



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 34 405 T2 2006.03.09**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 955 951 B1**

(51) Int Cl.⁸: **A61F 2/06 (2006.01)**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 34 405.6**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US95/08033**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **95 924 695.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 96/001085**

(86) PCT-Anmeldetag: **29.06.1995**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.01.1996**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **17.11.1999**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **24.08.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.03.2006**

(30) Unionspriorität:
270073 01.07.1994 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, FR, GB

(73) Patentinhaber:
Edwards Lifesciences Corp., Irvine, Calif., US

(72) Erfinder:
HU, B., Can, Irvine, US; MYERS, E., Keith, Lake Forest, US; PETERSON, C., Robert, Dove Canyon, US

(74) Vertreter:
Rehberg Hüppe + Partner, 37073 Göttingen

(54) Bezeichnung: **VORRICHTUNG ZUM GEWINNEN VON AUTOLOGEN, MIKROVASKULÄREN ENDOTHELIALEN ZELLEN ENTHALTENDEM FETTGEWEBE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Homogenisierung adipösen Gewebes. Insbesondere betrifft die Erfindung ein System zum Sammeln und Homogenisieren von adipösem Gewebe, um eine vergrößerte Population von funktionsfähigen oder überlebensfähigen endothelialen Zellen für eine Ablagerung auf der Oberfläche von synthetischen Prothesen zu erhalten.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Eine arteriosklerotische vaskuläre Erkrankung ist eine der hauptsächlichen Todesursachen in der ganzen Welt. Während anspruchsvolle medizinische Techniken, wie beispielsweise eine arterielle Endarterektomie und eine perkutane Ballondilatation, immer öfter angewendet werden, um pathologische stenotische Fälle zu behandeln, ist relativ häufig die effektivste Therapie die chirurgische Entfernung des verstopften Abschnitts des Gefäßes. In solchen Fällen hängt die Wiederherstellung des Blutflusses zu dem ischämischen Gewebe von der Implantation eines vaskulären Transplantats ab.

[0003] Obwohl autologes vaskuläres Gewebe das am besten geeignete Material für eine Verwendung von derartigen Transplantaten ist, begrenzen frühere chirurgische Interventionen und fortgeschrittene vaskuläre Erkrankungen oft die Verfügbarkeit von derartigem Gewebe. Entsprechend ist es in den letzten Jahren üblich geworden, vaskuläre Transplantate zu implantieren, die aus synthetischen Materialien hergestellt sind. Während kommerziell verfügbare synthetische Transplantate extrem haltbar sind und eingesetzt werden können, um erfolgreich einen Blutfluss zu dem verstopften Gewebe wiederherzustellen, vermindern verbundene thrombogene Komplikationen deren Effizienz. Insbesondere neigen vaskuläre Transplantate mit kleineren Durchmessern dazu, dysfunktional zu werden, wenn diese durch normale Gerinnungs- oder Klumpenbildungs-Mechanismen blockiert werden. Insbesondere fördert die synthetische Oberfläche des Transplantats die Ablagerung von Fibrin, was zu zugeordneter zellenförmiger Adhäsion und einer Verstopfung des Gefäßes führt. Konsequenterweise ist die Langzeitprognose für nicht überzogene synthetische Transplantate relativ schlecht.

[0004] Um die Probleme, die mit nicht überzogenen synthetischen vaskulären Transplantaten verbunden sind, zu umgehen, sind Verfahren für eine Ausfütterung der Prothesen mit menschlichen endothelialen Zellen entwickelt worden, um eine nicht-thrombogene Zelloberfläche herzustellen, wie diese in den nativen menschlichen Gefäßen existiert. Die endotheliale Ausfütterung von natürlichen Blutgefäßen ist oder liefert eine hochrangig komplexe, multifunktionale Zelloberfläche, welche sowohl mit dem Blut als auch mit den zugeordneten Komponenten der Gefäßwandung zusammenwirkt, um die physiologische Homöostase aufrecht zu erhalten. Tests mit Tieren haben gezeigt, dass die Ablagerung einer funktionalen großen endothelialen Zellausfütterung des Gefäßes auf der inneren Oberfläche von synthetischen vaskulären Transplantaten die Bildung von thrombogenen Verstopfungen verringert und die Zerrüttung des Blutflusses durch das Gefäß minimiert. Allerdings ist die Gewinnung einer hinreichenden Anzahl von großen Gefäßzellen von einem Geber hochgradig schwierig.

[0005] Jüngste Fortschritte in der Molekularbiologie und hinsichtlich Gewebekulturen haben die Isolation und die anschließende Ausbreitung oder Fortpflanzung von großen endothelialen Gefäßzellen ermöglicht. In der Praxis ist die Verwendung von kultivierten großen endothelialen Gefäßzellen teuer, kompliziert und inhärenten Beschränkungen ausgesetzt. Ein Problem ist, dass Zellkultur-Techniken hochgradig technisch sind und trainiertes Personal sowie die Verwendung von Spezialausrüstung unter Laborbedingungen erfordern. Selbst unter den besten Bedingungen kann das Ergebnis von kultivierten endothelialen Gefäßzellen gering sein. Weiterhin erfordern typische Sähverfahren unter Verwendung kultivierter Zellen die Verwendung von speziellen Medien unter komplexen Bedingungen, um die vollständige und gleichmäßige Ablagerung von endothelialen Zellen auf der synthetischen Oberfläche des Transplantats zu gewährleisten.

[0006] Zusätzlich werden die kultivierten Zellen grundsätzlich nicht von dem Patienten gewonnen, der das Transplantat empfängt, so dass eine Vielzahl von immunologischen Komplikationen hervorgerufen werden kann. Wenn die Immunantwort des Patienten nicht abgeschwächt wird, besteht die Gefahr, dass transplantierte endotheliale Zellen angegriffen werden und infolge der Abwehrmechanismen des Körpers von der Oberfläche des Transplantats abgelöst werden. Wenn andererseits das Immunsystem des Patienten künstlich unterdrückt wird, kann dies zu lebensbedrohenden, opportunistischen Infektionen führen.

[0007] Unter Berücksichtigung dieser und anderer Komplikationen, die mit der Verwendung von großen endothelialen Gefäßzellen-Behandlungen von prothetischen Geräten verbunden sind, sind alternative Verfahren zur Reduzierung der inhärenten Thrombogenizität von synthetischen Materialien entwickelt worden. Insbesondere ist schnell festgestellt worden, dass menschliche mikrovaskuläre endotheliale Zellen effektiv eingesetzt werden können, um synthetische Transplantate nicht-thrombogen zu halten.

[0008] Mikrovaskuläre endotheliale Zellen werden gewonnen von Kapillargefäßen, Arteriolen und den Venulen und sind in einem reichlichen Vorrat in den meisten Körpergeweben vorhanden. Während endotheliale Zellen von Gewebe wie beispielsweise Gehirn, Lunge, Retina, Nebennieren, Leber oder Muskelgewebe isoliert werden können, wird die Verwendung von Fettgewebe als eine Quelle für diese Zellen bevorzugt infolge des Überflusses an diesem, der Verfügbarkeit und da dessen Entfernung den zu behandelnden Patienten nicht negativ beeinflusst. Verhältnismäßig oft sind mikrovaskuläre endotheliale Zellen in Konzentrationen von 10^6 Zellen pro Gramm von Fett oder mehr vorhanden, wodurch eine ausgiebige Quelle für Materialien für Ablagerungsverfahren mit hoher Dichte bereitgestellt wird. Da die mikrovaskulären Zellen, die verwendet werden, zur Behandlung des synthetischen Transplantats gewöhnlicherweise autolog sind, d. h. von dem Rezipienten der vaskulären Prothese entnommen werden, kann immunologischen Komplikationen vorgebeugt werden.

[0009] Typischerweise werden mikrovaskuläre endotheliale Zellen von autologem adipösem Geweben isoliert, wie beispielsweise aus um die Niere herum gelegenen Fett, subkutanem Fett, dem Omentum oder Fett, welches dem Bauchfell zugeordnet ist. Die Gewinnung erfolgt üblicherweise unter sterilen Bedingungen, wobei die erforderliche Menge an Fett in einem Verfahrensschritt entfernt wird. Das gesammelte Gewebe kann dann gewaschen werden, bevor dieses zu einer gebufferten digestiven Lösung übertragen wird, die grundsätzlich protheolytische Enzyme enthält, wie beispielsweise Kollagenase, Papain, Trypsin und Mischungen hiervon.

[0010] Das adipöse Gewebe wird bei 37°C für eine ausgewählte Zeitspanne verdaut, getrennt oder zersetzt, um die verbindende Matrix zu trennen und die Zellkomponenten einschließlich der mikrovaskulären endothelialen Zellen zu zerstreuen. Anschließend an die Verdauung oder Trennung können die zellförmigen Komponenten durch eine Zentrifuge mit geringer Geschwindigkeit separiert werden, um zellreiche Pellets oder Kügelchen zu erhalten. Die Pellets können gewaschen werden und in dem Ablagerungsverfahren verwendet werden. Die Reinheit kann durch Verwendung eines kontinuierlichen Gradienten weiter erhöht werden. In jedem Fall werden die veredelten Zellen mit einer Buffer-Lösung verdünnt und anschließend bebrütet mit der synthetischen Prothese, um endothelialisierte Oberflächen bereitzustellen.

[0011] Üblicherweise beinhaltet das Sammeln des gewünschten adipösen Gewebes den Einsatz einer Saugpumpe, die mit einer Sammelvorrichtung mit einer Nadel oder einer Kanüle verbunden ist. Beispielsweise offenbaren die Patente US 5,035,708 und US 4,834,703 die Sammlung von adipösem Gewebe unter Verwendung einer Saugpumpe, um das notwendige Vakuum bereitzustellen. Allerdings neigen derartige Sammelgeräte und zugeordnete Verfahren dazu, ein starkes und unkontrollierbares Saugen einzusetzen, welches extrem stark auf die mikrovaskulären zellulären Komponenten des gesammelten Gewebes einwirkt. Das resultierende Zerbrechen der relativ fragilen Zellmembrane kann die Funktionsfähigkeit der gewonnenen Zellen substantiell verringern. Dieses verringert wiederum dramatisch die Effizienz des Ablagerungsverfahrens. Während derartige Sammelverfahren ausreichendes adipöses Gewebe bereitstellen können, erfordern Entnahmen, die unter Verwendung derartiger Technik gesammelt worden sind, grundsätzlich mehrere zusätzliche, laborintensive Vorbereitungsschritte, um eine adäquate Konzentration von verhältnismäßig reinen oder edlen mikrovaskulären endothelialen Zellen für eine eventuelle Ablagerung zu gewährleisten.

