

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 042520

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2023.02.21

(21) Номер заявки  
202192781

(22) Дата подачи заявки  
2020.05.13

(51) Int. Cl. C12M 1/33 (2006.01)  
B02C 18/00 (2006.01)

---

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И  
СООТВЕТСТВУЮЩИЙ СПОСОБ ИЗМЕЛЬЧЕНИЯ И ПРИГОТОВЛЕНИЯ  
КЛЕТОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ

---

(31) 102019000006854

(32) 2019.05.15

(33) IT

(43) 2022.02.28

(86) PCT/IB2020/054510

(87) WO 2020/230039 2020.11.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ФИДИЯ ФАРМАЧЕУТИЧИ С.П.А.  
(IT)

(72) Изобретатель:  
Корсини Массимилиано, Пиццокаро  
Карло (IT)

(74) Представитель:  
Носырева Е.Л. (RU)

(56) EP-A1-0720513  
WO-A2-2016097960  
US-A1-2016333305  
US-A1-2008253223

---

(57) В изобретении описаны устройство для измельчения биологического материала и соответствующий способ измельчения и приготовления клеточных препаратов.

---

042520

B1

042520

B1

Изобретение относится к устройству, предназначенному для измельчения биологического материала, и к соответствующему способу измельчения и приготовления клеточных препаратов.

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к технической области устройств и способов для измельчения и помола биологического материала, такого как ткани животных и растений, для ряда различных целей и применений.

В известном уровне техники хорошо известно измельчение биологического материала или ткани для различных применений, например, при биологических исследованиях, клинических диагностике и скрининге. Таким образом, устройства для измельчения используются для получения проб и образцов измельченных клеток или клеточных ядер для передачи на медицинские диагностические тесты, такие как биопсия, или для анализа на РНК, ДНК, белки и липиды, а также в регенеративной медицине для концентрирования стволовых и/или плюрипотентных клеток, таких как мезенхимальные стволовые клетки. Регенеративная медицина существенно помогает в обеспечении необходимых элементов для репарации человеческого организма *in vivo*, т.е. в обеспечении заменителей и/или вспомогательных средств для имплантации человеку, помимо стимулирования и поддержки присущей способности человеческого организма к регенерации и излечению. В этой области используют стволовые клетки, т.е. неспециализированные примитивные клетки, обладающие способностью превращаться в другие типы клеток организма. Стволовые клетки могут быть получены от взрослых субъектов, и в этом случае они являются неспециализированными плюрипотентными клетками, т.е. клетками, способными специализироваться только в отношении некоторых типов клеток. В частности, человеческие мезенхимальные стволовые клетки в настоящее время считаются особенно интересным инструментом для развития регенеративной медицины в различных областях, таких как репарация костной и хрящевой ткани, миокардиальной ткани, сосудистой ткани и ткани, обладающей эндокринной функцией. Эти клетки обладают способностью самообновляться с очень высокой скоростью роста и имеют свойства в отношении дифференциации широкого спектра. Такие клетки можно получать из костного мозга, а также из альтернативных источников, таких как зубная пульпа, пуповина и плацента, жировая ткань.

В более общем случае ощущается, таким образом, потребность в эффективных устройствах, позволяющих измельчать биологический материал и получать пробы и образцы, подлежащих тестированию и анализу в лаборатории для получения данных и информации, касающихся такого материала, для использования в исследовательских целях, или для постановки диагноза, и/или в области видов специфической медицинской терапии, а также для использования в регенеративной медицине.

В известном уровне техники уже описаны системы и устройства, предназначенные для измельчения биологического материала, среди которых упоминается в целях примера аппарат для измельчения в порошок, раскрытый в документе EP 0720513, соответствующем документу WO 95/09051, который содержит цилиндрический контейнер, ограничивающий верхнюю камеру, принимающую биологический материал, подлежащий размолу, расположенный поперечно в указанной камере и состоящий из перфорированной плиты и ротора, установленных в этой камере, причем размалывающий элемент выполнен в виде винтообразной лопатки.

Еще один пример известной измельчительной системы раскрыт в документе WO 2016/097960, в котором предлагается ротор, взаимодействующий с перфорированной измельчительной решеткой, причем элементами, характеризующими решетку, являются микроотверстия с размером или диаметром D в диапазоне 70-80 мкм.

Устройство, подобное раскрытому в документе EP 0720513 или в документе WO 2016/097960, осуществляет измельчение благодаря наличию микроотверстий, которые "разрывают" или "раздирают" биологический материал, подлежащий измельчению, и, таким образом, обычно портят его; как показано на фиг. 2 в документе EP 0720513 и на фиг. 2 в документе WO 2016/097960, измельчение происходит за счет взаимодействия между вращающимся элементом и неподвижным перфорированным диском (в частности, отверстия диска имеют режущие края), и такое взаимодействие приводит к "разрыву" или "раздираанию". Кроме того, оно влечет за собой образование клеточных "лоскутов", а именно неоднородных кусков биологического материала с разными формой и размерами. Наконец, в документе WO 2016/097960 раскрыто получение смесей нитей и комочков разных размеров (в любом случае способных проходить через отверстия решетки), и клеточные суспензии, полученные из неоднородных трансплантатов, статистически не приводят к высокому проценту утечки клеток.

Еще одни измельчительные устройства для биологических материалов раскрыты в иллюстративных целях в документах US 2008/0253223, US 2004/0252582 и EP 2220209, и все эти устройства в любом случае содержат системы вращающейся лопатки или измельчительные решетки и, таким образом, имеют недостатки, подобные указанным для устройств в документах EP 0720513 или WO2016/097960.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего изобретения является создание устройства, устраняющего недостатки известного уровня техники и позволяющее изготавливать трансплантаты из биологического материала однородными в части формы и размеров.

### **Подробное описание**

Целью настоящего изобретения является, таким образом, устройство для измельчения, указанное в п.1 формулы изобретения.

Еще одной целью настоящего изобретения является способ измельчения биологического материала по п.14 формулы изобретения.

Устройство для измельчения, предназначенное для измельчения биологического материала с целью получения проб или образцов, подлежащих тестированию, в соответствии с настоящим изобретением является особенно преимущественным, потому что оно выполняет крайне точную, чистую и однородную резку с получением клеточных трансплантатов по существу с однородными формой и размерами.

Клеточные трансплантаты, полученные таким образом, благодаря их однородности позволяют получать клеточные препараты, образованные из нескольких клеток (вытекших из самого трансплантата), в статистически более высокой степени, чем клеточные препараты, полученные устройствами и способами из известного уровня техники.

