



MD 1132 Z 2017.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1132** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *A61B 90/00* (2016.01)

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

(21) Nr. depozit: s 2016 0131 (22) Data depozit: 2016.11.18	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.03.31, BOPI nr. 3/2017
(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 (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (74) Mandatar autorizat: COȘNEANU Elena	

(54) **Dispozitiv pentru fixarea pielii in procesul de decelularizare**

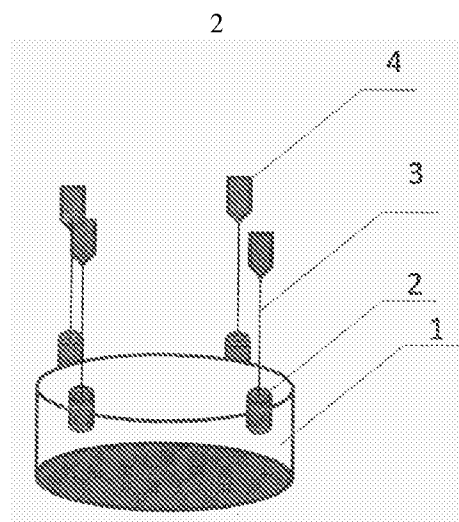
(57) **Rezumat:**

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

Dispozitivul pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare include un recipient (1) executat rotund cu diametrul de 3 cm și înălțimea de 3 cm, patru elemente de fixare (2) executate în formă de cilindru, pe centrul circumferinței cărora sunt executate orificii cu diametrul de 1 mm, totodată elementele (2) sunt fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului (1), patru tije (3) 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 (4) în formă de cilindru, totodată toate elementele sunt executate din inox.

Revendicări: 1

Figuri: 3



MD 1132 Z 2017.10.31

(54) Device for skin 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 fixation in the decellularization process comprises a capacity (1) made cylindrical of a diameter of 3 cm and a height of 3 cm, four locating fixtures (2) made in the form of a cylinder, on the center of circumference of which are made holes of a diameter of 1 mm, at the same time the fixtures (2) are fixed at the same distance from each

2
other, on the inner side of the wall of the capacity (1) on circumference, four rods (3) of a length of 5 cm and a diameter of 0.9 mm, one end of which is made sharp, and on the other end is made a handle (4) in the form of a cylinder, at the same time all the elements are made of stainless steel.

Claims: 1

Fig.: 3

(54) Устройство для 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 фиксации кожи в процессе децеллюляризации включает емкость (1) выполненную круглой диаметром 3 см и высотой 3 см, четыре фиксирующих элемента (2) выполненные в виде цилиндра, по центру окружности которых выполнены отверстия диаметром 1 мм, при этом элементы (2) прикреплены по

2
окружности, на одинаковом расстоянии друг от друга, на внутренней стороне стенки емкости (1), четыре стержня (3) длиной 5 см и диаметром 0,9 мм, один конец которых выполнен заостренным, а на другом конце выполнена ручка (4) в виде цилиндра, при этом все элементы выполнены из нержавеющей стали.

П. формулы: 1

Фиг.: 3

Descriere:

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

Cea mai apropiată soluție este vasul Petri, care reprezintă un rezervor în care este plasată pielea în procesul decelularizării [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.

10 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în crearea unui dispozitiv, care ar permite o decelularizare mai ușoară și eficace a pielii, favorizând un acces mai liber pentru schimbarea repetată și succesivă a reactivilor în procesul de decelularizare și asigurând o mișcare rotativă a dispozitivului.

Dispozitivul pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate mai sus prin aceea că include un recipient executat rotund cu diametrul de 3 cm și înălțimea de 3 cm, patru elemente de fixare executate în formă de cilindru, pe centrul circumferinței cărora sunt executate orificii cu diametrul de 1 mm, totodată elementele de fixare sunt fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului, 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, totodată toate elementele sunt executate din inox.

Avantajele acestui dispozitiv constau în faptul că asigură scufundarea totală a pielii și permite o decelularizare mai eficace.

