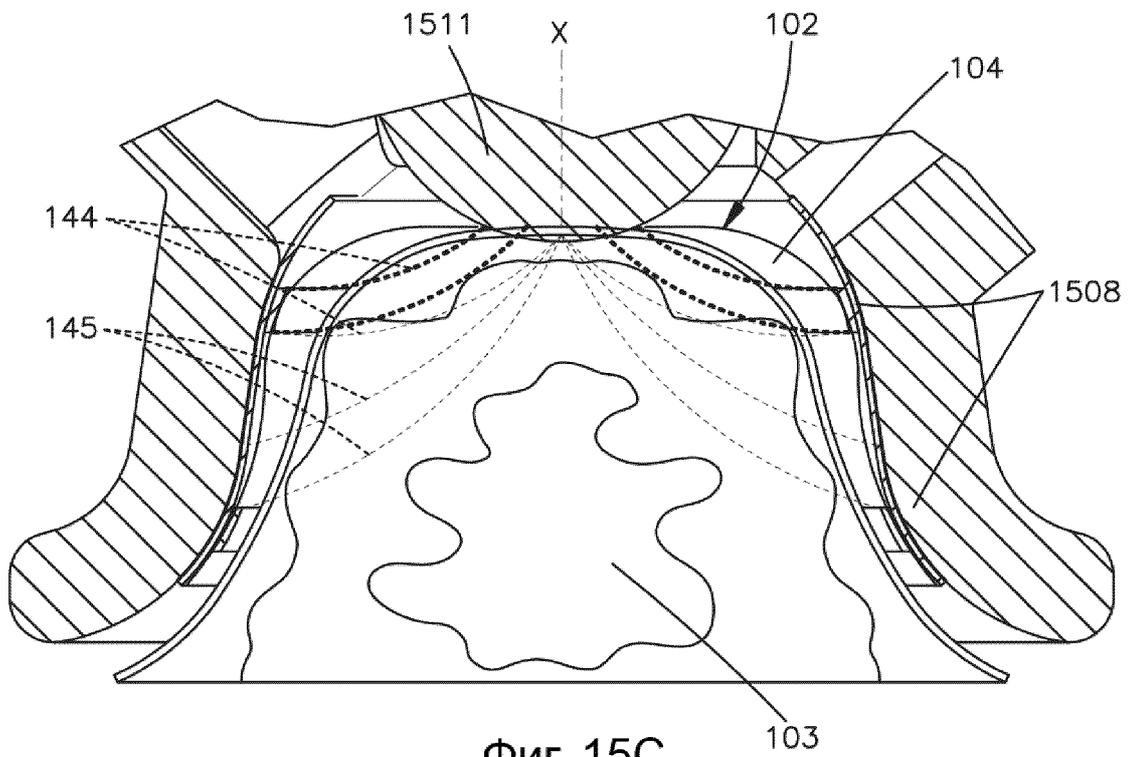
Фиг. 14В



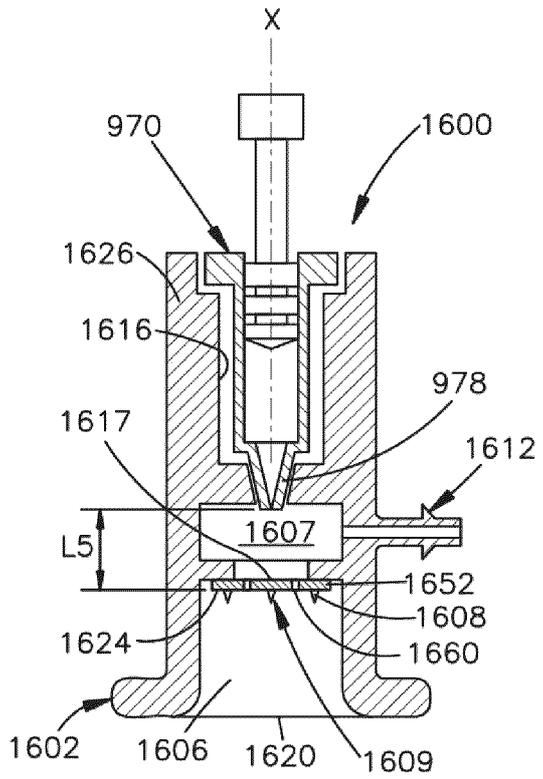
Фиг. 15А



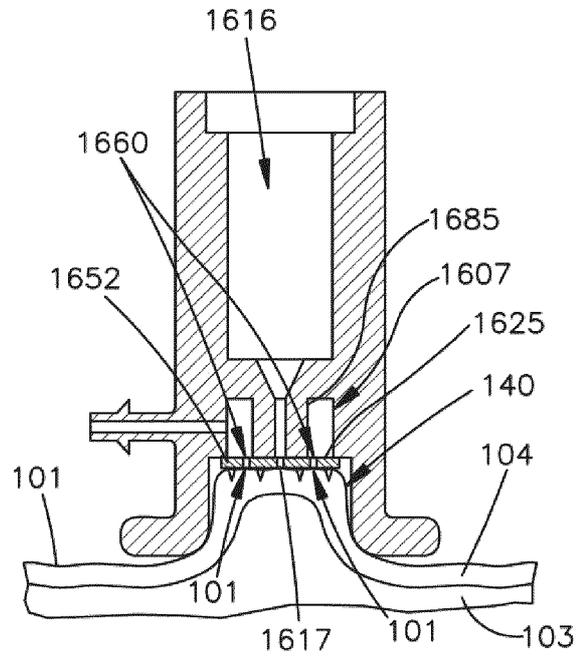
Фиг. 15В



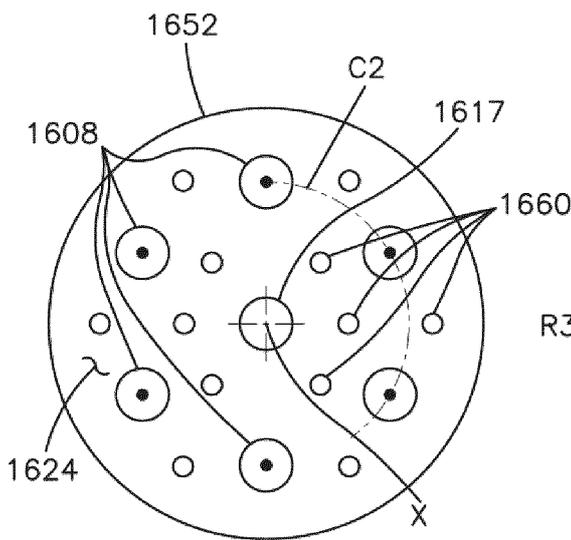
Фиг. 15С



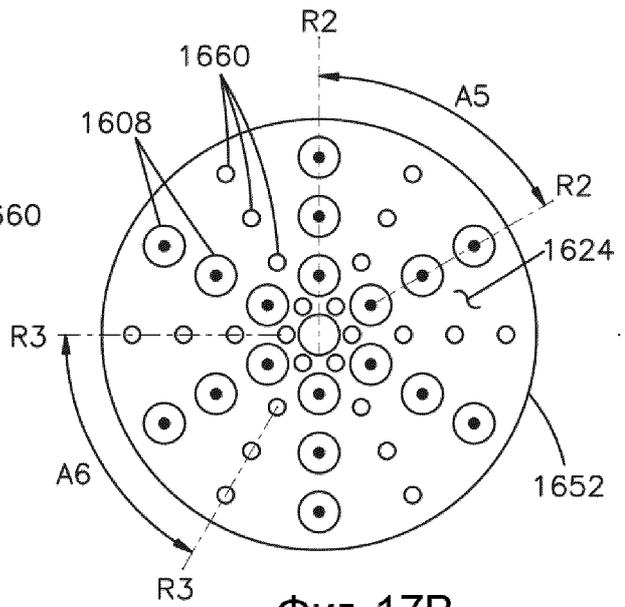
Фиг. 16А



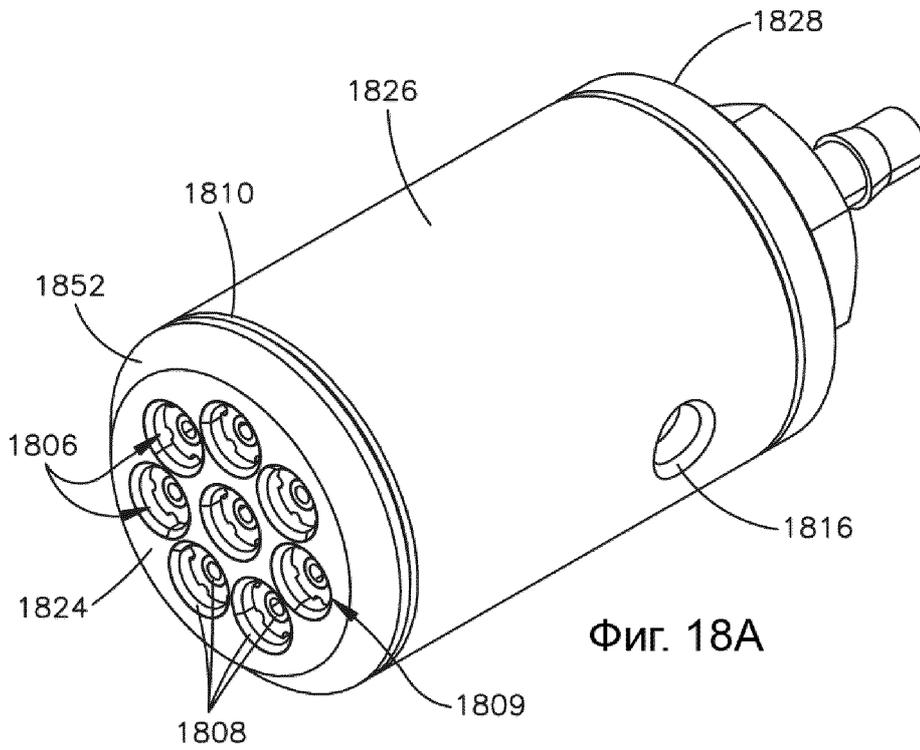
Фиг. 16В



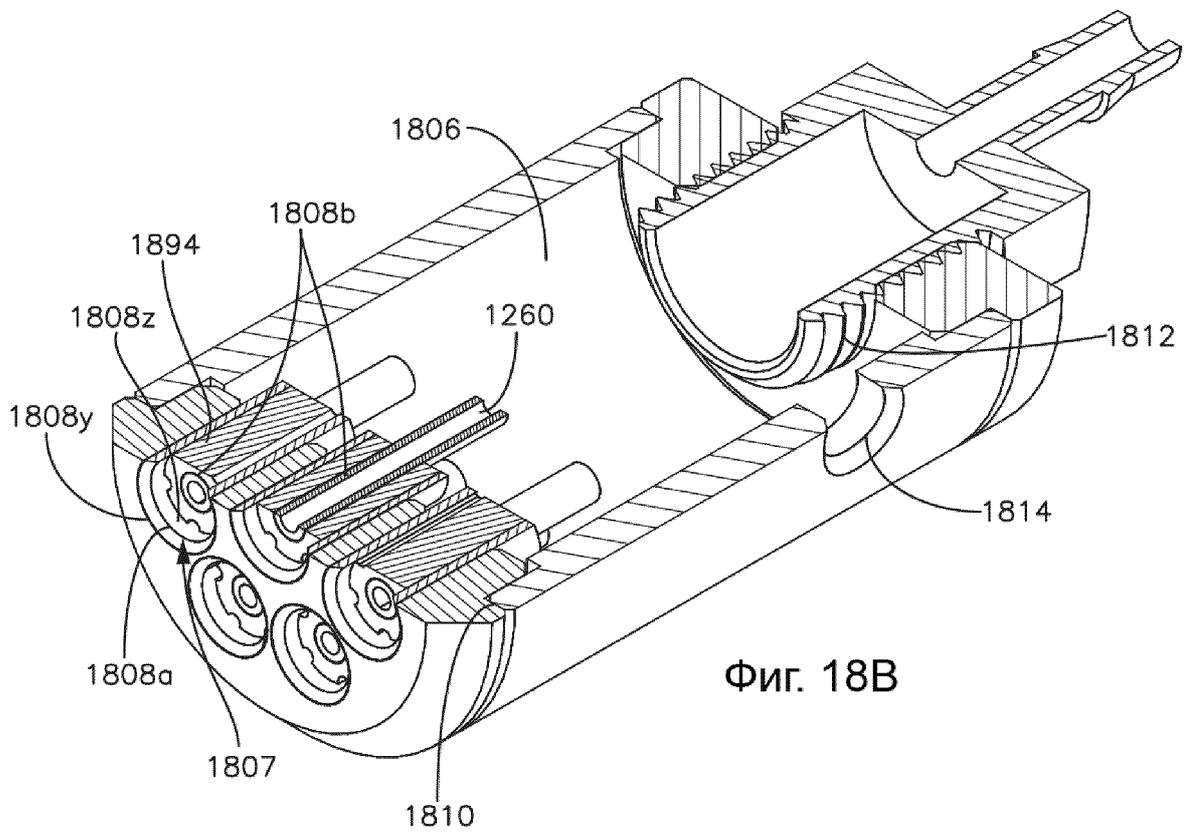
Фиг. 17А



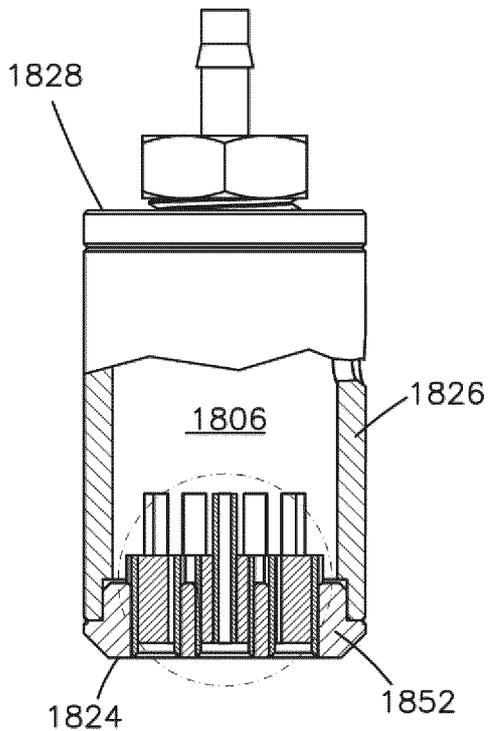
Фиг. 17В



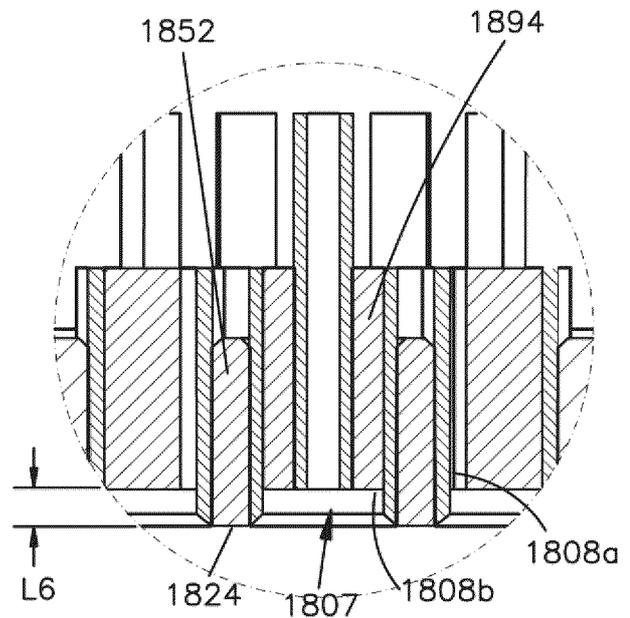
Фиг. 18А