Дальнейшие характеристики и преимущества настоящего изобретения будут очевиднее из последующего подробного описания некоторых предпочтительных вариантов его осуществления со ссылками на прилагаемые графические материалы.

На этих графических материалах:

фиг. 1 представляет собой вид в перспективном изображении устройства для измельчения биологического материала в соответствии с настоящим изобретением, расположенного при его использовании на блоке предотвращения вращения;

фиг. 2 представляет собой вид в перспективном изображении первого варианта осуществления устройства для измельчения биологического материала в соответствии с настоящим изобретением с частичным вырезом для показа, по меньшей мере частично, его внутренней части;

фиг. 3 представляет собой вид в перспективном изображении устройства для измельчения на фиг. 2, разделенного на две основные части;

фиг. 4 представляет собой вид в перспективном изображении под другим углом части с пустотелым цилиндрическим элементом нижней части, проиллюстрированной на фиг. 3;

фиг. 5 представляет собой вид в перспективном изображении устройства для измельчения на фиг. 2, части которого полностью разделены;

фиг. 6 представляет собой вид сверху устройства для измельчения на фиг. 2;

фиг. 7 представляет собой разрез заявляемого устройства для измельчения по линии VII-VII на фиг. 6 в рабочем положении;

фиг. 8 представляет собой разрез заявляемого устройства для измельчения по линии VII-VII на фиг. 6 в еще не рабочем начальном положении с расцепленными раздвинутыми зубьями;

фиг. 9 представляет собой увеличенный разрез детали устройства для измельчения, показанного на фиг. 6;

фиг. 10 представляет собой вид в перспективном изображении под другим углом только ротора, проиллюстрированного на фиг. 5;

фиг. 11 представляет собой вид в перспективном изображении второго варианта осуществления устройства для измельчения в соответствии с настоящим изобретением с его полностью разделенными частями;

фиг. 12 представляет собой вид сверху устройства для измельчения на фиг. 11;

фиг. 13 представляет собой разрез заявляемого устройства для измельчения по линии XIII-XIII на фиг. 12 в рабочем положении;

фиг. 14 представляет собой разрез заявляемого устройства для измельчения по линии XIII-XIII на фиг. 12 в еще не рабочем начальном положении с расцепленными раздвинутыми зубьями;

фиг. 15 представляет собой увеличенный разрез детали устройства для измельчения, показанного на фиг. 13;

фиг. 16 представляет собой разрез заявляемого устройства для измельчения в соответствии с еще одним вариантом осуществления в еще не рабочем начальном положении с расцепленными раздвинутыми зубьями;

фиг. 17 представляет собой вид сверху нижней части устройства для измельчения;

фиг. 18 представляет собой увеличенную деталь вида сверху нижней части устройства для измельчения на фиг. 17;

фиг. 19 представляет собой продольный вид переходника для устройства для измельчения;

фиг. 20 представляет собой второй продольный вид переходника на фиг. 19.

На графических материалах показано устройство для измельчения, предназначенное для измельчения биологического материала, обозначенное во всей своей полноте позицией 11 в своем общем варианте осуществления. Такое устройство обычно используется для проведения измельчения биологического материала с целью получения проб или образцов, подлежащих анализу, для различных вариантов использования и при использовании располагается, например, на блоке 10 предотвращения вращения, называемом также "основанием" (не являющимся строго необходимым компонентом для работы устройства).

Биологический материал может, как правило, представлять собой соединительную, жировую, мышечную, костную (и окружающую кость снаружи), кожную, подкожную и/или эпидермальную ткань и/или происходить с головы, возможно с кожей, придатков пуповины, плаценты и т.п.

Пробы такого биологического материала могут отбираться, например, непосредственно в операционной, передаваться на измельчение в устройстве для измельчения в соответствии с настоящим изобретением и, таким образом, переноситься подходящим растворителем, физраствором, изотонической водой, культуральной средой, биологически деградирующим, синтетическим, природным и/или полусинтетическим полимером или может использоваться с фибриновым клеем или скаффолдом разного рода для обеспечения трехмерной опоры и т.п.

Как альтернатива, биологический материал, подаваемый на измельчение в устройство для измельчения в соответствии с настоящим изобретением, может выращиваться с помощью ферментов в питательной среде, которая может содержать специфические трофические факторы, предназначенные для способствования дифференциации возможно присутствующих мезенхимальных клеток (это, очевидно, зависит от характера измельченной ткани) в зависимости от конкретной клеточной ткани, или в питательной среде, содержащей специфические трофические факторы, стимулирующие пролиферацию клеток, распространяющихся из трансплантата, обеспечивающей их выживание, чтобы либо получить препарат из недифференцированных мезенхимальных клеток, либо поданный на дифференциацию, как альтернатива, препарат из мезенхимальных клеток, принадлежащий к конкретной клеточной ткани, подлежащей трансплантации в ткань.

Предварительные испытания, проведенные на пробах биологической ткани, поданных на измельчение устройством для измельчения в соответствии с настоящим изобретением, показывают, насколько эффективным является это устройство для измельчения биологической ткани, например кожи, широко сохраняя жизнеспособность клеток среди измельченных фрагментов, о чем свидетельствует способность к пролиферации клеток, выращенных таким образом.

Устройство для измельчения в соответствии с настоящим изобретением может быть одноразового использования или может использоваться повторно для приготовления проб для одного и того же пациента, например, для лечения больших ожогов.

Это устройство может иметь переменный объем, предпочтительно 5-15 мл, в зависимости от количества биологического материала, подлежащего измельчению. В иллюстративных целях устройство для измельчения объемом 5 мл может использоваться для измельчения кожной ткани, подлежащей использованию в регенеративной медицине для трансплантата кожи головы и повторного роста волос.

Устройство для измельчения одноразового использования объемом 15 мл может использоваться для измельчения биологического материала для приготовления клеточных суспензий, подлежащих использованию для лечения больших ожогов, заживления наружных язв и повреждений разного типа.

Устройство для измельчения в соответствии с настоящим изобретением позволяет выполнять измельчение как клеточных кластеров, так и одиночных клеток: наличие организованных структур небольших клеточных кластеров фактически обеспечивает регенерацию ткани, протекающую быстрее, чем выращивание одиночных клеток.

В последующем описании термины "измельчать" или "размалывать", а также "измельченный" или "размолотый" используются независимо для определения одной и той же операции и одной и той же обработки.

