

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

38 267

(13) Druh dokumentu: U1

(51) Int. Cl.:

A61N 2/02 (2006.01)
A61N 1/00 (2006.01)
C12N 5/0775 (2010.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2024-42291
(22) Přihlášeno: 08.10.2024
(47) Zapsáno: 26.11.2024

- (73) Majitel:
České vysoké učení technické v Praze, Praha 6,
Dejvice, CZ
- (72) Původce:
doc. PhDr. Ing. Jaroslav Průcha, CSc., Ph.D,
Blovice, Hradiště, CZ
- (74) Zástupce:
Ing. Dušan Kendereški, Tuřanka 1583/115g, 627 00
Brno, Slatina

- (54) Název užitého vzoru:
**Klinické instrumentárium pro podporu
hojení a regenerace tkání prostřednictvím
mechanismu stimulace mezenchymálních
stromálních buněk in vivo**

CZ 38267 U1

Klinické instrumentárium pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*

5 Oblast techniky

Technické řešení se týká uspořádání zapojení klinického instrumentária určeného pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*, případně i buněk jiných tkání.

10

Dosavadní stav techniky

Mezenchymální stromální buňky (MSCs) jsou žádanou platformou pro regenerativní medicínu, a to zejména proto, že tyto buňky kromě svého diferenciálního potenciálu mohou fungovat jako úložiště a zdroj endogenně vytvářených biologicky aktivních regenerativních a protizánětlivých molekul, které mohou podporovat opravy tkání a prokazovat rovněž imunomodulační účinky. V souladu s tímto poznáním jsou účelně prováděny postupy s cílem zvýšení sekrece terapeuticky využitelných biomolekul z MSCs, a to nejen v laboratorních podmínkách, respektive *in vitro*, ale rovněž přímo v léčených strukturách živého organismu (*in vivo*), kde se MSCs nacházejí např. v tukové tkáni, v perivaskulárním nebo perineurálním prostoru, v kostní dřeni apod.

Klinické požadavky přitom směřují k dosažení maximální viability, proliferační schopnosti, schopnosti cílené diferenciace, podpory migračního potenciálu i podpory potenciálu produkce cytokinů, růstových faktorů a dalších biologicky aktivních parakrinních látek produkovaných v léčeném organismu přítomnými MSCs. Zatím jsou však v klinické praxi využívány spíše možnosti stimulace kmenových buněk během procesu jejich izolace ze zdrojových autologních tkání a procesu předpřípravy výlučně chemické, případně biologické, resp. genetické. Vcelku zavedené je *in vitro* použití kultivačních médií s přísadami růstových faktorů (např. MesenCult), dále použití specifické kombinace aktivujících růstových faktorů (např. TNF-alfa a IL-1), použití siRNA vektorů pro aktivaci diferenciace nebo aktivaci metabolických drah buněk. Zároveň jsou intenzivně studovány možnosti *in vitro* fyzikální stimulace, které jsou však zatím dovedeny jen do stádia laboratorních experimentů.

Laboratorní přístroje určené pro *in vitro* fyzikální intervenci mezenchymálních stromálních buněk a progenitorových buněk z tkání míří na cíle, kterými jsou efektivnější uplatnění v klinické medicíně a bezpečnější aktivace buněk nahrazující současné experimentální farmakoaktivní přípravky, siRNA, miRNA a jiné vektory indukující genetické zásahy a specifickou aktivaci buněk. Přitom snahy o samotné přímé klinické uplatnění MSCs se vesměs nesetkávají s úspěchem, jaký byl původně předpokládán. V tomto směru jsou zatím uplatněny zejména snahy o dynamickou aplikaci MSCs, kde příkladem může být kompaktní přístroj (typ Q-graft® System), který poskytuje separaci regenerativních kmenových buněk ze stromální mezenchymální frakce získané při liposukci, a to intraoperativně, tedy během výkonu na pacientovi.