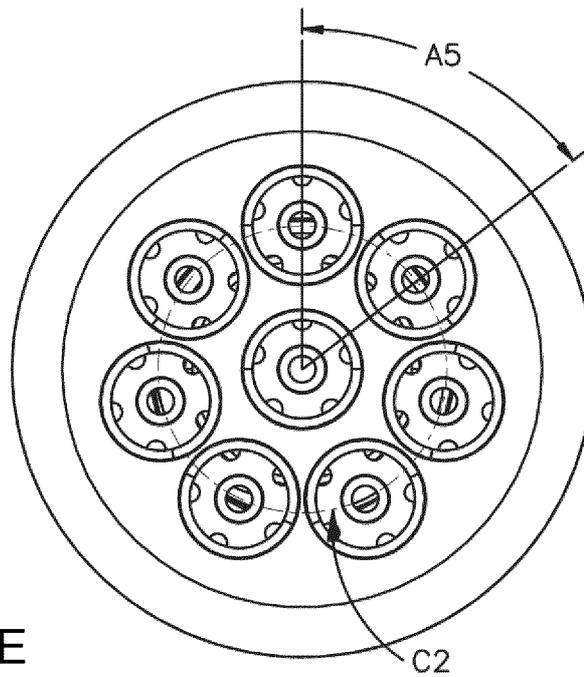
Фиг. 18В



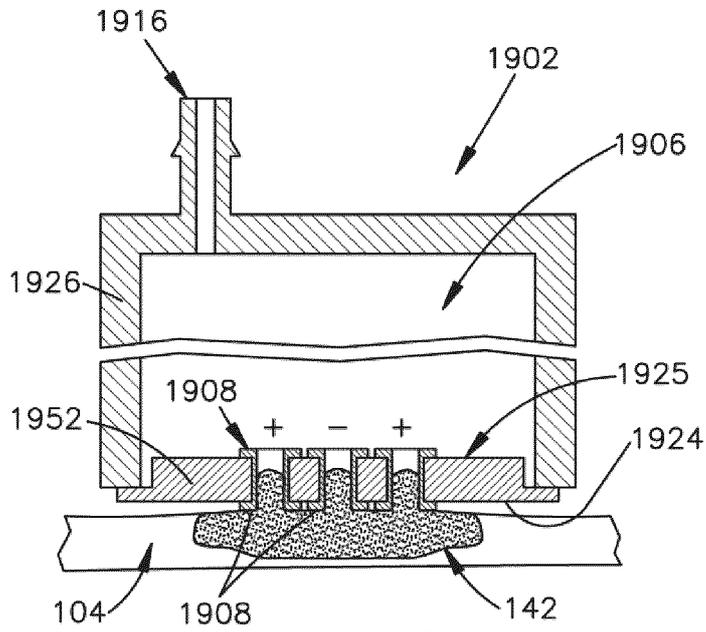
Фиг. 18С



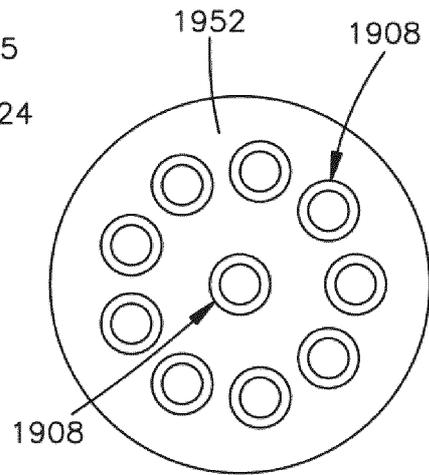
Фиг. 18D



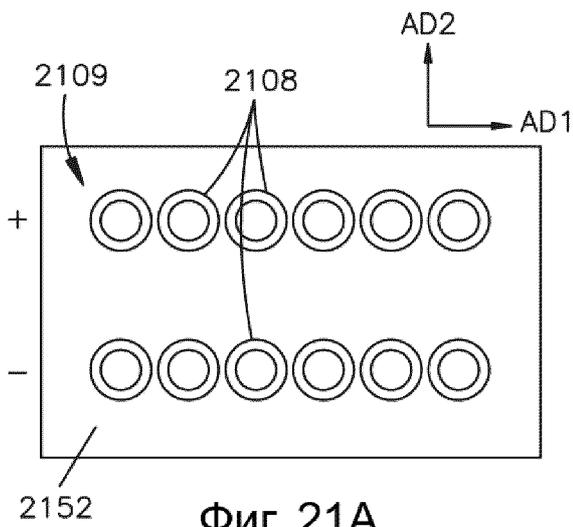
Фиг. 18E



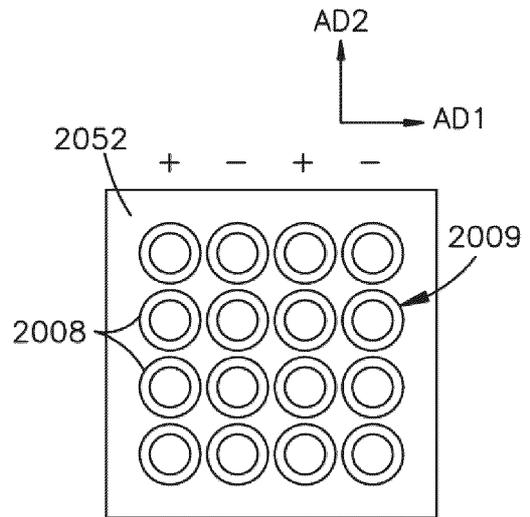
Фиг. 19А



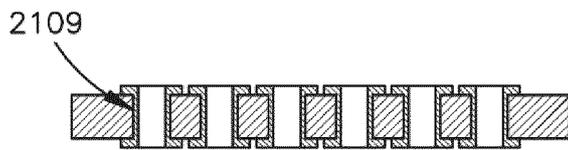
Фиг. 19В



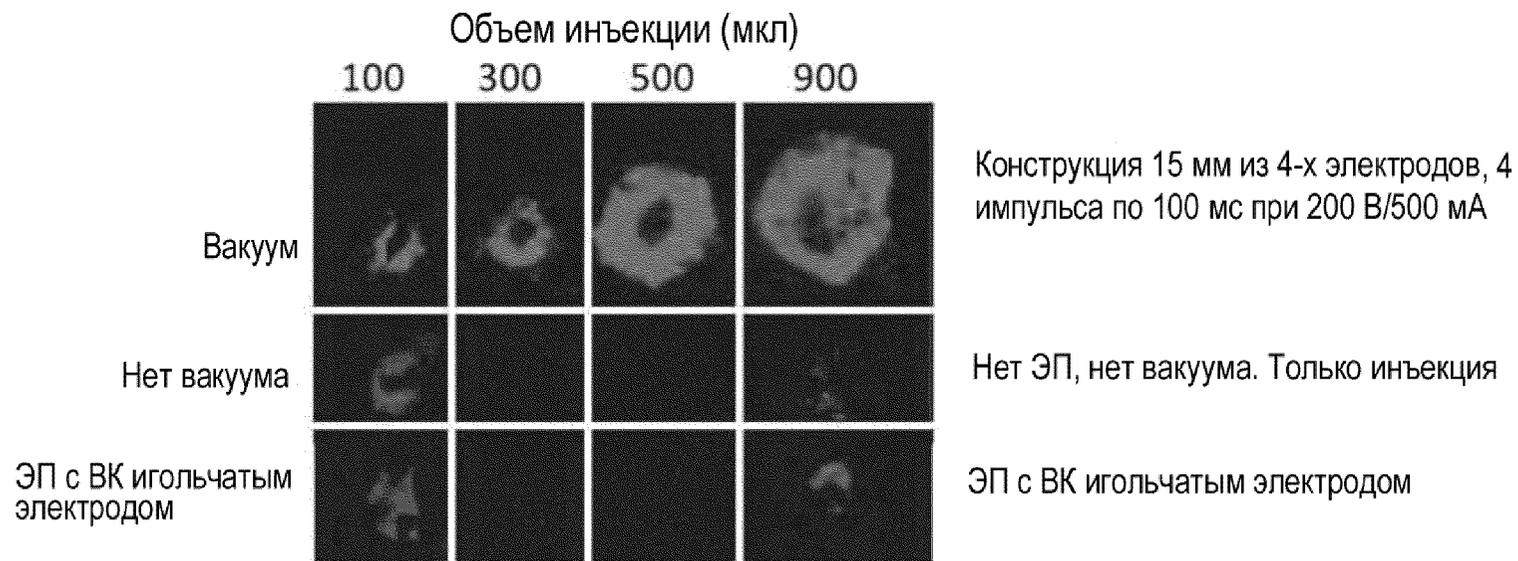
Фиг. 21А



Фиг. 20

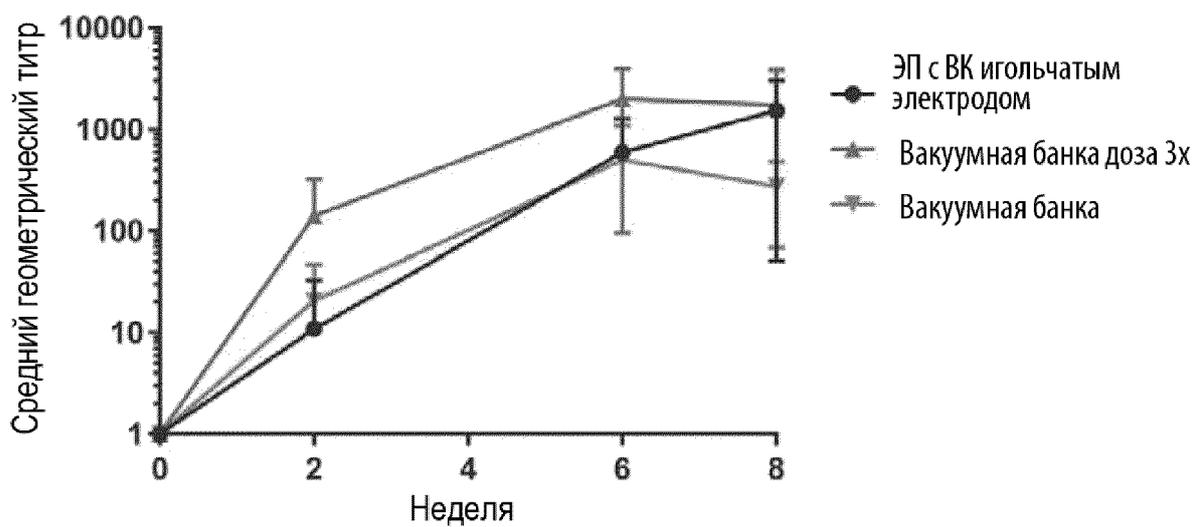


Фиг. 21В



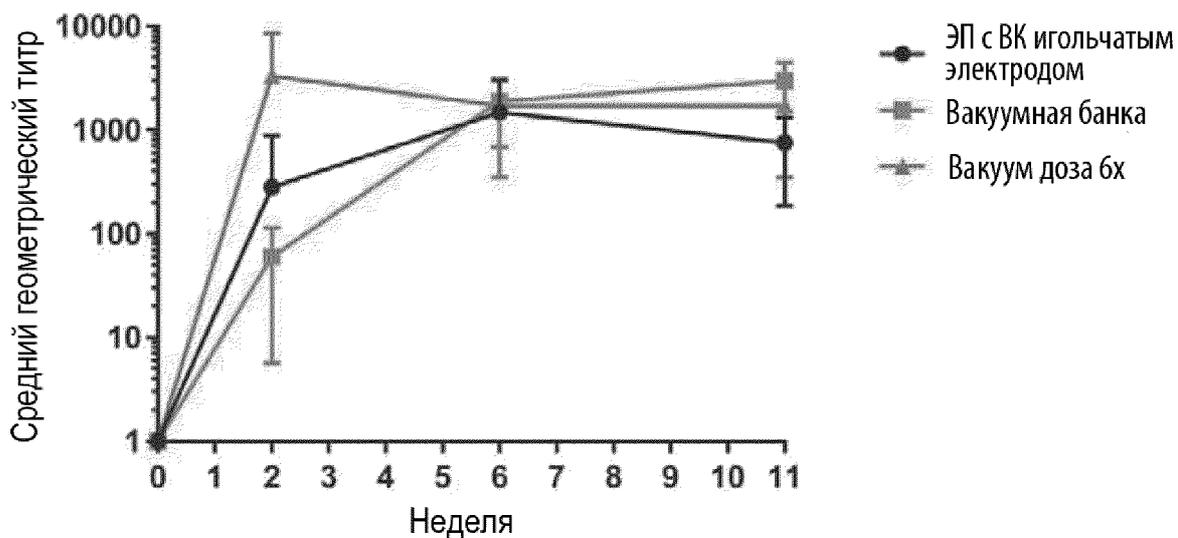
Фиг. 22

