



MD 1148 Y 2017.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1148** (13) **Y**
(51) Int.Cl: *A61B 90/00* (2016.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2016 0141
(22) Data depozit: 2016.11.29

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2017.05.31, BOPI nr. 5/2017

(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(72) Inventatori: MACAGONOVA Olga, MD; NACU Viorel, MD; MUȘET Gheorghe, MD;
COCIUG Adrian, MD; JIAN Mariana, MD; SAREV Violeta, MD; COBZAC
Vitalie, MD

(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(74) Mandatar autorizat: COȘNEANU Elena

(54) **Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare**

(57) **Rezumat:**

1

Invenția se referă la medicina regenerativă, și anume la dispozitive pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare.

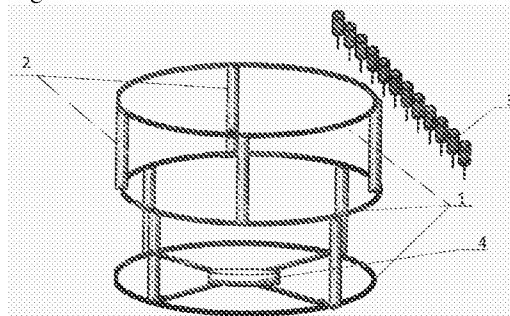
Dispozitivul pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare include o carcasă formată din trei compartimente tubulare (1) cu diametrul tubului de 1 cm, executate în formă de cerc cu diametrul de 10 cm, amplasate coaxial și fixate unul de altul prin intermediul a patru tuburi (2) cu lungimea de 10 cm și diametrul de 1 cm, amplasate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, totodată pe partea de sus a compartimentelor (1), diametral opus, sunt executate câte patru orificii cu diametrul de 2 mm. Dispozitivul mai conține niște tije (3) cu lungimea de 2 cm și diametrul de 1 mm, un capăt al cărora este executat ascuțit, iar pe celălalt capăt este executat un maner în formă de cilindru. Totodată pe partea de sus a compartimentului

2

de jos al carcasei, diametral opus, sunt fixate cu un capăt patru tije, fixate cu celălalt capăt de o placă rotundă (4) pentru amplasarea unui magnet. Toate elementele dispozitivului sunt executate din inox.

Revendicări: 1

Figuri: 2



MD 1148 Y 2017.05.31

(54) Device for skin step-by-step fixation in the decellularization process

(57) Abstract:

1
The invention relates to the field of regenerative medicine, in particular to devices for skin fixation in the decellularization process.

The device for skin step-by-step fixation in the decellularization process comprises a carcass, made up of three tubular sections (1) with the diameter of the tube of 2 cm, made in the form of a circle of a diameter of 10 cm, coaxially placed and fixed to each other by means of four tubes (2) of a length of 10 cm and a diameter of 1 cm, placed on circumference, at the same distance from each other, at the same time on the upper part of the sections (1), diametrically opposite, are made

2
four holes of a diameter of 2 mm. The device further comprises rods (3) of a length of 2 cm and a diameter of 1 mm, one end of which is made sharp, and on the other end is made a handle in the form of a cylinder. At the same time, on the upper part of the lower section of the carcass, diametrically opposite, are fixed with one end four rods, fixed with the other end to a round plate (4) for the placement of a magnet. All elements of the device are made of stainless steel.

Claims: 1

Fig.: 2

(54) Устройство для поэтажной фиксации кожи в процессе децеллюляризации

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к области регенеративной медицины, в частности к устройствам для фиксации кожи в процессе децеллюляризации.

Устройство для поэтажной фиксации кожи в процессе децеллюляризации включает каркас, составленный из трех трубчатых отсеков (1) диаметром трубки 1 см, выполненных в виде круга диаметром 10 см, соосно расположенных и закрепленных друг с другом посредством четырех трубок (2) длиной 10 см и диаметром 1 см, расположенных по окружности, на одинаковом расстоянии друг от друга, при этом на верхней части отсеков (1), диаметрально противоположно выполнены по четыре отверстия диаметром

2
2 мм. Устройство еще содержит стержни (3) длиной 2 см и диаметром 1 мм, один конец которых выполнен заостренным, а на другом конце выполнена ручка в виде цилиндра. При этом, на верхней части нижнего отсека каркаса, диаметрально противоположно, одним концом закреплены четыре стержня, закрепленные другим концом к круглой пластине (4) для расположения магнита. Все элементы устройства выполнены из нержавеющей стали.