[0012] Weiterhin ist Quellgewebe, welches unter Verwendung von Saugpumpen gesammelt worden ist, oftmals verhältnismäßig schmutzig, wobei eine Kontaminierung mit unerwünschten Körperfluiden und nicht-adipösen Zell-Ablagerungen oder zellförmigen Schmutzpartikeln erfolgt. Entnahmen, die unter Verwendung von pumpengenerierten Vakuums gesammelt worden sind, haben oftmals anstelle durchsichtiger, weißer Entnahmen, wie diese in relativ reinem adipösem Gewebe zu erkennen sind, ein blutiges Aussehen mit Konzentrationen verbindenden Gewebes oder Membrangewebes, die in dem Fett aufgelöst sind.

[0013] Die eingeschlossenen Verunreinigungen haben eine Wechselwirkung mit jedem Isolationsschritt der mikrovaskulären endothelialen Zellen einschließlich der anfänglichen Homogenisierung und Vorbereitung der gesammelten Entnahme für die Verdauung. Weiterhin verhindern derartige Verunreinigungen unmittelbar die enzymische Aktivität der protheolytischen Enzyme, was zu einer unvollständigen Zersetzung oder Trennung der Entnahme führt und zu einer korrespondierenden Reduktion des Ergebnisses der nicht-adipösen zellförmigen Komponenten, die nachfolgend durch Zentrifugieren erhalten werden. Schließlich beinhalten derartige Zellen, die gesammelt worden sind und pelletiert worden sind, erhöhte Level von nicht-endothelialen Kompo-

nen. Die Verwendung von derartigen verunreinigten Pellets verringert weiterhin die Effizienz des Zellablagerungsverfahrens und tritt in Wechselwirkung mit der homogenen Beschichtung von endothelialen Zellen auf der prothetischen Oberfläche. Konsequenterweise ist der Patient einer extensiveren Absaugung von Fett ausgesetzt, als dieses anderweitig erforderlich wäre, um eine hinreichende Zahl von mikrovaskulären endothelialen Zellen bereitzustellen.

[0014] Da die Effizienz des Verfahrens der Endothelialisierung mit jedem Verfahrensschritt durch die Verunreinigungen verringert wird, ist die Bedeutung eines Starts des Verfahrens mit einer relativ reinen Entnahme evident. Dies bedeutet, dass eine geringe Erhöhung der Menge von anfänglich gewonnenen verunreinigenden Materialien das Ergebnis von funktionsfähigen mikrovaskulären endothelialen Zellen, die für eine Ablagerung auf der Oberfläche von dem synthetischen Transplantat zur Verfügung stehen, dramatisch reduzieren kann. Zusätzlich zu der Erhöhung der Menge an adipösem Gewebe, welches anfänglich gewonnen werden muss, muss die unvermeidbare Reduktion der Funktionsfähigkeit der Zellen infolge von verunreinigenden Materialien durch längere Ablagerungszeiten oder zusätzliche Reinigungsschritte kompensiert werden, wobei beide vorgenannten Schritte die Betriebseffizienz des gesamten Verfahrens reduzieren. Dies kann insbesondere nachteilig sein, wenn die Zellen unmittelbar vor der Implantation des prothetischen Geräts gewonnen werden müssen.

[0015] Somit existiert ein Bedarf, das Ergebnis von funktionsfähigen endothelialen Zellen, die von adipösem Gewebe gewonnen werden, welches von einem Patienten vorbereitend für eine Implantation einer synthetischen Prothese gesammelt worden ist, zu verbessern. Dies bedeutet, dass mikrovaskuläre endotheliale Zellen, die in einer Fett-Entnahme vorhanden sind, effizienter von den Fettzellen, Blutkörperchen, verbindendem Gewebe und anderen Materialien, die in der Entnahme vorhanden sind, getrennt werden sollten, so dass eine größere Zahl derartiger endothelialer Zellen für eine Ablagerung auf dem synthetischen Transplantat verfügbar ist.

[0016] Zusätzlich zu den derzeitigen Problemen, die mit der Sammlung von Material verbunden sind, verkompliziert die Verwendung einer Saugpumpe die Operationsumgebung und beeinflusst das Vermögen des Chirurgen, die Sammelvorrichtung für adipöses Gewebe frei zu manövrieren. Insbesondere ist die Sammelvorrichtung gewöhnlicherweise an der Vakuumquelle über dicke, unhandliche Schläuche befestigt, die gravierend die Manövrierbarkeit der Sammelspitze beeinträchtigen. Derartige Pumpen lassen oftmals die präzise Real-Time-Regelung der Stärke des Vakuums an der Sammelspitze nicht zu, was es schwierig macht, eine konstante, gleichmäßige Gewinnung des gewünschten Quellgewebes aufrechtzuerhalten. Dieser mangelnde Komfort und der Mangel an einer präzisen Regelung resultiert unvermeidbar in dem Einsaugen von unerwünschtem Gewebe, wodurch das Verunreinigungs-Level von Entnahmen anwächst oder woraus die Gewinnung von weniger bevorzugtem adipösem Gewebe resultiert, welches niedrige Level von mikrovaskulären endothelialen Zellen beinhaltet. Weiterhin sind Vakuumquellen, insbesondere solche, die für einen Einsatz in medizinischen Verfahren anerkannt sind, grundsätzlich komplizierte Instrumente, die relativ teuer aufrechtzuerhalten und zu warten sind.

[0017] Unter Berücksichtigung der zuvor geschilderten Mängel der einschlägigen Technologien ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine effiziente, kosteneffektive Vorrichtung für eine Homogenisierung von adipösem Gewebe bereitzustellen, um eine vergrößerte Population von funktionsfähigen oder überlebensfähigen endothelialen Zellen zu gewinnen.

[0018] Eine andere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein zuverlässiges, komfortables System für das Sammeln und Homogenisieren von adipösem Gewebe vorzuschlagen, um eine vergrößerte Population von funktionsfähigen endothelialen Zellen zu gewinnen mit einem Minimum von Blutkörperchen, verbindendem Gewebe und anderen Verunreinigungen.

[0019] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein zuverlässiges, bequemes Verfahren für eine schnelle Homogenisierung von adipösem Gewebe vorzuschlagen, um eine nachfolgende Trennung von mikrovaskulären endothelialen Zellen zu vereinfachen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0020] Diese und andere Aufgaben werden durch die Vorrichtung gemäß Anspruch 1 gelöst. Die Erfindung betrifft grundsätzlich effiziente, zuverlässige und kosteneffektive Vorrichtungen und Systeme für ein Sammeln und Homogenisieren von adipösem Gewebe, welches identifizierbare zelluläre Komponenten wie mikrovaskuläre endotheliale Zellen beinhaltet. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung Vorrichtungen und Systeme

me, die grundsätzlich eine Spritzen-Baugruppe aufweisen, die an einer länglichen Kanüle befestigt sind. Die längliche Kanüle, die in fluidführender Kommunikation mit der Spritze steht, beinhaltet vorzugsweise Öffnungen, die geeignet bemessen und konfiguriert sind, um die Beanspruchung zu minimieren, die auf zelluläre Bestandteile ausgeübt werden, während die verbindende Matrix des adipösen Gewebes zerrissen oder getrennt wird. Durch das Sammeln adipösen Gewebes unter Verwendung spezifisch konfigurierter Öffnungen der Kanüle kann das Ergebnis der gewonnenen endothelialen Zellen substantiell verbessert werden. Weiterhin ist die Sammelvorrichtung nicht teuer, besitzt ein geringes Gewicht, ist auf einfache Weise zu betätigen und ermöglicht eine akkurate Regelung der aufgebrachten Saugwirkung.

[0021] Die Vorrichtungen und Systeme entsprechend der vorliegenden Erfindung können grundsätzlich durch Einsetzen zumindest eines Bereichs der Kanüle der Sammelvorrichtung in den Patienten verwendet werden. Die Spitze der Kanüle wird zu dem Bereich geleitet, an dem das adipöse Gewebe gesammelt werden soll. Vorzugsweise wird das Verfahren zur Gewinnung der Zellen unter aseptischen Bedingungen ausgeführt. Optionalerweise kann eine Salzlösung oder eine andere biokompatible Flüssigkeit in den Sammelbereich des Patienten vor der Gewinnung injiziert werden, um die adipöse Gewebematrix vorzubereiten oder zu lösen. Anschließend an das Einsetzen und das Positionieren der Spitze der Kanüle wird ein Unterdruck gegenüber der Umgebung in der zentralen Bohrung der Spritze erzeugt durch Zurückziehen eines verschieblichen Kolbens, der an einer Kolbenstange befestigt ist. Falls dies erwünscht ist, kann der Kolben in dieser zurückgezogenen Konfiguration durch einen Befestigungs- oder Verriegelungsmechanismus gehalten werden, der an der Kolbenstange befestigt ist und geeignet gestaltet ist, um mit dem Körper der Spritze zusammenzuwirken. Der Befestigungsmechanismus befreit die Hände des Bedieners und stellt, in Kombination mit dem geringen Gewicht der Sammelvorrichtung, eine erhöhte Manövrierbarkeit zur Verfügung. Der Unterdruck in der zentralen Bohrung saugt das adipöse Gewebe von dem ausgewählten Sammelbereich in die trennenden Öffnungen der Kanüle, durch den Kanülenkörper und in die Spritzen-Baugruppe. Mit dem Füllen der zentralen Bohrung der Spritze mit gesammeltem Gewebe kommt der Unterdruck langsam in ein Gleichgewicht. Ist die zentrale Bohrung der Spritze substantiell mit relativ homogenem adipösem Gewebe gefüllt, wird die Spitze der Kanüle von dem Patienten entfernt.

