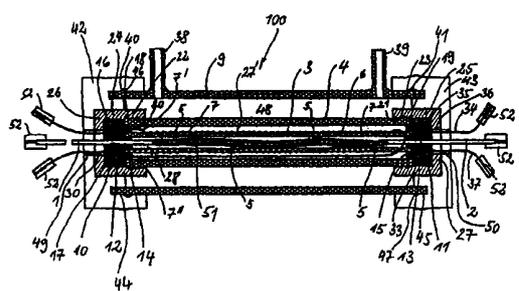


<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : B01F 9/00, A61F 2/06, C12M 3/04</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/64569</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 2. November 2000 (02.11.00)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/03420</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 14. April 2000 (14.04.00)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 199 18 558.1 23. April 1999 (23.04.99) DE 199 38 518.1 13. August 1999 (13.08.99) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): VASCULAR BIOTECH GMBH [DE/DE]; Blumenstrasse 1, D-80331 München (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): NEES, Stephan [DE/DE]; Waldwiesenstrasse 30b, D-81375 München (DE). LAMM, Peter [DE/DE]; Rebhuhnweg 24a, D-82256 Fürstenfeldbruck (DE). JUCHEM, Gerd [DE/DE]; Boschetrieder Strasse 61a, D-81379 München (DE).</p> <p>(74) Anwälte: HAFT, UWE, M. usw.; Haft, Von Puttkamer, Berngruber, Czybulka, Karakatsanis, Franziskanerstrasse 38, D-81669 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>
<p>(54) Title: TISSUE CULTURE SYSTEM FOR THE EPITHELIALIZATION OR ENTOTHELIALIZATION AND FOR FUNCTIONALLY TESTING AND SUPPLYING NATURAL OR ARTIFICIAL HOLLOW ORGANS OR VESSELS UNDER CONTROLLED STERILE CONDITIONS FOR THE PURPOSE OF SURGICAL IMPLANTATIONS</p>		
<p>(54) Bezeichnung: GEWEBEKULTURSYSTEM ZUR EPITHELIALISIERUNG BZW. ENDOTHELIALISIERUNG UND ZUR FUNKTIONELLEN UNTERSUCHUNG UND ANLIEFERUNG NATÜRLICHER ODER KÜNSTLICHER HOHLORGANE BZW. GEFÄSSE UNTER KONTROLLIERBAREN STERILBEDINGUNGEN FÜR CHIRURGISCHE IMPLANTATIONSZWECKE</p>		
<p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a tissue culture system for functionally testing natural or artificial hollow organs. A hollow organ (51) is located in a first tube (3), with a respective end of the hollow organ (51) being connectable to a cannula (1, 2) that is branched off from one end of the tube (3) in a tight manner. Said first tube (3) is located within a second tube (4). Said first tube (3) has holes (5) that link the space (28) that is enclosed by the first tube (3) with the chamber (77) between the first and the second tube. A gas-permeable duct (7) runs alongside the outer periphery of the first tube (3). The end sections (7', 7'') of said duct emerge from the chamber (77) in a gas-tight manner. A serum can be filled into the blood vessel (51) by means of a cannula (1) and the suspended cells of the patient can be injected in a predetermined concentration. A culture medium is filled into the chamber (77) and via the holes (5) into the space (28). The injected, suspended cells are removed and a culture medium is introduced into the blood vessel (51) that remains during the growth of the cells that are sedimented on the wall of the vessel while a hydrostatic excess pressure is maintained.</p> <div data-bbox="909 1377 1428 1668" style="text-align: right;">  </div>		

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Gewebekultursystem zur funktionellen Untersuchung natürlicher oder künstlicher Hohlorgane. Ein Hohlorgan (51) ist in einem ersten Rohr (3) anordenbar, wobei jeweils ein Ende des Hohlorganes (51) mit einer aus einer Seite des Rohres (3) dicht herausführbaren Kanüle (1, 2) verbindbar ist. Das erste Rohr (3) ist in einem zweiten Rohr (4) angeordnet. Das erste Rohr (3) weist Löcher (5) auf, die Verbindungen zwischen dem vom ersten Rohr (3) umschlossenen Raum (28) zu der Kammer (77) zwischen dem ersten und zweiten Rohr herstellen. Um den Aussenumfang des ersten Rohres (3) herum verläuft eine gasdurchlässige Leitung (7), deren Endbereiche (7', 7'') dicht aus der Kammer (77) herausgeführt sind. Durch eine Kanüle (1) ist in das Blutgefäss (51) ein Serum einfüllbar und sind suspendierte Zellen des Patienten in vorgegebener Konzentration injizierbar. In die Kammer (77) und über die Löcher (5) in den Raum (28) ist ein Kulturmedium einfüllbar. Nach dem Entfernen der injizierten, suspendierten Zellen ist ein Kulturmedium in das Blutgefäss (51) einbringbar, das während des Wachstums von an der Gefässwand sedimentierten Zellen unter hydrostatischem Überdruck verbleibt.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

5

Gewebekultursystem zur Epithelialisierung bzw. Endothelialisierung und zur funktionellen Untersuchung und Anlieferung natürlicher oder künstlicher Hohlgorgane bzw. Gefäße unter kontrollierbaren Sterilbedingungen für chirurgische Implantationszwecke

10

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Gewebekultursystem zur Epithelialisierung bzw. Endothelialisierung und zur funktionellen Untersuchung und Anlieferung natürlicher oder künstlicher Hohlgorgane bzw. Gefäße unter kontrollierbaren Sterilbedingungen für chirurgische Implantationszwecke nach dem Oberbegriff des Patentanspruches 1.

20

Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung eine Beschichtungseinrichtung zur sterilen Aussaat, Kultivation, Funktionskontrolle und Anlieferung von Endothelzellen in natürlichen oder künstlichen Gefäßzylindern- insbesondere in kryopräservierten und vorher deendothelialisierten Blutgefäßen- sowie deren Anlieferung zum Zwecke der chirurgischen Transplantation bzw. Implantation.

25

Hintergrund der Erfindung

30

Der Einsatz eines funktionsfähigen Blutgefäßersatzes spielt in allen chirurgischen Therapiebereichen eine immer größere Rolle. Besonders häufig wird der arterielle Gefäßersatz im kardiochirurgischen Bereich praktiziert. Beispielsweise erfolgt dies bei den sogenannten "Bypass-Operationen". Wenn es irgendwie möglich ist, wird im Primärfall versucht, die Patienten unter Verwendung von autologem Gefäßmaterial, also zum Beispiel durch herauspräparierte Segmente von Gefäßen (Vena saphena magna, Vena saphena parva oder Arteria mammaria interna) zu behan-

40

5 deln, deren Funktion im Entnahmebereich weitgehend von
kommunizierenden, verbleibenden Gefäßen übernommen werden
kann. Die Situation entwickelt sich allerdings im Einzel-
fall dann schwierig, wenn solche Gefäße auf Grund einer
ungenügenden Qualität (z. B. bei Varikosis oder Arterios-
10 klerose) nicht verwendet werden können. Auf jeden Fall
ergibt sich ein Engpaß in der chirurgischen Gefäßversor-
gung aber bei der zunehmenden Zahl aortokoronarer Reope-
rationen vor dem Hintergrund des früher bei demselben Pa-
tienten schon einmal stattgefundenen Verbrauchs von auto-
15 logem Gefäßmaterial. Die Gewinnung weiterer körpereigener
Venen oder Arterien, wie zum Beispiel der Arteria ga-
stroepiploica oder der Arteria radialis ist für den Pati-
enten sehr aufwendig und risikvoll, und kommt daher nur
selten in Frage.