Patent US 9 999 785 B2 popisuje metodu a systém pro generaci a použití aktivovaných kmenových buněk. Neaktivované kmenové buňky se aktivují ošetřením amplitudově modulovaným laserovým paprskem s vlnovou délkou v rozmezí 405 až 980 nanometrů. Laserový paprsek je modulovaný v rozmezí od 8 do 12 MHz. Metoda je zaměřena na způsoby opravy, regenerace, léčení nebo ošetřování poškozené biologické tkáně vytvořením aktivovaných kmenových buněk z neaktivovaných kmenových buněk jejich ošetřením laserovým paprskem s amplitudovou modulací, který má předem definovanou vlnovou délku.

Patent US 10 907 144 B2 popisuje způsob opravy poškozené biologické tkáně zahrnující získání neaktivovaných kmenových buněk, vytvoření aktivovaných kmenových buněk z neaktivovaných kmenových buněk ošetřením kmenových buněk amplitudově modulovaným laserovým paprskem,

který má předem definovanou vlnovou délku a předem definovanou amplitudu, podání aktivovaných kmenových buněk do těla obsahujícího biologickou tkáň a transkutánní aplikace naváděcího koherentního laserového paprsku podél alespoň jedné osy tak, že naváděcí laserový paprsek interaguje s uvedenou poškozenou biologickou tkání.

5

Příhláška CN 116254255 A se týká nového způsobu léčby senescentních intersticiálních buněk *in vitro* pomocí metody LIPUS (Low Intensity Pulsed Ultrasound), který se vyznačuje hlavně tím, že senescentní intersticiální buňky jsou stimulovány *in vitro* použitím různých energetických intenzit, takže může být podporována proliferace senescentních intersticiálních buněk. Využitím lipidových kapiček lze tento způsob urychlit, takže se zvýší tvorba testosteronu kultivovaného *in vitro* intersticiálními buňkami a zvýší se sekreční funkce testosteronu. Schéma může být použito pro *in vitro* léčbu senescence buněk.

10

V přihlášce WO 2009/153 818 A1 je popisován způsob, který může urychlit diferenciaci a/nebo růst různých typů kmenových buněk, buněk se specifickými fenotypy tkání, primárních buněk nebo nádorových buněčných linií a také fúzi různé buněčné linie. Způsob zahrnuje následující operace: i) získání vzorku buněk; ii) kultivace buněk ve vhodném kultivačním médiu; iii) aplikování nízkofrekvenčního střídavého elektromagnetického pole (ELF) na buněčnou kulturu pro vyvolání zrychlení diferenciaci kmenových buněk, proliferace kmenových buněk, primárních buněk a při buněčné fúzi. Dále je zde popisováno zařízení, které je vytvořené jako elektromagneticky stíněná komora, určená pro vložení do inkubátoru, ve které jsou umístěny kultury kmenových buněk, na které jsou aplikovány zejména kombinace elektrických polí o intenzitách řádově desítek až stovek V/m, magnetických polí stacionárních i časově proměnných o indukcích jednotek až desítek mT a frekvencích časových změn magnetického pole přednostně stovek Hz.

25

Podstata technického řešení

Cílem technického řešení je uspořádání zapojení klinického instrumentária určeného pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace vlastních mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*, kde toto klinické instrumentarium zahrnuje jednotlivé, postupné, nebo současné působení bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů vznikajících působením časově proměnných magnetických polí, dále působení energie laseru a dále působení energie ultrazvuku, tedy využití fyzikálních intervencí, a to tak, aby jednotlivé aplikátory instrumentária, napojené na příslušné generátory indukovaných elektrických proudů, laseru a ultrazvuku jednotlivě, postupně, nebo současně, poskytovaly jimi produkované fyzikální energie a tímto působením byla podporována produkce regenerativních, protizánětlivých a dalších biologicky aktivních látek vlastními mezenchymálními stromálními buňkami, případně aby samy vlastní mezenchymální stromální buňky zvyšovaly svoji proliferaci, viabilitu, migrační a diferenciací schopnost a další potenciálně klinicky žádoucí vlastnosti.