25 Rezultatul tehnic al invenției constă în crearea unui dispozitiv pentru fixarea pielii în procesul decelularizării, care asigură operativ, sigur, calitativ, ușor, atraumatic, precum și econom fixarea pielii de prelucrat.

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

- fig. 1, vedere de ansamblu a dispozitivului pentru fixarea pielii în procesul decelularizării;
- fig. 2, elementele constructive ale dispozitivului;
- fig. 3, vederea dispozitivului în procesul de decelularizare.

30 Dispozitivul pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare include un recipient 1 executat rotund cu diametrul de 3 cm și înălțimea de 3 cm, patru elemente de fixare 2 executate în formă de cilindru, pe centrul circumferinței cărora sunt executate orificii cu diametrul de 1 mm, totodată elementele 2 sunt fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului 1, patru tije 3 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 4 în formă de cilindru, totodată toate elementele sunt executate din inox.

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

Acest dispozitiv se utilizează în mediu steril în hota cu flux laminar de aer. În prealabil, dispozitivul se sterilizează în autoclavă și se pregătesc soluțiile pentru decelularizare. Apoi se dezgheață o bucată de piele, după care cu ajutorul unui bisturiu se secționează un fragment de piele cu dimensiunile de 2x2 cm. După înlăturarea țesutului adipos de pe partea epidermo-dermală, fragmentul de piele se fixează de colțuri prin intermediul tijelor 3 în elementele de fixare 2, fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului 1, în care ulterior se plasează un magnet, după aceasta recipientul se scufundă într-un vas de sticlă cu soluție de 0,25% Tripsin-EDTA - 37°C, timp de 90 min. Ulterior vasul de sticlă este amplasat pe un agitator magnetic 6 (fig. 3) care, datorită magnetului plasat în recipientul 1, oferă o mișcare orbitală necesară procesului de decelularizare. Apoi fragmentul de piele se spală de 3 ori a câte 15 min în apă distilată și se incubează în soluție de 0,1M NaOH timp de 16 ore. Ulterior fragmentul de piele se spală în soluție tampon salin fosfat Dulbec'o până când soluția de clătire ajunge la un pH neutru. După o spălare minuțioasă, pielea se scufundă în soluție de DMEM fără ser cu amestec de antibiotic și antimicotic de 1%, continuând procesul pe agitatorul magnetic 6 (fig. 3) 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.

55 **Exemplu**

După o sterilizare prealabilă a dispozitivului, fragmentul de piele se fixează de colțuri prin intermediul tijelor 3 în elementele de fixare 2, fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului 1, în care ulterior se plasează un magnet, după care recipientul 1 se scufundă într-un vas de sticlă cu soluție de 0,25% Tripsin-EDTA - 37°C, timp de 90

min. Ulterior vasul de sticlă se amplasează pe un agitator magnetic care, datorită magnetului plasat în recipientul 1, oferă o mișcare orbitală necesară procesului de decelularizare. Apoi pielea se spală în apă distilată de 3 ori a câte 15 min, după care se incubează în soluție 0,1M NaOH timp 16 ore. Ulterior fragmentul de piele se spală în soluție tampon salin fosfat Dulbec'o până când soluția de clătire ajunge la un pH neutru. După o spălare minuțioasă, fragmentul de piele se scufundă în soluție DMEM fără ser cu amestec de antibiotic și antimicotic 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 matricei extracelulare, mostrele de piele au fost preparate pentru examen histologic și ulterior colorate cu hematoxinil și eosin și după Vanghizon, utilizând protocoale standard. S-a efectuat cuantificarea spectrofotometrică a cantității de ADN și s-au obținut următoarele rezultate:

Rezultatele cuantificării de ADN (ng/μl)	Decelularizarea cu NaOH
Control (pielea nedecelularizată)	27,9
Repitiția 1	4,5
Repitiția 2	5,1
Repitiția 3	3,7

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

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. 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>, regăsit>

(57) Revendicări:

Dispozitiv pentru fixarea pielii în procesul de decelularizare, care include un recipient (1) executat rotund cu diametrul de 3 cm și înălțimea de 3 cm, patru elemente de fixare (2) executate în formă de cilindru, pe centrul circumferinței cărora sunt executate orificii cu diametrul de 1 mm, totodată elementele (2) sunt fixate pe circumferință, la aceeași distanță unul față de altul, pe partea interioară a peretelui recipientului (1), patru tije (3) 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 (4) în formă de cilindru, totodată toate elementele sunt executate din inox.