20

Aus diesem Grunde gibt es deshalb meist nur die Alterna-
tive des prosthetischen Gefäßersatzes. Hierfür standen im
Prinzip zunächst nur flexible Röhren aus biologisch iner-
tem Kunststoff (wie z. B. Teflon) zur Verfügung, deren
25 Einsatz vor allem am Herzen auf Grund einer hohen Ober-
flächenthrombogenität allerdings nur wenig erfolgreich war.
Bereits vor 20 Jahren wurden daher Versuche unternommen,
durch kryopräservierte (d. h. in flüssigem Stickstoff bis
zum Bedarfsfall eingefrorene) Spendervenen die Lücke bei
30 dem erforderlichen Bypassmaterial zu schließen. Die Er-
gebnisse nach der Implantation sind jedoch ernüchternd,
weil immer noch viele der bisher eingesetzten Gefäßpro-
thesen auch dieser Art schon bald im Patienten thrombo-
sierten. Dennoch sind diese "kryopräservierten Allo-
35 grafts" nach dem fehlgeschlagenen Versuch eines autologen
Gefäßersatzes notgedrungenermaßen bis heute das geeignete
Mittel der Wahl für aortokoronare Bypass-Reoperationen
bzw. bei primären Bypass-Patienten ohne ausreichendes au-
tologes Gefäßmaterial.

40

5 Ein vielversprechender Ausweg bietet sich dadurch an, daß
man chirurgische Gefäßprothesen vor ihrer Implantation
mit vaskulärem Endothel auskleidet, das zur Vermeidung
immunologischer Abstoßungsreaktionen allerdings vom Pati-
enten selbst stammen muß, sogenanntes 'autologes En-
10 dothel' (Lamm P., Juchem G., Weyrich P., Nees S., Reichart
B.: New alternative coronary bypass graft: First clinical
experience with an autologous endothelialized cryopreser-
ved allograft. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. (1999), 117
(6): 1217-1219). Vaskuläres Endothel begründet durch ak-
15 tive Entfaltung zahlreicher antiaggregatorischer, anti-
koagulatorischer und profibrinolytischer Aktivitäten die
schon lange bekannte, heute aber auch detailliert erklär-
bare Antithrombogenität aller gesunden Gefäßwände im
Herz- und Kreislaufsystem.

20

Die enzymatische Isolierung vaskulärer Endothelzellen
auch aus menschlichen Blutgefäßen ist heute standardmäßig
durchführbar. Eine gleichmäßige Aussaat dieser Zellen in
fibrinbeschichteten PTFE - Prothesen wurde durch Rotation
25 eines mit der Zellsuspension gefüllten Gefäßes um seine
longitudinale Achse erreicht. Nach etwa 3 Stunden erfolgt
die Entnahme der mit den adhärent gewordenen Endothelzel-
len besiedelten Gefäße und ihre Überführung in spezielle
Kultivationsgefäße. Das Auswachsen der Endothelzellen bis
30 zur kontinuierlichen Auskleidung der Gefäße ("Kultivation
bis zur Konfluenz") wird in herkömmlichen Brutschränken
bei 37°C in gesättigter Wasserdampfatosphäre erreicht.

Dieses Verfahren wurde auch schon erfolgreich zur autolo-
35 gen Endotheliasierung kryopräservierter und zuerst von
ihrem nativen Endothel befreiter Venen eingesetzt, wobei
die Kultivationsphase unter ständiger Überdruckperfusion
der mit Endothelzellen besiedelten Venen verlief (s. oben
zitierte Publikation).

40

5 Bei allen bislang bekannten Verfahren besteht das prinzi-
pielle Problem, daß die zu endothelialisierenden Blutge-
fäße zum Zwecke ihrer Vorbereitung, zur Aussaat der En-
dothelzellen für den Kultivationsprozeß und für den Qua-
litätsnachweis des schließlich erhaltenen Gefäßpräparates
10 mehrfach umgelagert und neu montiert werden müssen. Abge-
sehen von der Gefahr einer erheblichen mechanischen Schä-
digung der empfindlichen Prothesen, zum Beispiel durch
Kollabieren und durch Reibungseffekte vor allem im Be-
reich der Innenwand, steht die unter diesen Bedingungen
15 unvermeidlich hohe mikrobielle Kontaminationsgefahr einer
verantwortlichen klinischen Nutzung solcher Präparate
entgegen. Aus analogen Gesichtspunkten ist auch die Kul-
tivation der Gefäße für den medizinischen Einsatz in her-
kömmlichen Brutschränken problematisch, ganz abgesehen
20 davon, daß bei einer Serienproduktion endothelialisierter
Gefäße wegen des großen Platz- und ständigen Umrüstungs-
bedarfes sehr viele Brutschränke, sterile Arbeitsbänke
und große Zellkulturräume nötig wären. Weiterhin ist eine
akzeptierbare Qualitätskontrolle der endothelialisierten
25 Gefäße nur möglich, wenn das Produkt unmittelbar vor sei-
ner Implantation in den Patienten in möglichst derselben
geometrischen Ausrichtung überprüft wird, in der es
schließlich auch eingenäht wird. Es kommt hinzu, daß die
bisherigen logistischen Maßnahmen für diesen Gefäßersatz
30 auch keinerlei Sorge dafür tragen, wie die endotheliali-
sierte Prothese über teilweise weite Strecken am sicher-
sten und schonendsten in den Operationsraum zu befördern
ist.

35 Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht daher dar-
in, eine Beschichtungseinrichtung für eine praktikable
Endothelialisierung bzw. Epithelialisierung von Hohlorga-
nen, insbesondere von Blutgefäßprothesen zu schaffen, die
eine praktikable und qualitativ akzeptable Beschichtung
40 von Gefäßen mit Endothel- bzw. Epithelzellen ermöglicht

5 und für den Betrieb in handelsüblichen Sterilbänken und
Isolatoren geeignet ist, um die aufwendige und teure In-
betriebnahme von Reinst-Räumen umgehen zu können. Außer-
dem sollte das Problem der sterilen Transportierbarkeit
der fertigen endothelialisierten Prothesenprodukte bis in
10 den Operationsraum und das der dortigen sterilen Entnahme
gelöst werden.

Diese Aufgabe wird durch eine Beschichtungseinrichtung
mit den Merkmalen des Patentanspruches 1 gelöst.

15 Die erfindungsgemäße Beschichtungseinrichtung sieht kon-
zentrische Beschichtungskompartimente bzw. Beschichtungs-
kammern vor, in deren zentralem Innenbereich biologisch
zu beschichtende, natürliche oder nicht natürliche Hoh-
20 lorgane gelagert und fixiert werden können. Bevorzugte
Hohlorgane weisen an ihrer inneren Oberfläche bzw. an der
luminalen Oberfläche keine Auskleidung mehr mit Epithel
oder Endothel des Spenders auf. Eine besonders gestaltete
Ausführungsform der vorliegenden Erfindung zielt auf sol-
25 che Blutgefäße und ihre Klappen ab, die dann mit patienten-
autologem Endothel ausgekleidet werden.

Diese Beschichtungseinrichtung mit den betriebsbereiten
Beschichtungskammern besteht aus einem nicht toxischen
30 Werkstoffen, die in übersättigtem Wasserdampf ausreichen-
de Zeiten lang bei 127° C autoklaviert werden können. Auf
diese Weise läßt sich eine vollkommene Sterilisation er-
reichen.

35 Ein weiterer Vorteil der vorliegenden Erfindung besteht
darin, daß diese Beschichtungseinrichtung mit den Be-
schichtungskammern fest auf einer speziellen Rotations-
einrichtung gelagert und durch diese in Drehung versetzt
werden können.