40

Výše uvedeného cíle je dosaženo klinickým instrumentáři pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*, zahrnujícího řídicí jednotku připojenou na generátor bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů, generátor ultrazvuku a generátor laserového záření, jehož podstata spočívá v tom, že je opatřen válcovitou základnou, v níž jsou uspořádány přizpůsobovací člen elektrických proudů, přizpůsobovací člen ultrazvuku a přizpůsobovací člen laseru, kde přizpůsobovací člen elektrických proudů je připojen na cívku a generátor elektrických proudů, kde přizpůsobovací člen ultrazvuku je připojen na generátor ultrazvuku a na ultrazvukový piezoelektrický měnič, jenž přiléhá k čtvrtvlnné destičce, která je ve spojení s ultrazvukovou rozptylnou čočkou, kde přizpůsobovací člen laseru je připojen na generátor laserového záření a na emitory laserového záření, které jsou uspořádány po obvodu vnějšího průměru pláště ve tvaru komolého kužele, který je upevněn k základně, přičemž vnitřní prostor mezi cívkou a pláštěm je vyplněn biokompatibilním materiálem, zatímco prostor uvnitř pláště je vyplněn biokompatibilním materiálem, jehož akustická impedance je v intervalu 1 až

50

3 MPa.s.m⁻¹, přičemž tento biokompatibilní materiál je na kontaktních plochách s léčenou tkání opatřen ultrazvukovým gelem o akustické impedanci kolem 1,6 MPa.s.m⁻¹.

Výhodou je to, že všechny tři generátory jsou zapojeny na výstup společné řídicí jednotky, která uvádí tyto generátory v činnost a zadává jim požadované parametry, přičemž výstupy těchto tří generátorů jsou již zapojeny na aplikátor indukovaných elektrických proudů vznikajících časově proměnnými magnetickými poli, aplikátor laseru a rovněž aplikátor ultrazvuku. Všechny tyto tři fyzikální intervence jsou schopny samostatně, postupně, anebo současně působit na klinicky ošetřovanou - léčenou živou tkáň.

Toto řešení umožňuje aplikaci ultrazvuku na větší plochu a do většího objemu léčené tkáně, srovnatelnou s plochou a objemem, na které je bezkontaktně realizováno magnetické pole indukující požadované elektrické proudy. Pro průchod ultrazvukového vlnění od čela měniče, resp. čela čtvrtvlnné destičky a rozptylné ultrazvukové čočky, do léčené tkáně je prostor mezi těmito strukturami vytvářejícími, resp. modifikujícími ultrazvukové vlnění, vyplněn biokompatibilním materiálem o akustické impedanci v rozmezí 1 až 3 MPa.s.m⁻¹, např. materiálem PDMS (polydimethylsiloxan), který je na svých kontaktních plochách opatřen ultrazvukovým gelem, vyznačujícím se typickou akustickou impedancí kolem 1,6 MPa.s.m⁻¹. Popisovaný prostor má tvar komolého kužele, ze strany menšího průměru vypouklého a ze strany většího průměru vydutého, a to tak, aby zajišťoval těsný mechanický kontakt jak s rozptylnou ultrazvukovou čočkou, tak s léčenou tkání. Plášť komolého kužele, vymezuje popisovaný prostor tvaru komolého kužele, je tvořen elektricky nevodivým materiálem, při jehož větším průměru jsou po obvodu umístěny zdroje laserového záření, s výhodou realizované jako samostatné emitory laserového záření nebo jako zakončení jednotlivých optických vláken a/nebo svazků vláken optického svazkového vodiče. Apertura a počet těchto samostatných polovodičových laserových zdrojů, resp. apertury a počet zakončení jednotlivých optických vláken nebo svazků vláken optického svazkového vodiče, je volen tak, aby byla laserovým zářením pokryta plocha léčené tkáně.

Při tomto uspořádání proniká do léčené tkáně jak časově proměnné magnetické pole vytvářené cívkou a produkující indukované elektrické proudy, tak laserový zářivý tok, a rovněž ultrazvukové vlnění.

