



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 3/04 (2023.05); G01N 19/00 (2023.05)

(21)(22) Заявка: 2023109088, 11.04.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.04.2023

Дата регистрации:
20.06.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 11.04.2023

(45) Опубликовано: 20.06.2023 Бюл. № 17

Адрес для переписки:

125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, 3,
Московский научно-исследовательский
онкологический институт имени П.А. Герцена
- филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" МЗ РФ,
руководителю патентной группы Урванцевой
Татьяне Дмитриевне

(72) Автор(ы):

Шестакова Виктория Андреевна (RU),
Клабуков Илья Дмитриевич (RU),
Белкина Светлана Владимировна (RU),
Смирнова Анна Николаевна (RU),
Барановский Денис Станиславович (RU),
Яценко Елена Михайловна (RU),
Белкин Илья Алексеевич (RU),
Иванов Сергей Анатольевич (RU),
Шегай Петр Викторович (RU),
Каприн Андрей Дмитриевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр радиологии"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (ФГБУ "НМИЦ радиологии"
Минздрава России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 165647 U1, 27.10.2016. RU 166223
U1, 20.11.2016. RU 2377530 C1, 27.12.2009. RU
2774208 C1, 16.06.2022. RU 211657 U1, 16.06.2022.
RU 166260 U1, 20.11.2016. RU 2326583 C1,
20.06.2008. CN 218121986 U, 23.12.2022. CN
218121530 U, 23.12.2022.

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЕРЕЖИВАЮЩИХ
ТКАНЕВЫХ СРЕЗОВ

(57) Реферат:

Полезная модель относится к области экспериментальной биологии и медицины и расширяет арсенал технических устройств для определения механических свойств образцов переживающих тканей, в частности модуля упругости и одноосного растяжения на разрыв, например для контроля механических свойств объемных тканевых срезов небольшой толщины в диапазоне 100-500 мкм. Устройство включает прямоугольное основание, внутри основания имеется углубление со светопроницаемым

прозрачным дном, с одного торца основания размещен валик на штифтах, на основании по краям углубления расположены две картонные подложки, причем одна из подложек закреплена зажимом, который жестко закреплен к основанию, а во второй подложке имеется отверстие, к которому крепится крючок с подвесом, при этом нить подвеса проходит через валик и опускается ниже уровня основания. Предложенная полезная модель позволяет надежно фиксировать тонкий слой биологической

ткани в устройстве; устранить искажение результатов измерений за счет трения, поместив образец на водную поверхность; исследовать упругие свойства образцов переживающих тканевых срезов толщиной 100-500 мкм; упростить работу экспериментатора, так как

позволяет работать одному человеку без посторонней помощи за счет упрощения конструкции и процесса эксплуатации; легко обрабатывать, очищать и дезинфицировать устройство после эксперимента. 4 ил.

R U 2 1 8 9 4 5 U 1

R U 2 1 8 9 4 5 U 1

Полезная модель относится к области экспериментальной биологии и медицины и расширяет арсенал технических устройств для определения механических свойств образцов переживающих тканей, в частности модуля упругости и одноосного растяжения на разрыв, например для контроля механических свойств объемных тканевых срезов

5 небольшой толщины в диапазоне 100-500 мкм, используемых как аналитические тест-системы в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

Выбор диапазона от 100 мкм до 500 мкм толщины определяется требованиями к физиологической релевантности тканевой модели, которая позволяла бы проводить механические манипуляции по имплантации такого среза лабораторным животным

10 (толщина не менее 100 мкм), так и позволяла бы поддерживать жизнеспособность ткани в условиях избыточной оксигенации и циркуляции культуральной жидкости (толщина не более 500 мкм) [Шестакова В.А., Смирнова А.Н., Барановский Д.С., Якимова А.О. Получение фланников - пригодных для культивирования тканевых срезов для физиологически релевантной оценки эффектов ионизирующих излучений и

15 радиофармпрепаратов. В сб.: Материалы XXVIII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием "Актуальные проблемы биомедицины - 2022", г. Санкт-Петербург, 2022. С. 152-154.].