В частности, это устройство 11 для измельчения содержит корпус, содержащий неподвижный и подвижный режущие элементы, взаимодействующие между собой для размала биологического материала, причем указанные неподвижный и подвижный элементы расположены над перегородкой, ограничивающей расположенную ниже сборную камеру для вышеуказанного биологического материала после его порезки, как требуется. Поскольку указанная сборная камера расположена ниже вышеуказанных неподвижного и подвижного режущих элементов и вышеуказанной перегородки, предусмотренной с частями перегородки, в которых предусмотрены калиброванные отверстия для прохода размолотого биологического материала.

В частности, на графических материалах корпус содержит внутреннее коробчатое тело 12 и наружное коробчатое тело 13, оба по существу цилиндрической формы, которые могут быть связанными между собой. В частности, внутреннее коробчатое тело 12 содержит в первой части основание 14 с кольцевой пластиной, с выполненной по центру выпуклостью 15, обращенной в сторону верхнего наружного тела и обращенной вовнутрь. Во второй части внутреннее коробчатое тело 12 содержит полый цилиндрический элемент 16, также снабженный фланцем 17, который проходит радиально наружу и образован на конце цилиндрического элемента 16, обращенным в сторону основания 14. Основание 14 может быть связано с фланцем 17 и зацепляется с ним посредством защелкивающихся элементов 18 в виде язычков. Язычки 18 выступают из основания 14 и вставляются в прорези 19, предусмотренные во фланце 17. Вокруг выпуклости 15 основания 14 выполнено кольцевое гнездо 20, предназначенное для приема уплотнительного кольца 21, которое при контакте с нижней поверхностью фланца 17 обеспечивает образование упомянутой сборной камеры для биологического материала после его порезки.

В первом варианте осуществления, показанном на фиг. 2-10, во внутренней промежуточной части цилиндрического элемента 16 расположена перегородка или поверхность 22, которая состоит из секторов, поочередно образующих сектора 23, имеющие несколько калиброванных отверстий 23', и сектора 24, имеющие зубья 24' по концентрическим дугам окружности. Каждый из секторов 23, имеющих не-

сколько калиброванных отверстий 23', и секторов 24, снабженных зубьями 24' по концентрическим дугам окружности, сходятся к центру в сторону центрального кольцевого посадочного места 25 и обращены к ротору 27, помещенному во внутреннее коробчатое тело 12 и являющемуся его частью; причем кромки зубьев 24' (например, треугольные, или трапецеидальные, или волнообразные) представляют собой неподвижные режущие элементы.

Указанные калиброванные отверстия имеют диаметр 100-500 мкм, предпочтительно 200-400 мкм, более предпочтительно равный 300 мкм.

Указанное кольцевое посадочное место 25 образует гнездо для детали 26 в виде вала, выходящей из вышеуказанного ротора 27. Ротор 27 на своей поверхности, обращенной к перегородке 22 цилиндрического элемента 16, имеет несколько секторов 29, имеющих зубья 29' по концентрическим дугам окружности, причем указанные сектора 29 являются дополняющими (или по существу дополняющими) в отношении секторов 24, имеющих зубья 24' по концентрическим дугам окружности, перегородки 22 цилиндрического элемента 16; причем кромки зубьев 29' (например, треугольные или трапецеидальные или волнообразные) представляют собой подвижные режущие элементы.

При этом неподвижные секторы 24 и подвижные секторы 29, точно вращаемые (ротором), являются дополняющими (или по существу дополняющими) друг друга, взаимодействуя между собой, и благодаря своим режущим элементам, в свою очередь дополняющим (или по существу дополняющим) друг друга, размалывают биологический материал, заранее помещенный в секторы 23.

Как правило, расстояние между неподвижными режущими элементами и подвижными режущими элементами определяет средний размер молотого биологического материала, который может позднее проходить через калиброванные отверстия только в том случае, если размер материала сопоставим с размером отверстий; т.е. перфорированная перегородка служит в качестве "калиброванного сита".

Можно отметить, что неподвижные режущие элементы (например, элементы 24') имеют форму удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении; в частности, они проходят в радиальном направлении и, например, на длину 1-10 см, предпочтительно на длину 2-5 см. Предпочтительно неподвижные режущие элементы содержат одну или несколько прямолинейных угловых секций и, в частности, следующих друг за другом.

Следует отметить, что подвижные режущие элементы (например, элементы 29') имеют форму удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении; в частности, они проходят в радиальном направлении и, например, на длину 1-10 см, предпочтительно на длину 2-5 см. Предпочтительно неподвижные режущие элементы содержат одну или несколько прямолинейных и, в частности, следующих друг за другом угловых секций.

Устройство для измельчения может изготавливаться с использованием любого пластикового материала и суперполимера медицинского назначения.

В соответствии с вариантом осуществления на фиг. 2-10 ротор 27 со своими режущими элементами выполнен как цельная деталь, например, из пластикового материала, и перегородка 22 со своими режущими элементами изготовлена как цельная деталь, например, из пластикового материала; этот вариант осуществления предназначен, в частности, для размала "мягкого" материала.

Основание 10 может изготавливаться из целого ряда материалов, например, из пластика, резины, металла (в частности, стали и/или алюминия).

Наружное коробчатое тело 13, как указанное по существу цилиндрической формы, может располагаться с окружением, по меньшей мере частично, внутреннего коробчатого тела 12, которое на своем первом торце, закрытом стенкой 30, имеет осевое центральное отверстие 31, обеспечивающее посадочное место и вращение хвостовика 32 ротора 27.

Кроме того, наружное коробчатое тело 13 имеет на другом своем торце фигурный фланец 33, проходящий наружу в радиальном направлении и при этом упирающийся в основание 14 с кольцевой пластиной.

Следует отметить, что фланец 17 цилиндрического элемента 16 также имеет защелкивающиеся элементы 34 в виде язычков. Эти дополнительные язычки 34 выступают из фланца 17 и вставляются в прорези 35, выполненные во фланце 33 наружного коробчатого тела 13.

Следует отметить, что хвостовик 32 ротора 27 помимо вращения также скользит в осевом направлении в центральное осевое отверстие 31 наружного коробчатого тела 13 с таким расчетом, чтобы иметь возможность перемещаться вблизи перегородки 22 цилиндрического элемента 16, являющегося частью внутреннего коробчатого тела 12, чтобы взаимодействовать с биологическим материалом, подлежащим размолу. Кроме того, хвостовик 32 ротора 27 снабжен в осевом направлении фигурным отверстием 36, предназначенным для приема конца управляющего элемента, такого как фигурный кончик инструмента, оснащенного приводом, например, "отвертки".