Uspořádání klinického instrumentária umožní jednotlivé, postupné, nebo současné působení bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů, které vznikají působením časově proměnných magnetických polí. Dále taktéž umožní působení jak energie laseru, tak energie ultrazvuku, tedy využití fyzikálních intervencí. Uplatněním těchto všech třech fyzikálních intervencí jednotlivě, postupně, nebo současně je podporována endogenní produkce regenerativních, protizánětlivých a dalších biologicky aktivních látek mezenchymálními stromálními buňkami nacházejícími se v léčených tkáních, např. v perivaskulárním nebo perineurálním prostoru, v tukové tkáni, v kostní dřeni apod., případně samy mezenchymální stromální buňky mohou zvýšit svoji proliferaci, viabilitu, migrační a diferenciační schopnost apod., takže je tento mechanismus klinicky využitelný

Objasnění výkresů

Řešení bude blíže objasněno pomocí výkresů, kde obr. 1 znázorňuje schéma uspořádání klinického instrumentária, obr. 2 znázorňuje schéma kombinovaného aplikátoru, obr. 2a znázorňuje půdorysný pohled na kombinovaný aplikátor a obr. 3 ilustruje šíření aplikovaných fyzikálních intervencí z kombinovaného aplikátoru.

Příklad uskutečnění technického řešení

Řešení bude osvětleno v následujícím popisu na příkladu provedení s odkazem na příslušné výkresy.

Provedení klinického instrumentária je znázorněno na obr. 1, obr. 2 a obr. 2a. V tomto provedení zapojení zahrnuje řídicí jednotku 9, jejíž výstup je připojen ke generátoru 1 bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů, jehož výstup je připojen na vstup přizpůsobovacího členu 11 bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů, který je připojen na vinutí cívky 12, která vytváří časově proměnné magnetické pole 13, generující na základě 2. Maxwellovy rovnice indukované elektrické proudy 14. Vinutí cívky 12 má podobu pláště komolého rotačního paraboloidu, jehož podstava 10 většího průměru je konkávně prohnutá a je určena k přiložení k léčené tkáni 7, zatímco k podstavě 15 o menším průměru přiléhá válcovitá základna 4.

Dále je na výstup řídicí jednotky 9 připojen generátor 2 ultrazvuku, jehož výstup je připojen na vstup přizpůsobovacího členu 21 ultrazvuku. Přizpůsobovací člen 21 ultrazvuku má výstup připojen na ultrazvukový piezoelektrický měnič 22, který je uspořádán na základně 4 válcovitého tvaru a je spojen se čtvrtvlnnou destičkou 23. Tato je připojena na ultrazvukovou rozptylnou čočku 24, která vytváří divergující ultrazvukové vlnění, které prochází přenosovým prostředím, kterým je biokompatibilní materiál 25 o požadované akustické impedanci, nacházející se v intervalu 1 až 3 MPa.s.m⁻¹. Biokompatibilní materiál 25 zajišťuje kontakt jak s ultrazvukovou rozptylnou čočkou 24, tak s prostředím šterbiny 8, vyplněné ultrazvukovým gelem o akustické impedanci typicky 1,6 MPa.s.m⁻¹. Prostředí této šterbiny 8 rovněž zajišťuje kontakt s léčenou tkání 7. Takové řešení umožňuje vstup a působení ultrazvukového vlnění 26 v léčené tkáni 7.

Dále je řídicí jednotka 9 svým výstupem připojena na generátor 3 laserového záření, který má výstup připojen na vstup přizpůsobovacího členu 31 laseru, který je připojen na emitory 32 laserového záření. Emitory 32 laserového záření 33 v počtu šesti jsou uspořádány po obvodu vnějšího průměru elektricky nevodivého pláště 5 ve tvaru komolého kužele, přičemž po jeho obvodu lze umístit i více emitorů 32. Tyto emitory 32 vysílají emitované laserové záření 33 působící v léčené tkáni 7. Pro zajištění pevnosti aplikátoru 16 je prostor 6 mezi vnějším průměrem elektricky nevodivého pláště 5 ve tvaru komolého kužele a vinutím cívky 12 v podobě pláště komolého rotačního paraboloidu vyplněn biokompatibilním materiálem 61, např. Eco-tu durable Resin (na bázi epoxidu) nebo eSUN eResin PMMA (na bázi polymethylmetakrylátu).