[0022] Ein anderer Aspekt der Erfindung ermöglicht eine Sammeln von adipösem Gewebe, wobei dieses leicht homogenisiert und mit wässrigen Lösungen gewaschen werden kann, um kontaminierende Bestandteile zu entfernen. Anschließend an das Entfernen der Spitze der Kanüle von dem Patienten kann die Kanüle von der Spritzen-Baugruppe gelöst werden. Ein Filter, der einen Filter-Anschluss aufweist, kann dann an der Spritzen-Baugruppe an dem Ort, an dem die Kanüle zuvor befestigt war, befestigt werden. Eine zweite Spritzen-Baugruppe, vorzugsweise mit derselben Größe wie die erste Spritzen-Baugruppe, wird dann an der gegenüberliegenden Seite des Filter-Anschlusses befestigt. Bei der Verbindung ist der Kolben von der ersten Spritzen-Baugruppe substantiell hinten in der Spritze, während der Kolben von der zweiten Spritzen-Baugruppe substantiell in einer vorderen Position ist. Unter Verwendung der Kolbenstangen zur Verschiebung der beiden Kolben kann das gesammelte Fett schnell homogenisiert werden, wenn dieses durch den Filter gezwungen wird, der den Flusspfad des gesammelten Gewebes quert. Optionalerweise kann während der Homogenisierung eine Spül-Lösung hinzugefügt werden, um Verunreinigungen von dem homogenisierten adipösen Gewebe, welches reich an endothelialen Zellen ist, zu separieren. Nach der Homogenisierung und gegebenenfalls einem Spülen kann gesammeltes adipöses Gewebe, welches jetzt substantiell frei von intaktem verbindendem Gewebe und anderen Verunreinigungen ist, für eine Verdauung, Trennung oder Zersetzung und für eine weitere Erhöhung der Reinheit in geeignete Behälter transferiert werden.

[0023] Weitere Aufgaben und Vorteile der vorliegenden Erfindung werden bei Studium der nachfolgenden detaillierten Beschreibung und beispielhaften bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung in Verbindung mit den Zeichnungen ersichtlich, wobei in den Zeichnungen vergleichbare Bezugszeichen dasselbe Merkmal bezeichnen oder Merkmale bezeichnen, die hinsichtlich ihrer Struktur analog sind.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0024] [Fig. 1](#) ist eine perspektivische Ansicht einer Sammelvorrichtung für adipöses Gewebe, die die Befestigung der Kanüle an einer Spritzen-Baugruppe mit einer Kolbenstange in einer eingeschobenen Position zeigt.

[0025] [Fig. 2](#) ist ein Teilschnitt einer Sammelvorrichtung für adipöses Gewebe, der das Halten der Kolbenstange in einer zurückgezogenen Position durch einen beispielhaften Befestigungsmechanismus zeigt.

[0026] [Fig. 3](#) ist ein Teilschnitt von zwei Spritzen-Baugruppen, die durch einen Filter-Anschluss miteinander verbunden sind, wodurch eine Konfiguration entsprechend der vorliegenden Erfindung illustriert wird, die für

eine Homogenisierung von gewonnenem adipösem Gewebe verwendet wird.

[0027] **Fig. 4** ist ein Querschnitt bei Schnitfführung entlang Linie 4-4 gemäß **Fig. 3**, der einen Filter zur Homogenisierung entsprechend der vorliegenden Erfindung zeigt.

[0028] **Fig. 5** ist eine perspektivische Teilansicht einer Spitze einer Kanüle, die für hohe Erträge mikrovaskulärer endothelialer Zellen entsprechend den Vorschlägen der vorliegenden Erfindung verwendet wird.

[0029] **Fig. 6** ist eine Querschnittsansicht bei Schnitfführung entlang Linie 6-6 gemäß **Fig. 5**, die die Positionierung der Sammel-Öffnungen benachbart der Spitze der Kanüle zeigt.

[0030] **Fig. 7** ist eine perspektivische Teilansicht eines Bereiches der Spitze einer Ausführungsform einer Kanüle, die für das Gewinnen adipösen Gewebes verwendet wird.

[0031] **Fig. 8** ist eine Querschnittsansicht bei Schnitfführung entlang Linie 8-8 gemäß **Fig. 7**, die die elliptische Form und die Positionierung der Sammel-Öffnungen benachbart der Spitze der Kanüle zeigt.

[0032] **Fig. 9** ist eine perspektivische Teilansicht eines Spitzen-Bereiches einer anderen alternativen Ausführungsform einer Kanüle, die zur Gewinnung von adipösem Gewebe verwendet wird.

Detaillierte Beschreibung

[0033] Obwohl diese Erfindung in einer Vielzahl von unterschiedlichen Formen ausgeführt sein kann, werden in den Zeichnungen und in der Beschreibung im Detail spezifische Ausführungsformen der Erfindung dargestellt, wobei die vorliegende Offenbarung zur beispielhaften Verdeutlichung der Prinzipien der Erfindung beitragen sollen. Die vorliegende Offenbarung zielt nicht darauf ab, die Erfindung auf die spezifischen dargestellten Ausführungsformen zu begrenzen. Insbesondere ist hervorzuheben, dass die vorliegende Erfindung für eine weite Vielzahl von Spritzenkörpern und Kanülen einsetzbar ist – auch abweichend zu solchen, die in den Figuren dargestellt sind.

[0034] Weiterhin kann die vorliegende Erfindung in Verbindung mit beliebigen identifizierbaren Zellen verwendet werden, die der adipösen Gewebematrix zugeordnet sind, so dass die Erfindung nicht auf den Einsatz für mikrovaskuläre endotheliale Zellen begrenzt ist. In diesem Zusammenhang wird der Begriff "identifizierbare zelluläre Bestandteile" für die Zellen verwendet, die durch gewöhnlich verwendete immunogenische, chemische oder physikalische Trennverfahren oder Tests erkannt werden können.

[0035] Während die Endothelialisierung von vaskulären Prothesen eine wichtige Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist, wird der Durchschnittsfachmann erkennen, dass die gesammelten zellulären Produkte für die Behandlung anderer implantierbarer Geräte verwendet werden können. Implantate, die derart behandelt werden können, dass diese einen Überzug oder eine Auskleidung mit endothelialen Zellen produzieren, beinhalten ohne Einschränkung hierauf intravaskuläre Geräte wie beispielsweise künstliche Herzen, Klappenprothesen und natürliche oder künstliche Herzklappenblättchen. Die Vorrichtungen und Systeme entsprechend der vorliegenden Erfindung können für die Behandlung von Oberflächen verwendet werden, die bekannte synthetische Materialien, wie beispielsweise Polyester, Polytetrafluorethylen, aufweisen oder fixierte oder unfixierte natürlich auftretende Materialien wie Venen, Arterien, Herzklappen oder andere Gewebe von tierischen Quellen oder Menschen.

[0036] Die folgenden Absätze und Beispiele verdeutlichen, wie die Vorrichtungen und Systeme entsprechend der vorliegenden Erfindung verwendet werden können.

[0037] Unter Bezugnahme auf die Figuren zeigen **Fig. 1** und **Fig. 2** eine Sammelvorrichtung **10** für adipöses Gewebe, welches grundsätzlich einen Behälter mit variablen Volumen in der Form einer Spritzen-Baugruppe **12** aufweist. Spritzen-Baugruppe **12** ist in fluidischer Kommunikation mit einer länglichen Kanüle **14**, die ein Lumen **26** besitzt und zumindest eine Sammel-Öffnung **16**, die geeignet für ein verhältnismäßig homogenes Sammeln adipösen Gewebes, welches mikrovaskuläre endotheliale Zellen beinhaltet, konfiguriert ist. Die Spritzen-Baugruppe **12** weist grundsätzlich einen hohlen rohrförmigen Körper **18** auf, der eine zentrale Bohrung **20** definiert, mit einem verschieblichen Kolben **22**, der unter Abdichtung darin angeordnet ist. Der Kolben **22** ist vorzugsweise an einer länglichen Kolbenstange **28** befestigt, die sich durch eine Öffnung auf der Rückseite des hohlen rohrförmigen Körpers **18** erstreckt. Durch manuelle Verschiebung der Kolbenstange **28** kann der Kolben **22** reversibel in Längsrichtung der zentralen Bohrung **20** bewegt werden. Dichtringe **31** gewährleis-

ten, dass der Kolben **22** einen guten Kontakt mit dem Inneren des rohrförmigen Körpers **18** ausbildet, wenn sich dieser in Längsrichtung bewegt. Ein Eingangsanschluss **24** an dem vorderen Ende des hohlen rohrförmigen Körpers **18** dient einer fluidführenden Kommunikation zwischen dem Lumen **26** der Kanüle und der zentralen Bohrung **20**.

[0038] Die Spritzen-Baugruppe **12** ist vorzugsweise eine Spritze vom Typ "Toomey" (Sherwood Medical Co., St. Louis, Missouri) mit einer verjüngten oder abgeschrägten Spitze **30** mit einem Eingangsanschluss **24**. Während eine Spritze vom Typ "Toomey" infolge eines einfachen Wechsels von Kanülen oder anderen Befestigungs-Mitteln bevorzugt wird, können Spritzen-Baugruppen anderen Typs von Verbindungs-Mechanismen, wie beispielsweise Gewinde-Verbindungen, Katheterspitzen oder Luer-Verbindungen, ebenfalls im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden. Typischerweise ist der hohle rohrförmige Körper **18** der Spritzen-Baugruppe **12** aus einem nicht teuren, nicht-reaktiven Material oder einer anderen widerstandsfähigen Polymer-Komposition gebildet. Selbstverständlich wird der Durchschnittsfachmann erkennen, dass die Größe und die Fluid-Kapazität der Spritzen-Baugruppe **12** nach Maßgabe der Menge des zu sammelnden adipösen Gewebes variieren kann. Allerdings wird aus offensichtlichen Gründen bevorzugt, dass die Spritzen-Baugruppe ein hinreichendes Volumen aufweist, um die gewünschte Menge von adipösem Gewebe in einem einzelnen Sammelschritt zu gewinnen. Da das für eine Bereitstellung der notwendigen Menge von endothelialen Zellen für ein durchschnittliches Zell-Ablagerungsverfahren erforderliche Volumen in der Größenordnung von 20 ml bis 50 ml liegt, ist ein bevorzugtes Volumen der Spritze ungefähr 60 ml. Einteilungen **32** an den Seiten der meisten kommerziell verfügbaren Spritzen ermöglichen eine einfache Überwachung der gesammelten Menge an Fett.