В частности, пробы биологического материала могут отбираться непосредственно в операционной и передаваться на измельчение в устройстве 11 для измельчения. Преимущественно, устройство для измельчения в соответствии с настоящим изобретением может содержать переходник, предназначенный для механического соединения с инструментом, оснащенным приводом для вращения подвижных режущих элементов, или может быть связанным с ним.

На фиг. 19 и 20 показан вариант осуществления переходника, обозначенного позицией 60; переходник 60 имеет первый конец 61, предназначенный для вставки в фигурное отверстие 36, и второй конец 62, предназначенный для разъёмного соединения с инструментом, оснащённым приводом; в частности, первый конец 61 имеет дополняющую форму относительно формы фигурного отверстия 36, тогда как второй конец 62 имеет такую форму, чтобы временно соединяться с инструментом, оснащённым приводом; на фигурах следует отметить, что первый конец 61 имеет в сечении больший размер, чем второй конец 62.

В частности, в конкретном варианте осуществления, показанном на фиг. 19 и 20, первый конец 61 имеет шестигранную форму, и расстояние между двумя противоположными гранями равно по существу 8,0 мм, тогда как второй конец 62 имеет круглое с вырезом сечение, диаметр дуги которого равен 4,5 мм, соответствующий стандартному диаметру инструментов, оснащённых приводом, используемых в операционной. Конкретнее, хорда сечения с круглым сегментом второго конца 62 определяется канавкой, проходящей в продольном направлении, частично проходящей от второго конца 62 к первому концу 61.

В частности, первый конец 61 и второй конец 62 имеют направляющее отверстие, например раззенковку краев поперечного сечения, для облегчения вставки этих концов в соответствующие посадочные места.

Преимущественно, переходник 60 или подобный может временно заменяться стандартным фигурным кончиком инструмента, оснащённого приводом, в операционной.

Просматривая графические материалы, можно также отметить, что наружное коробчатое тело 13 имеет по меньшей мере одно сквозное отверстие 37, выполненное в направлении, параллельном оси наружного коробчатого тела 13, которое может быть выровненным по меньшей мере с одним сквозным отверстием 38, выполненным в цилиндрическом элементе 16, являющимся частью внутреннего коробчатого тела 12. Этот по меньшей мере один канал 38 обеспечивает сообщение между наружной средой устройства в соответствии с настоящим изобретением и сборной камерой 39 для биологического материала после его размолла, как требуется.

В этом первом проиллюстрированном и описанном варианте осуществления устройство 11 для измельчения предоставляется пользователю с открытым корпусом, как показано на фиг. 3, а именно с разделёнными внутренним коробчатым телом 12 (которое при использовании обычно предназначено для размещения сверху) и наружным коробчатым телом 13 (которое при использовании обычно предназначено для размещения сверху). В отношении внутреннего коробчатого тела 12 очевидно, что оно обеспечивает выполнение полого цилиндрического элемента 16 заодно с основанием, с кольцевой пластиной 14, вставляющей язычки 18 в прорези 19, предусмотренные во фланце 17, после помещения уплотнительного кольца 21 в кольцевое гнездо 20. Подобным образом, ротор 27 должен размещаться в наружном коробчатом теле 13 с хвостовиком 32, помещённым в центральном отверстии 31.

На следующем этапе внутреннее коробчатое тело 12 крепят к основанию 10.

На следующем этапе биологический материал, подлежащий размолу, размещают над перегородкой 22 цилиндрического элемента 16.

В этом момент наружное коробчатое тело 13 закрепляют на внутреннем коробчатом теле 12.

На следующем этапе физиологический раствор со смазывающим действием вводят на следующем этапе размолла биологического материала, подлежащего обработке. Этот раствор вводят, например, шприцем 40 благодаря наличию сквозного отверстия 37 в наружном коробчатом теле 13 и/или сквозного отверстия 38, выполненного в цилиндрическом элементе 16 с размещением его в сборной камере 39 для биологического материала. Этот раствор вводят в количестве, достаточном для преодоления высоты зубьев 29' секторов 29 и зубьев 24' секторов 24 и для смачивания биологического материала, подлежащего размолу; преимуществом этого является то, что это позволяет одновременно избежать перегрева биологического материала и выталкивания молотого материала в сборную камеру 39.

В этом момент кончик инструмента, оснащённого приводом (не показан) вставляют в фигурное отверстие 36 хвостовика 32 ротора 27 для осуществления управления вращением (в течение данного времени и с данной скоростью).

Вращение приводит к измельчению биологического материала благодаря наличию физиологического раствора, и этот размолотый/измельченный материал, достигнув требуемого размера, проходит через калиброванные отверстия 23' секторов 23 перегородки 22.

После того как обработка в виде размалывания завершена, этот материал может быть извлечен дополнительным шприцем 40, путем его введения в сквозное отверстие 37 в наружном коробчатом теле 13 и в сквозной канал 38, выровненный с ним и выполненный в цилиндрическом элементе 16. Таким образом, обработанный и размолотый биологический материал высасывают из сборной камеры 39 для использования на последующих этапах/в последующих применениях.

Фиг. 11-15 представляют собой виды второго варианта осуществления устройства для измельчения в соответствии с настоящим изобретением, в частности, на фиг. 11 это устройство показано с полностью разделёнными его частями.

По возможности даже в этом варианте осуществления подобные части обозначены теми же позициями.

Следует отметить, что и в этом примере есть по существу внутреннее коробчатое тело 12 и наруж-

ное коробчатое тело 13, которые могут быть связанными между собой. Подобным образом, внутреннее коробчатое тело 12 содержит в первой части основание 14 с кольцевой пластиной, снабженное по центру выпуклостью 15, обращенной в сторону верхнего наружного тела и обращенной вовнутрь. Во второй части внутреннее коробчатое тело 12 содержит полый цилиндрический элемент 16, также снабженный фланцем 17, который проходит радиально наружу и образован на конце цилиндрического элемента 16, обращенным в сторону основания 14. Основание 14 может быть связано с фланцем 17 и зацепляется с ним посредством защелкивающихся элементов 18 в виде язычков. Язычки 18 выступают из основания 14 и вставляются в прорези 19, предусмотренные во фланце 17. Вокруг выпуклости 15 основания 14 выполнено кольцевое гнездо 20, предназначенное для приема уплотнительного кольца 21, которое при контакте с нижней поверхностью фланца 17 обеспечивает образование упомянутой сборной камеры для биологического материала после его порезки.