5 Die sterilen Beschichtungskammern der erfindungsgemäßen
Beschichtungseinrichtung lassen über entsprechende Kanü-
len, Schläuche und 3-Wege-Ventile einen ständigen Zugang
in den Innen- und Außenraum der Hohlorgane zu. Durch ein-
faches Umschalten der Zugangswege zu den entsprechenden
10 Versorgungsgefäßen lassen sich im Zusammenhang mit der
wahlweise einschaltbaren Rotationseinrichtung sämtliche
Vorarbeiten, Aussaatmaßnahmen, Kultivationszwecke und die
Durchführung exakter und zuverlässiger Qualitätskontrol-
len vornehmen, ohne daß das zentral gelagerte Hohlorgan
15 zwischenzeitlich aus der Beschichtungseinrichtung heraus-
genommen werden muß. Dadurch ergibt sich vorteilhafter-
weise ein erheblich geringeres Kontaminationsrisiko. Die
qualitative Sorgfaltspflicht wird erfüllt.

20 Darüber hinaus wird das Kontaminationsrisiko bei einer
bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung auch dadurch er-
heblich verringert, daß die notwendigerweise bei 37° C
stattfindende Aussaat und Kultivierung der Epithel- bzw.
Endothelzellen nicht in herkömmlichen Brutschränken
25 stattfindet, sondern unter Temperierung durch einen eige-
nen Flüssigkeitswärmemantel in einer Temperiereinrichtung
erfolgen kann. Als Temperierflüssigkeiten werden erfin-
dungsgemäß desinfizierende Lösungen ausgewählt, die in
einem geschlossenen Temperierkreislauf umgewälzt werden.

30 Ein weiterer wesentlicher Vorteil dieser Ausgestaltung
der vorliegenden Erfindung besteht darin, daß zur Tempe-
rierung der Beschichtungskammern nur ein verhältnismäßig
geringer technischer und räumlicher Aufwand erforderlich
35 ist. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, sehr viele Be-
schichtungskammern gleichzeitig oder auch zeitlich ver-
setzt auf engstem Raum, vorzugsweise in einer sterilen
Arbeitsbank, in normaler Luftatmosphäre nebeneinander zu
betreiben.

5 Die erfindungsgemäße Konstruktion der Beschichtungskammer
umfaßt auch die Möglichkeit eines konstanten Atemgasaus-
tausches der wachsenden Zellen unter Konstanthaltung des
pH-Wertes im Wachstumsmedium ohne größeren apparativen
Aufwand.

10

Durch die erfindungsgemäße Beschichtungseinrichtung wird
es vorteilhafter Weise ermöglicht, daß das in der zentra-
len Beschichtungskammer eingekapselte Hohlorgan unter
Wahrung strikt aseptischer Kautelen unproblematisch aus
15 der vorliegenden Beschichtungseinrichtung entnommen wer-
den kann. Außerdem wird vorher auch der sterile Transport
über weite Strecken bis zum Operationsraum ermöglicht.
Dort läßt sich das fertige und zuvor funktionell über-
prüfte Hohlorgan auf einfache Weise steril entnehmen und
20 anschließend sofort implantieren.

Die Erfindung kann bei allen künstlichen und natürlichen
Hohlorganen und deren Bestandteilen vorteilhaft angewen-
det werden, beispielsweise bei natürlichen Blutgefäßen
25 und ihren Klappen, Lymphgefäßen und ihren Klappen, Harn-
leitern, Samenleitern, Bronchien, Gallengängen, Darmab-
schnitten und bei jeglichem prosthetischen Ersatz solcher
Hohlorgane.

30 Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung gehen aus den
Unteransprüchen hervor.

Im folgenden werden die Erfindungen deren Ausgestaltungen
im Zusammenhang mit den Figuren näher erläutert. Das zei-
35 gen:

Fig. 1a ein erfindungsgemäßes Gewebekultursystem zur
Endothelialisierung von Blutgefäßprothesen;

Fig. 1b eine besonders erfindungsgerechte Gestaltung

der Abkapselung der über Kanülen versorgten Prothesen mittels spezieller Verschlusskappen;

Fig. 2 eine schematische Darstellung der Integration der erfindungsgemäßen Einrichtung in ein Gesamtsystem;

Fig. 3 in schematischer Darstellung den Aufbau einer einfachen Rotationsanordnung;

Fig. 4 eine schematische Darstellung zur Erläuterung der bevorzugten Temperierung der erfindungsgemäßen Einrichtung im geschlossenen Umwälzkreislauf, und

Fig. 5 eine Weiterbildung der Erfindung.

5

Gemäß Figur 1a umfaßt das vorliegende Gewebekultursystem 100 im wesentlichen eine erste Kanüle 1 und eine zweite Kanüle 2, die vorzugsweise aus Stahl bestehen, ein erstes Rohr 3, ein zweites Rohr 4 und ein Außenrohr 9.

Die Stahlkanülen 1 und 2 verlaufen von außen jeweils in eines der Enden des ersten Rohres 3 hinein und sind in diesem in der Längsrichtung des ersten Rohres 3 von einander beabstandet. Die Kanülen 1 und 2 sind vorzugsweise zweigeteilt, wobei die beiden Teile 1', 1'' jeweils ineinander verschraubbar sind (Fig. 1b). Die zugehörigen Kanülen-Verbindungsstellen werden im Bereich der Quetschdichtung 10 bzw. 11 positioniert und durch diese zirkumferent abgedichtet. Außerdem besitzt auch das aus der Dichtung 10 nach außen ragende Ende der Kanüle 1 bzw.

5 des Teiles 1' ein Schraubgewinde, über das eine Verlängerungskanüle desselben Außendurchmessers angesetzt werden kann, das bei der späteren Einbringung der zu beschichtenden Prothese in das Lumen des Rohres 3 durch das Loch der Quetschdichtung 10 gefädelt wird und dann das Einziehen der an Kanüle 1 fixierten Prothese in das Rohr 3 ermöglicht. Danach wird das Kanülenverlängerungsstück wieder entfernt (siehe hierzu und zu weiteren Details, die noch beschrieben werden Fig. 1b). Vorzugsweise besteht das erste Rohr 3 aus Polycarbonat oder Glas. In dem ersten Rohr 3 sind in einer bewährten Ausführung vier longitudinal verlaufende Reihen mit Löchern angeordnet, die jeweils um 90° gegeneinander in der Umfangsrichtung des ersten Rohres 3 versetzt sind und einen Abstand von ca. 15 mm aufweisen. Die Löcher 5 weisen vorzugsweise jeweils einen Durchmesser von etwa 2 mm auf. In seinem Außenumfang besitzt das erste Rohr 3 eine von der einen Seite des ersten Rohres 3 zur anderen Seite desselben verlaufende schraubenförmige Nut 6, die zur Aufnahme einer dünnwandigen, kleinlumigen Leitung 7 dient, die um das erste Rohr 3 herumgewickelt ist. Die Leitung 7 besteht vorzugsweise aus Teflon. Ihr Durchmesser beträgt etwa 1 - 1,5 mm. Die Wandstärke der Leitung 7 beträgt etwa 0,1 - 0,2 mm.