Эластические и механические свойства биологических тканей представляют интерес для медицинского сообщества, поскольку существует ряд условий и областей

20 применения, в которых параметры, характеризующие данные свойства, имеют решающее значение для надежного результата. В регенеративной медицине измерение механических свойств тканей важно для разработки новых биоматериалов, которые позволяют восстанавливать или обеспечивать замену поврежденных тканей. Эти биоматериалы должны обладать аналогичными свойствами, что и ткани, которые исследователи хотят

25 воспроизвести, чтобы полноценно выполнять свои основные функции в организме. В связи с этим механические свойства имеют решающее значение при разработке биомеханических моделей.

Однако механические свойства тканей зачастую трудно поддаются изучению получить из-за того, что тканевые образцы являются достаточно хрупким материалом для

30 исследования, а размеры их малы.

Использование устройства для измерения механических свойств образцов переживающих срезов тканей (Мокрушин А. А., Плеханов А. Ю. Иммунологическая идентификация эндогенных пептидов, секретируемых клетками переживающих срезов обонятельной коры мозга крыс // Доклады Академии наук. – Федеральное

35 государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2001. – Т. 378. – №. 4. – С. 567-569). Устройство позволяет провести оценку механических свойств биологических тканей и каркасов тканеинженерных конструкций, в которых модуль упругости (модуль Юнга) будет изменяться от 100 Па до 250 кПа и определяться как отношение силы растяжения, приложенного к образцу тканевого среза, к его

40 относительному удлинению.

Известно устройство для определения упругости кожи и рубцов кожи человека (RU 2763843 С1) содержащее подвижно соединенные между собой две бранши, контактные элементы, узел создания усилия для раздвижения бранш относительно друг друга, узел измерения этого смещения, бранши соединены между собой планкой с возможностью

45 линейного возвратно-поступательного смещения относительно друг друга, узел измерения этого смещения закреплен на одной из бранш и в него введен электронный индикатор перемещения, а узел создания усилия для раздвижения бранш закреплен на другой бранше и в него введена балка с тензодатчиком, усилие на которую передается

от тяги, и электронный индикатор этого усилия, а контактные элементы выполнены съемными и имеют с одной стороны штыри для фиксации к браншам через выполненные в них отверстия, а с другой стороны - контактную площадку для клеевой фиксации к участку кожи или рубцу кожи.

5 Недостатком предлагаемого устройство является невозможность оценивать упругие свойства объемных тканевых срезов толщиной 100-500 мкм.

Известно устройство для испытания на растяжение ("In situ tensile testing machine and sample for a scanning electron microscope" US5606168A). Устройство состоит из жесткой рамы, на которой расположены две тяговые головки по меньшей мере одна из которых подвижна, и каждая образует полость, в которой может находиться соответствующий 10 конец образца. Устройство автоматически фиксирует и выравнивает образец.

Однако данная конструкция излишне масштабна и не пригодна для измерения механических свойств биологических образцов в связи с возможностью высокой деформации при исследовании.

15 Известно устройство для испытания биологических мягких тканей на растяжение в солевой ванне (<https://patents.google.com/patent/CN200993623Y/en>). Устройство содержит нижний зажимной держатель и еще один нижний зажимной держатель и ванну с водой постоянной температуры. При этом нижний зажимной держатель вставляется со дна ванны с водой постоянной температуры. Верхний зажимной держатель установлен в 20 верхней части ванны с водой постоянной температуры. Для верхнего держателя зажима и нижнего держателя зажима соответственно предусмотрена металлическая трубка, обернутая оболочкой. Между металлической трубкой и оболочкой расположена полость. Трубка для впуска хладагента и трубка для выпуска хладагента соединены с рубашкой. Кроме того, оболочка запечатана в водонепроницаемое и теплоизоляционное 25 покрытие. Один конец металлической трубки помещен в водонепроницаемое и теплоизоляционное покрытие. На конце водонепроницаемого и теплоизоляционного покрытия расположено сквозное отверстие, соответствующее соплу металлической трубки. Между металлической трубкой и водонепроницаемым и теплоизоляционным 30 покрытием расположено уплотнительное кольцо. Другой конец покрытия выходит из покрытия через впускную и выпускную трубки для хладагента. Между водонепроницаемым теплоизоляционным покрытием и курткой заполняется теплоизолятор или образуется вакуумное пространство. Охлаждающий зажим для испытания мягких тканей на растяжение для биологии, купающейся в рассоле, может использоваться в условиях, имитирующих физиологические условия (37 градусов 35 Цельсия при купании в рассоле), без повреждения мягких тканей.