В этом втором варианте осуществления на фиг. 11-15 во внутренней промежуточной части цилиндрического элемента 16 расположена перегородка 22 с окошками 50 в виде радиальных секторов. Над этой перегородкой 22 на внутренней стенке цилиндрического элемента 16 выполнены короткие выступы 51, выступающие в радиальном направлении вовнутрь и направленные в осевом направлении. Эти выступающие выступы 51 контактируют в дополняющих их пазах 52, выполненных на боковой поверхности отдельного диска 53, помещенного над перегородкой 22. В частности, этот диск 53 разделен на секторы, которые поочередно образуют секторы 23, снабженные несколькими калиброванными отверстиями 23', и секторы 24, имеющие зубья 24' по концентрическим дугам окружности. Секторы 23, имеющие несколько калиброванных отверстий 23', и секторы 24, имеющие зубья 24' по концентрическим дугам окружности, сходятся к центру в сторону центрального кольцевого посадочного места 25 в диске 53 и обращены к ротору 27, помещенному во внутреннее коробчатое тело 12 и являющемуся его частью.

В этом варианте осуществления важно отметить, что благодаря взаимодействию выступов 51 и пазов 52 секторы 23, имеющие несколько калиброванных отверстий 23', расположены в окошках 50 перегородки 22, чтобы позволить прохождение биологического материала после его нарезки в сторону лежащей ниже сборной камеры 39, как в первом примере.

В соответствии с вариантом осуществления на фиг. 11-15 ротор 27 с его режущими элементами выполнен цельным из металлического материала (например, из нержавеющей стали или титана), а перегородка 22 с ее режущими элементами, встроенными, например, в диск 53, выполнена из двух частей, в частности, стенка выполнена из пластикового материала, а режущие элементы - из металлического материала (например, из нержавеющей стали или титана); этот вариант осуществления предназначен, в частности, для размолла костного материала.

Все остальные характеристики устройства в этом втором варианте осуществления подобны или очень подобны.

Собственно говоря, упомянутое кольцевое посадочное место 25 образует гнездо для детали 26 в виде вала, выходящей из вышеуказанного ротора 27. Ротор 27 на своей поверхности, обращенной к диску 53, имеет несколько секторов 29, имеющих зубья 29' по концентрическим дугам окружности, причем указанные сектора 29 являются дополняющими по форме относительно секторов 24, имеющих зубья 24' по концентрическим дугам окружности диска 53, помещенного над перегородкой 22 цилиндрического элемента 16.

В этом случае также наружное коробчатое тело 13 может располагаться с окружением, по меньшей мере частичным, внутреннего коробчатого тела 12, которое на своем первом торце, закрытом стенкой 30, имеет осевое центральное отверстие 31, обеспечивающее посадочное место и вращение хвостовика 32 ротора 27.

Кроме того, наружное коробчатое тело 13 имеет на другом своем торце фигурный фланец 33, проходящий наружу в радиальном направлении и при этом упирающийся в основание 14 с кольцевой пластиной.

Следует отметить, что фланец 17 цилиндрического элемента 16 также имеет защелкивающиеся элементы 34 в виде язычков. Эти дополнительные язычки 34 выступают из фланца 17 и вставляются в прорези 35, выполненные во фланце 33 наружного коробчатого тела 13.

Кроме того, следует отметить, что хвостовик 32 ротора 27 помимо вращения также скользит в осевом направлении в центральное осевое отверстие 31 наружного коробчатого тела 13 с таким расчетом, чтобы иметь возможность перемещаться вблизи диска 53, расположенного заблокированным на перегородке 22 цилиндрического элемента 16, являющегося частью внутреннего коробчатого тела 12, чтобы взаимодействовать с биологическим материалом, подлежащим размолу. Кроме того, хвостовик 32 ротора 27 имеет в осевом направлении фигурным отверстием 36, предназначенным для приема конца управляющего элемента, такого как фигурный кончик инструмента, оснащенного приводом, например, "отвертки".

Просматривая графические материалы, можно также отметить, что наружное коробчатое тело 13 имеет по меньшей мере одно сквозное отверстие 37, выполненное в направлении, параллельном оси наружного коробчатого тела 13, которое может быть выровненным по меньшей мере с одним сквозным отверстием 38, выполненным в цилиндрическом элементе 16, являющимся частью внутреннего коробча-

того тела 12. Этот по меньшей мере один канал 38 обеспечивает соединение между наружной средой устройства в соответствии с настоящим изобретением и сборной камерой 39 для биологического материала после его порезки, как требуется.

В этом втором проиллюстрированном и описанном варианте осуществления устройство 11 для измельчения предоставляется пользователю со внутренним коробчатым телом 12, наружным коробчатым телом 13 и диском 53.

На фиг. 16 показано, что в еще одном альтернативном варианте осуществления зубья по концентрическим дугам окружности секторов как перегородки 22, так и диска 53 могут иметь, например, трапециевидальное сечение вместо по существу треугольного сечения, показанного в предыдущих примерах.

Наконец, на фиг. 17 и 18 более наглядно показано, каково расположение секторов в случае их выполнения в перегородке 22 и в случае их выполнения в диске 53.

Устройства для измельчения, подобные только что описанным, используют для осуществления конкретного способа измельчения биологического материала, являющегося целью настоящего изобретения.

В общем, указанный способ основан на устройстве для измельчения, оснащенном неподвижными режущими элементами (например, элементами 24') и подвижными режущими элементами (например, элементами 29'), дополняющими друг друга по форме, и включает следующие этапы:

А) помещение вручную биологического материала, подлежащего размолу, между неподвижными режущими элементами и подвижными режущими элементами, разнесенными под углом, затем

В) вращение подвижных режущих элементов в таком направлении вращения, чтобы переместить подвижные режущие элементы близко к неподвижным режущим элементам, пока они не выровняются друг с другом, затем

С) дальнейшее вращение подвижных режущих элементов в том же направлении вращения, чтобы отвести под углом подвижные режущие элементы от неподвижных режущих элементов.

Этапы А-С повторяют несколько раз для получения размолотого биологического материала.