30 An jeder Seite des ersten Rohres 3 befindet sich vorzugsweise eine aus Silikon-Kautschuk bestehende Quetschdichtung 10, 11, wobei die Kanüle 1 bzw. 2 durch eine mittlere Bohrung 12 bzw. 13 der Quetschdichtungen 10 bzw. 11 verläuft und der jeweilige Endbereich des ersten Rohres 3 in eine ringförmige Nut 14 bzw. 15 eingesetzt ist, die sich in der dem Rohr 3 zugewandten Seite der jeweiligen Quetschdichtung befindet. Auf diese Weise wird das erste Rohr 3 konzentrisch zu den Kanülen 1 und 2 gehalten. Vorzugsweise bestehen die Quetschdichtungen 10 bzw. 11 aus einem aus 2 Komponenten zusammengesetzten, zunächst zäh-

5 flüssigen Silikon-Kautschuk der Firma Wacker Chemie, Mün-
chen (Elastosil 4601 A bzw. B). Sie werden speziell ge-
gossen und heißpolymerisiert, sind biologisch absolut
inert und setzten keinerlei toxische Beimengungen frei.
Außerhalb der ringförmigen Nut 14 bzw. 15 weist die in
10 der Figur 1 linke Quetschdichtung 10 Durchgänge 16 bzw.
17 auf, durch die der eine Endbereich 7' der Leitung 7
bzw. der andere Endbereich 7'' der Leitung 7 hindurch ge-
führt sind.

15 Das erste Rohr 3 ist vorzugsweise konzentrisch in dem
zweiten, vorzugsweise aus Glas gefertigten Rohr 4 ange-
ordnet, das mit seinen Enden in eine ringförmige Nut 18
bzw. 19 der Quetschdichtung 10 bzw. 11 eingreift. An sei-
nen Endbereichen weist das zweite Rohr 4 außenseitig je-
20 weils ein Außengewinde 20 bzw. 21 auf, an dem das Innen-
gewinde 22 bzw. 23 eines kappenförmigen, autoklavierbaren
Schraubdeckels 24 bzw. 25 verschraubbar ist, wobei die
Quetschdichtungen 10 bzw. 11 zwischen der Endwand 26 bzw.
27 des Schraubdeckel 24 bzw. 25 und den jeweiligen Enden
25 des ersten Rohres 3 und des zweiten Rohres 4 zusammen ge-
quetscht werden, wobei die in die Nuten 14 bzw. 15 und 18
bzw. 19 eingreifenden Enden des ersten Rohres 3 und des
zweiten Rohres 4 abgedichtet werden, so daß die Beschich-
tungskammer 28, die den Innenraum des ersten Rohres 3 und
30 den Raum 27' zwischen dem ersten Rohr 3 und dem zweiten
Rohr 4 umfaßt, nach außen abgedichtet ist. Ebenso werden
beim Zusammendrücken der Quetschdichtungen 10, 11 die
Hindurchführungen der Endbereiche 7' und 7'' der Leitung
in den Durchgängen 16 und 17 der linken Quetschdichtung
35 10 abgedichtet. Die Stahlkanüle 1 und die Endbereiche 7',
7'' der Leitung 7 verlaufen durch eine Bohrung 30 in der
Endwand 26 des Schraubendeckels 24 nach außen.

Der Innenraum des ersten Rohres 3 bzw. die Beschichtungs-
40 kammer 28 steht über eine Schlauchleitung 34, die durch

5 einen Durchgang 35 der rechten Quetschdichtung 11 dicht hindurch geführt ist mit der Außenseite in Verbindung. Die Schlauchleitung 34 verläuft durch eine Bohrung 36 der Endwand 27 des rechten Schraubdeckels 25. In einer entsprechenden Weise verläuft eine Schlauchleitung 37 von
10 der Beschichtungskammer 27 durch einen Durchgang 33 der rechten Quetschdichtung 11 und die Bohrung 36 nach außen.

Eine besonders erfindungsgerecht ausgestaltete Konstruktion der beiden Quetschdichtungen 10 und 11 mit ihren Kanülen 1 bzw. 2 ergibt sich aus Fig. 1b, in der allerdings aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit die Schlauchleitungen 16 und 17 (der Quetschdichtung 10) bzw. 34 und 37 (der Quetschdichtung 11) weggelassen wurden. Dort sind auch die Mittel skizziert, mit denen es gelingt, die mit den Prothesenendstücken verbundenen Innenteile der zweiteiligen Kanülen 1 und 2 unter sterilen Kautelen von der Außenwelt abzuschirmen, obwohl es andererseits notwendig ist, die Prothesen von außen her zu versorgen, z. B. mit Nährmedium zu perfundieren. Zweckmäßigerweise werden die Quetschdichtungen 10 und 11 auf ihrer Außenoberfläche jeweils mit wenigstens einer das zentrale Kanülenführungsloch konzentrisch umlaufenden Dichtlippe 90 versehen, die mittels der Schraubdeckel 24 und 25 aufpressbare, stempelartige Stahlteile 91 mit Zentralbohrung 92 auf ihrer Auflagefläche zu den Dichtungen 10 bzw. 11 zu ihrer jeweils durchlaufenden Kanüle hin abdichten. Das zylinderartige Ende beider Stahlteile 91 ist mit einem Außengewinde 93 versehen, das das Aufschauben eines durchlochten, mit einer Silikondichtung 95 versehenen Deckels 94 ermöglicht, mit dessen Hilfe der zu den Dichtungen 10 bzw. 11 führende Teil der Kanülen 1 bzw. 2 zur Außenwelt hin abgeschirmt werden kann. Nach Beendigung der angestrebten Beschichtung der Prothese (siehe unten) können die Außenteile der Kanüle abgeschraubt werden und die im Bereich der Dichtungen 10 und 11 verblei-

15
20
25
30
35
40

5 benden Kanülenstücke 1'', 2'' mit der angehängten Prothe-
se durch Aufschrauben eines Abschlußdeckels 96 mit unge-
lochter Dichtung 97 am Ende der Stahlteile 91 für den
Transport steril verschlossen werden. Es wird darauf hin-
gewiesen, daß in Figur 1b nur die linke Seite mit den
10 Knületeilen 1' und 1'' dargestellt ist. Die rechte Seite
ist entsprechend ausgestaltet.

Konzentrisch zu der bisher beschriebenen Anordnung ist
das Außenrohr angeordnet, das vorzugsweise aus einem
15 Glasrohr besteht, das an jedem Endbereich einen Zugangs-
stutzen 38, 39 aufweist und jeweils einen diesem nach au-
ßen vorgelagerten ringförmigen Haltewulst 40 bzw. 41 an
der Außenfläche des Außenrohres 9 besitzt. Auf den kap-
penförmigen Schraubendeckel 24 und den kappenförmigen
20 Schraubendeckel 25, die in der beschriebenen Weise das er-
ste Rohr 3 und das zweite Rohr 4 halten, sind jeweils ein
Kappenteil 42 bzw. 43 aufgesetzt, wobei die Endbereiche
des Außenrohres 9 jeweils in eine ringförmige Nut 44 bzw.
45 des Kappenteiles 42 bzw. 43 eingreifen und die Halte-
25 wülste 40 bzw. 41 in entsprechende Vertiefungen 46 bzw.
47 der Kappenteile 42 bzw. 43 eingreifen. Auf diese Weise
wird das Außenrohr 9 durch die flexiblen und straff an
ihm aufsitzenden Kappenteile 42 und 43 konzentrisch zum
zweiten Rohr 4 gehalten, wobei der Raum 48 zwischen dem
30 zweiten Rohr 4 und dem Außenrohr 9 nach außen abgedichtet
ist.

Vorzugsweise bestehen auch die Kappenteile 42, 43 aus dem
oben bereits bezeichneten, speziell gegossenen und heiß-
35 polymerisierten 2-Komponenten Silikon-Kautschuk der Firma
Wacker Chemie, München.

Die Kanülen 1, 2 verlaufen durch Bohrungen 49 bzw. 50 des
linken bzw. rechten Kappenteiles 42 bzw. 43. Durch die
40 Bohrung 49 des linken Kappenteiles 42 verlaufen auch die

5 Endbereiche 7', 7'' des Schlauches 7 nach außen. Durch die Bohrung 50 des rechten Kappenteiles 43 verlaufen auch die Schlauchleitungen 34, 37 nach außen.