П. формулы: 1

Фиг.: 2

Descriere:

5 Invenția se referă la medicina regenerativă, și anume la dispozitive pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare.

Cea mai apropiată soluție este dispozitivul, care include un recipient cu diametrul de 3 cm și înălțimea de 3 cm, care conține patru elemente de fixare executate în formă de cilindru, pe centrul circumferinței cărora sunt executate orificii cu diametrul de 1 mm, precum și patru tije cu lungimea de 5 cm și diametrul de 0,9 mm, un capăt al cărora este executat ascuțit, iar pe celălalt capăt este executat un mâner în formă de cilindru [1].

Dezavantajul acestei soluții constă în faptul că are o eficacitate scăzută, deoarece necesită un timp mai îndelungat și efort în procesul de decelularizare a pielii.

15 Problema pe care o rezolvă invenția constă în crearea unui dispozitiv, care ar permite o decelularizare etajată, adică mai ușoară și eficientă a pielii, favorizând un acces mai bun pentru schimbarea repetată și succesivă a reactivilor în procesul de decelularizare și asigurând o mișcare rotativă dispozitivului.

20 Dispozitivul pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare, conform invenției, înlătură dezavantajul menționat mai sus prin aceea că include o carcasă compusă din trei compartimente tubulare cu diametrul tubului de 1 cm, executate în formă de cerc cu diametrul de 10 cm, amplasate coaxial și fixate unul de altul prin intermediul a patru tuburi cu lungimea de 10 cm și diametrul de 1 cm, amplasate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, totodată pe partea de sus a compartimentelor, diametral opus, sunt executate câte patru orificii cu diametrul de 2 mm, niște tije cu lungimea de 2 cm și diametrul de 1 mm, un capăt al cărora este executat ascuțit, iar pe celălalt capăt este executat un mâner în formă de cilindru, totodată pe partea de sus a compartimentului de jos al carcsei, diametral opus, sunt fixate cu un capăt patru tije, iar cu celălalt capăt de o placă rotundă pentru amplasarea unui magnet, totodată toate elementele sunt executate din inox.

30 Avantajele acestui dispozitiv constau în faptul că asigură scufundarea totală a pielii și permite o decelularizare etajată, adică mai eficientă a ei.

Rezultatul tehnic al invenției constă în crearea unui dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul decelularizării, care asigură operativ, sigur, calitativ, ușor, atraumatic, precum și econom fixarea pielii de prelucrat și obținerea unei mișcări rotative a dispozitivului în procesul de decelularizare.

35 Invenția se explică prin desenele din fig. 1-3, care reprezintă:

- fig. 1, vederea de ansamblu a dispozitivului pentru fixarea etajată a pielii în procesul decelularizării;

- fig. 2, vederea de jos a dispozitivului.

40 Dispozitivul pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare include o carcasă formată din trei compartimente tubulare 1 cu diametrul tubului de 1 cm, executate în formă de cerc cu diametrul de 10 cm, amplasate coaxial și fixate unul de altul prin intermediul a patru tuburi 2 cu lungimea de 10 cm și diametrul de 1 cm, amplasate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, totodată pe partea de sus a compartimentelor 1, diametral opus, sunt executate câte patru orificii cu diametrul de 2 mm. Dispozitivul mai conține niște tije 3 cu lungimea de 2 cm și diametrul de 1 mm, un capăt al cărora este executat ascuțit, iar pe celălalt capăt este executat un mâner în formă de cilindru. Totodată pe partea de sus a compartimentului de jos al carcsei, diametral opus, sunt fixate cu un capăt patru tije, iar cu celălalt capăt de o placă rotundă 4 pentru amplasarea unui magnet. Toate elementele dispozitivului sunt executate din inox.

Dispozitivul pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare se utilizează în modul următor.