Недостатком данного устройства является его направленность на работу с мягкими тканями, исключая возможность исследования биомеханические свойства других типов тканей. Также в описании данного устройства не указан требуемый объем/толщина исследуемой ткани, отсутствует характеристика диапазон прилагаемых усилий на 40 образец.

Известно устройство для испытания на одноосное растяжение для измерения механических свойств мягких биологических тканей (A tensile machine with a novel optical load cell for soft biological tissues application, <https://doi.org/10.3109/03091902.2014.968677>). Устройство оснащено тензодатчиком, работа которого основана на линейном 45 соотношении смещения и силы балок. Несмотря на то, что сухожилия, связки, ткани сердечно-сосудистой системы, кожа, хориоамнион, печень и другие мягкие ткани с пределом прочности менее 100 Н могут быть биомеханически охарактеризованы с помощью этого устройства, оно имеет ряд отличительных особенностей. Данное

устройство предназначено для изменений в показаниях смещения при нагрузке от 100 мг до 1 кг, что является слишком большой нагрузкой для тканевых срезов толщиной от 100 до 500 мкм. Также диапазон прикладываемых сил в данном устройстве колеблется от 10 до 100 Н.

5 Однако, авторы утверждают, что при некоторых модернизациях данного устройства можно прикладывать нагрузку до сотых долей Ньютона, для биологических тканевых срезов это превышает значение растяжения на разрыв.

Известна статья Innocenti V. et al. (2018) автоматическая характеристика свойств материала мягких тканей при механических испытаниях (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5908329>). Авторами была разработана, протестирована и применена во время испытаний на одноосное растяжение процедура точного и автоматического определения свойств материала в мягких тканях, позволяющая рассчитать кривую истинного напряжения/деформации материала с помощью испытательной машины. Предлагаемый протокол позволяет автоматически вычислять модуль Юнга и

10
15 коэффициент Пуассона образца.

Однако данное устройство в большей степени предназначено для измерения механических свойств крупных биологических образцов (например, ахиллового сухожилия свиньи или сухожилия надколенника человека), а не тонких тканевых срезов. Кроме того модуль упругости (модуль Юнга) изменяется от 169 кПа до 38000 кПа, что

20 является результатом большой прикладываемой нагрузки, которая неприемлема для образцов переживающих тканей.

Известно устройство на микроразрыв для оптического наблюдения *in situ* и анализа DIC: применение для 3D-печати и прессования ABS (<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6439/abeaea>). Авторами разработан и создан новый аппарат для испытания на

25 микрорастяжение, позволяющий характеризовать микромеханическое поведение материалов. Для наблюдения за наблюдением за микроструктурной эволюцией, происходящей во время деформации устройство было интегрировано с оптическим микроскопом.

Несмотря на то, что исследователям удалось решить проблемы, связанные с

30 обработкой, захватом и выравниванием микрообразцов, и представлена новая геометрия для микрообразцов, данная конструкция не подходит для оценки механических свойств образцов переживающих тканей. Это связано с тем, что модуль упругости (модуль Юнга) в среднем составляет 1378500-179900 кПа. Данное значение является чрезмерным, так как прикладываемая сила будет выходить за рамки 0,01 Н. Также данное устройство

35 было использовано на образцах, напечатанных на 3D-принтере, которые имеют более прочную структуру, чем биологические ткани.