10 Zu seiner Endothelialisierung wird ein Blutgefäß 51 etwa mittig im ersten Rohr 3 angeordnet, wobei in die Enden des Blutgefäßes 51 die Kanülen 1 bzw. 2 hineinverlaufen. Zur Abdichtung werden die Enden des Blutgefäßes 51 auf den Endbereichen der Kanülen 1, 2 mit einem Faden fixiert.

15 In der aus der Figur 1 erkennbaren Weise befinden sich an den Enden der Kanülen 1, 2, den Enden der Endbereiche 7', 7'' des Schlauches 7 und den Enden der Schlauchleitungen 34, 37 Kupplungsstücke 52, die vorzugsweise ebenfalls aus dem bereits genannten 2-Komponenten Silikon-Kautschuk bestehen und zur dichten Verbindung mit in der Fig. 1 nicht
20 dargestellten, externen Verbindungsschläuchen dienen.

Auf Grund der Auswahl der oben beschriebenen Materialien
25 kann die gesamte vorliegende Einrichtung im gesättigten Wasserdampf bei einer Temperatur von 121 °C autoklaviert und dadurch absolut zuverlässig auch in allen Hohlräumen sterilisiert werden.

30 Gemäß Figur 2 wird die vorliegende Gewebekultureinrichtung 100 der Figur 1 mit verschiedenen Versorgungseinheiten verbunden. Einzelheiten der Figur 2, die bereits im Zusammenhang mit der Figur 1 erläutert wurden, sind in der entsprechenden Weise bezeichnet. Im linken Teil der
35 Figur 2 ist dargestellt, daß das Blutgefäß 51 über die Kanüle 1, 3-Wege-Ventile 53, 54, 55 und verschiedene Schlauchleitungen 56, 57, 58, 59 mit verschiedenen Lösungen kontaktiert werden kann: aus einem Gefäß 60 über die Leitung 59 mit Kulturmedium, über die Leitung 58 mit autologem Serum aus einem Gefäß 61, über die Leitung 57
40

5 auch noch mit anderen Lösungen bzw. Suspensionen. Die
gasdurchlässige Leitung 7 aus dünnwandigem Teflon gestat-
tet eine ausreichende Versorgung der Blutgefäßzellen im
sonst vollkommen geschlossenen System mit Sauerstoff und
sorgt, wegen der Beimischung von 5 % CO₂ in die durchge-
10 blasene atmosphärische Luft, für eine Konstanz des pH-
Wertes des im Inneren der Gewebekultureinrichtung verwen-
deten Bicarbonat-gepufferten Kulturmediums. Zu diesem
Zweck sind der Endbereich 7' der Leitung 7 mit einem Ga-
seinlaß 62 für atmosphärische Luft und 5% CO₂ und der End-
15 bereich 7'' der Leitung 7 mit einem Gasauslaß 63 verbun-
den.

Mit der Hilfe der Leitung 7 und bei entsprechender Schal-
tung der 3-Wege-Ventile 53, 54, 55 und weiterer, in der
20 Figur 2 rechts dargestellter 3-Wege-Ventile 64, 65, kann
auch der Außenraum des Blutgefäßes 51 über die
Schlauchleitung 56 bzw. 34 mit Kulturmedium versorgt wer-
den, wobei das Kulturmedium nach Durchgang durch die Be-
schichtungskammer 28 über die Schlauchleitung 37 und die
25 3-Wege-Ventile 64, 65 zu einem nicht dargestellten Ab-
tropfgefäß gegeben wird. Dies hat zum einen den Vorteil,
daß das labile, meist dünnwandige Blutgefäß 51 nicht mit
seinem ganzen Gewicht auf dem Unterstützungsrohr auf-
liegt, sondern im Kulturmedium schwimmt und daß zum ande-
30 ren bei Applikation eines geringen Überdrucks ($\Delta P = 10 -$
20 cm H₂O) zur Füllung und Perfusion des Blutgefäßes 51
mit Kulturmedium auch eine geringfügige transmurale Fil-
tration dieses Mediums durch die Wandschicht des Blutge-
fäßes 51 erfolgt, wenn der Weg für diese Filtratmenge
35 über die 3-Wege-Ventile 64, 65 zum Abtropfgefäß freigege-
ben wird. Dieses Vorgehen fördert den Stoffaustausch der
Wandzellen. Bei langfristiger Durchströmung (Perfusion)
des Blutgefäßes 51 mit dem - wegen der Zumischung von au-
tologem Patientenserum - wertvollen Kulturmedium emp-
40 fiehlt sich die Führung des aus der Kanüle 2 abtropfenden

5 Kulturmediums über ein weiteres 3-Wege-Ventil 66 unter der Kontrolle eines periodisch geöffneten Magnetventils 67 oder einer periodisch aktivierten, peristaltischen Schlauchpumpe.

10 Die Figur 3 zeigt die Seitenansicht des auf einer Rotations-einrichtung 68 positionierten vorliegenden Gewebekultursystems. Eine kontinuierliche und alternierend vorzugsweise mindestens 180° in die eine und dann mindestens 180° in die andere Richtung, 15 - 20 mal pro 1 Stunde rotierende Antriebswalze 69, zweckmäßigerweise mit einem Silikonüberzug, bewirkt eine passive Mitdrehung der Beschichtungseinrichtung. Die ebenfalls passiv mitdrehende Walze 70 dient zusammen mit der Antriebswalze 69 als Unterstützung für das Gewebekultursystem. Ein einfach zu arretierender, mit einem leicht drehbaren Rad 71 versehener Bügel 72 hält die Beschichtungseinrichtung vorzugsweise von oben her sicher zwischen den Walzen 69, 70. Die Längsdimensionierung der Walzen 69, 70 wird vorzugsweise so gewählt, daß sie - bei seitlicher Ansicht - zwischen den beiden Zugangsstutzen 38, 39 des Außenrohres 9 der vorliegenden Beschichtungseinrichtung liegt. Dadurch wird eine Bruchgefahr der Zugangsstutzen 38, 39 ausgeschlossen.

30 Im Zusammenhang mit der Figur 4 wird nun die bevorzugte Temperierung der vorliegenden Beschichtungseinrichtung im Umwälzprinzip erläutert. Da die Temperierflüssigkeit gleichzeitig auch desinfizierende Eigenschaften haben soll und deswegen möglicherweise auch organische Lösungsmittel (z. B. Äthanol) enthält, erfolgt die Umwälzung zweckmäßigerweise im geschlossenen System. Die Temperiereinrichtung 73 weist zwei über eine zwischengeschaltete Wärmeaustauscherspirale 74 und den Raum 67 zwischen dem Rohr 4 und dem Außenrohr 9 in Serie geschaltete Vorratsflächen 75, 76 auf. Vorratsflasche 75 befindet sich

40

5 zusammen mit der Wärmeaustauscherspirale 74 im 37°C-
warmen Temperierbad bzw. Wasser eines standardmäßigen Um-
wälzthermostaten. Vorratsflasche 76 wird über einen eige-
nen Wärmemantel 77 mit dem umgepumpten Temperierwasser
auf 37° C vorerwärmt. Die in den Vorratsflaschen und im
10 Wärmemantel der Endothelialisierungseinheit befindlichen
Flüssigkeiten kommunizieren über die Schlauchleitungen
78, 79, die Gasräume 80,81 der beiden Flaschen 75, 76 da-
gegen über den Luftaustauscherschlauch 82.