55 Acest dispozitiv se utilizează în mediu steril sub o hotă cu flux laminar de aer. Prealabil, dispozitivul se sterilizează în autoclavă și se pregătesc soluțiile pentru decelularizare. Apoi se degheață o bucată de piele congelată și cu ajutorul unui bisturiu se secționează un fragment de piele cu dimensiunile de 10 x10 cm. După înlăturarea țesutului adipos de pe partea epidermo-dermală, fragmentul de piele se fixează de colțuri prin intermediul tijelor 3 și orificiilor executate pe partea de sus a

compartimentelor 1. Ulterior carcasa se scufundă într-un vas de sticlă cu soluție de 0,25% Tripsin-EDTA la temperatura camerei, timp de 6 ore. După aceasta vasul de sticlă este amplasat pe un agitator magnetic, care datorită magnetului plasat pe placa rotundă 4, imprimă o mișcare orbitală necesară procesului de decelularizare. Apoi fragmentul de piele se spală de 3 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată, după care se incubează în soluție de 70% etanol timp de 12 ore. Ulterior fragmentul de piele se incubează în sol. Peroxid hidrogen 3% timp de 15 min. Fragmentul de piele iarăși se spală de 3 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată, apoi se incubează în 1% Triton X-100 și 0,26% Tris și 0,69% EDTA timp de 6 ore, după care în final se spală de 6 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată. Toate aceste etape sunt efectuate la temperatura camerei cu ajutorul unui agitator orbital. Apoi fragmentul de piele se spală în soluție de serum-free Dulbecco modificat Eagle mediu (DMEM) cu 1% penicilină/streptomycină cu ajutorul unui agitator magnetic la temperatura de 37°C timp de 24 ore. Ulterior pielea este liofilizată și stocată într-un disicator până la utilizare. Fiecare fragment de piele este fixat și preparat pentru investigație histologică, fiind colorat cu hematoxilin și eosin. Pentru a măcina pielea decelularizată ea se taie în benzi de 1 cm lățime și se plasează într-un măcinător. După o spălare minuțioasă, pielea se scufundă în soluție de DMEM fără ser cu amestecul antibiotic și antimicotic de 1%, continuând procesul pe agitatorul magnetic la temperatura de 37°C timp de 24 ore.

Curățarea dispozitivului se efectuează prin dezinfectarea cu detergenți și soluții degresante și sterilizarea ulterioară în autoclavă.

Exemplu

După o sterilizare prealabilă a dispozitivului și înlăturarea țesutului adipos de pe partea epidermo-dermală, fragmentul de piele cu dimensiunile de 10 x10 cm a fost fixat de colțuri prin intermediul tijelor 3 și orificiilor executate pe partea de sus a compartimentelor 1, fiind scufundată într-un vas de sticlă cu soluție de 0,25% Tripsin-EDTA timp de 6 ore la temperatura camerei. Apoi fragmentul de piele a fost spălat de 3 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată, după care incubat în soluție de 70% etanol timp de 12 ore. Ulterior fragmentul de piele a fost incubat în soluție de Peroxid hidrogen 3% timp de 15 min, apoi spălat de 3 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată. După aceasta fragmentul de piele a fost incubat în soluție de 1% Triton X-100 și 0,26% Tris și 0,69% EDTA timp de 6 ore, în final a fost spălat de 6 ori în apă distilată timp de 15 min de fiecare dată. Toate aceste etape au fost efectuate la temperatura camerei cu ajutorul unui agitator orbital. Apoi fragmentul de piele a fost spălat în soluție de serum-free Dulbecco modificat Eagle mediu (DMEM) cu 1% penicilină/streptomycină cu ajutorul unui agitator magnetic la temperatura de 37°C timp de 24 ore. Ulterior pielea a fost liofilizată și stocată într-un disicator până la utilizare. Fiecare fragment de piele a fost fixat și preparat pentru investigație histologică fiind colorat cu hematoxilin și eosin. Pentru a măcina pielea decelularizată ea a fost tăiată în benzi de 1 cm lățime și plasată într-un măcinător. După o spălare minuțioasă, pielea a fost scufundată în soluție de DMEM fără ser cu amestecul antibiotic - antimicotic de 1%, continuând procesul pe agitatorul magnetic la temperatura de 37°C timp de 24 ore.