Известно устройство для исследования статической прочности эластичных пленок из биоматериала (RU 2269112 C2). Устройство состоит из корпуса, выполненного с

40 возможностью заполнения рабочей средой, прижимного кольца, источника давления и средства для измерения давления.

Однако, исследование проводится в течение двух часов с поддержанием давления в устройстве с исследуемым материалом и температуры физиологического раствора. Это значительно осложняет работу, так как затрачивается не только большое количество времени, но и необходимо использовать дополнительное оборудование в виде источника

45 давления типа насоса и грелки для поддержания температуры жидкости. В нашем же устройстве нет необходимости использования дополнительного оборудования.

Известно устройство для определения модуля упругости мягкой биологической ткани (RU 2326583 C1). Устройство содержит прижимной стакан с головкой,

измерительный шток, наконечник, втулку, тарированную пружину, регистрирующее устройство и механизм фиксации прилагаемого усилия.

Недостатком данного устройства является отсутствие в описании требуемого объема/толщины исследуемой ткани, отсутствует характеристика диапазон прилагаемых усилий на образец. В связи с этим оно может не подойти для оценки механических свойств образцов тканей толщиной 100 - 500 мкм.

Известно устройство для испытаний на растяжение для наших научных проектов на основе материалов, напечатанных на 3D-принтере (<https://www.instructables.com/FULLY-FUNCTIONAL-Tensile-Testing-Machine-Tinkercad>). Устройство состоит из пяти частей: стационарного захвата, подвижного захвата, тензодатчика (и его крепления) и двигателя (редукторного шагового двигателя NEMA 17).

Однако, устройство применялось для измерения механических свойств материалов, напечатанных на 3D-принтере, недостатком устройства является прикладывание слишком больших усилий - 500 Н на образец. Для наших условий диапазон прилагаемых усилий составляет – от 0,001 до 0,01 Н. Несмотря на то, что система состоит из относительно небольшого количества частей, для её изготовления необходимо использование 3D-принтера, который имеется не во всех лабораториях. Также, данное устройство предполагает использование образцов с начальной толщиной до 2 мм или же до 5 мм в зависимости от типа ткани, однако не описана возможность использования более тонких образцов, например толщиной в 500 мкм. Кроме того авторы указывают, что максимальное прилагаемое растягивающее усилие не должно превышать 1кН при этом не указывая нижний порог прикладываемой силы.

Самым близким (прототипом) является зажимная система для упрощенного тестирования биологических мягких тканей со всеми необходимыми компонентами, изготовленными с использованием технологии 3D-печати (<https://doi.org/10.1016/j.ohx.2020.e00159>). Ключевыми частями устройства являются зажимы с пирамидальной конструкцией, которые позволяют закреплять биологические мягкие ткани перед их переносом в испытательное устройство и минимизировать проскальзывание материала во время испытаний на растяжение. Гибкие держатели используют для переноса образцов со столов для подготовки в испытательное устройство и упрощения позиционирования. Механическое испытание выполняют с корреляцией цифрового изображения для точного измерения деформации. Зажимы, шаблоны и столы, напечатанные на 3D-принтере, предназначены для проведения механических испытаний мягких тканей, уменьшая проскальзывание материала и улучшая стандартизацию. Область применения включает широкий спектр мягких материалов и не ограничивается биологическими мягкими тканями человеческого происхождения.

Несмотря на то, что система состоит из относительно небольшого количества частей, для её изготовления необходимо использование 3D-принтера, который имеется не во всех лабораториях. Также, данное устройство предполагает использование образцов с начальной толщиной до 2 мм или же до 5 мм в зависимости от типа ткани, однако не описана возможность использования более тонких образцов, например толщиной в 500 мкм. Исследуемый образец находится в воздушной среде, в то время как для достижения наших целей тестируемый срез должен находиться в жидкой среде. Кроме того авторы указывают, что максимальное прилагаемое растягивающее усилие не должно превышать 1кН при этом не обозначая нижний порог прикладываемой силы.