Funkce zapojení klinického instrumentária určeného pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo* spočívá v tom, že řídicí jednotka 9 v předmětném zapojení klinického instrumentária uvádí v činnost jednotlivé generátory, tedy generátor 1 bezkontaktně aplikovaných indukovaných elektrických proudů vznikajících časově proměnnými magnetickými poli, dále generátor 3 laserového záření zajišťující působení energie laseru a rovněž generátor 2 ultrazvuku zajišťující působení energie ultrazvuku a zadává jejich parametry. Těmito parametry se míní jednak parametry týkající se špičkového výkonu indukovaných elektrických proudů, výkonu laseru a výkonu ultrazvuku, případně plošné hustoty tohoto výkonu. A dále pak frekvenčních parametrů těchto fyzikálních časově proměnných veličin, kterými se míní základní harmonická (sinusového průběhu) frekvence indukovaných elektrických proudů, ultrazvuku nebo elektromagnetického světelného záření laseru (zde se častěji uvádí vlnová délka). Tato základní harmonická frekvence je dána především konstrukcí jednotlivých generátorů, poněvadž se vždy z principu jedná o rezonanční frekvenci. Tato frekvence působí jen po určitý časový úsek – dobu paketu, přičemž tyto pakety se opakují s určitou periodou, tedy jim náleží frekvence pohybující se typicky v intervalu jednotek až desítek tisíc Hz. Toto podávání paketů fyzikální intervence probíhá po určitou dobu – doba aktivity

(typicky desítky ms až jednotky s), po které vždy následuje doba pauzy (typicky desítky ms až jednotky s). Součet doby aktivity a doby pauzy pak udává periodu pracovního cyklu aplikace fyzikální intervence.

5 Fyzikální intervence představovaná energií indukovaných elektrických proudů je na určenou léčenou tkáň 7 aplikována prostřednictvím cívky 12, s výhodou vinuté ze slané vodiče (licny), která má tvar v podobě pláště komolého rotačního paraboloidu, jehož konkávně prohnutá podstava 10 většího průměru je určena k přiložení k léčené tkáni, zatímco k podstavě 15 menšího průměru přiléhá základna 4 válcovitého tvaru, jak je patrné z obr. 3.

10 Fyzikální intervence ultrazvukového vlnění 26, jenž se šíří v léčené tkáni 7 je aplikována prostřednictvím ultrazvukového piezoelektrického měniče 22, který je standardně opatřen čtvrtvlnnou destičkou 23 a dále ultrazvukovou rozptylnou čočkou 24. Vytvářené ultrazvukové vlnění je pak vedeno impedančně přizpůsobeným biokompatibilním materiálem 25 na léčenou tkáň 7, přičemž impedančně přizpůsobené prostředí zasahuje i do štěrbin 8 mezi příložnou plochou aplikátoru 16 a povrchem léčené tkáně 7 a je vymezeno pláštěm 5 tvaru komolého kužele, jak je patrné z obr. 3.

20 Fyzikální intervence emitovaného laserového záření 33, jak je patrné z obr. 3, se šíří v léčené tkáni 7, přičemž laserové záření 33 je aplikováno prostřednictvím emitorů 32 laserového záření, kterými mohou být samostatné polovodičové lasery nebo zakončení jednotlivých optických vláken nebo svazků vláken společného optického svazkového vodiče, spojující generátor 3 laserového záření 33 a přizpůsobovací člen 31.