HPV18 E7 Гуморальный ответ



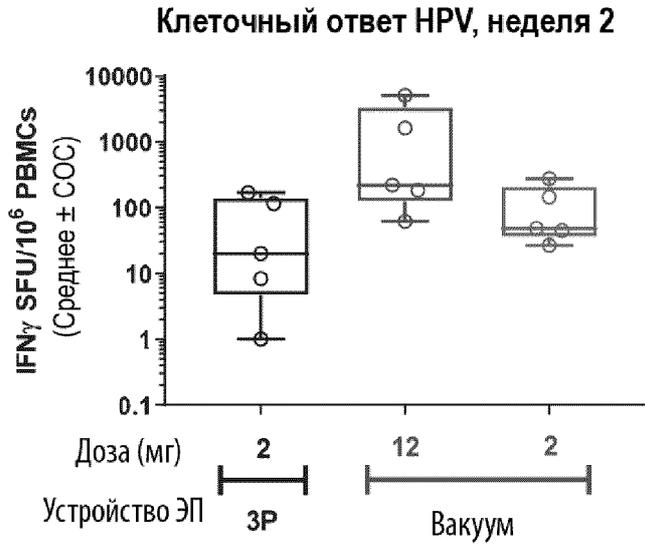
Фиг. 23

HPV18 E7 Гуморальный ответ

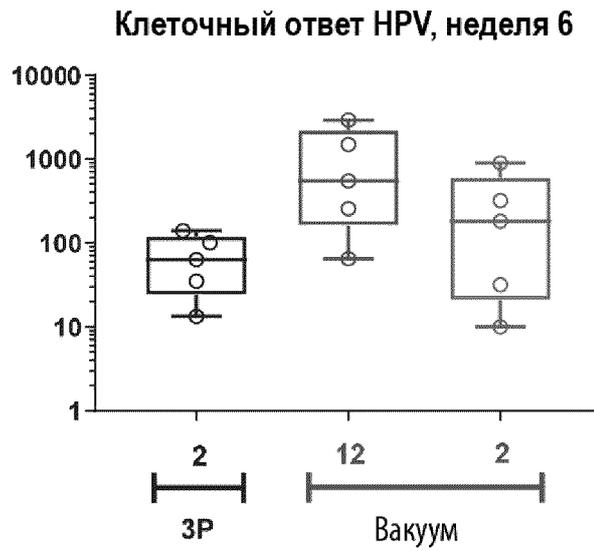


Фиг. 24А

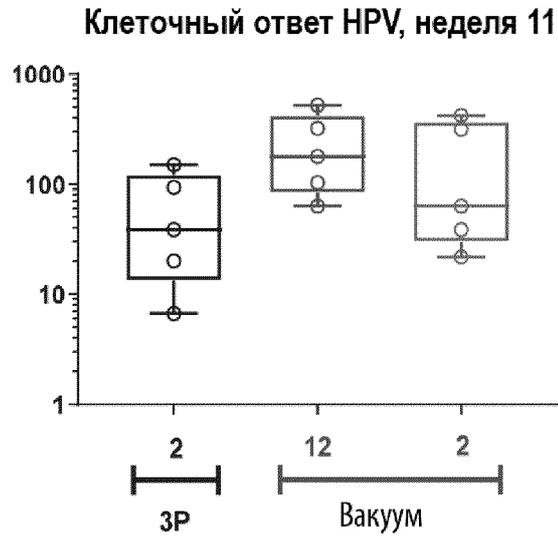
Фиг. 24В

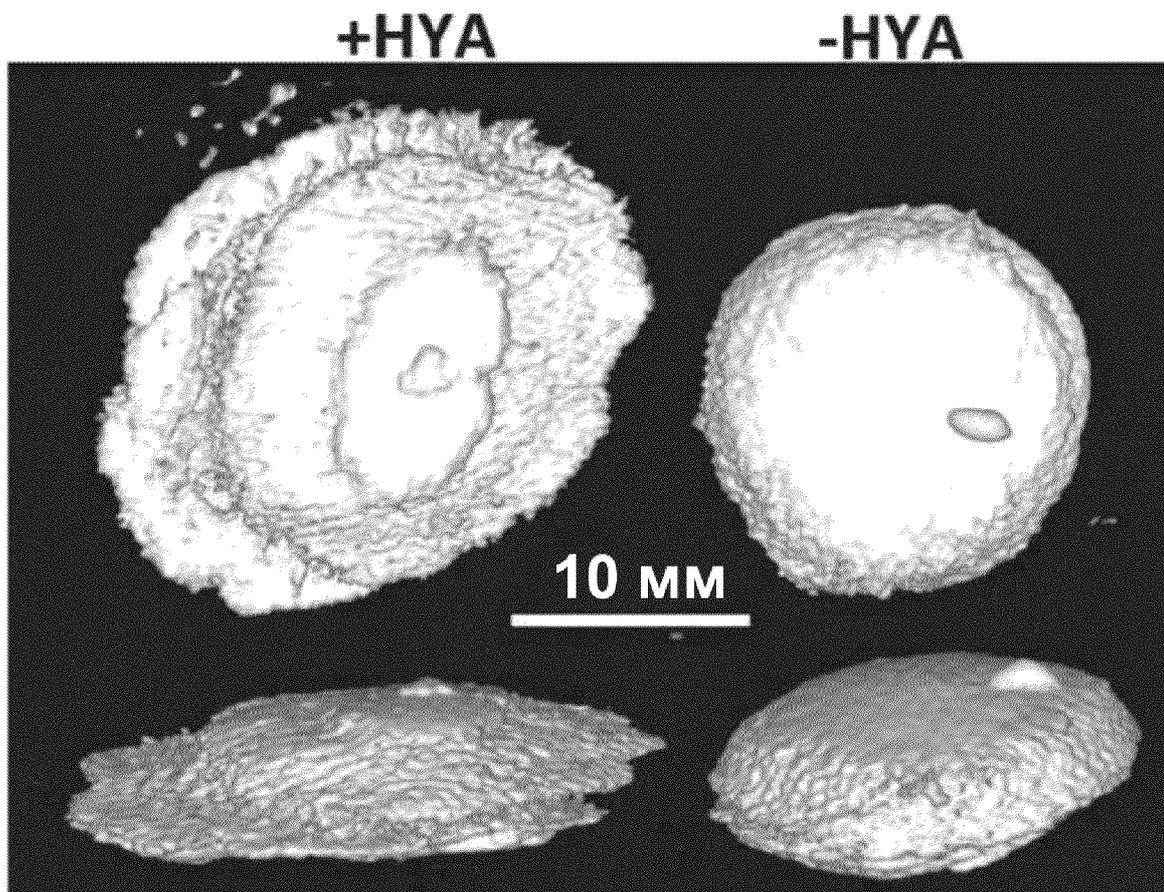


Фиг. 24С

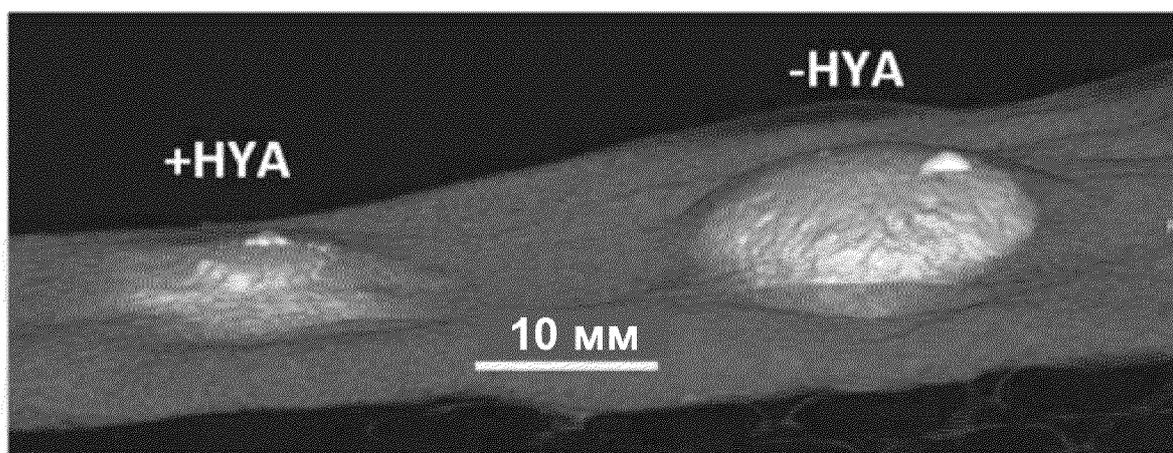


Фиг. 24D

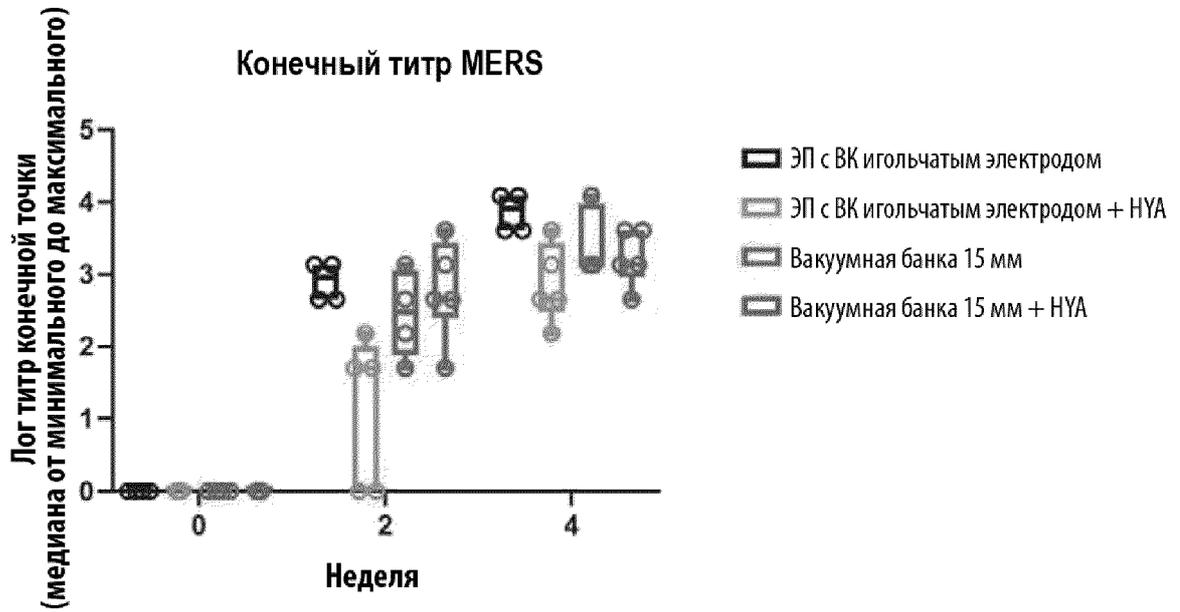




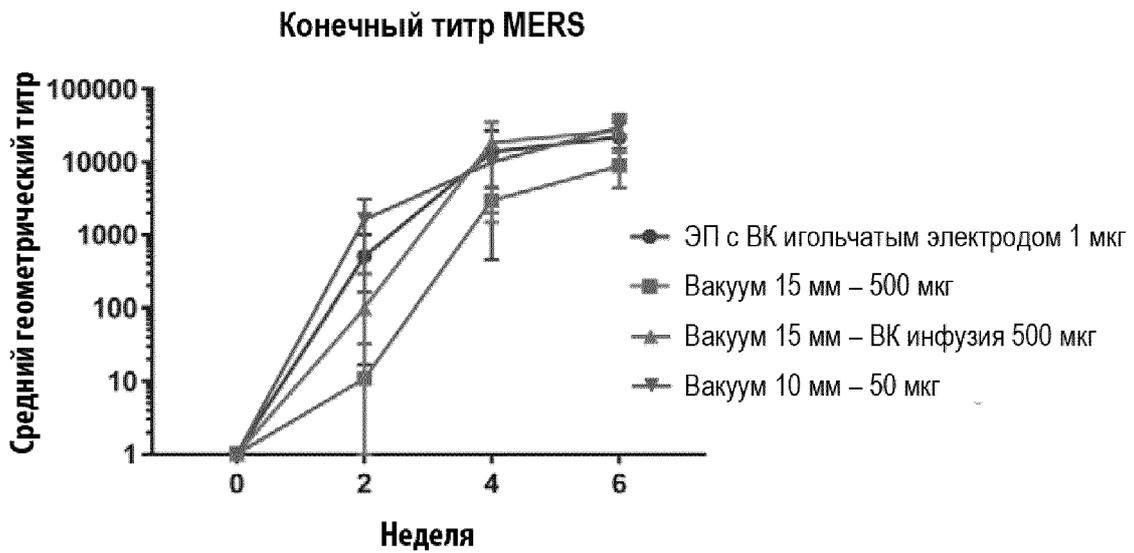
Фиг. 26 (предшествующий уровень техники)



Фиг. 25 (предшествующий уровень техники)