[0039] Optionalerweise weist die Spritzen-Baugruppe **12** einen Befestigungsmechanismus **34** auf, der an einem Flansch **48** der Kolbenstange befestigt ist und reversibel in den ringförmigen Flansch **38** an der Rückseite des hohlen rohrförmigen Körpers **18** eingreift, um die Kolbenstange **28** und den befestigten Kolben **22** in einer zurückgezogenen Konfiguration zu halten. Diese Konfiguration ist in [Fig. 2](#) dargestellt. Wenn die Kolbenstange **28** und Kolben **22** in einer substantiell vorderen Position angeordnet sind, wie dies in [Fig. 1](#) dargestellt ist, wird die innere Oberfläche des hohlen rohrförmigen Körpers **18** auf Schultern **36** des Befestigungs- oder Verriegelungsmechanismus **34** einwirken, um diese in einer geschlossenen Position zu halten. Wenn allerdings die Kolbenstange **28** hinter einen vorbestimmten Punkt zurückgezogen wird, an dem die Schultern **36** nicht mehr gehalten werden, wird der Befestigungs-Mechanismus **34** infolge des elastischen Erinnerungsvermögens des Materials des Mechanismus aufspringen. In einer offenen Position werden Schultern **36** des Befestigungs-Mechanismus **34** derart positioniert, dass diese mit ringförmigen Flanschen **38** formschlüssig zusammenwirken, ebenso wie mit dem Flansch **48** der Kolbenstange, wodurch vermieden wird, dass die Kolbenstange **28** wieder in den hohlen rohrförmigen Körper **18** eintritt. Allerdings kann die Kolbenstange **28** auf einfache Weise in eine vordere Position bewegt werden durch manuelles Zusammendrücken des Befestigungs-Mechanismus **34**, so dass der Durchmesser der Schultern **36** reduziert wird, so dass diese außer Eingriff mit den ringförmigen Flanschen **38** kommen und auf einfache Weise in den hohlen rohrförmigen Körper **18** gleiten. Obwohl zahlreiche Befestigungs-Mechanismen mit der vorliegenden Erfindung kompatibel sind, wird eine insbesondere geeignete Einrichtung unter dem Handelsnamen "Grazer-Grams Lock" verkauft (Gram Medical, Costa Mesa, Kalifornien). Derartige Befestigungs-Mechanismen sind sowohl für eine Vielzahl von Spritzengrößen als auch für Ausführungsformen mit lediglich einer Schulter verfügbar.

[0040] Der letzte bedeutende Bestandteil der Sammelvorrichtung **10** ist eine Kanüle **14** mit einem Lumen **26**, einem proximalen Ende und einer distalen Spitze **40** der Kanüle. Viele kommerziell verfügbare Kanülen mit unterschiedlichen Längen und Durchmessern sind mit der vorliegenden Erfindung kompatibel und können in Verbindung mit zahlreichen Spritzen-Baugruppen verwendet werden. Kanülen, die insbesondere kompatibel sind und relativ hohe Erträge liefern, wenn diese in Übereinstimmung mit den Merkmalen der Erfindung verwendet werden, werden unter dem Handelsnamen "Mercedes" (Grams Medical, Costa Mesa, Kalifornien) verkauft und besitzen innere Durchmesser, die im Bereich von ungefähr zwischen 1 mm und 8 mm liegen. Bevorzugte Durchmesserbereiche liegen ungefähr zwischen 1,5 mm und 4 mm. Während die Oberflächen für eine Vereinfachung der Sterilisierung und Wiederverwendung grundsätzlich aus Metalllegierungen wie Edelstahl gebildet sind, können die Oberflächen dieser Kanülen mit biokompatiblen Polymeren überzogen sein, um die auf die gesammelten zellulären Komponenten ausgeübten Beanspruchungen zu reduzieren.

[0041] Während die grundsätzliche Konfiguration der Kanüle **14** verhältnismäßig konsistent für unterschiedliche Ausführungsformen ist, d. h. grundsätzlich länglich mit zumindest einem Lumen **26**, können andere Charakteristika von kompatiblen Kanülen ausgesprochen unterschiedlich sein. Beispielsweise ist die Kanülen-Verbindung **42**, die in [Fig. 1](#) und [Fig. 2](#) an dem proximalen Ende der Kanüle **14** dargestellt ist, angepasst, um auf einer Spritze mit einer verjüngten oder abgeschrägten Spitze **30** einen Sitz zu finden und lösbar mit dieser zu-

sammenzuwirken. Der Fachmann wird erkennen, dass – wie für die Spritzen-Baugruppen – viele Typen von Kanülen-Verbindungen mit den Vorschlägen der vorliegenden Erfindung kompatibel sind, solange diese geeignet ausgebildet sind, um mit der gewählten Spritzen-Baugruppe **12** zusammenzuwirken. Beispielsweise können Kanülen mit Luer-Verbindern, Katheter-Verbindern, Gewinde-Verbindern und Kompressions-Passungen verwendet werden, um adipöses Gewebe zu gewinnen, solange diese mit dem Verbindungselement der gewählten Spritzen-Baugruppe kompatibel sind. Weiterhin liegen auch Kanülen, die permanent an einer Spritzen-Baugruppe befestigt sind, um eine Sammelvorrichtung zu bilden, innerhalb des Gegenstands der vorliegenden Erfindung und können mit vergleichbaren Erträgen eingesetzt werden.

[0042] Ein anderes wichtiges Merkmal der Kanülen der vorliegenden Erfindung, welches abhängig von den Wünschen des behandelnden Arztes variieren kann, ist die Konfiguration und Position der Sammel-Öffnungen. Beispielsweise zeigen [Fig. 5](#), [Fig. 6](#), [Fig. 7](#), [Fig. 8](#), und [Fig. 9](#) unterschiedliche Konfigurationen für Sammel-Öffnungen. In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung ist es wünschenswert, dass die Form und Konfiguration der Sammel-Öffnungen Beanspruchungen während der Gewinnung ausübt, welche die Makro-Struktur sowie verbindende Komponenten des adipösen Gewebes trennt oder zerreißt, um ein relativ homogenes Ergebnis zu erhalten. Weiterhin sollten die Sammel-Öffnungen groß genug sein, um ein Blockieren mit jedwedem nicht getrennten Gewebe zu vermeiden, was die Entfernung der Kanüle aus dem Patienten und eine Unterbrechung des Gewinnungsverfahrens erfordern würde. Auf Basis derartiger Überlegungen liegen die Sammel-Öffnungen vorzugsweise im Bereich von 1 mm bis 4 mm und insbesondere zwischen 1,5 mm und 3 mm.

[0043] Die Konfiguration der Öffnung gemäß [Fig. 5](#) zeigt lange gewebeschneidende Kanten von Öffnungen **42**, die auf substantiell vergrößerte Zellerträge führen. Im Gegensatz hierzu scheint es, dass abgerundete oder weniger abrupte Öffnungskanten, wie solche gemäß [Fig. 7](#) und [Fig. 9](#), keine gewebeschneidenden Kanten zur Verfügung stellen, die hinreichend trennend für die verbindende Matrix des Gewebes sind, woraus eine weniger homogene Komposition der Entnahme und ein geringerer Zellertrag resultiert. Während gewebeschneidende Öffnungskonfigurationen die verbindende Makro-Struktur des gewonnenen Gewebes trennen, üben diese nicht unnötigerweise Beanspruchungen oder Scherkräfte auf die delikaten zellulären Komponenten aus, die in der adipösen Gewebematrix aufgelöst sind. Während die abgerundeten Kanten der Sammel-Öffnungen **44** und Sammel-Öffnungen **46** eine Reduzierung derartiger unerwünschter Scherkräfte unterstützen, tragen diese nur bedingt zur Sammlung von substantiell homogenem Gewebe bei und verringern daher den Gesamt-Zellertrag.

[0044] Ebenso wie zahlreiche unterschiedliche Konfigurationen und Größen von Sammel-Öffnungen mit den Verfahren der vorliegenden Erfindung kompatibel sind gibt es unterschiedliche Schemata für das Platzieren der Öffnungen und unterschiedliche Kanülen-Formen. Beispielsweise gibt es kein Erfordernis, dass die Sammel-Öffnungen auf Orte nahe der distalen Spitze **40** der Kanüle begrenzt sind. Während derartige Platzierungen die Reinheit der Entnahme verbessern können, da der Sammelbereich akkurater bestimmt werden kann, können auch Öffnungen, die weiter weg von der Spitze platziert sind, hinreichend gut arbeiten. Ähnlich gibt es kein Erfordernis, dass die Kanüle **14** und gemäß einer Erweiterung Lumen **26** von zylindrischer Gestalt sein müssen. Beispielsweise können andere, mehr elliptische Formen denselben Zellertrag liefern wie die perfekt zylindrische Form, die in [Fig. 6](#) dargestellt ist. Entsprechend den Spritzen-Baugruppen liegt ein weiterer Bereich von Formen, Größen und Konfigurationen der Kanülen im Gegenstand der Erfindung, wobei diese auf Basis von Präferenzen des jeweiligen Durchführenden ausgewählt werden können.