25 Průmyslová využitelnost

Klinické instrumentarium pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo* lze využít pro možnosti stimulace nativních mezenchymálních stromálních buněk, nacházejících se přímo v lidském těle, za pomoci fyzikálních energií indukovaných elektrických proudů, ultrazvukového vlnění a laserového záření, aplikovaných na tělo léčeného pacienta z klinického instrumentária, s cílem podpořit produkci endogenních regenerativních, protizánětlivých a imunomodulačních látek produkovaných *in vivo* nativními mezenchymálními kmenovými buňkami. Klinické instrumentarium je průmyslově vyrobitelné a klinicky využitelné.

NÁROKY NA OCHRANU

1. Klinické instrumentárium pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*, zahrnující řídicí jednotku (9) připojenou na generátor (1) bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů, generátor (2) ultrazvuku a generátor (3) laserového záření, **vyznačující se tím**, že opatřeno válcovitou základnou (4), v níž jsou uspořádány přizpůsobovací člen (11) elektrických proudů, přizpůsobovací člen ultrazvuku (21) a přizpůsobovací člen (31) laseru, kde přizpůsobovací člen (11) elektrických proudů je připojen na cívku (12) a generátor (1) elektrických proudů, kde přizpůsobovací člen ultrazvuku (21) je připojen na generátor (2) ultrazvuku a na ultrazvukový piezoelektrický měnič (22), jenž přiléhá k čtvrtvlnné destičce (23), která je ve spojení s ultrazvukovou rozptylnou čočkou (24), kde přizpůsobovací člen (31) laseru je připojen na generátor (3) laserového záření a na emitory (32) laserového záření, které jsou uspořádány po obvodu vnějšího průměru pláště (5) ve tvaru komolého kužele, který je upevněn k základně (4), přičemž prostor (6) mezi cívkou (12) a pláštěm (5) je vyplněn biokompatibilním materiálem (61), zatímco prostor uvnitř pláště (5) je vyplněn biokompatibilním materiálem (25), jehož akustická impedance je v intervalu 1 až 3 MPa.s.m⁻¹, přičemž tento biokompatibilní materiál (25) je na kontaktních plochách s léčenou tkání (7) opatřen ultrazvukovým gelem.

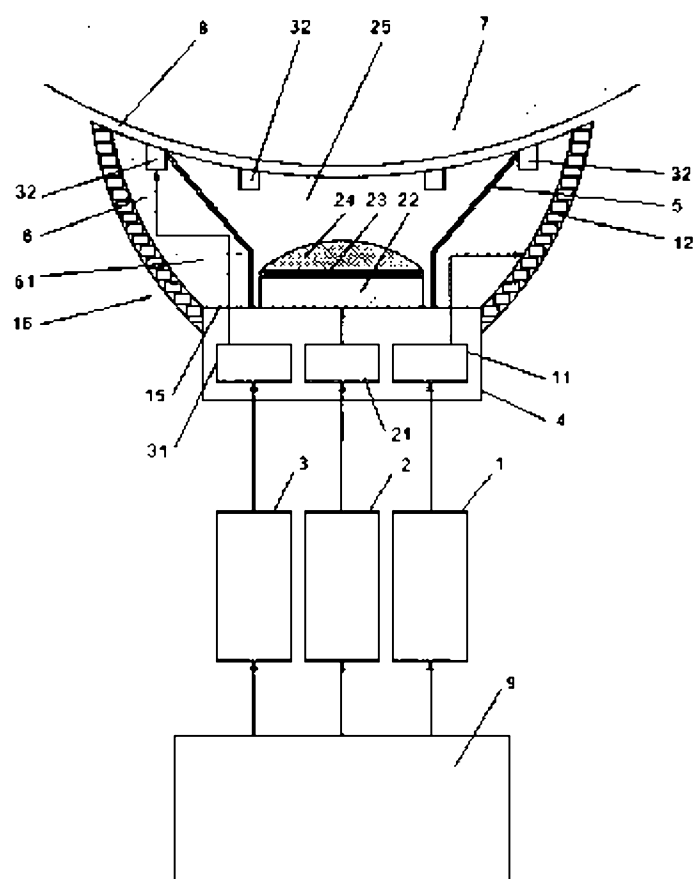
2. Klinické instrumentárium pro podporu hojení a regenerace tkání prostřednictvím mechanismu stimulace mezenchymálních stromálních buněk *in vivo*, podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že vinutí cívky (12) má podobu pláště komolého rotačního paraboloidu, jehož podstava většího průměru (10) je konkávně prohnutá a je určena k přiložení k léčené tkáni (7), zatímco k podstavě (15) menšího průměru přiléhá válcovitá základna (4).