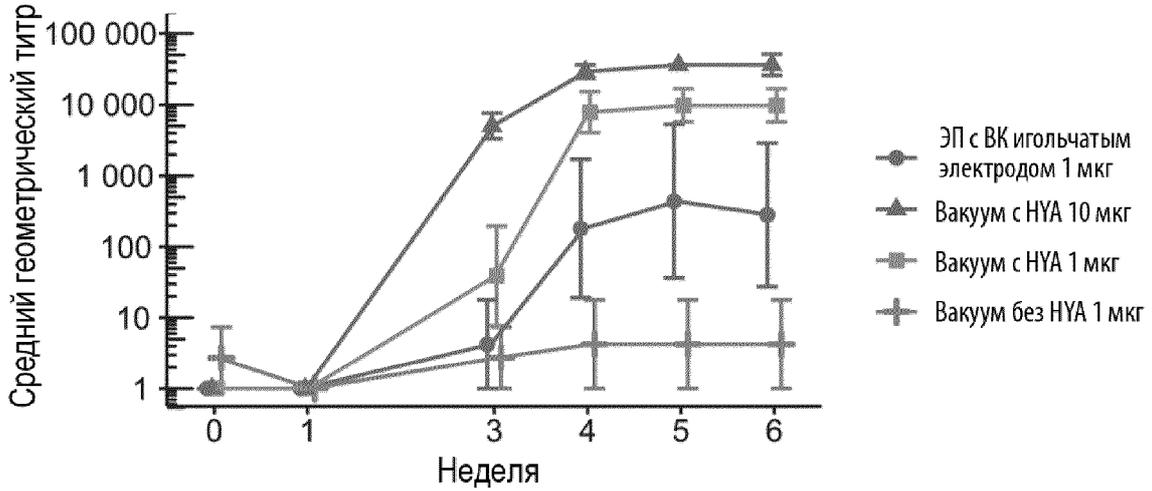


Фиг. 27



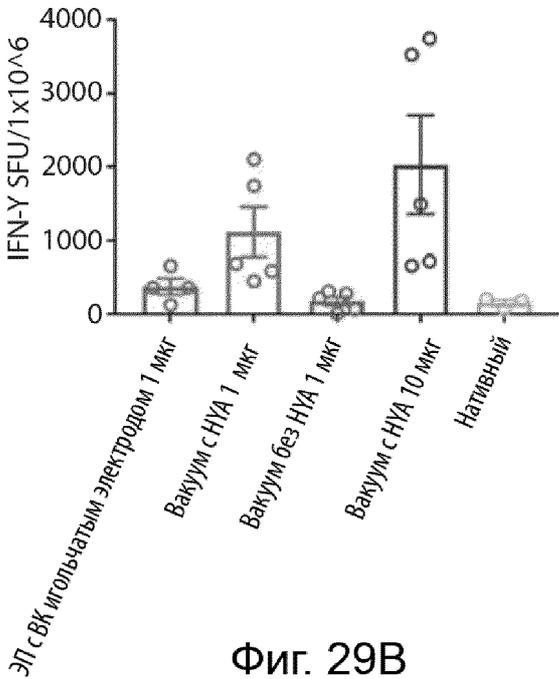
Фиг. 28

Кинетика гуморального иммунного ответа



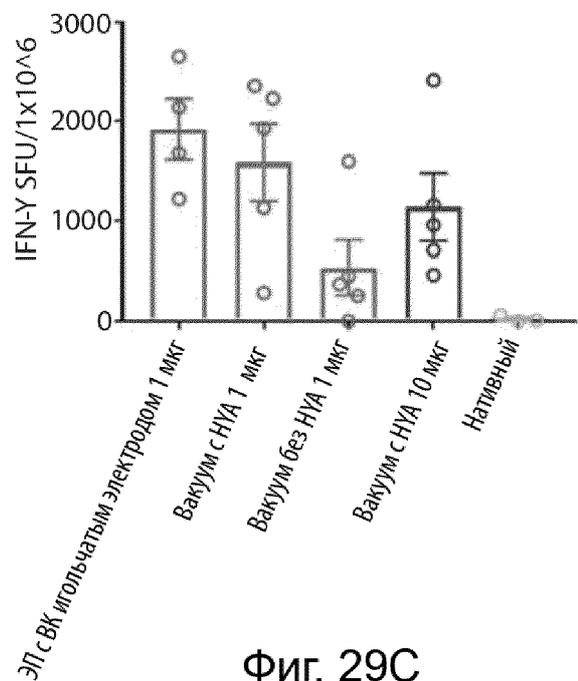
Фиг. 29А

Вакуумная банка, неделя 2, общее количество точек

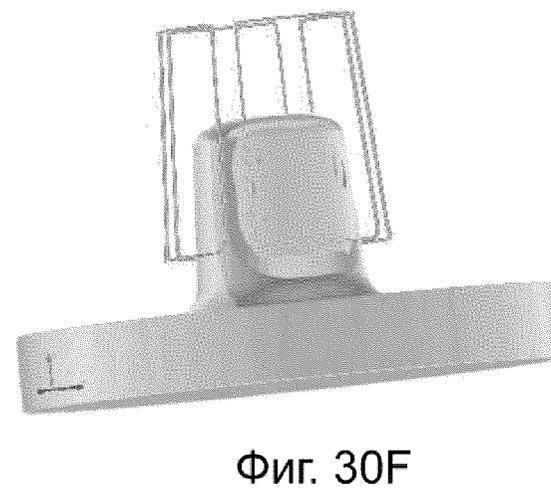
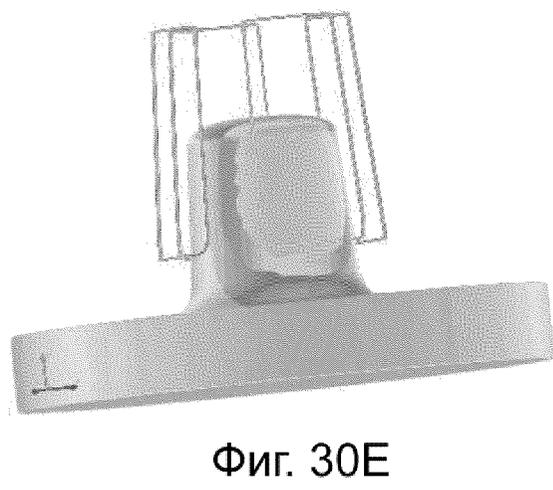
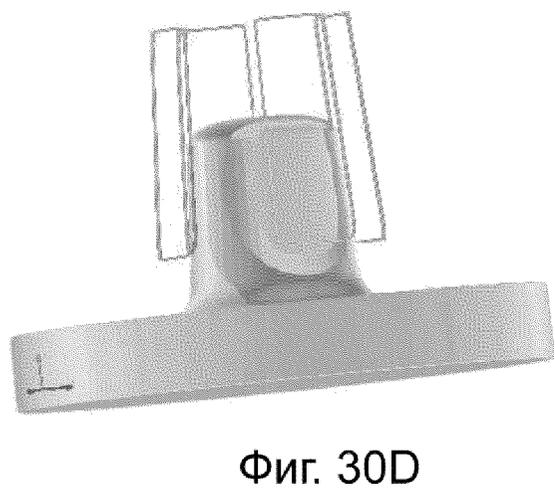
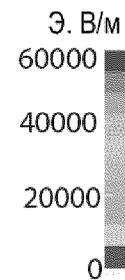
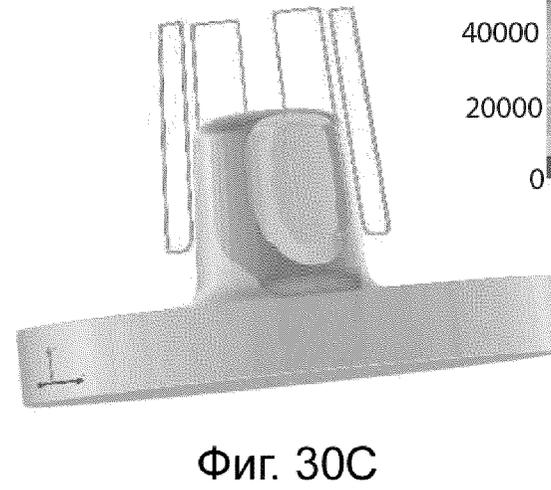
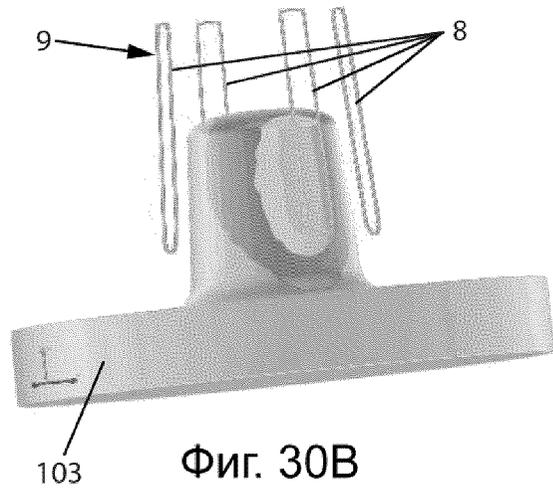
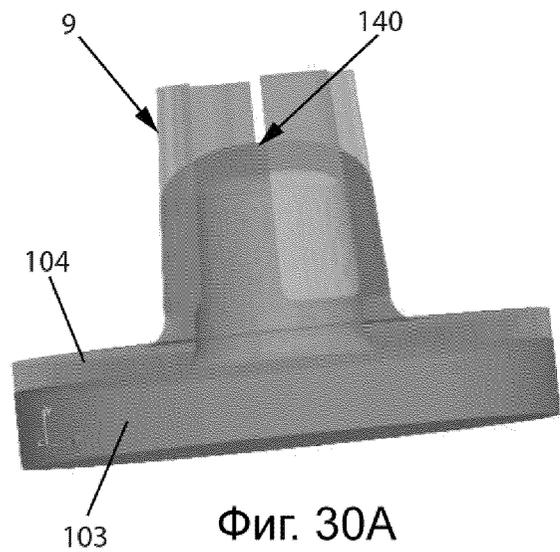