[0045] In jedem Fall kann, wenn eine Sammel-Vorrichtung ausgewählt und zusammengebaut worden ist, das tatsächliche Gewinnen von adipösem Gewebe und von identifizierbaren zellulären Komponenten beginnen. Vorzugsweise wird das gesamte Verfahren unter aseptischen Bedingungen ausgeführt. Die Sammel-Vorrichtung **10** kann vormontiert sein und zuvor sterilisiert worden sein oder kann in der Operations-Umgebung unmittelbar vor der Verwendung zusammengebaut sein. Typischerweise ist die Spritzen-Baugruppe **12** ohne Befestigungs-Mechanismus **34** kommerziell verfügbar in einer Wegwerf-Verpackung oder lagerbaren Form, vorsterilisiert und vorgepackt. Im Gegensatz hierzu ist die Kanüle **14** typischerweise wieder verwendbar und ist vor Ort gereinigt, gepackt und vorsterilisiert worden. Entsprechend werden üblicherweise anschließend an die Auswahl von kompatiblen Komponenten, die lösbar formschlüssig miteinander verbunden werden, unmittelbar vor dem Einsetzen in den Patienten die Spritzen-Baugruppe **12** und Kanüle **14** miteinander verbunden, um die Sammel-Vorrichtung **10** zu bilden. Ungefähr zu derselben Zeit, zu der die Spritzen-Baugruppe **12** an der Kanüle **14** befestigt wird, kann optional der Befestigungs-Mechanismus **34** an der Kolbenstange **28** über den Flansch **48** der Kolbenstange befestigt werden. Vorzugsweise wird der Befestigungs-Mechanismus **34** vor dem formschlüssigen Zusammenwirken mit der Kanüle **14** befestigt, um die Möglichkeit einer unerwünschten Kontamination der Entnahme zu reduzieren.

[0046] Als ein optionaler Schritt kann vor dem Gewinnen des gewünschten Materials eine Salz-Lösung oder eine andere biokompatible Lösung in den Sammelbereich für das adipöse Material eingespritzt werden. Das Einführen von Flüssigkeiten in den Bereich scheint die adipöse Matrix zu trennen und die Kohäsion des verbindenden Gewebes zu reduzieren. Um diese Trennung zu unterstützen, kann das Gewebe, in das das Fluid injiziert ist, stark massiert werden oder anderen externen Kräften ausgesetzt werden. Für den Fachmann wird ersichtlich sein, dass das tatsächliche Volumen der Lösung, die injiziert wird, der Bereich der Injektion, der Zeitpunkt vor der Gewinnung und die Zeitdauer der Injektion von den Umständen der Operation abhängen, wie beispielsweise dem Alter und dem Gesundheitszustand des Patienten, der Menge des zu gewinnenden Gewebes und dem Ort des Sammelbereiches für das adipöse Material. Typischerweise werden mehrere Milliliter der Lösung ungefähr 30 Minuten bis eine Stunde, bevor die Gewinnung erfolgt, injiziert. Für das Verfahren werden eine Standard-Spritze und -Injektionsnadel verwendet. Adäquate mikrovaskuläre endotheliale Zellerträge können auch ohne die Hinzufügung von Fluiden oder die Anwendung von externen Kräften vor der Gewinnung erhalten werden, obwohl es scheint, dass hierdurch die Homogenität der gewonnenen Entnahme verbessert wird.

[0047] Wenn anzunehmen ist, dass das adipöse Gewebe für die Gewinnung bereit ist, wird zumindest ein Bereich der Kanüle **14** nahe dem zu entnehmenden adipösen Gewebe in den Patienten eingesetzt. Infolge der typischen Größe der Kanüle **14** und infolge von deren verhältnismäßig stumpfer distaler Spitze **40** wird gewöhnlicherweise für das Einsetzen eine kleine Inzision in die Haut des Patienten eingebracht. Anschließend an das Einsetzen wird die distale Spitze **40** der Kanüle, und insbesondere die Öffnung oder die Öffnungen **16** in den Bereich manövriert, an dem das adipöse Gewebe gewonnen werden soll. Wie zuvor diskutiert, wird das adipöse Gewebe gewöhnlicherweise von perinephrischem Fett, subkutanem Fett, Omentum oder Fett, welches der peritonealen Vertiefung zugeordnet ist, gewonnen. Infolge des geringen Gewichts und der verhältnismäßig kleinen Größe der Sammel-Vorrichtung **10** wird der behandelnde Arzt wenig Probleme haben, die Kanüle **14** wie gewünscht zu führen und präzise an dem geeigneten Ort zu positionieren.

[0048] Es ist wichtig festzustellen, dass während des Einsetzens und Positionierens der Kanüle **14** in den/dem Körper des Patienten die Kolbenstange **28** und der bewegliche Kolben **22** vollständig in den hohlen rohrförmigen Körper **18** eingesetzt sind. Dies bedeutet, dass die vordere Oberfläche **50** des verschieblichen Kolbens **22** benachbart zu dem Eingangsanschluss **24** bündig zu dem vorderen Ende des hohlen rohrförmigen Körpers **18** angeordnet ist. Zum selben Zeitpunkt wird der optionale Befestigungs-Mechanismus **34** durch die innere Oberfläche des hohlen rohrförmigen Körpers **18** in einer geschlossenen Position gehalten. Mit dem verschieblichen Kolben in einer vordersten Position wird verhindert, dass substantielle Mengen von Fluid und von anderem Körpermaterial in die Kanüle **14** und in die Spritzen-Baugruppe **12** eintreten. Der verschiebliche Kolben **22** wird in dieser Konfiguration zurückgehalten, bis Kanüle **14** geeignet positioniert ist und der Arzt bereit ist, das Gewinnen von adipösem Gewebe um die Öffnungen **16** zu beginnen.

[0049] Um das Gewinnen des mikrovaskulären endothelialen zellreichen adipösen Gewebes zu initiieren, wird auf die Kanüle **14** ein Unterdruck aufgebracht. Typischerweise werden die Kolbenstange **28** und der hieran befestigte Kolben **22** von dem Arzt langsam durch den hohlen rohrförmigen Körper **18** zurückgezogen. Wenn dies gewünscht ist, kann optional der Befestigungs-Mechanismus **34** formschlüssig in den ringförmigen Flansch **34** eingreifen, um die zurückgezogene Konfiguration und den Unterdruck aufrechtzuerhalten. Die Vergrößerung des abgedichteten Volumens, welches durch die vordere Oberfläche **50** des Kolbens **22** und die innere Oberfläche des hohlen rohrförmigen Körpers **18** definiert ist, schafft den Unterdruck in der Spritzen-Baugruppe **12**. Dieser schafft wiederum ein Saugen in dem Lumen **26** der Kanüle **14**, wobei der Lumen durch den Eingangsanschluss **24** in fluidisch dichter Kommunikation mit der zentralen Bohrung **20** steht. Im Unterschied zu bekannten Saugpumpen, die eine einheitlich hohe Saugkraft an der Sammelspitze aufrechterhalten haben, stellt die vorliegende Erfindung einen geringen oder sachten Unterdruck bereit, der einfach und augenblicklich anpassbar ist. Auf Grundlage des "Gefühls" der Sammel-Vorrichtung **10** oder des äußeren Erscheinungsbilds des gewonnenen adipösen Gewebes kann der Arzt das Saugen, welches auf die Öffnungen **16** aufgebracht wird, durch Anpassung des Ausmaßes, um welches die Kolbenstange **28** aus dem hohlen rohrförmigen Körper **18** zurückgezogen ist, abschwächen. Durch Drücken der Kolbenstange **18** wird das Saugen reduziert, während ein weiteres Herausziehen (unter Aufrechterhaltung der abdichtenden Anordnung des Kolbens **22** in dem hohlen rohrförmigen Körper **18**) schnell das Saugen bei der Öffnung vergrößert. Alternativ kann sich der Arzt lediglich auf den Befestigungs-Mechanismus **34** zum Aufrechterhalten eines stetigen Saugens an den Öffnungen **16** verlassen.

[0050] Der leicht regelbare Unterdruck führt in Kombination mit den zu bevorzugenden Gewebeschnidcharakteristika der Öffnungen **16** zu reinerem und homogenerem adipösem Gewebe für eine Weiterverarbeitung. Störendes verbindendes Gewebe wird vorzugsweise getrennt, während die Integrität der zellulären Kompo-

nenten erhalten bleibt. Weiterhin können Bereiche mit höheren Verunreinigungen vermieden werden, da der Arzt in der Lage ist, auf einfache Weise und effizient die Position der Kanüle anzupassen, wodurch die Reinheit des erhaltenen Gewebes weiter erhöht wird. Für den Fall, dass es ein Problem mit einem Verstopfen von Öffnungen **16** oder der Kanüle **14** gibt, kann der Arzt die Kolbenstange **28** geringfügig vorwärts drücken, um einen positiven Druck auf die Kanüle und die Öffnungen auszuüben, wodurch die Blockade beseitigt wird. Schließlich kann die Menge des gesammelten adipösen Gewebes besser kontrolliert werden, da die Kolbenstange unter direkter Kontrolle des Arztes ist.

[0051] Anschließend an die Gewinnung der gewünschten Menge des homogenen adipösen Gewebes wird bei Gleichgewicht des Druckes der Sammel-Vorrichtung **10** die Kanüle **14** durch den anfänglichen Einsetzort aus dem Patienten entfernt, wobei möglichst aseptische Konditionen aufrechterhalten werden. Wie zuvor diskutiert, hängt die tatsächliche Menge des gesammelten adipösen Gewebes von einer Zahl von Faktoren ab einschließlich der Zahl der erforderlichen mikrovaskulären endothelialen Zellen und der Kapazität der Sammel-Vorrichtung **10**. Typische Volumina liegen im Bereich von ungefähr 10 ml bis ungefähr 100 ml mit durchschnittlichen Volumina im Bereich von ungefähr zwischen 40 ml und 60 ml. Selbstverständlich wird der Durchschnittsfachmann auch kleinere oder größere Volumina für die Reinigung mikrovaskulärer endothelialer Zellen oder anderer zellulärer Komponenten unter Verwendung der Verfahren der vorliegenden Erfindung sammeln. Nachdem die Kanüle **14** aus dem Patienten entfernt worden ist, wird diese gewöhnlicherweise von der Spritzen-Baugruppe **12** getrennt, die das gewonnene Gewebe für eine Reinigung und erneute Sterilisation enthält.