Техническим результатом полезной модели является упрощение возможности определения эластичных свойств исследуемого переживаемого тканевого среза толщиной от 100 до 500 мкм при продольном нагружении.

Особенностью предлагаемого устройства является то, что внутри основания выполнено заполненное жидкостью прямоугольное углубление со светопроницаемым прозрачным дном, с одного торца основания размещен подвижный валик на штифтах, на основании по противоположным краям углубления со стороны торцов основания размещены две картонные прямоугольные подложки для закрепления испытуемого образца, причем одна из подложек закреплена зажимом, который жестко прикреплен к основанию, а в ближайшем к торцу основания с валиком краю второй подложки выполнено отверстие, к которому крепится крючок с подвесом для нагружения биологического образца тканевого среза, при этом нить подвеса проходит через валик при опускании подвеса ниже уровня основания.

Полезная модель поясняется подробным описанием и иллюстрациями, на которых изображено:

Фиг. 1- изометрическая схема устройства: 1- прямоугольное основание, 2- углубление, 3- светопроницаемое прозрачное дно, 4- подвижный валик, 5- штифты, 6- подложка, 7- зажим, 9- нить, 10- крючок, 11- подвес.

Фиг. 2- устройство вид сбоку: 1- прямоугольное основание, 3- светопроницаемое прозрачное дно, 4- подвижный валик, 5- штифты, 6- подложка, 7- зажим, 9- нить, 10- крючок, 11- подвес.

Фиг. 3 - схема устройства, вид сверху: 3- светопроницаемое прозрачное дно, 5- штифты, 8- отверстие.

Фиг. 4 - изометрический вид с используемым образцом: 6- пластины, 12- тканевый срез биологического образца.

Пример осуществления полезной модели.

Устройство для определения механических свойств переживающих тканевых срезов состоит из разборных частей содержит прямоугольное основание 1 из полимолочной кислоты размером 20 мм x 100 мм x 20 мм (Фиг.1) с углублением 2 размером 10 мм x 10 мм и глубиной 2 мм, имеющим светопроницаемое прозрачное дно 3 из прозрачного полипропилена (Фиг. 1, 2, 3) для микроскопирования биологического образца. С одного торца основания 1 имеется подвижный валик 4, закрепленный к основанию 1 при помощи штифтов 5. На поверхности основания 1 расположены картонные подложки 6 размером 10 мм x 10 мм. Одна из подложек 6 зафиксирована к основанию 1 зажимом 7, а вторая подложка 6 имеет отверстие 8 (Фиг. 3) с крючком 10 с нитью 9 на конце которой подвес 11 (весом от 100 до 1000 мг) для нагружения биологического образца тканевого среза 12 (Фиг. 4).

Устройство работает следующим образом.

Переживаемый тканевый образец 12 (Фиг. 4) крепят к подложкам 6 при помощи цианокрилатного клея, так, чтобы центральная часть исследуемого образца 12 располагалась между подложками 6 (Фиг. 1, Фиг. 4), оставляя зазор 10 мм. Одну из подложек 6 крепят к основанию 1 при помощи зажима 7, контролируя, чтобы центральная часть исследуемого образца 12 оказалась над углублением 2 с прозрачным светопроницаемым дном 3, которое перед размещением образца в устройстве заполняют жидкостью (например, фосфатным буфером). При этом тканевый срез 12 как бы «плавает» на поверхности жидкости, что обеспечивает условие его непровисания в ходе исследования и устраняет трение образца 12 о поверхность основания 1. Устройство размещают на предметном столике, добиваясь освещения микропрепарата осветительной системой микроскопа. Далее в отверстие 8 подложки 6 крепят систему подвеса, состоящую из крючка 10, нити 9 и подвеса 11. При этом нить 9 подвеса 11 (Фиг. 2) опускают ниже уровня предметного столика и пропускают по валику 5

основания 1 для снижения трения. Поле зрения микроскопа располагают, чтобы была видна граница подложки 6.