4 výkresy

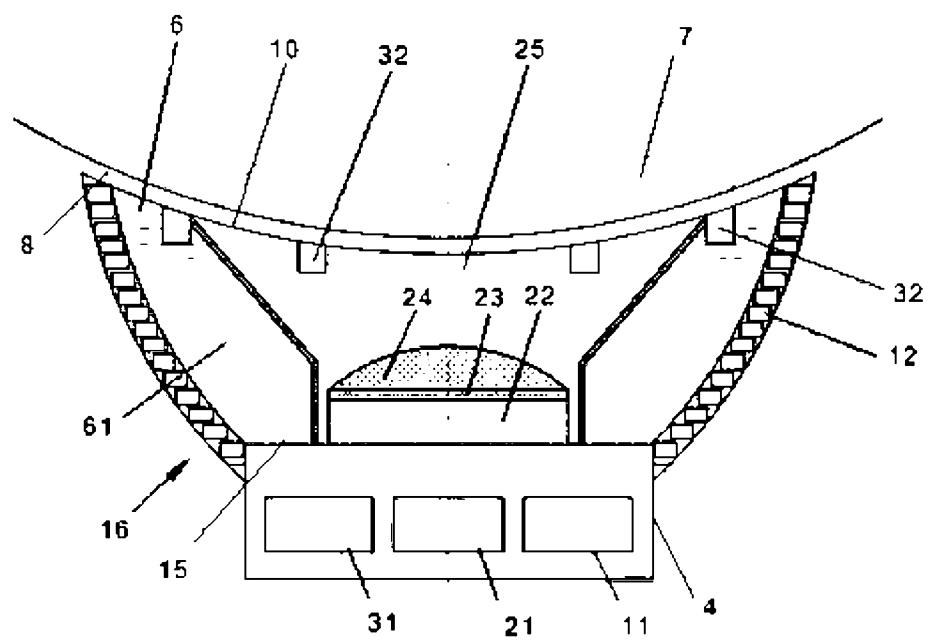
Seznam vztahových značek:

- 1 - generátor bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů
- 11 - přizpůsobovací člen bezkontaktně aplikovaných elektrických proudů
- 12 - cívka
- 13 - časově proměnné magnetické pole
- 14 - indukované elektrické proudy
- 2 - generátor ultrazvuku
- 21 - přizpůsobovací člen ultrazvuku
- 22 - ultrazvukový piezoelektrický měnič
- 23 - čtvrtvlnná destička
- 24 - ultrazvuková rozptylná čočka
- 25 - biokompatibilní materiál
- 26 - ultrazvukové vlnění
- 3 - generátor laserového záření
- 31 - přizpůsobovací člen laseru
- 32 - emitory laserového záření
- 33 - emitované laserové záření
- 4 - základna
- 5 - plášť ve tvaru komolého kužele
- 6 - vnitřní prostor
- 61 - biokompatibilní materiál
- 7 - léčená tkáň