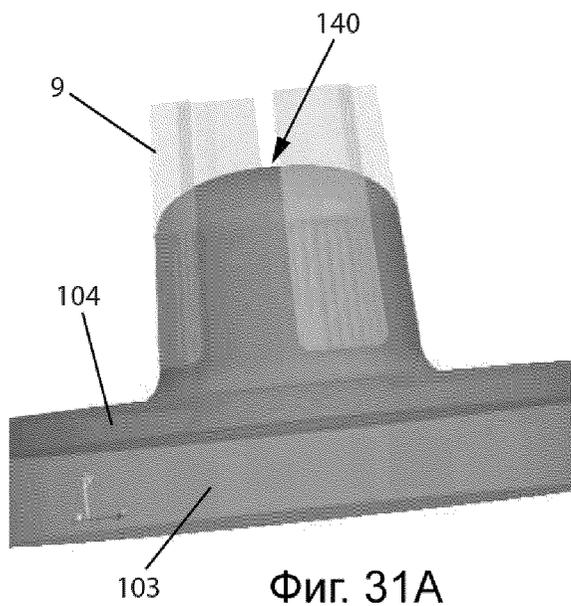
Фиг. 29В

Вакуумная банка, неделя 4, общее количество точек

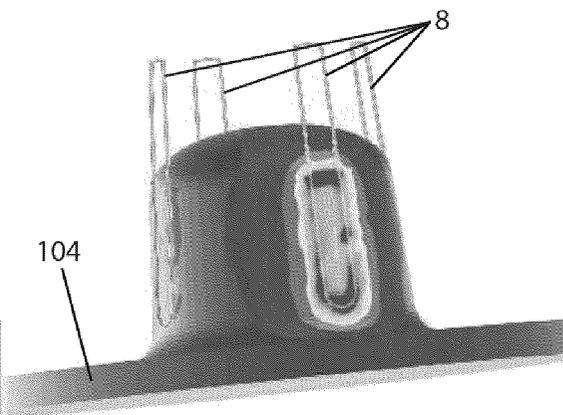


Фиг. 29С

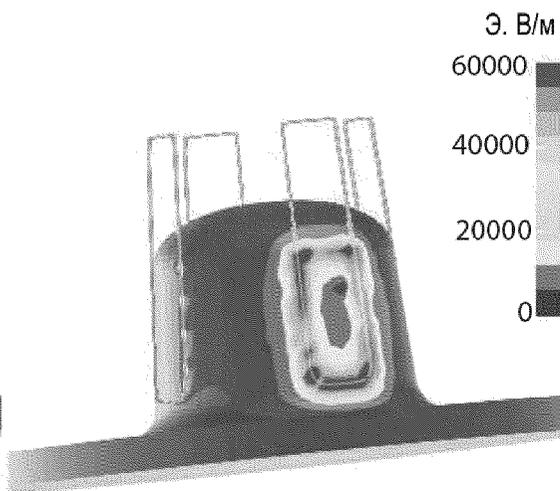




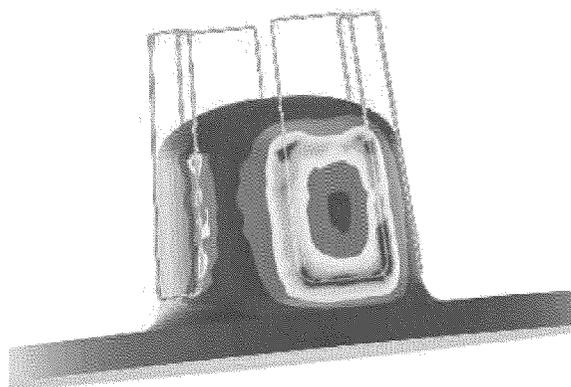
Фиг. 31А



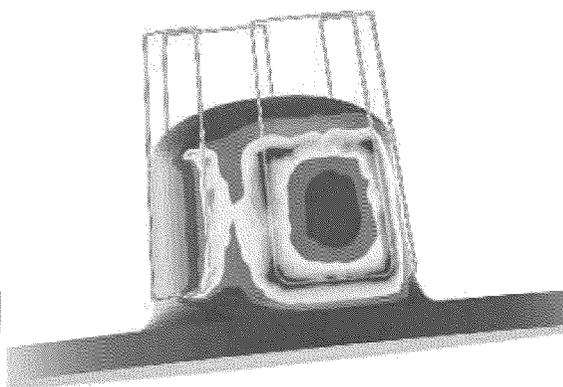
Фиг. 31В



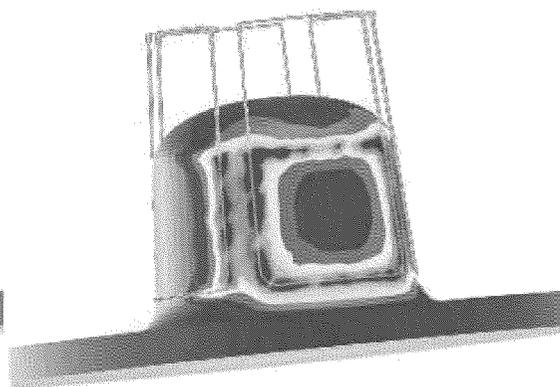
Фиг. 31С



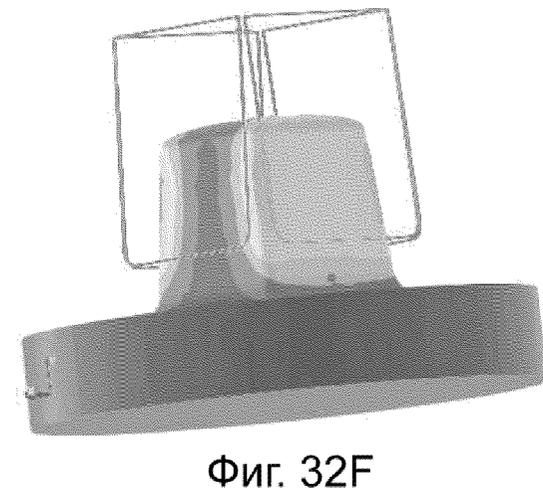
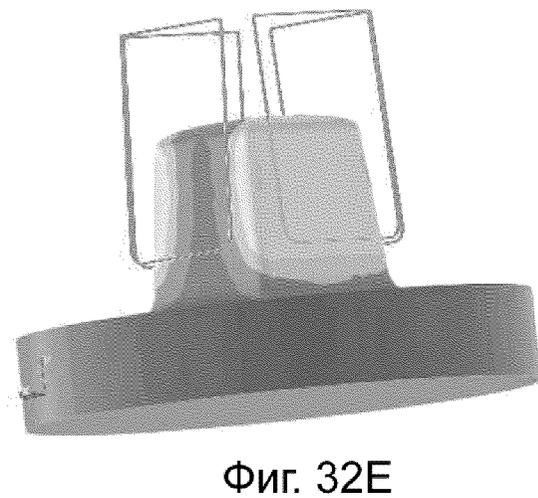
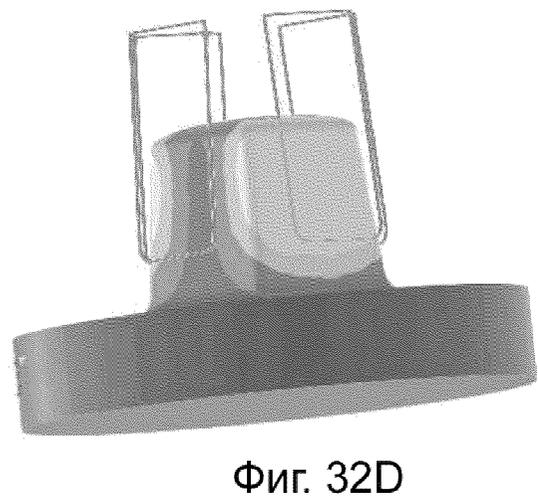
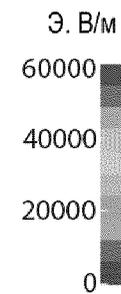
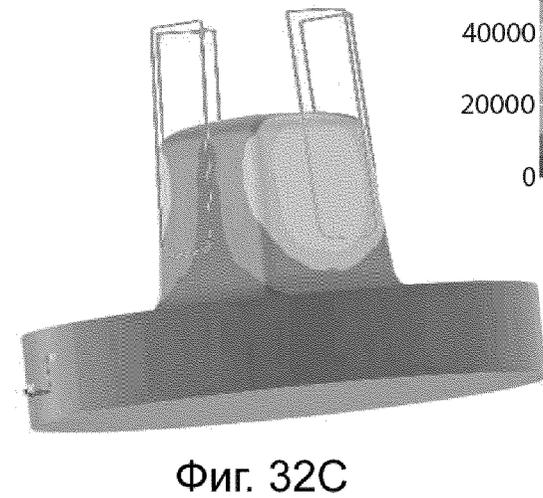
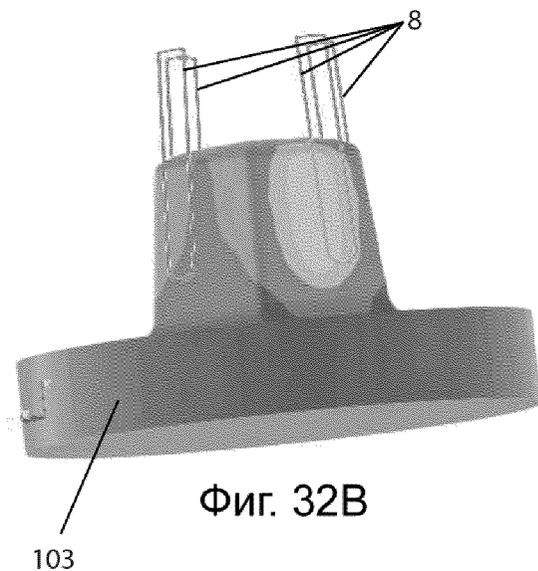
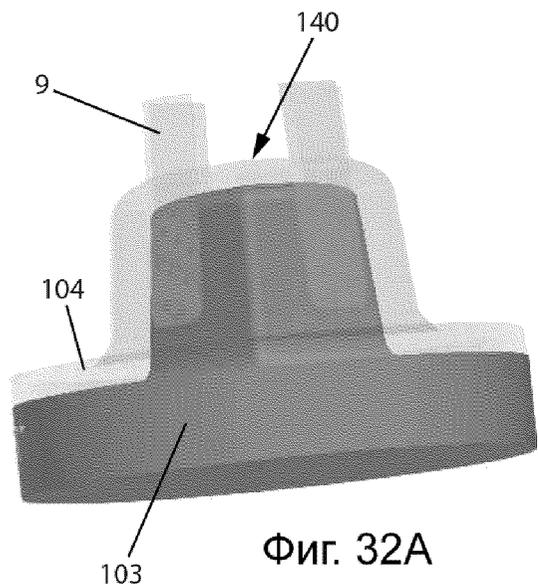
Фиг. 31D

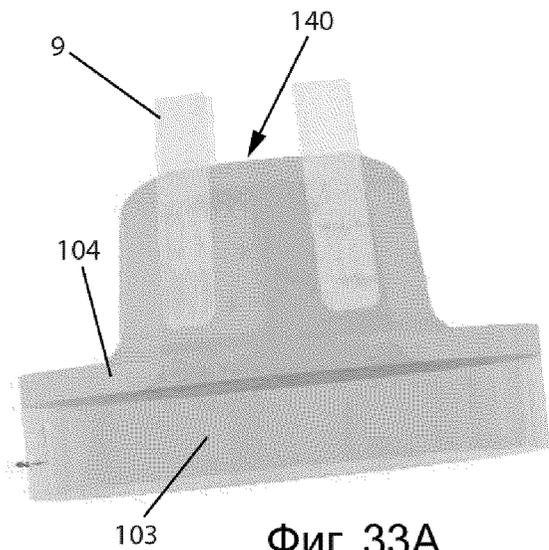


Фиг. 31Е

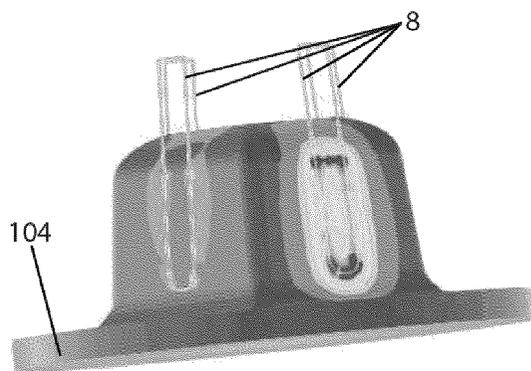


Фиг. 31F

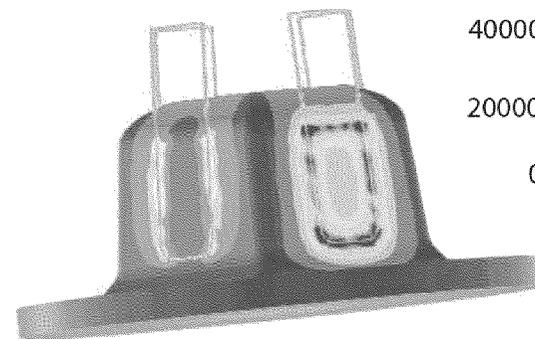




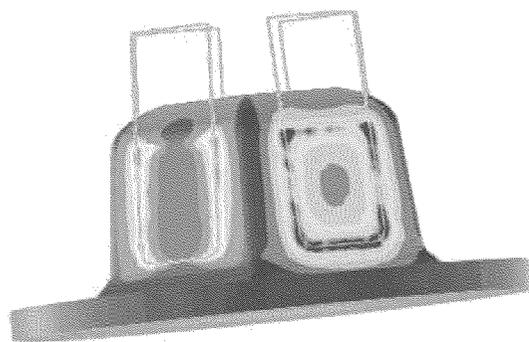
Фиг. 33А



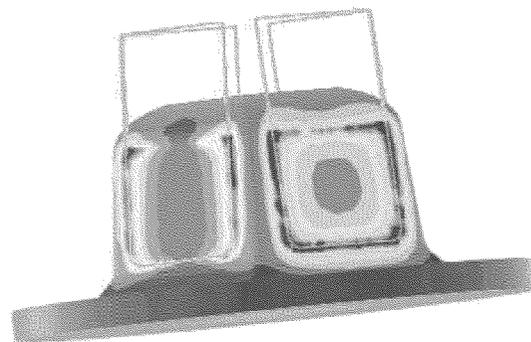
Фиг. 33В



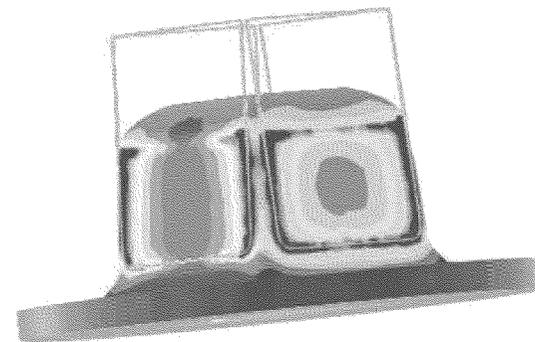
Фиг. 33С



Фиг. 33D



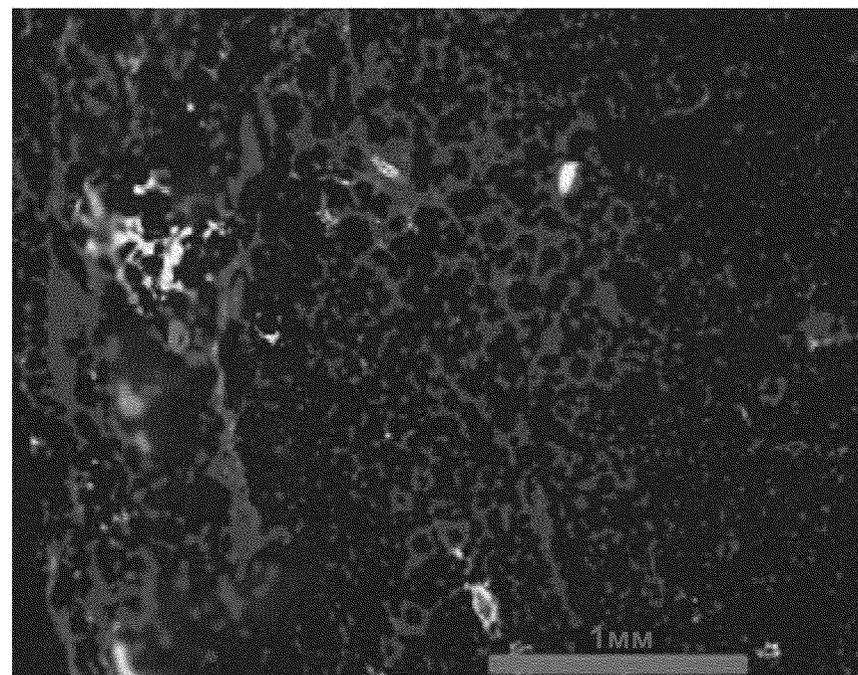
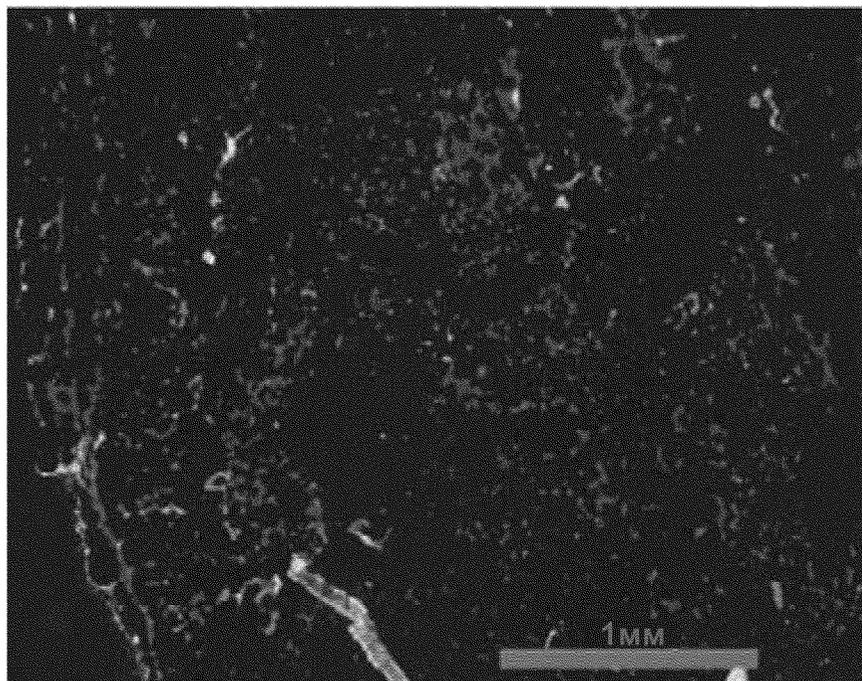
Фиг. 33Е