На этапе В после взаимного выравнивания подвижные режущие элементы и неподвижные режущие элементы находятся на predetermined расстоянии между собой (например, 100-500 мкм, предпочтительно 200-400 мкм, более предпочтительно 300 мкм) в осевом направлении.

Концептуально, резка биологического материала происходит, когда режущие элементы выравниваются друг с другом (очень точная, чистая и однородная резка), но фактически она начинается незадолго до этапа В, когда режущие элементы сближаются (например, находятся на расстоянии друг от друга 1 или 2 см), и заканчивается вскоре после того, как на этапе С режущие элементы еще находятся близко (например, на расстоянии 1 или 2 мм).

В случае описанных устройств для измельчения на этапе С сектора (например, 29), имеющие зубья (например, 27) ротора, все больше накладываются на сектора (например, 24), имеющие зубья перегородки (например, 22).

В случае описанных устройств для измельчения благодаря симметричной форме секторов перегородки и ротора, операцию измельчения возможно выполнять вращением в первом направлении вращения или вращением во втором направлении вращения (противоположном первому) или попеременно в первом направлении вращения и втором направлении вращения.

Предпочтительно, и как уже объяснялось, биологический материал, подлежащий размолу, неподвижные режущие элементы и подвижные режущие элементы на этапах В и С погружают в физиологический раствор. В случае описанных устройств для измельчения этот физиологический раствор вводят в устройство в начале процесса и извлекают из устройства в конце процесса, и извлеченный раствор также содержит молотый биологический материал (или, по меньшей мере, его большую часть).

Предпочтительно биологический материал, уже молотый благодаря действию режущих элементов, пропускают через калиброванные отверстия (с диаметром 100-500 мкм, предпочтительно 200-400 мкм, более предпочтительно 300 мкм) на стенке; указанные отверстия позволяют биологическому материалу, уже размолотому устройством для измельчения, иметь predetermined размеры.

В соответствии с первым преимущественным аспектом данного способа в соответствии с настоящим изобретением биологический материал, подлежащий размолу, во время размолу смачивают и поддерживают смоченным физиологическим раствором.

В соответствии со вторым преимущественным аспектом способа в соответствии с настоящим изобретением размолотый биологический материал транспортируют через калиброванные отверстия предпочтительно физиологическим раствором.

В соответствии с третьим преимущественным аспектом способа в соответствии с настоящим изобретением размолотый биологический материал предпочтительно удаляют посредством физиологического раствора.

В случае описанных устройств для измельчения эти три преимущественных аспекта достигаются следующим образом: физиологический раствор вводят в устройство, затем он достигает сборной камеры и, наконец, проходит через калиброванные отверстия перегородки, достигая биологического материала, подлежащего размолу, а также соответствующих режущих элементов. Затем приводят в действие ротор (вручную или электриче-

ски), происходит постепенный размол материала и, благодаря давлению, прикладываемому ротором к физиологическому раствору при вращении ротора, физиологический раствор вытягивает размолотый биологический материал через калиброванные отверстия в сборную камеру. Наконец, ротор останавливают, и физиологический раствор с размолотым биологическим материалом, который присутствует в сборной камере (т.е. "препарат измельченного клеточного материала, взвешенного в физиологическом растворе") извлекают из устройства.

В случае некоторых вариантов осуществления частота вращения ротора равна 70-100, предпочтительно 80 об/мин, и ротор вращается в течение 100-200 с, предпочтительно в течение 120 с.

Устройство для измельчения, предназначенное для измельчения биологического материала с целью получения проб или образцов, подлежащих тестированию, в соответствии с настоящим изобретением является особенно преимущественным, поскольку оно выполняет крайне точную, чистую и однородную резку с получением клеточных трансплантатов по существу с однородными формой и размерами.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для измельчения биологического материала, содержащее корпус (12, 13), содержащий неподвижные режущие элементы (24') и подвижные режущие элементы (29'), взаимодействующие между собой для размалывания биологического материала, сборную камеру (39) для размолотого биологического материала, перегородку (22), прилегающую к указанной сборной камере (39), причем указанные неподвижные и подвижные режущие элементы (24', 29') расположены с первой стороны указанной перегородки (22) вместе с биологическим материалом, подлежащим размолу, причем указанная сборная камера (39) расположена со второй стороны указанной перегородки (22), причем указанные неподвижные режущие элементы (24') выполнены в виде удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении, причем указанные подвижные режущие элементы (29') выполнены в виде удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении, причем указанная перегородка (22) имеет части (23) перегородки, в которых предусмотрены калиброванные отверстия (23') для прохождения биологического материала, уже размолотого указанными неподвижными режущими элементами (24') и указанными подвижными режущими элементами (29'), причем указанная камера (39) сообщается с наружной средой указанного корпуса (12, 13) по меньшей мере через один канал (38, 37) для введения жидкости и извлечения указанной жидкости с размолотым биологическим материалом.

2. Устройство для измельчения по п.1, отличающееся тем, что указанный корпус содержит внутреннее коробчатое тело (12) и наружное коробчатое тело (13), оба имеющие по существу цилиндрическую форму, причем указанные неподвижные режущие элементы (24') расположены в указанном внутреннем коробчатом теле (12), а указанные подвижные режущие элементы (29') расположены на роторе (27), который выполнен с возможностью, по меньшей мере, вращения в указанном наружном коробчатом теле (13).

3. Устройство для измельчения по п.1 или 2, отличающееся тем, что указанное внутреннее коробчатое тело (12) и указанное наружное коробчатое тело (13) указанного корпуса контактируют друг с другом посредством зашелкивающихся элементов (34, 35).

4. Устройство для измельчения по п.2, отличающееся тем, что указанные неподвижные режущие элементы (24') расположены на указанной перегородке (22).

5. Устройство для измельчения по п.2, отличающееся тем, что указанные неподвижные режущие элементы (24') расположены на отдельном диске (53), который выполнен с возможностью помещения над указанной перегородкой (22).

6. Устройство для измельчения по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанные неподвижные режущие элементы (24') и указанные подвижные режущие элементы (29') расположены в соответствии с секторами (24, 29).

7. Устройство для измельчения по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанные калиброванные отверстия (23') расположены в секторах (23).

8. Устройство для измельчения по п.7, отличающееся тем, что указанные сектора (23), имеющие указанные калиброванные отверстия (23'), расположены попеременно в секторах (24, 29), имеющих указанные неподвижные режущие элементы (24').