[0052] An diesem Punkt kann das gewonnene Gewebe weiterbehandelt werden oder für eine spätere Verwendung gespeichert werden. Für eine Speicherung wird das Gewebe gewöhnlicherweise aus der Spritzen-Baugruppe **12** dadurch entfernt, dass dieses durch den Gewinnungsanschluss **24** in einen separaten Behälter ausgebracht wird, der dann gekühlt werden kann. Für eine weitere Verarbeitung kann das gesammelte Gewebe ähnlich zu einer mikrovaskulären Zellisoliations-Vorrichtung transferiert werden, wie diese beispielsweise in Dokument VO-A-09501419 beschrieben ist. Die gewünschten identifizierbaren zellulären Komponenten werden dann unter Verdauung, Trennung oder Zersetzung und/oder durch die anderen zuvor diskutierten Verfahren von dem adipösen Gewebe getrennt.

[0053] Alternativ kann entsprechend den Vorschlägen der vorliegenden Erfindung das gewonnene adipöse Gewebe unter Verwendung der Spritzen-Baugruppe **12** für ein Spülen und ein Homogenisieren weiterverarbeitet werden. Beispielsweise kann Wasser oder eine andere wässrige Lösung in die zentrale Bohrung **20** mit der gewonnenen Entnahme mit anschließendem Schütteln eingeführt werden.

[0054] Anschließend wird eine Beruhigung oder Ablagerung der Mixtur ermöglicht, vorzugsweise in einer Spritzen-Standeinrichtung (nicht dargestellt), und es erfolgt eine Trennung. Die adipösen Zellen und zugeordnetes Gewebe einschließlich der überwiegenden Mehrheit von mikrovaskulären endothelialen Zellen wird fließen, während verbindendes Gewebe, rote Blutkörperchen und andere Verunreinigungen sinken oder in der wässrigen Lösung gelöst werden. Die gespülten adipösen Zellen und zugeordnetes Gewebe können dann abgegossen werden. Selbstverständlich kann dieser Vorgang wiederholt werden, so oft dies erforderlich ist.

[0055] In einem anderen Verfahren kann das gewonnene Gewebe gleichzeitig homogenisiert und gespült werden. Gemäß [Fig. 3](#) wird die Spritzen-Baugruppe **12**, die das gewonnene Gewebe beinhaltet, lösbar an der Filteranschluss-Baugruppe **60** befestigt. Eine zweite Spritzen-Baugruppe **212**, die vorzugsweise dieselbe Größe wie die Spritzen-Baugruppe **12** besitzt, wird lösbar an der gegenüberliegenden Seite der Filteranschluss-Baugruppe **60** befestigt. Aus Gründen der Klarheit werden die zuvor für die Spritzen-Baugruppe **12** verwendeten Bezugszeichen in der folgenden Beschreibung verwendet. Korrespondierende Komponenten der Spritzen-Baugruppe **212** werden mit denselben Bezugszeichen mit der vorangestellten Ziffer **2** verwendet.

[0056] In dem dargestellten Ausführungsbeispiel sind die Spritzen-Baugruppen **12** und **212** Spritzen von Typ "Toomey" mit verjüngten Spitzen **30** und **230**, die an den jeweiligen vorderen Endbereichen angeordnet sind. Allerdings ist – wie zuvor diskutiert – jeder Typ eines Verbinders kompatibel mit den Vorschlägen der vorliegenden Erfindung. Entsprechend kann jeder beliebige Typ einer Spitze, die lösbar mit einer Filteranschluss-Baugruppe **60** verbindbar ist, eingesetzt werden.

[0057] Filteranschluss-Baugruppe **60** weist einen "männlichen" Anschluss **62** und einen "weiblichen" Anschluss **64** auf, die unter Verwendung von lösbar zusammenwirkenden männlichen Gewinden **66** und weiblichen Gewinden **68** miteinander verbunden werden können. Bei derartiger Verbindung definieren der männliche Anschluss **62** und der weibliche Anschluss **64** gemeinsam die Passage **70**. Passage **70** quert Filteranschluss-Baugruppe **60** mit Öffnungen auf gegenüberliegenden Seiten, die für ein lösbares Zusammenwirken

mit der verjüngten Spitze **30** und der verjüngten Spitze **230** angepasst sind, wodurch die Spritzen-Baugruppe **12** und Spritzen-Baugruppe **212** in abgedichtete fluidische Kommunikation miteinander gebracht werden. Filterelement **74**, welches in [Fig. 4](#) deutlicher zu erkennen ist, wird koaxial zur Passage **70** positioniert und quert die Passage, wobei der Filter durch Kompressionskräfte an seinem Ort gehalten wird, die durch das Zusammenwirken des männlichen Anschlusses **62** und des weiblichen Anschlusses **64** ausgeübt werden. Infolge des Querens der Passage **70** unterbricht Filter **74** jedweden Fluss von Gewebe oder Fluid hierdurch. Die elastische Dichthülse **72**, die benachbart zu dem Filterelement **74** angeordnet ist, gewährleistet, dass die Anschluss-Baugruppe **60** abgedichtet ist.

[0058] Filterelement **74** ist eine flache, radiale, scheibenartige Struktur, die einen zentralen Bereich aufweist, der mit dem Bezugspfeil **78** indiziert ist. Eine Mehrzahl von Filteröffnungen **80**, die in dem zentralen Bereich **78** angeordnet sind, queren die Dicke des Filters **74**, wodurch ermöglicht wird, dass Material durch diesen hindurch tritt. Beispielhafte Ausführungsformen verwenden ein Filterelement **74** mit einem äußeren Durchmesser von 24 mm mit Filteröffnungen **80** mit einem Durchmesser von ungefähr 1 mm. [Fig. 4](#) zeigt ebenfalls einen weiblichen Anschluss **64**, der das Filterelement **74** umgibt. Selbstverständlich ist für den Durchschnittsfachmann ersichtlich, dass in Abhängigkeit des gewünschten Ausmaßes der Homogenisierung andere Durchmesser der Öffnungen eingesetzt werden können.

[0059] Typischerweise ist das Filterelement **74** aus einer harten, wieder sterilisierbaren metallischen Legierung gebildet wie beispielsweise Edelstahl. Allerdings kann, wie zuvor diskutiert, die Verwendung von metallischen Komponenten zur Verarbeitung adipösen Gewebes nachteilig auf das Ergebnis für funktionsfähige mikrovaskuläre endotheliale Zellen sein, da metallische Legierungen eine inhärente hohe Oberflächenenergie besitzen. Entsprechend ist es bevorzugt, dass der Filter **74** mit einem Material mit einer niedrigen Oberflächenenergie gebildet ist oder, für den Fall, dass ein Metall verwendet wird, das Metall mit einem Material wie Parylen überzogen ist. Mit einer niedrigen Oberflächenenergie ist hierbei gemeint, dass die Materialien eine im Vergleich mit Metallen niedrigere elektrochemische Energie aufweisen. Beispiele von Materialien mit niedriger Oberflächenenergie und guter Biokompatibilität, die eingesetzt werden können, um die vorliegende Erfindung auszuführen, beinhalten ohne Begrenzung auf diese Polyethylen, Parylen, Polypropylen, Nylon und andere Fluoropolymere.

[0060] Während die Größe und Konfiguration von gewählten Öffnungen **16** auf eine verhältnismäßig homogene Entnahme von adipösem Gewebe führen, kann eine weitere Homogenisierung zur Trennung konnektiven Gewebes in der adipösen Matrix den Zellertrag verbessern, wenn dieses vorsichtig erfolgt. Wie zuvor indiziert, wird nach der Gewinnung gesammeltes adipöses Material in der Spritzen-Baugruppe **12** zurückgehalten. Das Material kann in natürlichem, gewonnenem Zustand sein oder gespült sein, wie dies zuvor beschrieben worden ist. Optional können Flüssigkeiten zu dem gesammelten Material hinzugefügt werden. Filteransatz-Baugruppe **60**, die ein Filterelement **74** besitzt, welches über der Passage **70** angeordnet ist, ist lösbar mit der verjüngten Spitze **30** verbunden. Spritzen-Baugruppe **212** ist ähnlich an Filteransatz-Baugruppe **60** auf der Seite, die der Spritzen-Baugruppe **12** gegenüberliegt, befestigt. Bei einer derartigen Verbindung steht die Spritzen-Baugruppe **12** durch Passage **70** in abgedichteter fluidführender Kommunikation mit Spritzen-Baugruppe **212**.

[0061] Die Kolbenstange **28** wird dann vorwärts gedrückt in den hohlen rohrförmigen Körper **18**, um das gewonnene adipöse Gewebe und jedwedes hinzugefügte Fluid von dem Gewinnungsanschluss **24**, der durch die verjüngte Spitze **30** definiert ist, zu entladen. Das ausgestoßene Material quert dann die Passage **70** und tritt durch die Filteröffnungen **80** des Filterelements **74** hindurch, bevor dieses von der Spritzen-Baugruppe **212** empfangen wird. Dadurch, dass das adipöse Gewebes durch die Filteröffnungen **80** mit geeigneter Größe gezwungen wird, wird die verbindende Matrix getrennt, ohne dass auf die zugeordneten identifizierbaren zellulären Komponenten exzessive Scherkräfte ausgeübt werden. Dieses verringert wiederum die Viskosität des gesammelten Materials, wodurch eine leichtere Entfernung von Verunreinigungen sowie eine Verbesserung der nachfolgenden Verdauung, Zersetzung oder Trennung der Entnahme und eine Vergrößerung des ultimativen Ergebnisses der endothelialen Zellen ermöglicht wird. Mit dem Eintreten des gefilterten, gewonnenen adipösen Gewebes in die Spritzen-Baugruppe **212** durch die verjüngte Spitze **230** zwingt eine positive Verschiebung die Kolbenstange **228** in Richtung der Rückseite des hohlen Rohres **218**. Selbstverständlich kann dieses Verfahren wiederholt werden durch Umkehrung der Sequenz der Ereignisse einer Bewegung des Gewebes von Spritzen-Baugruppe **212** zur Spritzen-Baugruppe **12**.