15 Wird nun die Vorratsflasche 76 mit der Hilfe einer mög-
lichst einfach gestalteten mechanischen Vorrichtung
(nicht dargestellt) alternierend vom Niveau II auf das
Niveau I gehoben bzw. wieder auf das Niveau II gesenkt
usw. kommt es zu entsprechenden Ausgleichsströmungen von
20 Temperierungsflüssigkeiten in den Leitungen 77, 78 bzw.
81 und damit zur gleichmäßigen Temperierung des Gewebe-
kultursystems bzw. des darin positionierten Blutgefäßes
51. Zweckmäßigerweise wird dieses Temperiersystem seit-
lich außerhalb der zur Abschirmung der Beschichtungsein-
25 heit eingesetzten sterilen Arbeitsbank montiert und nur
über die Schläuche 77 und 78 mit deren Innenraum verbun-
den.

Die beschriebene Beschichtungseinrichtung läßt sich in
30 vorteilhafter Weise auf engstem Raum auch zur Serienbe-
schichtung mehrerer Blutgefäße gleichzeitig einsetzen,
wenn entsprechend viele Gewebekultursysteme auf ihren in-
dividuellem oder in Serie geschalteten Rotationseinrich-
tungen 68 nebeneinander angeordnet und mit Temperierflüs-
35 sigkeit versorgt werden. Teure Brutschränke entfallen,
der Platzbedarf ist relativ gering.

Im folgenden wird die Funktion der erfindungsgemäßen Ein-
richtung an Hand der autologen Endothelialisierung einer
40 kryopräservierten Vene eines Patienten erläutert.

5

Die Kryopräservierung, das Auftauen und die Deendothelialisierung der Vene, sowie die Isolierung vom autologem Serum bzw. autologem Endothelzellen und deren Kultivierung erfolgt vor der eigentlichen Endothelialisierung aufgrund in der Fachliteratur publizierter Methoden.

10

Zum besseren Verständnis aller im folgenden beschriebenen Vorgänge wird auf die Figuren 1 bis 4 Bezug genommen.

15

Die Autoklavierung des Außenrohres 9 der vorliegenden Beschichtungseinrichtung mit den aufgesetzten Kappenteilen 42, 43 erfolgt getrennt von der über die Quetschdichtungen 10, 11 bzw. die Schraubdeckel 24, 25 zusammengehaltenen Rohre 3, 4. In die entsprechend Fig. 1b gestalteten Quetschdichtungen 10, 11 werden zuvor auch die Endbereiche 7', 7'' der Leitung 7 bzw. die Schlauchleitungen 35, 37 eingefädelt und mit ihren Kupplungen 52 versehen.

20

Nach dem Abkühlen der Teile der vorliegenden Beschichtungseinrichtung wird eine aufgetaute und von ihrem nativen Endothel befreite (deendothelialisierte) Spendervene an ihren Enden mit den zweiteiligen Kanülen 1, 2 (s. Fig. 1b) verbunden. Danach wird das separat autoklavierte Rohrsystem aus den Rohren 3 und 4 vom rechten Ende her durch Aufdrehen des Schraubendeckels 25 mit dem eingelegten Stahlteil (vgl. Fig. 1b) und Entfernen der Quetschdichtung 11 geöffnet. Anschließend wird die an die zweiteilige Kanüle 1 angeschraubte Verlängerungskanüle (vgl. Fig 1b und Text der gerätetechnischen Beschreibung auf Seiten 9 bzw. 11/12) durch die entsprechende Bohrung 12 der gegenüberliegenden Quetschdichtung 10 bzw. die Bohrung 30 des Schraubendeckels 24 geführt. Diese Maßnahme wird durch leichtes Aufdrehen des Schraubendeckels 24 mit eingelegtem Stahlteil erleichtert, damit sich die Quetschdichtung 10 entspannen kann. Auf diese Weise kommt

30

35

40

5 das Blutgefäß 51 schließlich in seiner ganzen Länge aus-
gestreckt im Inneren des ersten Rohres 3 zu liegen und
die rechte, zweiteilige Kanüle 2 kann nun durch die zen-
trale Bohrung 13 der zuvor abgenommenen, aber schon posi-
tionierten Quetschdichtung 11 und die Bohrung 36 des
10 Schraubdeckels 25 eingeführt werden. Nun ist der Ver-
schluß des Doppelrohrsystems mit den Rohren 3 und 4 auch
an seinem rechten Ende durch Dichtung 11 und Verschrauben
des Schraubdeckels 25 möglich. Auch die beiden Enden der
Kanülen 1, 2 erhalten nun Kupplungselemente 52. Schließ-
15 lich kann die ganze Konstruktion noch mit Hilfe des Au-
ßenrohres 9 und der zugehörigen Kappenteile 42, 43 umman-
telt werden.

Die fertig montierte Beschichtungseinrichtung wird über
20 die diversen Leitungen 56, 57, 58 und die 3-Wege-Ventile
53, 54, 55, 64, 65, 66 gemäß der Figur 2 verschaltet und
gemäß Figur 3 auf einer Rotationseinrichtung 68 positio-
niert. Die Leitung 7 wird bis zum Ende aller im folgenden
geschilderten Schritte von einem Luftgemisch mit 5% Volu-
25 menanteil Kohlendioxid durchströmt.

Zur Vorbereitung des Blutgefäßes 51 für die Aussaat der
Patienten-autologen Endothelzellen wird es zunächst aus
dem Vorratsgefäß 61 über die entsprechend gelegten 3-
30 Wege-Ventile 53, 54 und 55 (Figur 2) zunächst mit Patien-
ten-autologem Serum gefüllt, wobei auch das 3-Wege-Ventil
66 kurzzeitig die verdrängte Luft aus dem Blutgefäß frei-
geben muß. Es erfolgt eine Inkubation für 12 bis 24 Stun-
den bei 37° C mit der Hilfe der in der Figur 4 gezeigten
35 Temperiereinrichtung.

Danach wird das Serum durch Eindrücken von steriler Luft
über die Leitung 57 und bei geschlossenem 3-Wege-Ventil
55 und geöffneten 3-Wege-Ventilen 54, 53 und 66 ausge-
40 drückt. Sofort danach werden auf analoge Weise durch Kul-

5 tivation vermehrte und anschließend suspendierte Endothelzellen des Patienten in zuvor durch mikroskopische Auszählung genau bestimmter Konzentration (120.000 pro cm² der Blutgefäß-Innenwand) injiziert. Der Extravasalraum wird über die Schlauchleitung 34 mit Kulturmedium gefüllt, wobei die Luft aus dem in Figur 2 von links nach
10 rechts oben schräg gestellten Gewebekultursystem über das entsprechend gelegte 3-Wege-Ventil 64 und die Schlauchleitung 37 entweicht. Danach wird die in der Figur 3 dargestellte Rotationseinrichtung 68 drei Stunden
15 lang aktiviert (15 bis 20 alternierende Halbdrehungen /h). In diesem Zeitraum kommt es zur gleichmäßigen Anheftung der sedimentierenden Endothelzellen an der Gefäßinnenwand. Die Temperierung bei 37° C bleibt die ganze Zeit und auch während aller folgender Arbeitsschritte bestehen. Nach dem Abschalten der Rotation und dem anschließenden Ausdrücken des Inhaltes des Blutgefäßes 51 (er kann mikroskopisch auf noch suspendierte Endothelzellen überprüft werden!) mit injizierter Luft über die Leitung 57 und das 3-Wege-Ventil 66 wird das Blutgefäß 51
20 durch entsprechendes Öffnen der 3-Wege-Ventile 53, 54, 55 und 66 mit Kulturmedium gefüllt, das aus dem Gefäß 60 - auf besonders einfache Weise mit Hilfe einer Boyle-Marriott'schen Flasche, aber natürlich möglicherweise auch mit Hilfe elektronischer oder anderer konstanter
25 Druckgeber - unter leichtem Überdruck (ca. 10 - 20 cm H₂O) angeboten wird.