Фиг. 33F

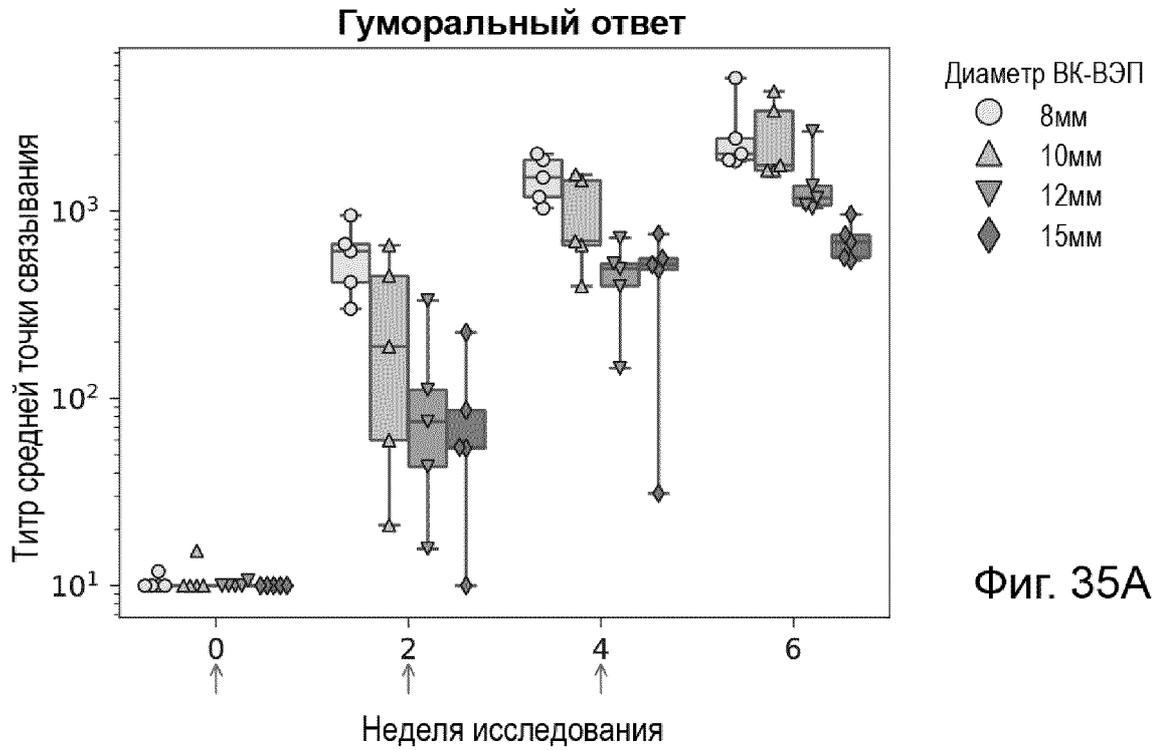
Только вакуум

Вакуум + ЭП

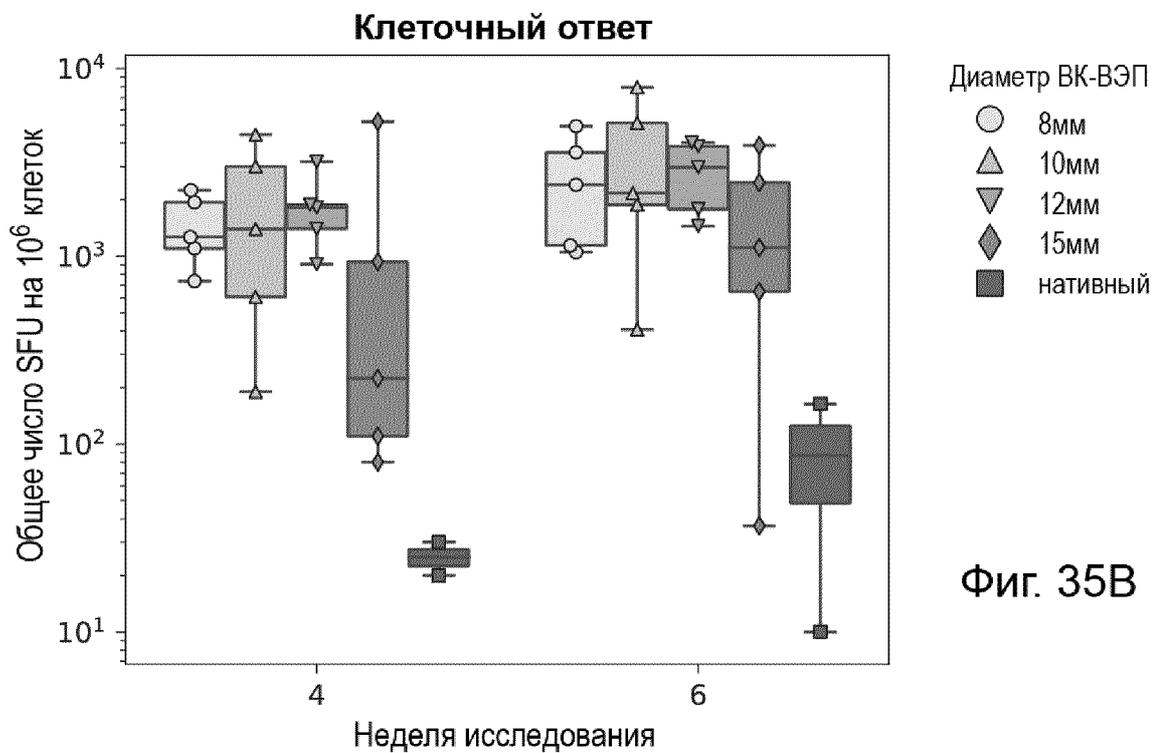


Фиг. 34А

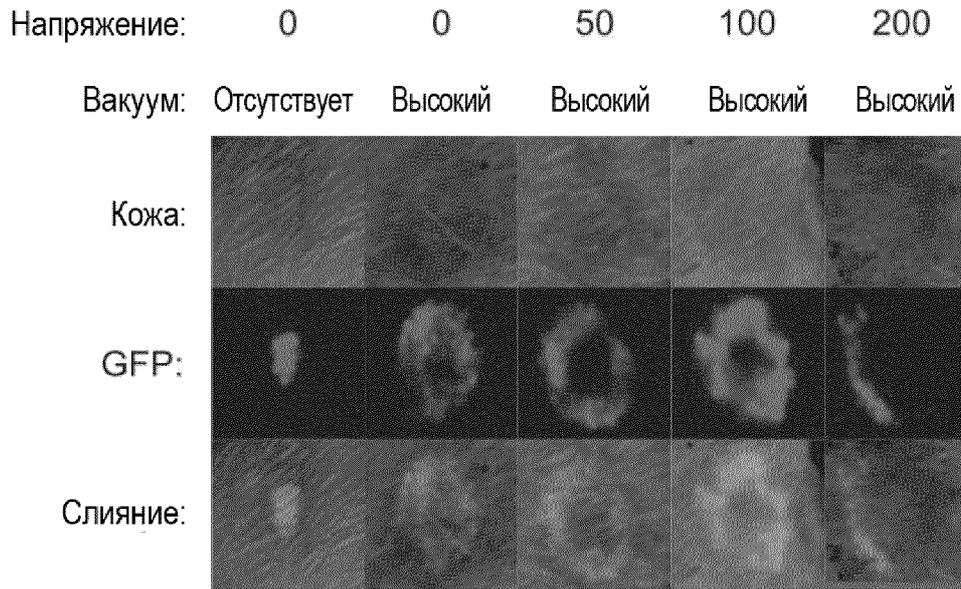
Фиг. 34В



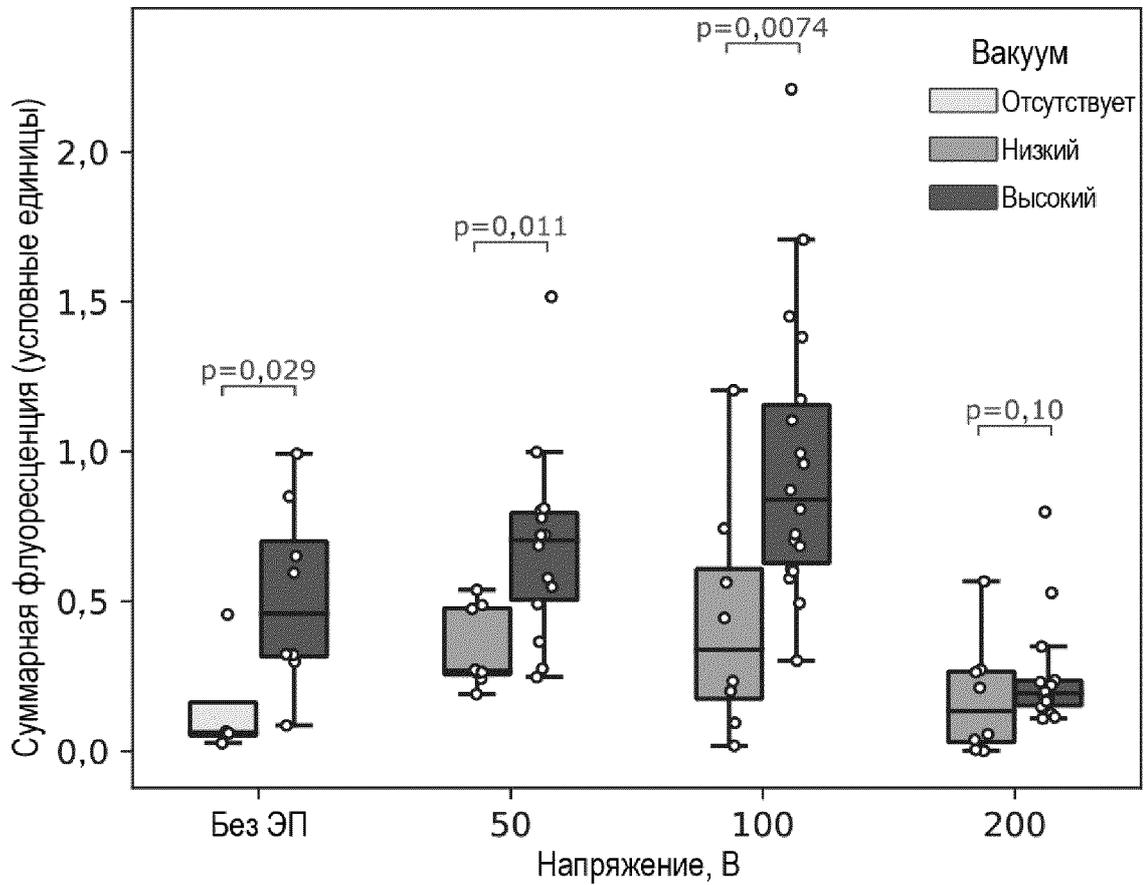
Фиг. 35А



Фиг. 35В



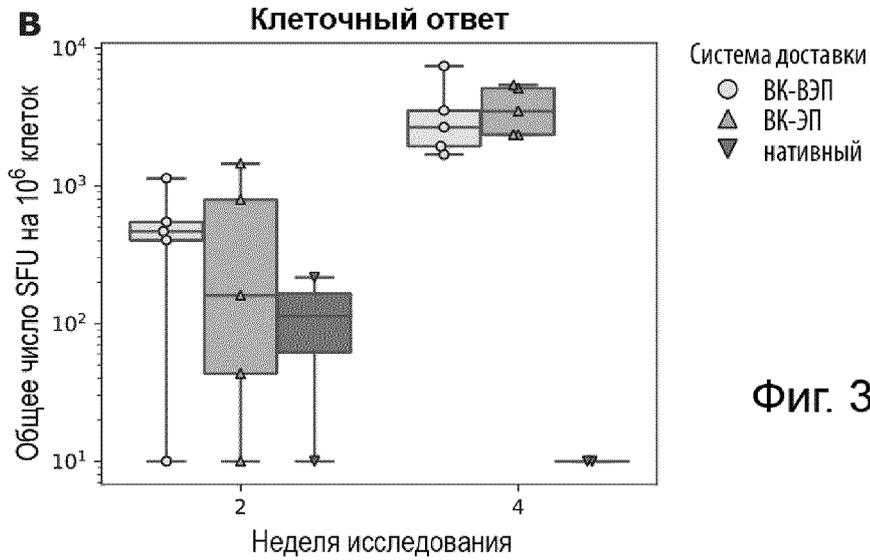
Фиг. 36А



Фиг. 36В

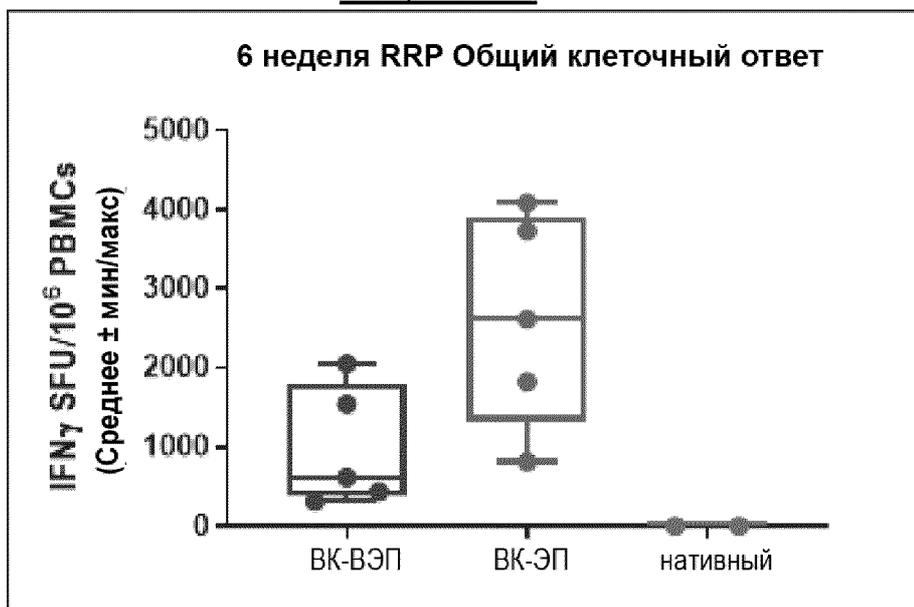


Фиг. 37А