[0062] Das verbesserte Ergebnis der mikrovaskulären endothelialen Zellen, welches durch die Verfahren entsprechend der vorliegenden Erfindung bereitgestellt wird, wird im Folgenden anhand des nicht begrenzenden Beispiels dargestellt.

Ausführungsbeispiel 1

[0063] Menschliches adipöses Gewebe wurde von einem Schenkel einer Frau kaukasischen Typs gewonnen. Vier unterschiedliche kommerziell verfügbare Kanülen mit Öffnungen unterschiedlicher Größen und Konfigurationen wurden eingesetzt, um das Fett von dem Schenkel abzusaugen, wobei das gewinnende Verfahren ungefähr 30 bis 60 Minuten vor dem Experiment stattgefunden hat. Dann wurden die gesammelten Entnahmen für jeden Typ der Kanüle separat weiterverarbeitet.

[0064] In jedem Fall wurde das adipöse Gewebe kurz mit "Dulbecco's Phosphat" gebufferter salziger Lösung gespült. Eine der Entnahmen des gewonnenen Materials wurde dann durch Durchlaufen des Gewebes zwischen zwei Spritzen mit einem Filterelement mit 1 mm Filteröffnungen, welches zwischen diesen angeordnet war, homogenisiert. 10 g der jeweiligen Fettentnahme und 10 ml einer Kollagenase-Lösung (4 mg/ml, Boehringer Mannheim) wurden dann kombiniert in einem 50 ml-Erlenmeyer-Kolben und in einem Shaker bei 37°C für 20 Minuten bei 100 Zyklen pro Minute bebrütet.

[0065] Der resultierende Zersetzungs-Schlamm wurde ausgeschüttet in 15 ml konische Zentrifugen-Rohre und geschleudert bei 1800 Umdrehungen pro Minute für sieben Minuten.

[0066] Die endothelialen Zellen und roten Blutkörperchen haben sich auf dem Boden der konischen Zentrifugen-Rohre niedergeschlagen. Dunkle Kollagenase-Lösung hat eine mittlere Schicht gebildet und das nicht lösliche Fett und zugeordnetes adipöses Gewebe hat einen Stopfen auf der Oberseite des Zentrifugen-Rohrs gebildet. Sowohl die dunkle Kollagenase-Lösung als auch das Fett wurden dann ausgesondert.

[0067] Die Pellets endothelialer Zellen wurden dann wieder aufgelöst unter Verwendung von 10 ml von 0,1 vom Rind stammendem Albumin-Serum in "Dulbecco's"-Phosphat-gebufferter Salzlösung, zusammengesetzt in ein neues steriles konisches Zentrifugen-Rohr und bei 1800 Umdrehungen pro Minute für vier (4) Minuten geschleudert. Das oben aufschwimmende wurde dann entfernt und die Pellets endothelialer Zellen wurden dann wieder aufgelöst mit 14% menschlichem Serum von Plasma-Lyte® (Baxter Healthcare Corporation), ein von der amerikanischen "Food And Drug Administration" geprüftes Medium für ein Durchnässen mit menschlichem Blutserum.

[0068] Das endgültige Volumen dieser Lösung betrug in jedem Fall ungefähr 9 ml. 0,2 ml von jeder resultierenden Suspension endothelialer Zellen wurde dann zu 20 ml mit Isoton®-Lösung (Baxter Scientific Products) verdünnt. Der Zellertrag und die Zellgrößen von jeder Suspension wurden ermittelt unter Verwendung eines "Coulter Multisizer II". Das Zellergebnis wurde definiert als die Zahl der Zellen (größer als 7,78 µm), die pro Einheit Gramm von Fett gewonnen wurden. Das Zellergebnis wurde verwendet als der Index, inwieweit das Vorgehen geeignet ist, obwohl die Funktionsfähigkeit der Zelle zu diesem Zeitpunkt nicht im Detail untersucht worden ist. Die Anhaftung der isolierten Zellen auf der Platte (engl. "well plate") wurde lediglich gelegentlich untersucht, allerdings mit guten Ergebnissen.

[0069] Die Ergebnisse von Konfigurationen mit unterschiedlichen Spritzen und Kanülen sind in der folgenden Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1

Art der Spritze/Kanüle	Zellertrag (Zahl von Zellen/g Fett)
Katheterspitze / 3,7 mm Mercedes	1,12 x 10 ⁶
Katheterspitze / 3,7 mm Mercedes, 4X Filter	1,60 x 10 ⁶
Typ "Toomey" / 3,0 mm Mercedes	2,13 x 10 ⁶
Luer-Befestigung / 1,5 mm Luer-Befestigung	1,58 x 10 ⁶
Typ "Toomey" / 3,00 mm Curret-Spezial	1,15 x 10 ⁶

[0070] Diese Daten zeigen klar die Verbesserung in des identifizierbaren Zellertrages durch die Verwendung der Verfahren der vorliegenden Erfindung. Insbesondere zeigen die Ergebnisse, dass die Wahl einer geeigneten Größe und Konfiguration der Öffnung das Ergebnis von mikrovaskulären endothelialen Zellen von einer gegebenen Quelle von adipösem Gewebe verbessern kann. Beispielsweise erzielte die Verwendung der "Curret-Spezial" mit einem Durchmesser von 3 mm und im Wesentlichen abgerundeten Öffnungen lediglich ungefähr die Hälfte der funktionsfähigen zellulären Komponenten, die bei Verwendung eines Typs "Mercedes" mit einem Durchmesser von 3 mm und Öffnungen mit vorgegebenen gewebeschnidenden Kanten erhalten werden. Weiterhin ist es wichtig festzustellen, dass der Durchmesser der Kanüle allein nicht das ausschließliche Kriterium für erhöhte Zellerträge ist. Dies ergibt sich aus der Tatsache, dass die Verwendung sowohl eines Typs "Mercedes" mit 3,7 mm oder eines Typs "Curret-Spezial" mit 3 mm lediglich ungefähr 70% der funktionsfähigen Zellen liefert, die von einer Kanüle mit Luer-Befestigung mit 1,5 mm bereitgestellt werden unter Einsatz von Öffnungen, die bessere gewebetrennende Möglichkeiten aufweisen. Schließlich zeigen die Daten, dass eine Homogenisierung des gewonnenen adipösen Gewebes entsprechend den Vorschlägen der vorliegenden Erfindung substantiell den Ertrag mikrovaskulärer endothelialer Zellen erhöht. Wenn beispielsweise Entnahmen unter Verwendung einer Kanüle vom Typ "Mercedes" mit 3,0 mm gesammelt werden, erhöhte eine Homogenisierung des adipösen Gewebes durch Hindurchtreten desselben viermal durch ein Filterelement mit Filteröffnungen von 1 mm den Ertrag von funktionsfähigen Zellen um über 40%. Auf Grundlage derart verbesserter Zellerträge zeigt sich auf einfache Weise der Unterschied zwischen einer erfolgreichen Endothelialisierung und einem unvollständigen Überzug von synthetischen Transplantaten, welcher zur Bildung von lebensbedrohlichen Klümpchen führen kann.

[0071] Die folgenden Ansprüche definieren den Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Homogenisierung von adipösem Gewebe, um darin eine vergrößerte Population von funktionsfähigen endothelialen Zellen zu erhalten, mit:

a) einer ersten Spritzen-Baugruppe (**12**) mit:

einem hohlen rohrförmigen Körper (**18**), der eine zentrale Bohrung (**20**) entlang einer Längsachse definiert, wobei der Körper ein proximales Ende besitzt, welches eine Öffnung definiert, sowie ein distales Ende, welches einen Eingangsanschluss (**24**) in der Bohrung definiert;

einem Kolben (**22**), der abgedichtet in der Bohrung angeordnet ist;

einer Kolbenstange (**28**), die betrieblich mit dem Kolben verbunden ist und sich durch die Öffnung des proximalen Endes des Körpers erstreckt, wobei der Kolben verschieblich ist, um in der zentralen Bohrung eine Sammelkammer mit variablem Volumen zu definieren, die in Kommunikation mit dem Eingangsanschluss steht;

b) einer Anschluss-Baugruppe (**60**), die an dem distalen Ende des rohrförmigen Körpers der ersten Spritzen-Baugruppe befestigt ist; und

c) einer zweiten Spritzen-Baugruppe (**212**), die an der Anschluss-Baugruppe auf der der ersten Spitzen-Baugruppe gegenüberliegenden Seite befestigt ist und einen hohlen rohrförmigen Körper (**218**) und eine Kolbenstange (**228**) aufweist, wobei die Anschluss-Baugruppe (**60**) lösbar an der ersten Spritzen-Baugruppe (**12**) und der zweiten Spritzen-Baugruppe (**212**) befestigt ist,

dadurch gekennzeichnet, dass

die Anschluss-Baugruppe ein Filterelement (**74**) aufweist, welches in der Anschluss-Baugruppe enthalten ist, wobei das Filterelement benachbart dem Eingangsanschluss eine Mehrzahl von Filteröffnungen definiert und die Öffnung des Eingangsanschlusses ungefähr quer trennt, und für jede Filteröffnung zumindest eine gewebeschnidende Oberflächenkante vorgesehen ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass jede der Mehrzahl von Filteröffnungen (**80**) eine Größe von ungefähr 1,0 mm besitzt.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Filter (**74**) mit Parylen überzogen ist.

4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Spritzen-Baugruppe (**212**) dieselbe Größe besitzt wie die erste Spritzen-Baugruppe (**12**).