Das aus dem Blutgefäß 51 bzw. dem Venenlumen austretende Kulturmedium wird bei entsprechend geschalteten 3-Wege-Ventil 66 über eine Schlauchstrecke geführt, die nur periodisch (z. B. jede Stunde für ca. 10 Minuten) durch Aktivieren einer peristaltischen Pumpe oder eines Magnetventils 67 freigegeben wird. Auf dies Weise ergibt sich eine besonders sparsame, diskontinuierliche Perfusion des
35 Blutgefäßes 51 mit dem wertvollen Kulturmedium (Medium
40

5 199 mit Zusatz von 20 % autologem Serum und rekombinanten
basischem Fibroblasten - Wachstumsfaktor in der Konzen-
tration 2 ng/ml). Um eine wegen des leichten hydrostati-
schen Überdrucks im Blutgefäß 51 mögliche physiologische
Durchspülung auch der Gefäßwandschichten durch transmura-
10 le Filtration zu erreichen, werden die 3-Wege-Ventile 64
und 65 so geschaltet, daß der Weg vom Extravasalraum in
ein steril von der Außenwelt abgeschirmtes Abtropfgefäß
freigegeben wird.

15 Nach 5 bis 7 Tagen diskontinuierlicher Perfusion des
Blutgefäßes 51 und der dabei erfolgenden konfluenten Aus-
kleidung seiner Innenfläche mit Patienten-autologem En-
dothel können im Prinzip diverse Qualitätskontrollen zum
Nachweis der Vollständigkeit und Güte der erzielten En-
20 dothelbeschichtung durchgeführt werden. Die erforderliche
Füllung des Blutgefäßes 51 mit speziellen Reaktionslösun-
gen bzw. Substraten wird wieder über die Leitung 57 und
durch entsprechende Schaltung der 3-Wege-Ventile 53, 54,
55 bzw. Öffnen des 3-Wege-Ventils 66 erreicht.

25 Schließlich wird das Blutgefäß 51 noch einmal sorgfältig
mit Kulturmedium durchspült und unter leichtem Überdruck
gefüllt. Alle Kupplungsstücke 52 werden abgeklammert,
dann werden alle Schlauchverbindungen jeweils am distalen
30 Ende aller Kupplungsstücke 52 abgezogen. Der Überdruck im
Blutgefäß 51 bleibt somit erhalten und die Innenräume des
Gewebe Kultursystems steril. Nun können die Kappenteile
42, 43 und der Wärmemantel der Beschichtungseinrichtung
entfernt werden. Nun kann das nach wie vor geschlossene
35 zentrale Doppelrohrsystem (Rohre 3, 4) mit der Vene 51
entnommen, mit steriler PBS-Lösung an seinen Außenwänden
abgespült und dann in den Operationssaal gesendet werden.
Erst dort werden die Schraubendeckel 24, 25 entfernt.
Dann wird das Blutgefäß 51 vorsichtig entnommen und so-
40 fort implantiert.

5

Die Figur 5 zeigt eine bevorzugte Weiterbildung der Erfindung, bei der der Deckel 42 der Figur 1a, der den Schraubdeckel 24 hält und zum Rohr 9 hin abdichtet, durch ein Kappenglied 198 ersetzt ist, das mit einem hohlzylindrischen Bereich 197 den Schraubdeckel 24 übergreift und mit einem Flansch 196 auf einem Auflageflansch 195 des Rohres 9 aufliegt. Der Flansch 196 liegt auch an einer kreisförmigen Platte 194, vorzugsweise einer Metallplatte, an, die außenseitig einen schrägen Rand 193 besitzt. Der Endbereich des Rohres 9 besitzt ebenfalls außenseitig einen schrägen Rand 192. Die schrägen Ränder 192, 193 bilden ein "V" oder dergleichen, das außenseitig durch einen komplementär ausgebildeten Spannring 190 übergriffen werden kann. Beim Spannen des an sich bekannten Spannringes 190 durch Betätigen eines Exzenterhebels werden die schrägen Ränder 192, 193 gegeneinander gezogen und werden dabei die Platte 194 und der Flansch 196 des Kappengliedes 198 gegen den Auflageflansch 195 des Rohres 9 zur Herstellung einer dichten Abdichtung gedrückt.

25

Vorzugsweise besteht das Kappenglied aus einem heiß polymerisierten Zwei-Komponenten Silikon-Kautschuk-Material.

30

In der Platte 194 und in dem Kappenglied 198 befinden sich vorzugsweise mittig Löcher 199, 200, durch das die Endbereiche 7', 7'' des Schlauches 7, die Kanülen 1 bzw. 2 bzw. die Schlauchleitungen 34, 37 nach außen verlaufen können.

5

Patentansprüche

1. Gewebekultursystem zur Epitheliasierung bzw. Endothe-
10 liasierung und zur funktionellen Untersuchung und An-
lieferung natürlicher oder künstlicher Hohlorgane bzw.
Gefäße unter kontrollierbaren Sterilbedingungen für
chirurgische Implantationszwecke, dadurch gekennzeich-
net, daß ein Hohlorgan (51) in einem ersten Rohr (3)
15 anordenbar ist, wobei jeweils ein Ende des Hohlorganes
(51) mit einer aus einer Seite des Rohres (3) dicht
herausführbaren ersten oder zweiten Kanüle (1, 2) ver-
bindbar ist, daß das erste Rohr (3) in einem zweiten
Rohr (4) angeordnet ist, wobei zwischen dem ersten Rohr
20 und dem zweiten Rohr eine an den Seiten des zweiten
Rohres (4) abgedichtete Kammer (77) gebildet wird, daß
das erste Rohr (3) Löcher (5) aufweist, die Verbindun-
gen zwischen dem vom ersten Rohr (3) umschlossenen Raum
(28) zu der Kammer (77) herstellen, daß um den Außenum-
25 fang des ersten Rohres (3) herum eine gasdurchlässige
Leitung (7) verläuft, deren Endbereiche (7', 7'') dicht
aus der Kammer (77) herausgeführt sind, daß durch eine
Kanüle (1) in das Blutgefäß (51) ein patientenautologes
Serum einfüllbar und während einer vorgegebenen ersten
30 Zeitdauer inkubierbar ist und danach suspendierte Zel-
len des Patienten in vorgegebener Konzentration inji-
zierbar sind, die eine zweite vorgegebene Zeitdauer im
Blutgefäß (51) verbleiben, daß die Leitung (7) von ei-
nem Luftgemisch mit einem vorgegebenen Volumenanteil
35 Kohlendioxid durchströmbar ist, daß in die Kammer (77)
und über die Löcher (5) in den Raum (28) ein Kulturme-
dium über eine dicht von einer Seite des zweiten Rohres
(4) her in die Kammer (77) eingeführte Leitung (34)
einfüllbar ist und daß nach dem Entfernen der injizier-
40 ten, suspendierten Zellen des Patienten aus dem Blutge-