9. Устройство для измельчения по п.2, отличающееся тем, что указанное внутреннее коробчатое тело (12) содержит в первой части основание (14) с кольцевой пластиной, снабженное по центру выпуклостью (15), обращенной к указанному верхнему наружному телу (13) и вовнутрь, а во второй части - полый цилиндрический элемент (16), снабженный фланцем (17), который проходит в радиальном направлении наружу и выполнен на одном конце указанного цилиндрического элемента (16), обращенным к указанному основанию (14) и расположенным с возможностью герметизации относительно него.

10. Устройство для измельчения по п.9, отличающееся тем, что указанное основание (14) выполнено с возможностью связывания с указанным фланцем (17) и зацепления с ним посредством зашелкивающихся элементов (18, 19).

11. Устройство для измельчения по п.10, отличающееся тем, что указанные зашелкивающиеся элементы представляют собой, с одной стороны, язычки (18), а с другой - прорези (19).

12. Устройство для измельчения по п.9, отличающееся тем, что вокруг указанной выпуклости (15) основания (14) выполнено кольцевое гнездо (20), приспособленное для приема уплотнительного кольца (21), которое при контакте с нижней поверхностью фланца (17) обеспечивает образование упомянутой сборной камеры (39) для биологического материала после его порезки.

13. Устройство для измельчения по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанная сборная камера (39) сообщается с наружной средой посредством сквозных отверстий (37, 38), выполненных в указанном корпусе (12, 13).

14. Способ измельчения биологического материала посредством устройства для измельчения, оснащенного неподвижными режущими элементами (24') в виде удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении, и подвижными режущими элементами (29') в виде удлиненных уголков, проходящих в радиальном направлении, причем указанные неподвижные режущие элементы (24') и указанные подвижные режущие элементы (29') имеют дополняющую друг друга форму, причем указанный способ включает следующие этапы:

А) помещение вручную биологического материала, подлежащего размолу, между указанными неподвижными режущими элементами (24') и указанными подвижными режущими элементами (29'), разнесенными под углом, затем

В) вращение указанных подвижных режущих элементов (29') в таком направлении вращения, чтобы переместить подвижные режущие элементы (29') близко к указанным неподвижным режущим элементам (24'), пока они не выровняются друг с другом, затем

С) дальнейшее вращение указанных подвижных режущих элементов (29') в том же направлении вращения, чтобы разнести под углом указанные подвижные режущие элементы (29') от указанных неподвижных режущих элементов (24');

причем этапы А-С повторяют несколько раз для получения размолотого биологического материала;

причем на этапе В после выравнивания их друг с другом указанные подвижные режущие элементы (29') и указанные неподвижные режущие элементы (24') имеют predetermined расстояние в осевом направлении.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что указанный биологический материал, подлежащий размолу, указанные неподвижные режущие элементы (24') и указанные подвижные режущие элементы (29') на этапах В и С погружают в физиологический раствор.

16. Способ по п.14 или 15, отличающийся тем, что указанный биологический материал, уже размолотый указанными неподвижными режущими элементами (24') и указанными подвижными режущими элементами (29'), пропускают через калиброванные отверстия (23') перегородки (22).

17. Способ по п.16, отличающийся тем, что указанный размолотый биологический материал транспортируют через калиброванные отверстия (23') физиологическим раствором.

18. Способ по п.16 или 17, отличающийся тем, что указанный размолотый биологический материал удаляют посредством физиологического раствора.

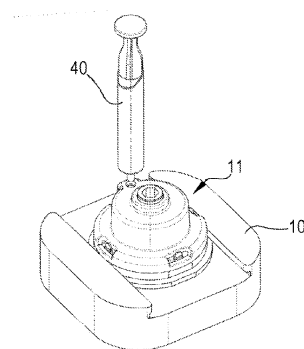
19. Способ по любому из пп.14-18, отличающийся тем, что включает следующие этапы:

введение в устройство биологического материала, подлежащего измельчению;

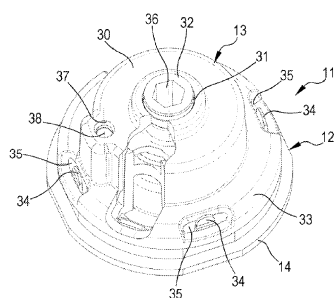
введение в устройство физиологического раствора;

измельчение биологического материала, погруженного в физиологический раствор, посредством работы устройства с частотой вращения 70-100, предпочтительно 80 об/мин, в течение 100-200 с, предпочтительно в течение 120 с;

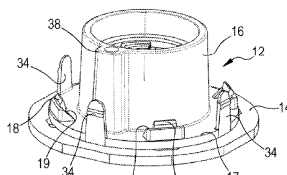
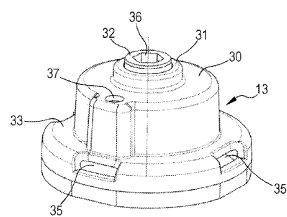
отбор препарата измельченного клеточного материала, взвешенного в физиологическом растворе.