Подложки 6 выполнены одноразовыми, что обеспечивает поддержание гигиены предлагаемого устройства.

5 Отмечают положение начальной метки образца 12 без нагрузки, прикладывают нагружающее усилие и отмечают положение метки образца в нагруженном состоянии, измеряют нормальные перемещения поверхности образца 12 при нагрузке и определяют значение модуля упругости, причем указанную последовательность действий

10 осуществляют повторно, используя разные значения нагружающего усилия, и на основе полученных значений вычисляют значение модуля упругости и растяжение на разрыв. Предложенное устройство использовалось при определении механических характеристик тканевых срезов в 30 образцах толщиной от 100 до 500 мкм (Таблица 1).

Таблица 1

15 Механические характеристики тканевых срезов в зависимости от толщины ткани и приложенной нагрузки

Тип ткани	Кол-во образцов, шт	Толщина, мкм	Модуль Юнга, кПа	Нагрузка
Миокард крыс линии Вистар	3	100	120±28	100
Почка крыс линии Вистар	3	100	190±42	200
Миокард крыс линии Вистар	3	200	106±16	300
Почка крыс линии Вистар	3	200	174±24	400
Миокард крыс линии Вистар	3	300	116±21	500
Почка крыс линии Вистар	3	300	198±14	600
Миокард крыс линии Вистар	3	400	108±17	700
Почка крыс линии Вистар	3	400	185±20	800
Печень крыс линии Вистар	3	500	33±6	900
Миокард крыс линии Вистар	3	500	105±11	1000

Пример использования устройства.

30 Для исследования растяжения на разрыв тканевых срезов была взята печень крыс линии Вистар размером 100 мкм x 500 мкм x 500 мкм. Нагрузка на образец составила 0,001 Н. Что в совокупности с использованием микроскопа прямого света позволило оценить модуль Юнга образца в диапазоне от 100 Па до 250 кПа.

Предложенная полезная модель позволяет:

- надежно фиксировать тонкий слой биологической ткани в устройстве;
- 35 устранить искажение результатов измерений за счет трения, поместив образец на водную поверхность;
- исследовать упругие свойства образцов переживающих тканевых срезов толщиной 100-500 мкм;
- упростить работу экспериментатора, так как позволяет работать одному человеку
- 40 без посторонней помощи за счет упрощения конструкции и процесса эксплуатации;
- легко обрабатывать, очищать и дезинфицировать устройство после эксперимента.

(57) Формула полезной модели

45 Устройство для определения механических свойств переживающих тканевых срезов толщиной от 100 до 500 мкм, включающее прямоугольное основание, отличающееся тем, что внутри основания выполнено заполненное жидкостью прямоугольное углубление со светопроницаемым прозрачным дном, с одного торца основания размещен подвижный валик на штифтах, на основании по противоположным краям углубления

со стороны торцов основания размещены две картонные прямоугольные подложки для закрепления испытуемого образца, причем одна из подложек закреплена зажимом, который жестко прикреплен к основанию, а в ближайшем к торцу основания с валиком краю второй подложки выполнено отверстие, к которому крепится крючок с подвесом для нагружения биологического образца тканевого среза, при этом нить подвеса проходит через валик при опускании подвеса ниже уровня основания.