Șef Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

GROSU Viorel

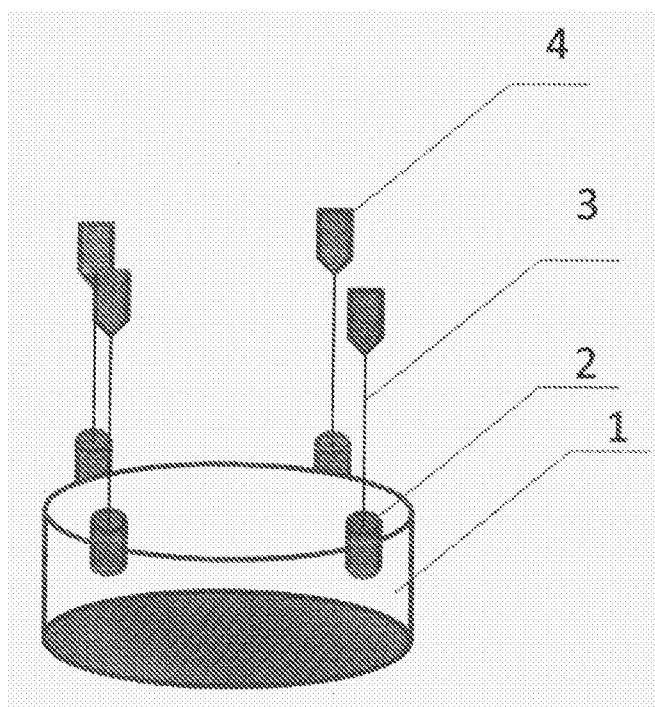


Fig. 1

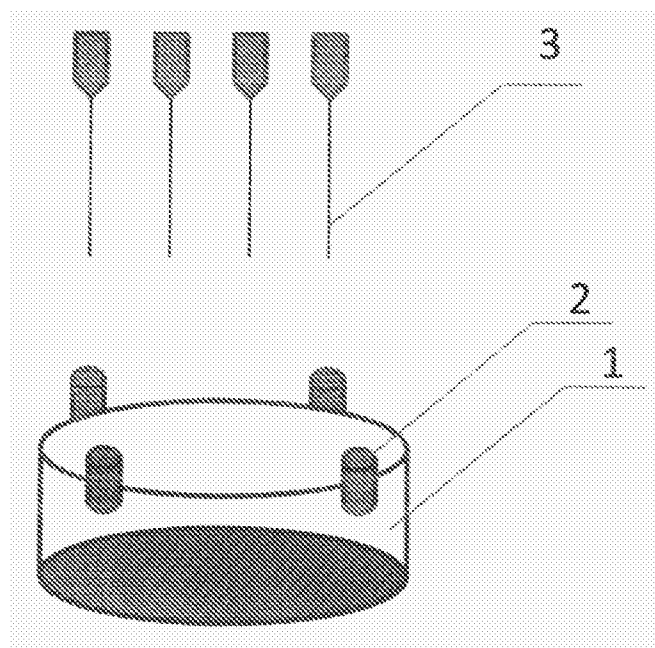


Fig. 2

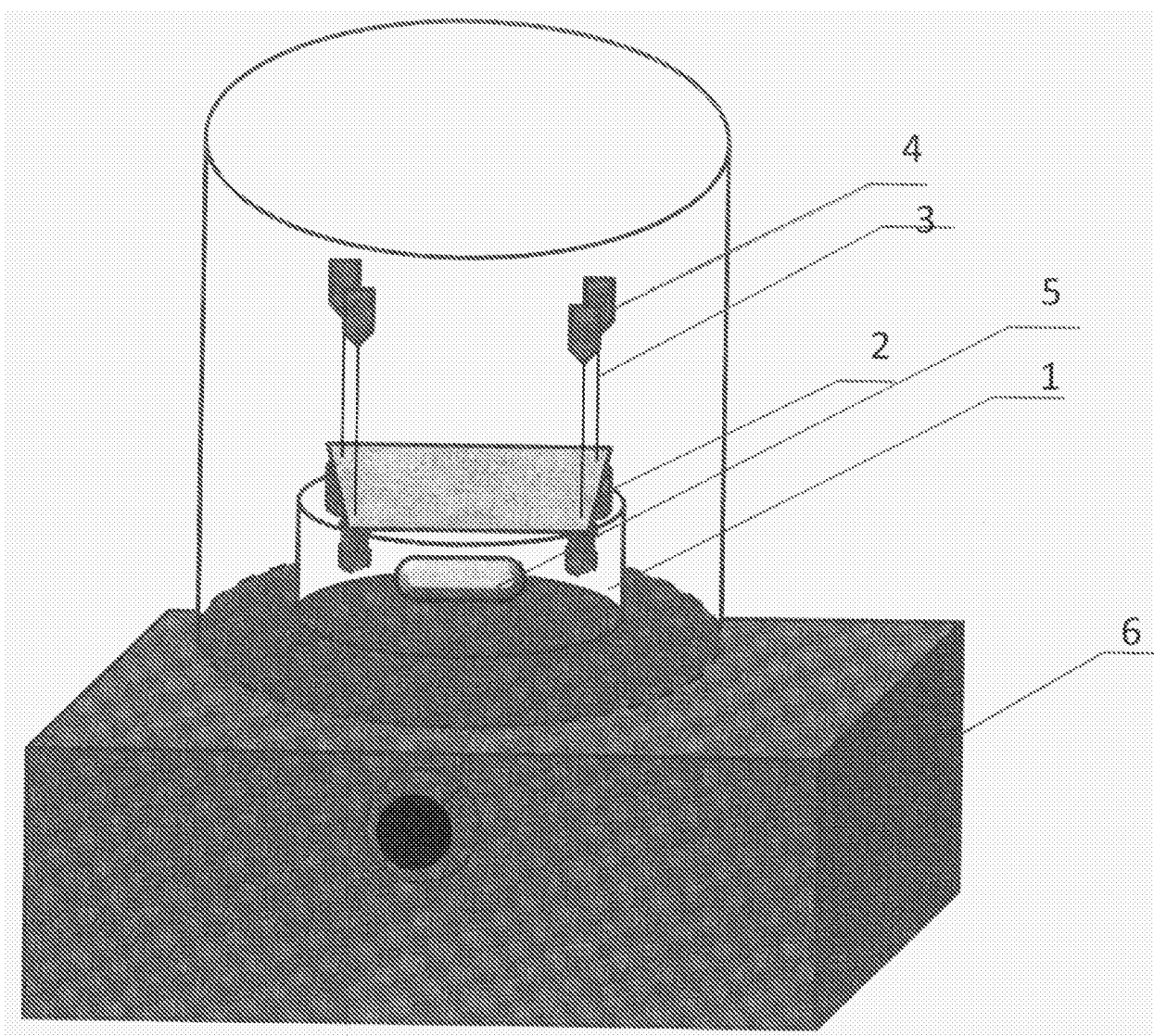


Fig. 3

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: s 2016 0131

(22) Data depozit: 2016.11.18

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

(54) **Titlul: Dispozitiv pentru fixarea 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): *A61B*, decelularizare, fixarea pielii*

EA, CIS (Eapatis): *A61B*, децеллюляризация, фиксация кожи*

SU (nonpublic): *A61B*, децеллюляризация, фиксация кожи*

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 și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A,D,C	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	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată

documentul este luat în considerație de unul singur	
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	
2017.01.12	
Examinator GROSU Viorel	