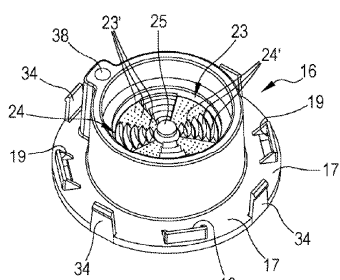
Фиг. 1



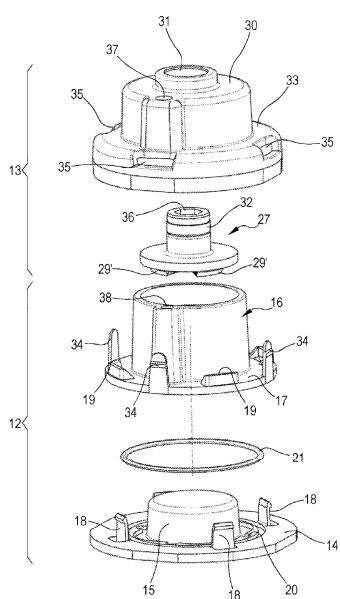
Фиг. 2



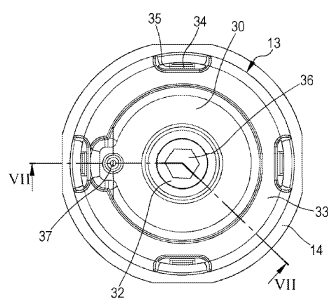
Фиг. 3



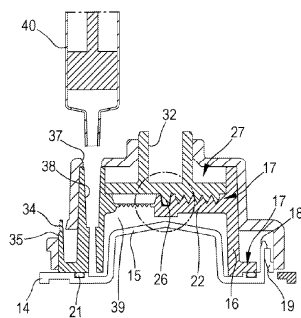
Фиг. 4



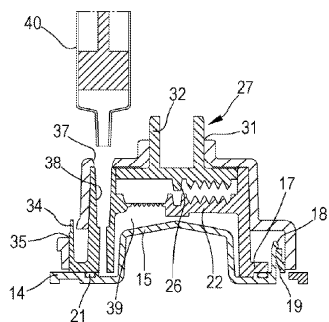
Фиг. 5



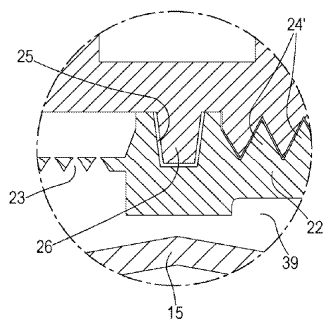
Фиг. 6



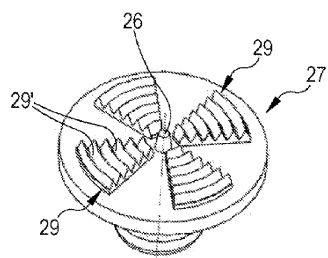
Фиг. 7



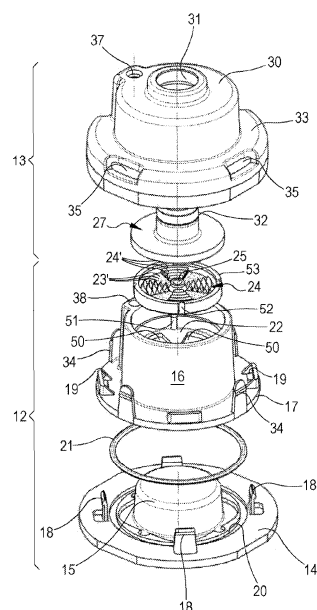
Фиг. 8



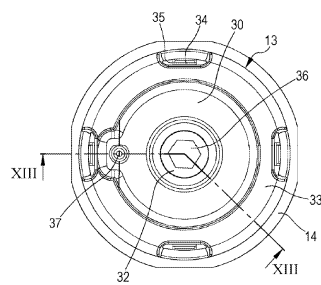
Фиг. 9



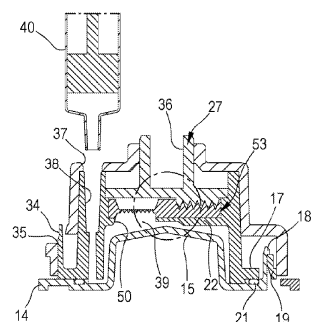
Фиг. 10



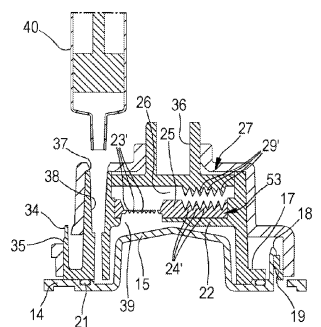
Фиг. 11



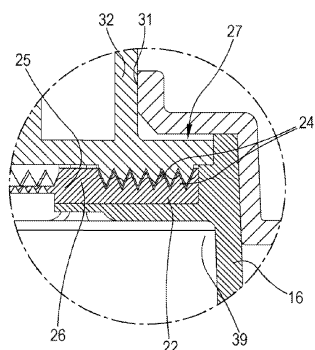
Фиг. 12



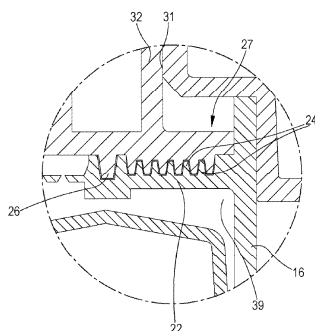
Фиг. 13



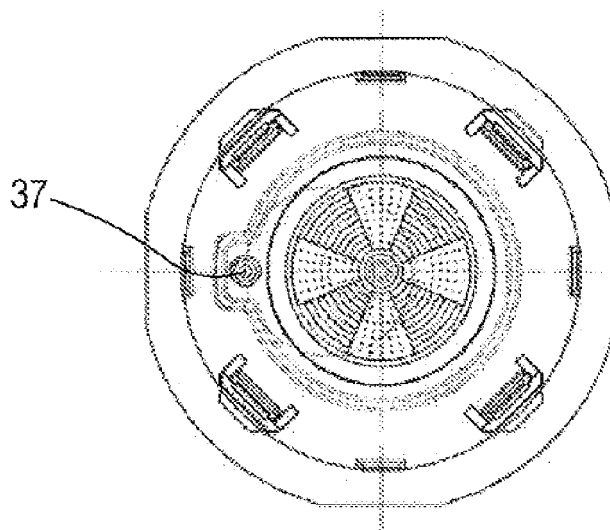
Фиг. 14



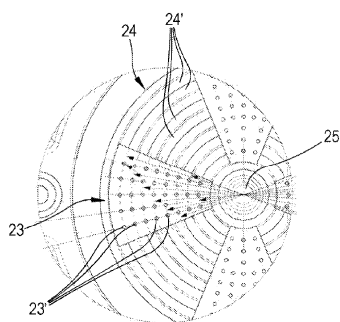
Фиг. 15



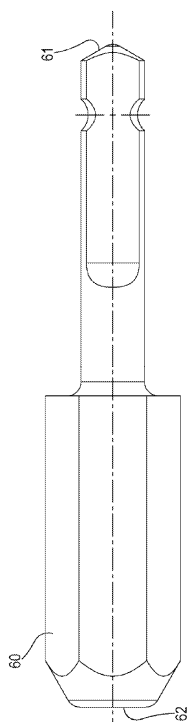
Фиг. 16



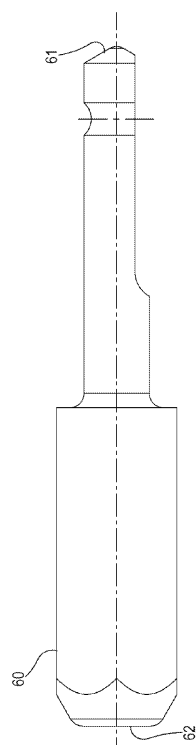
Фиг. 17



Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20