5. System zum Sammeln und Homogenisieren von adipösem Gewebe, um eine vergrößerte Population von funktionsfähigen endothelialen Zellen zu erhalten, wobei das System eine Vorrichtung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche aufweist sowie eine längliche rohrförmige Kanüle (**14**), die lösbar an dem distalen Ende des rohrförmigen Körpers (**18**) der ersten Spritzen-Baugruppe (**12**) anstelle der Anschluss-Baugruppe

(60) befestigbar ist, wobei die Kanüle eine gewebedurchdringende distale Endspitze (40) besitzt und ein gegenüberliegendes proximales Ende, sich ein Lumen (26) durch die Kanüle erstreckt und sich eine Öffnung (16, 42) auswärts von dem Lumen auf der Kanüle benachbart zu dem distalen Spitzenende öffnet und die Öffnung (42) in eine Längsrichtung der Kanüle (14) verlängert ist und gegenüberliegende distale und proximale Enden und gegenüberliegende Seitenkanten besitzt, die jeweils eine gewebeschneidende Oberflächenkante aufweisen.

6. System nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Kanüle mehrere im Wesentlichen ähnliche Öffnungen (42) benachbart zu der distalen Endspitze (40) der Kanüle aufweist, die in Umfangsrichtung um diese voneinander beabstandet sind.

7. System nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Länge der Öffnung (42) ungefähr drei mal so groß ist wie deren Breite.

8. System nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Kanüle (14) einen inneren Durchmesser von ungefähr 1 bis 8 mm aufweist.

9. System nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kanüle (14) einen inneren Durchmesser von ungefähr 1,5 bis 4 mm besitzt.

10. System nach Anspruch 5, bei dem weiterhin ein Befestigungsmechanismus (34) vorgesehen ist, der an einem Flansch (48) der Kolbenstange befestigt ist, welcher reversibel in einen ringförmigen Flansch (38) an dem proximalen Ende des hohlen rohrförmigen Körpers (18) eingreift, um die Kolbenstange (28) und den Kolben (22) der ersten Spritzen-Baugruppe in einer zurückgezogenen Konfiguration zurückzuhalten.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

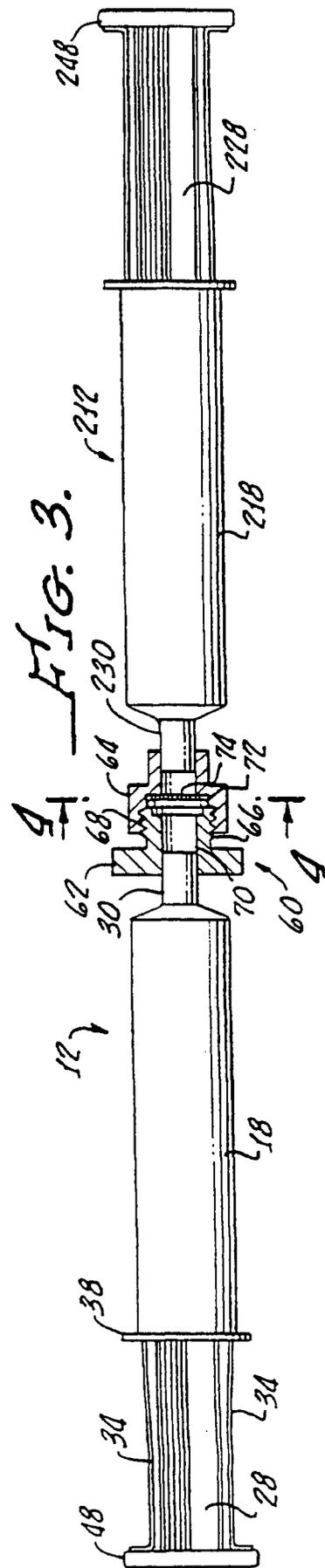
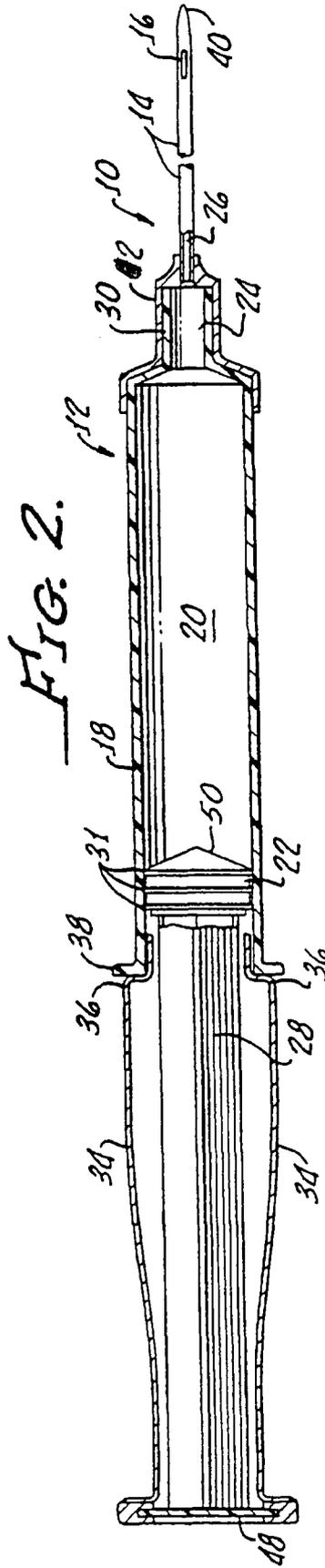
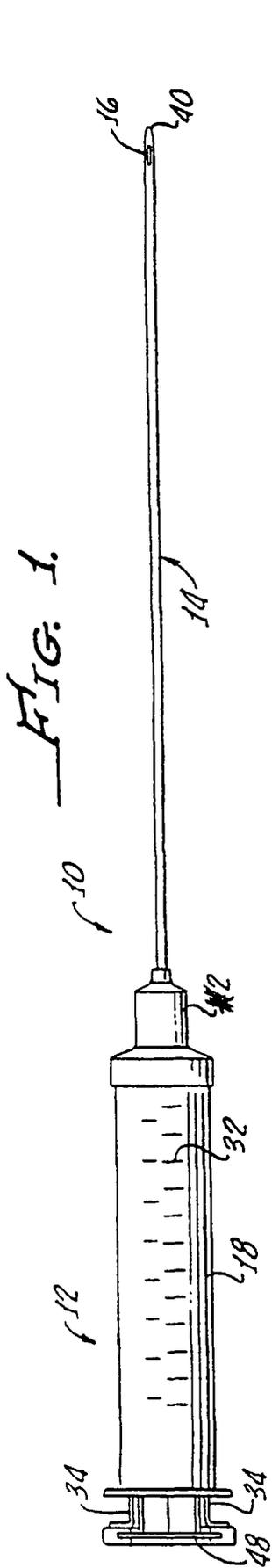


FIG. 4.

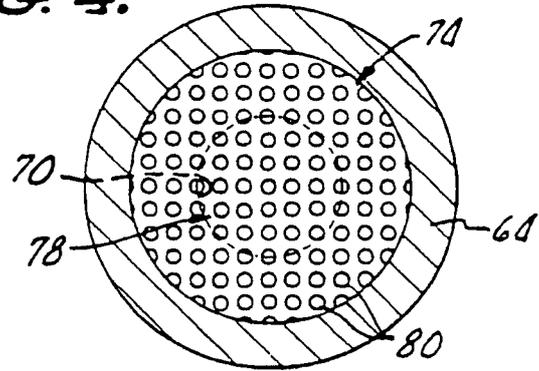


FIG. 5.

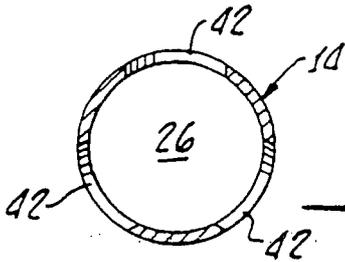
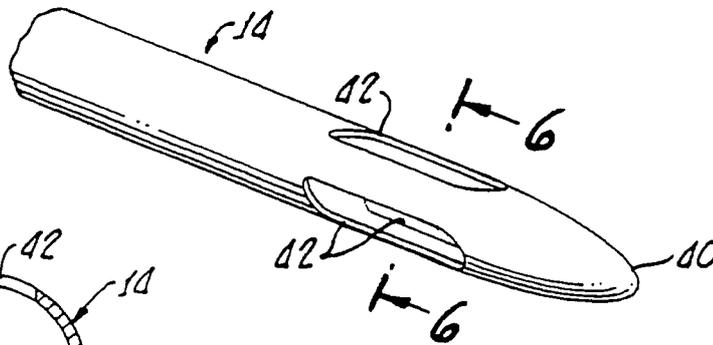


FIG. 6.

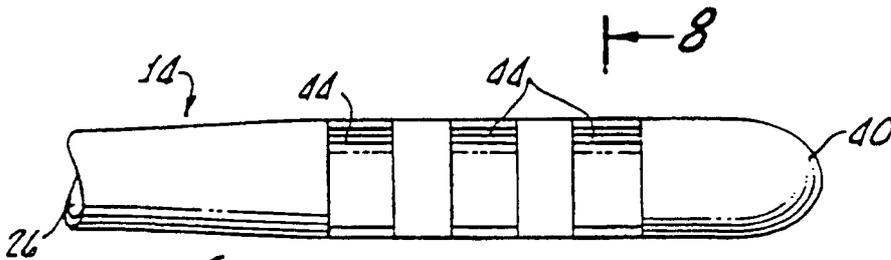


FIG. 7.

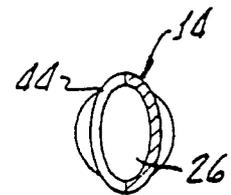


FIG. 8.

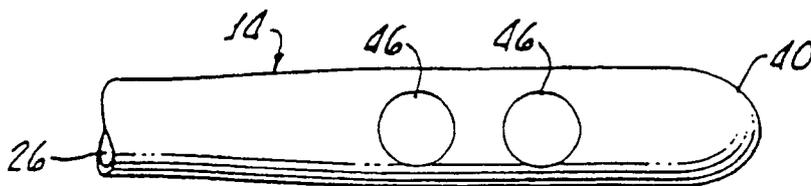


FIG. 9.