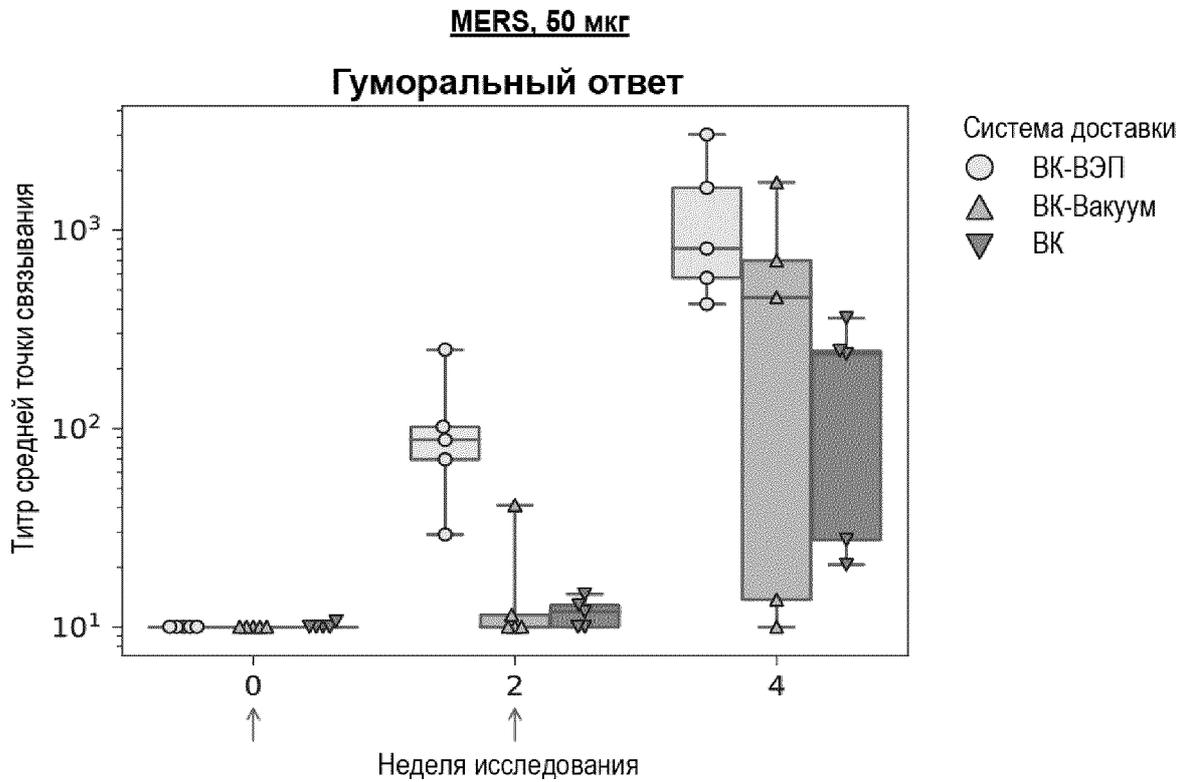


Фиг. 37В

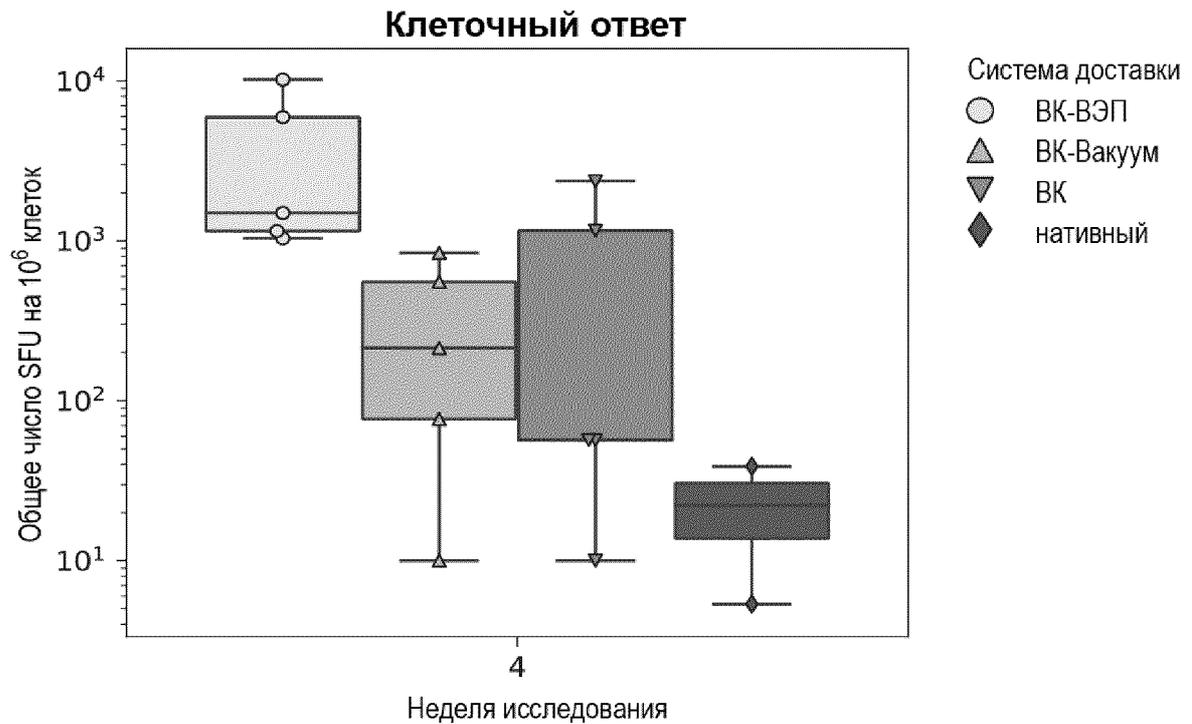
RRP, 100 мкг



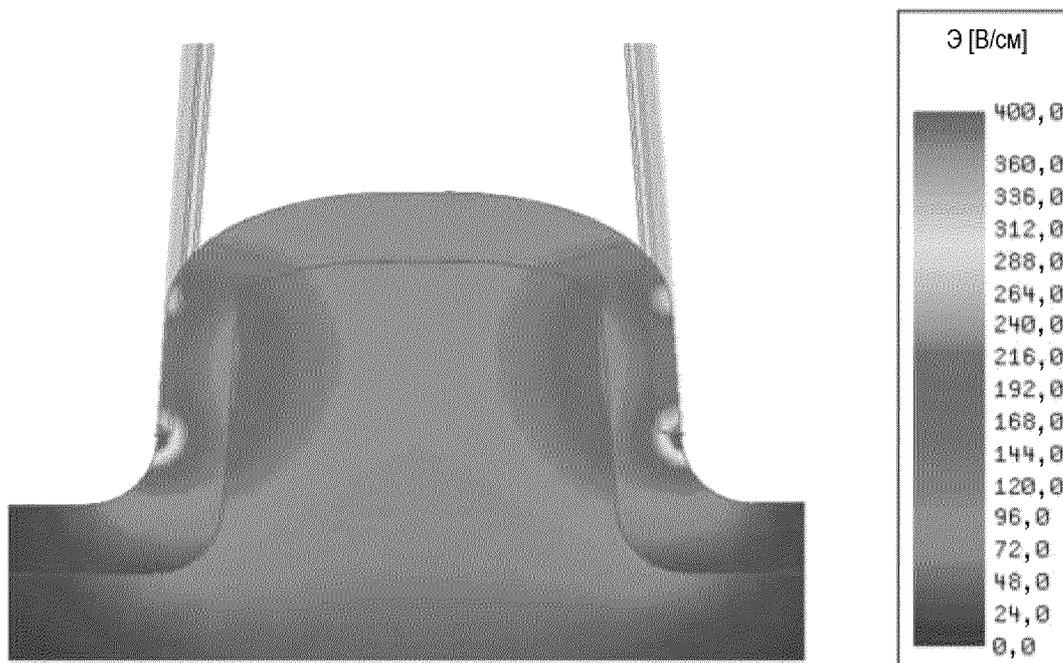
Фиг. 38



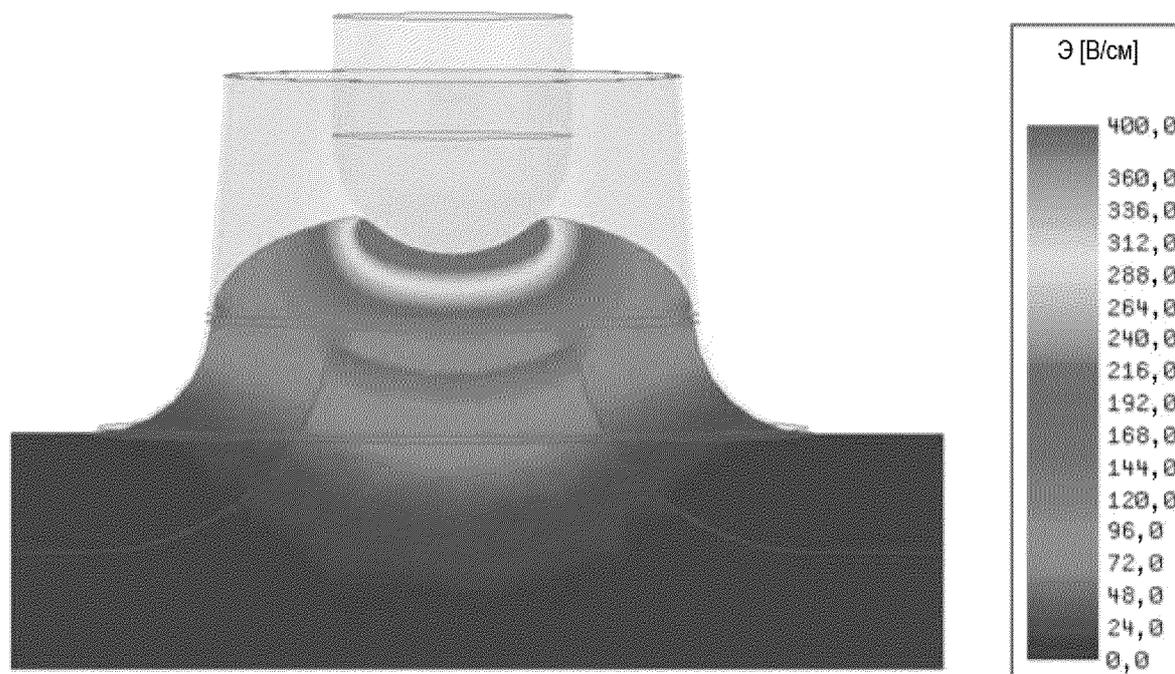
Фиг. 39А



Фиг. 39В

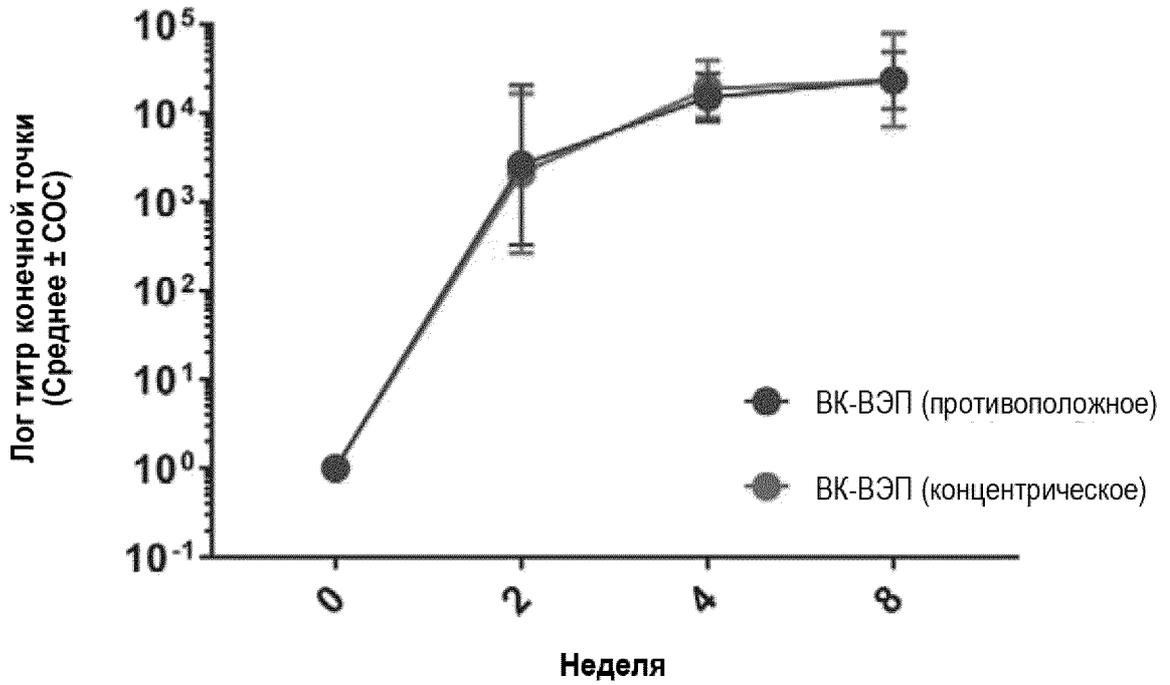


Фиг. 40А



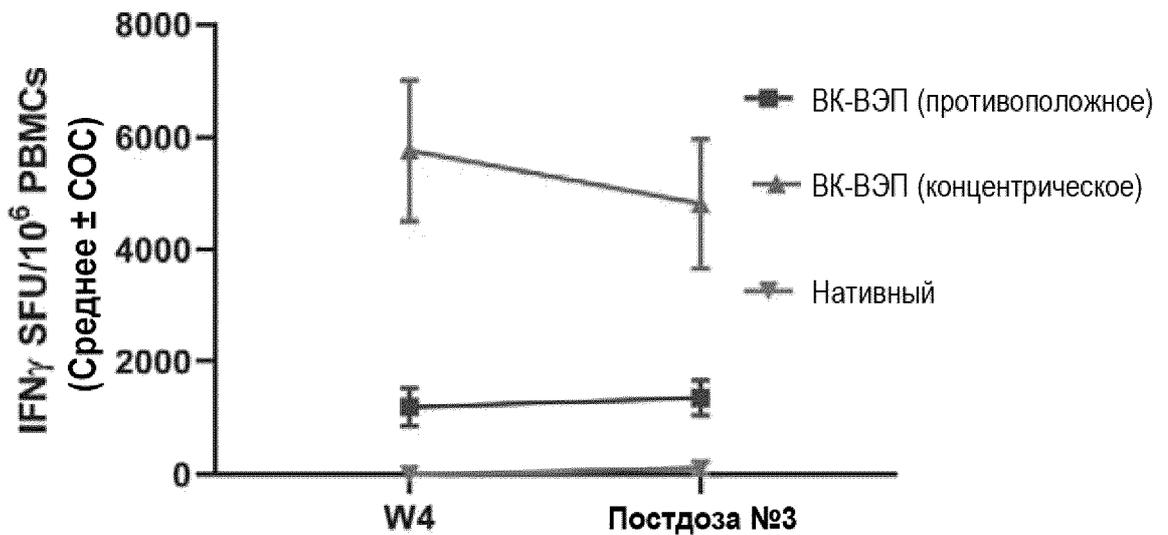
Фиг. 40В

ELISA связывание MERS (SP1900176)