10

15

20

25

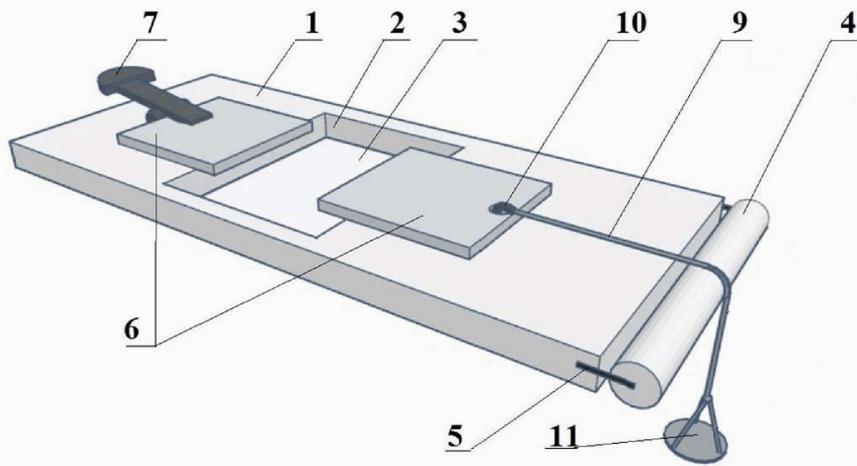
30

35

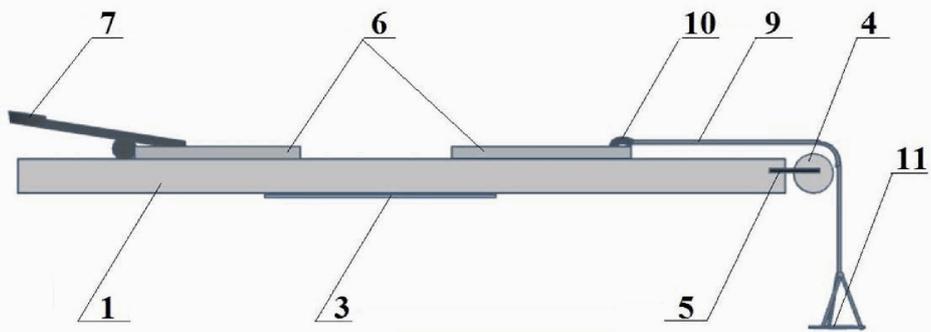
40

45

1

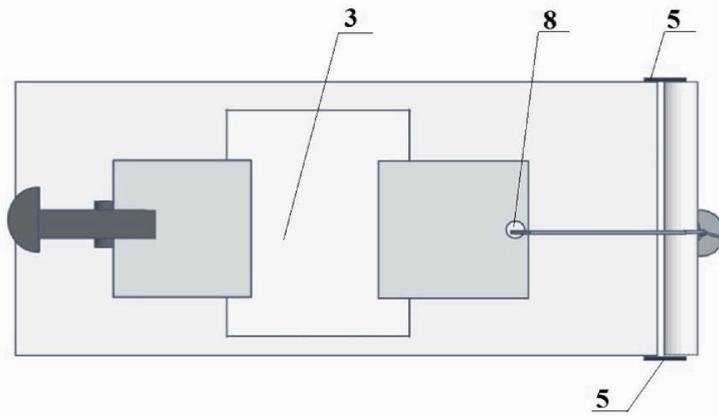


Фиг. 1

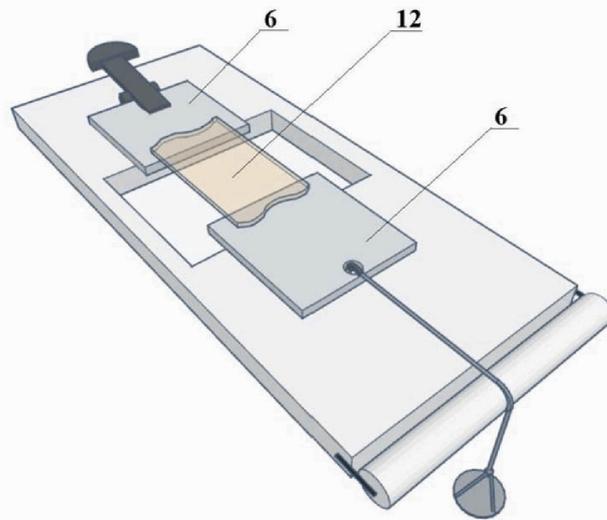


Фиг. 2

2



Фиг. 3



Фиг. 4