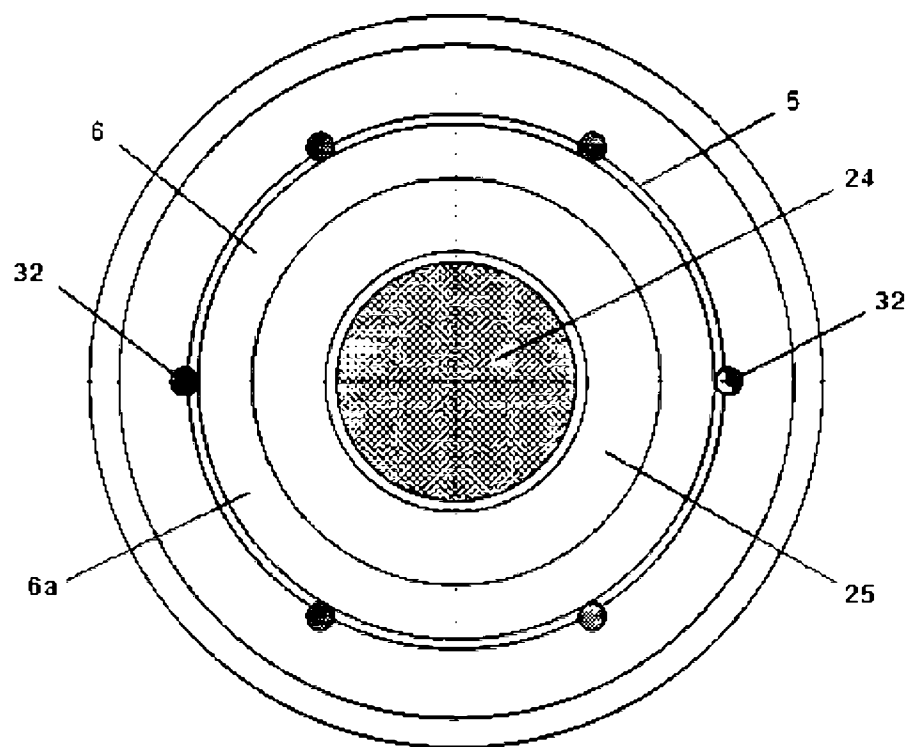
- 9 - řídicí jednotka
- 10 - podstava většího průměru
- 15 - podstava menšího průměru
- 16 - aplikátor instrumentária



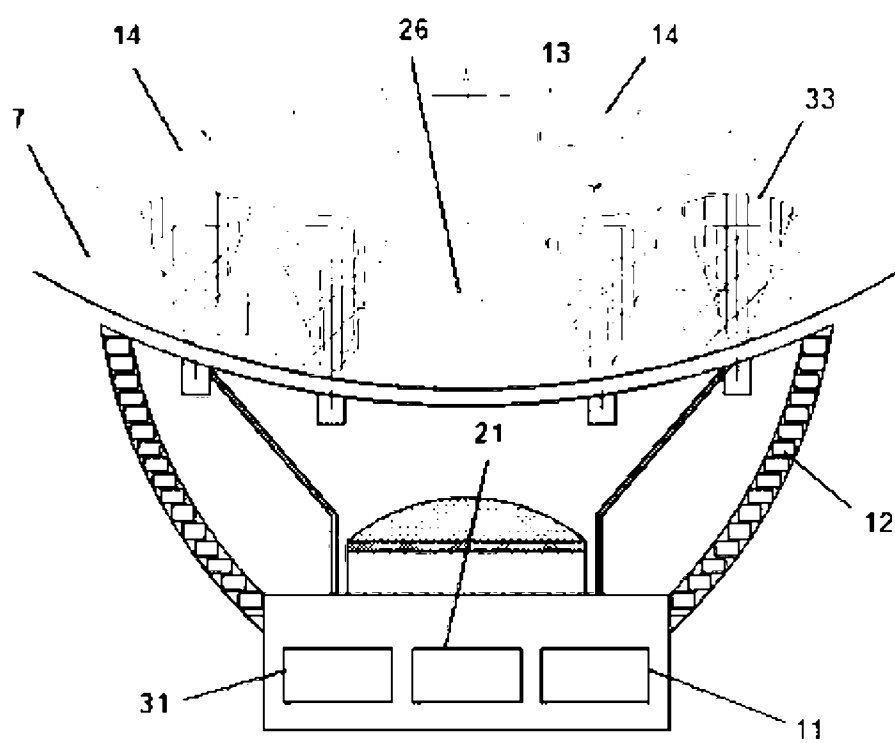
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 2a



Obr. 3