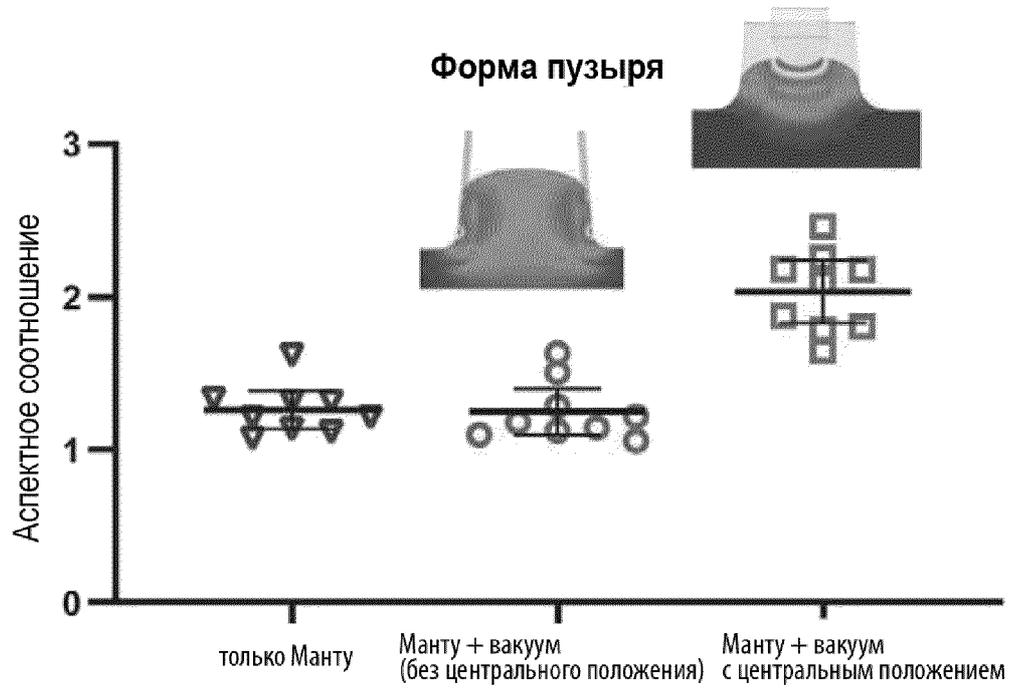


Фиг. 41А

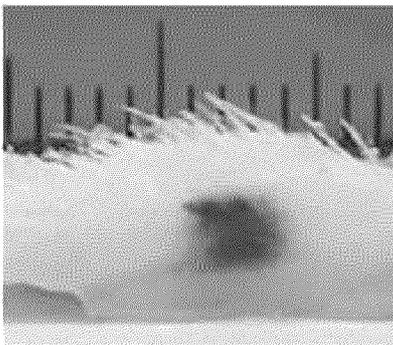
Общий клеточный ответ (SP1900176)



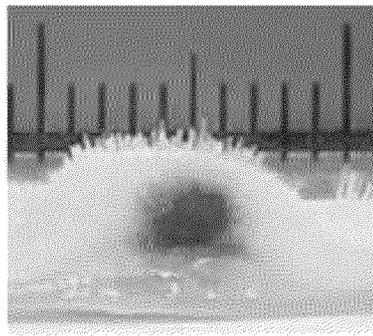
Фиг. 41В



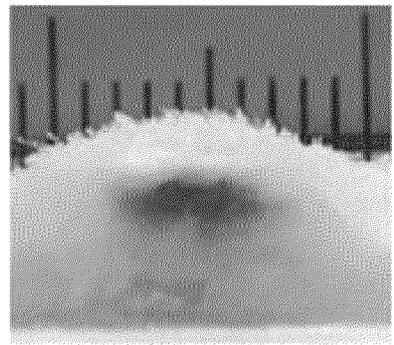
Фиг. 42А



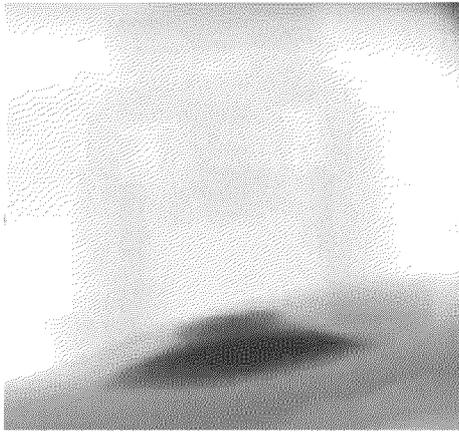
Фиг. 42В



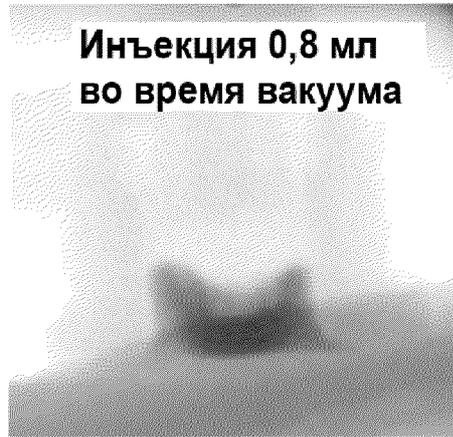
Фиг. 42С



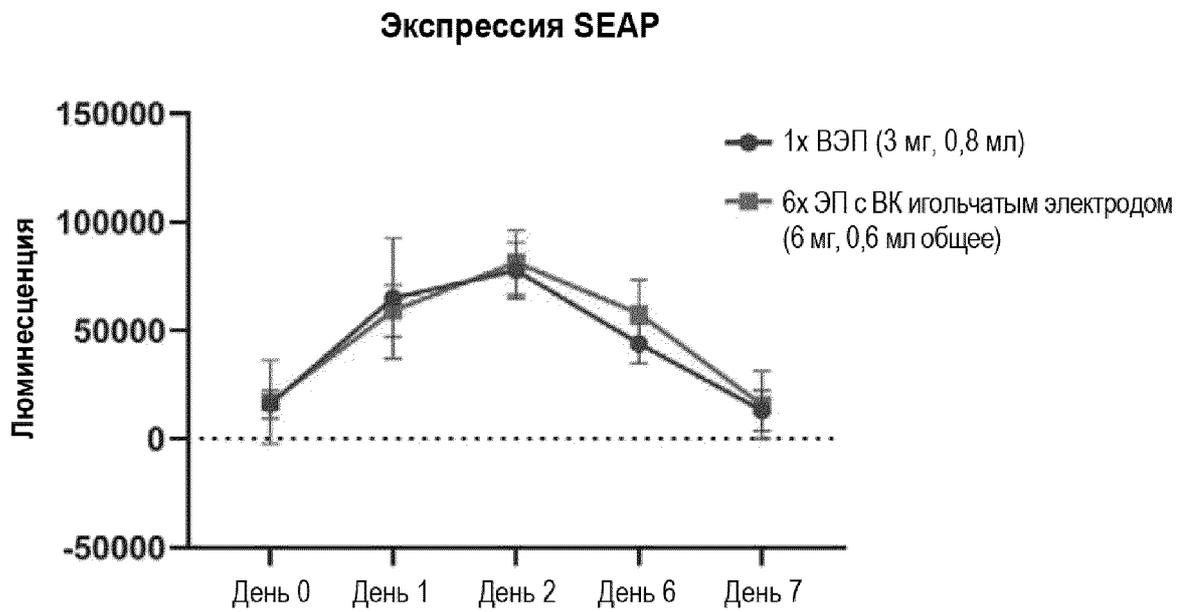
Фиг. 42D



Фиг. 43А

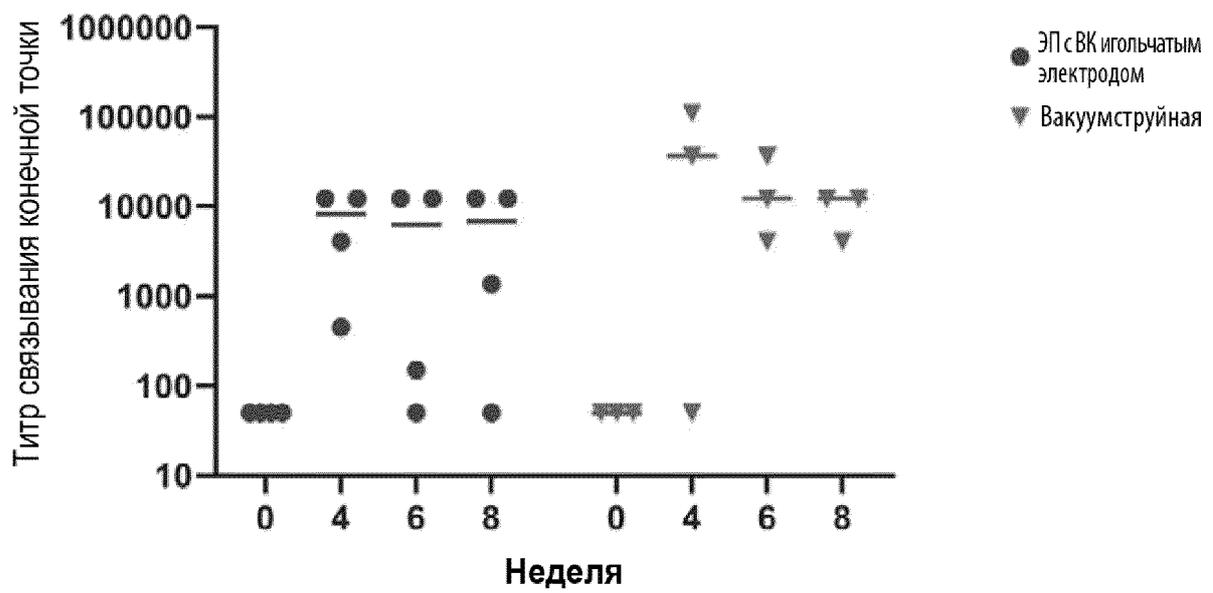


Фиг. 43В



Фиг. 43С

Гуморальный ответ – однократная иммунизация

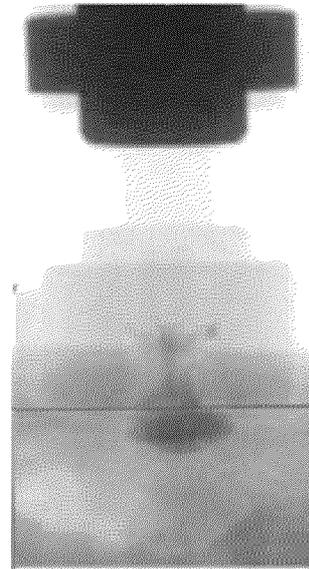
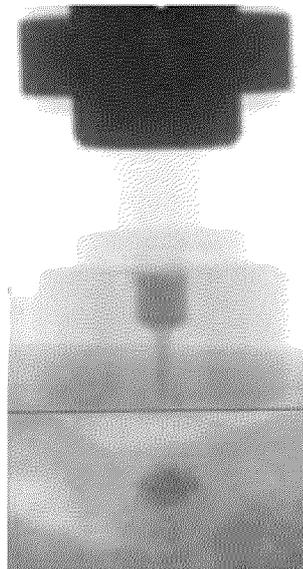
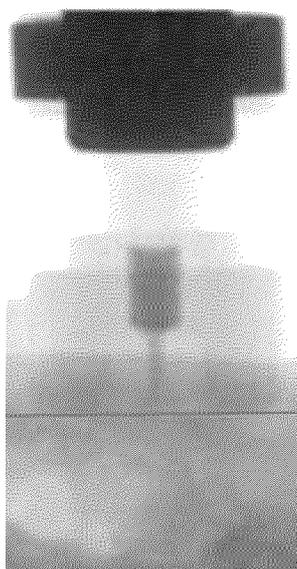


Фиг. 44

ПЕРЕД

ВО ВРЕМЯ

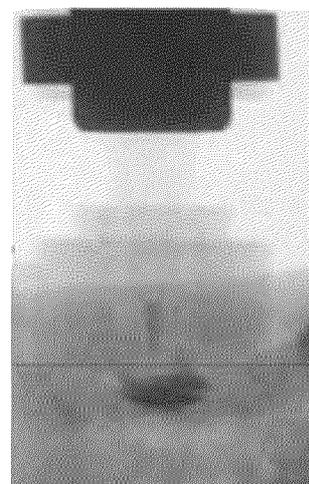
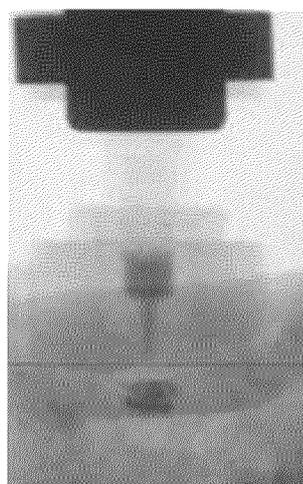
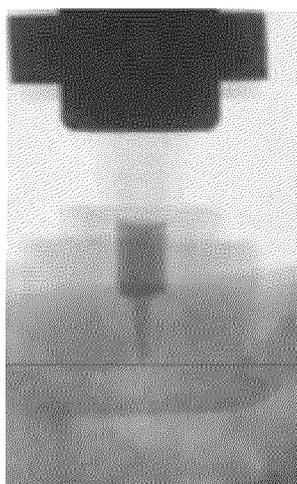
ПОСЛЕ



Фиг. 45А

Фиг. 45В

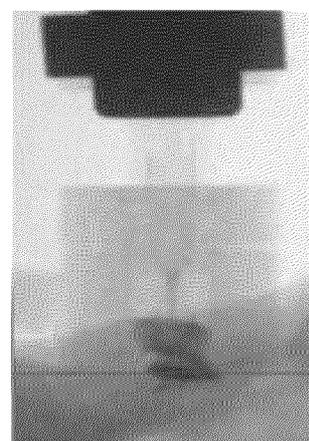
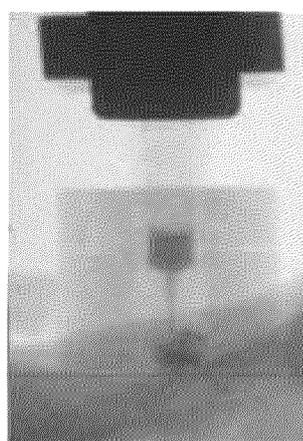
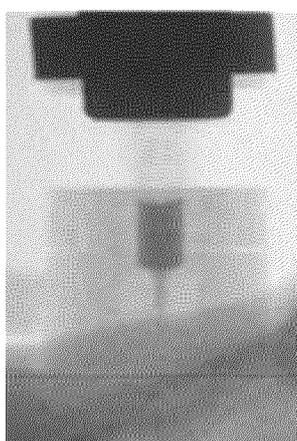
Фиг. 45С



Фиг. 46А

Фиг. 46В

Фиг. 46С



Фиг. 47А

Фиг. 47В

Фиг. 47С