Toate fragmentele de piele au fost liofilizate și stocate în desicator până la utilizare. Cu scopul detectării reziduiului celular, a resturilor nucleare, precum și pentru vizualizarea arhitecturii matricii extracelulare, mostrele de piele au fost fixate și preparate pentru examen histologic, fiind colorate cu hematoxilin și eosin. S-a efectuat cuantificarea spectrofotometrică a cantității de ADN, s-au obținut următoarele rezultate:

Rezultatele cuantificării cantității de ADN (ng/μl)	Decelularizarea cu tripsină și triton
Control (pielea nedecelularizată)	12,5
Repetiția 1	4,8
Repetiția 2	4,8
Repetiția 3	4,8

Dispozitivul corespunde cerințelor și normelor sanitare, toate piesele dispozitivului fiind executate din material inoxidabil, și asigură o ușoară decelularizare a pielii.

- 5 Acest dispozitiv se utilizează pentru fixarea pielii în procesul decelularizării în Laboratorul inginerie tisulară și culturi celulare și la catedrele universității.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. MD s 2016 0131 2017.03.31

(57) Revendicări:

Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare, care include o carcasă formată din trei compartimente tubulare (1) cu diametrul tubului de 1 cm, executate în formă de cerc cu diametrul de 10 cm, amplasate coaxial și fixate unul de altul prin intermediul a patru tuburi (2) cu lungimea de 10 cm și diametrul de 1 cm, amplasate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, totodată pe partea de sus a compartimentelor (1), diametral opus, sunt executate cate patru orificii cu diametrul de 2 mm, niște tije (3) cu lungimea de 2 cm și diametrul de 1 mm, un capăt al cărora este executat ascuțit, iar pe celălalt capăt este executat un mâner în formă de cilindru, totodată pe partea de sus a compartimentului de jos al carcasei, diametral opus, sunt fixate cu un capăt patru tije, fixate cu celălalt capăt de o placă rotundă (4) pentru amplasarea unui magnet, totodată toate elementele sunt executate din inox.

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

GROSU Viorel

Redactor:

LOZOVANU Maria

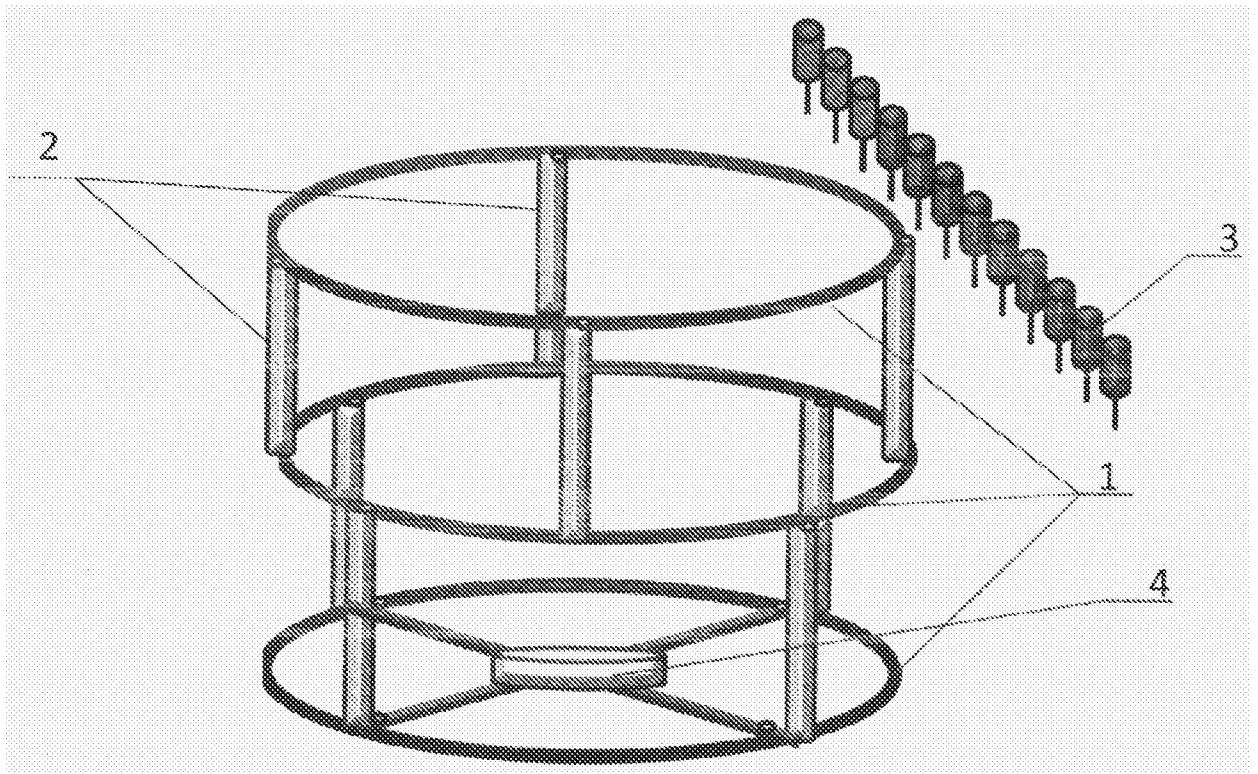


Fig. 1

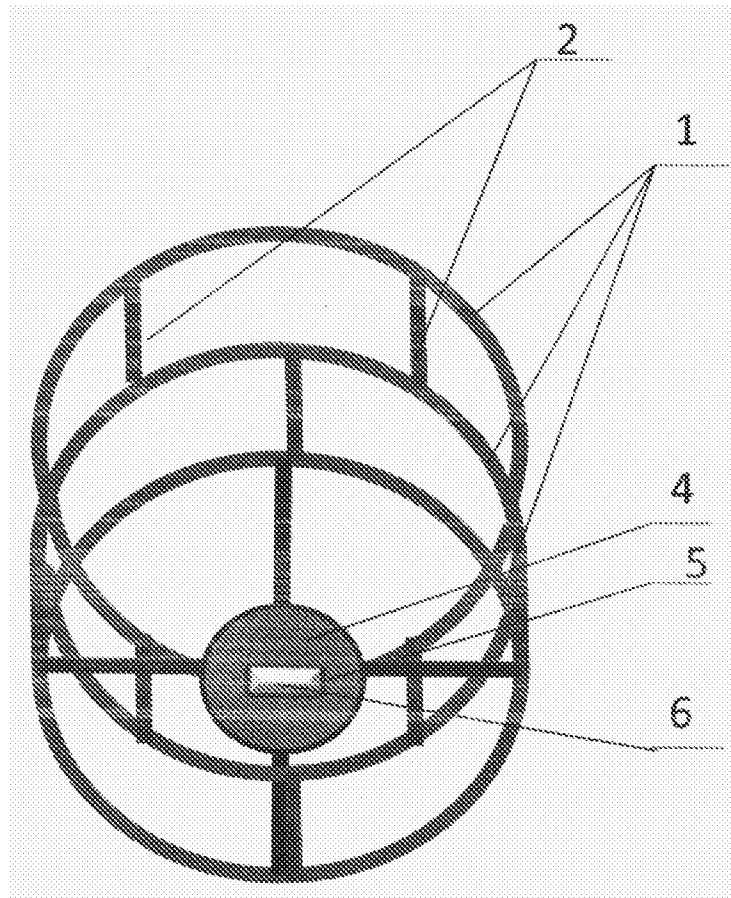


Fig. 2

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: s 2016 0141 (22) Data depozit: 2016.11.29 (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (54) Titlul: Dispozitiv pentru fixarea etajată a pielii în procesul de decelularizare		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: A61B 90/00 (2016.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): <i>A61B*, decelularizare, fixarea pielii</i> EA, CIS (Eapatis): <i>A61B*, децеллюляризация, фиксация кожи</i> SU (nonpublic): <i>A61B*, децеллюляризация, фиксация кожи</i>		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
www.google.md www.nigma.ru		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A,D,C	MD s 2016 0131 U0 2017.03.31	1
A	Decellularization of human dermis using non-denaturing anionic detergent and endonuclease, 2015.09.11 [regăsit la 2017.01.10], găsit pe Internet: < http://www.lifenethealth.org/sites/default/files/files/WP%20-%20Decellularization%20of%20Human%20Dermis%20Using%20Non-Denaturing%20Anionic%20Detergent%20and%20Endonuclease,%20A%20Review.pdf >	1
A	MD 939 Y 2015.08.31	1
A	RU 2524619 C2 2014.07.27	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se	

	bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	2017.02.02
Examinator GROSU Viorel	