- 5 fäß (51) ein Kulturmedium in das Blutgefäß (51) ein-
bringbar ist, das während des Wachstums von an der Ge-
fäßwand sedimentierten Zellen während einer dritten
vorgegebenen Zeitdauer im Blutgefäß (51) unter hy-
drostatischem Überdruck verbleibt bzw. durch dieses
10 perfundiert wird.
2. Gewebekultursystem nach Anspruch 1, dadurch gekenn-
zeichnet, daß das erste Rohr (3) konzentrisch in dem
zweiten Rohr (4) angeordnet ist.
- 15 3. Gewebekultursystem nach Anspruch 1 oder 2, dadurch ge-
kennzeichnet, daß an jeder Seite des ersten Rohres (3)
und des zweiten Rohres (4) eine erste bzw. zweite
Quetschdichtung (10, 11) angeordnet ist, daß jeweils
20 ein Endbereich des ersten Rohres (3) in eine erste Nut
(14, 15) der ersten bzw. zweiten Quetschdichtung (10,
11) eingreift, daß jeweils ein Endbereich des zweiten
Rohres (4) in eine zweite Nut (18, 19) der ersten bzw.
zweiten Quetschdichtung (10, 11) eingreift, daß am Au-
ßenumfang des Endbereiches des zweiten Rohres (4) je-
25 weils eine Befestigungseinrichtung für einen über der
ersten bzw. zweiten Quetschdichtung (10, 11) anordenba-
ren Deckel (24, 25) vorgesehen ist, derart, daß bei be-
festigtem Deckel (24, 25) die erste bzw. zweite
30 Quetschdichtung (10, 11) zusammengedrückt ist, und daß
die erste bzw. zweite Kanüle (1, 2) dicht durch eine
Bohrung (12, 13) der ersten bzw. zweiten Quetschdich-
tung (10, 11), die Endbereiche (7', 7'') der Leitung
(7) dicht durch einen Durchgang (16, 17) einer
35 Quetschdichtung (10) und die Leitungen (34, 37) dicht
durch Durchgänge (35, 36) einer Quetschdichtung (11)
verlaufen.
4. Gewebekultursystem nach Anspruch 3, dadurch gekenn-
zeichnet, daß die Befestigungseinrichtung durch ein Au-
- 40

- 5 Bengewinde (20, 21) eines Endbereiches des zweiten Roh-
res (4) und ein Innengewinde (22, 23) des als Schraub-
deckel (24, 25) ausgebildeten Deckels gebildet ist.
5. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
10 dadurch gekennzeichnet, daß die Löcher (4) in in Längs-
richtung des ersten Rohres (3) verlaufenden Lochreihen
angeordnet sind, die in Umfangsrichtung des ersten Roh-
res (3) voneinander beabstandet sind.
- 15 6. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 3 bis 5,
 dadurch gekennzeichnet, daß die Endbereiche (7', 7'')
der Leitung (7) und die erste Kanüle (1, 2) durch einen
Durchgang (33) einer Deckelwand (26) eines Deckels (24)
geführt sind.
- 20 7. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß die zur Kammer (77) führen-
den Leitungen (34, 37) durch Durchgänge (35, 36) einer
Quetschdichtung (11) geführt sind.
- 25 8. Gewebekultursystem nach Anspruch 7, dadurch gekenn-
zeichnet, daß die zur Kammer (77) führenden Leitungen
(34, 37) und die zweite Kanüle (2) durch einen Durch-
gang (32) einer Deckelwand (27) eines Deckels (25) ver-
30 laufen.
9. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
 dadurch gekennzeichnet, daß die Enden der ersten Kanüle
(1), der zweiten Kanüle (2), der Endbereiche (7', 7'')
35 der Leitung (7) und der zur Kammer (77) führenden Lei-
tungen (34, 37) jeweils mit einem Kupplungsstück (52)
zur Verbindung mit externen Leitungen verbunden sind.
- 40 10. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
 dadurch gekennzeichnet, daß das zweite Rohr (4) von ei-

- 5 nem Außenrohr (9) umgeben ist, das in der Nähe seiner
Enden jeweils einen Zugangsstutzen (38, 39) aufweist,
daß die Endbereiche des Außenrohres (9) zur Abdichtung
des zwischen dem zweiten Rohr (4) und dem Außenrohr (9)
gebildeten Raumes (67) dicht in eine Nut (44, 45) eines
10 dicht auf den ersten bzw. zweiten Deckel (24, 25) auf-
gesetzten ersten bzw. zweiten Kappenteiles (42, 43)
eingreifen und daß über die Zugangsstutzen (38, 39) in
den Raum (67) eine Temperierflüssigkeit einbringbar
ist.
- 15
11. Gewebekultursystem nach Anspruch 10, dadurch gekenn-
zeichnet, daß das erste bzw. zweite Kappenteil (42, 43)
auf dem jeweiligen Endbereich des Außenrohres (9) durch
eine weitere Befestigungseinrichtung (40) gehalten
20 wird.
12. Gewebekultursystem nach Anspruch 11, dadurch gekenn-
zeichnet, daß die weitere Befestigungseinrichtung einen
an dem jeweiligen Endbereich des Außenrohres (9) außen-
25 seitig angeordneten ersten bzw. zweiten Haltewulst (40,
41) umfaßt, der in den Innenumfang des ersten bzw. zwei-
ten Kappenteiles (42, 43) dicht eingreift.
13. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
30 dadurch gekennzeichnet, daß die erste Quetschdichtung
(10) und die zweite Quetschdichtung (11) und/oder der
erste Deckel (24) und der zweite Deckel (25) und/oder
das erste Kappenteil (42) und das zweite Kappenteil
(43) und/oder die Kupplungsstücke (52) aus einem heiß
35 polymerisierten Zwei-Komponenten Silikon-Kautschuk-
Material bestehen.
14. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
40 dadurch gekennzeichnet, daß es eine Rotationseinrich-
tung (70) umfaßt, die das Außenrohr (9) und die damit

- 5 verbundenen Elemente alternierend in die eine und in die andere Richtung dreht.
15. Gewebekultursystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Rotationseinrichtung (70) eine Antriebswalze (71) umfaßt, die am Außenumfang des Außenrohres (9) angreift.
- 10
16. Gewebekultursystem nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Außenrohr (9) mit seinem zwischen den Ausgangsstützen (38, 39) angeordneten Bereich auf der Antriebswalze (71) und einer von dieser beabstandeten Walze (72) aufliegt.
- 15
17. Gewebekultursystem nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß oberhalb des auf der Antriebswalze (71) und der Walze (72) aufliegenden Außenrohres (9) ein am Außenrohr (9) angreifendes Rad (73) vorgesehen ist, wobei das Rad (73) in einem verstellbaren Bügel (74) gehalten ist.
- 20
18. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Länge der Antriebswalze (71) und der Walze (72) etwa dem Abstand der beiden Zugangsstützen (38, 39) des Außenrohres (9) von einander entspricht.
- 25
19. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß eine Temperiereinrichtung (80) vorgesehen ist, die zwei Gefäße (82, 83) aufweist, die jeweils eine Temperierflüssigkeit enthalten, wobei die Temperierflüssigkeiten über eine Wärmeaustauscheinrichtung (81) und den Raum (67) zwischen dem zweiten Rohr (4) und dem Außenrohr (9) in Reihe geschaltet sind, wobei die Luftvolumina der Gefäße (82, 83) oberhalb der Temperierflüssigkeiten durch eine Luftaustau-
- 30
- 35
- 40

5 schleitung (87) miteinander verbunden sind, und daß ei-
ne mechanische Vorrichtung vorgesehen ist, die die Ge-
fäße (82, 83) abwechselnd gegenphasig zwischen alter-
nierenden Niveaus (I, II) anhebt bzw. absenkt, so daß
10 durch den Raum (67) zwischen dem zweiten Rohr (4) und
dem Außenrohr (9) und die Wärmeaustauschereinrichtung
(81) alternierend Temperierflüssigkeit zwischen den Ge-
fäßen strömt.

20. Gewebekultursystem nach Anspruch 20, dadurch gekenn-
15 zeichnet, daß die Wärmeaustauschereinrichtung (81) zu-
sammen mit dem einen Gefäß (82) in einem auf einer vor-
gegebenen Temperatur gehaltenen Temperierbad angeordnet
ist.

20 21. Gewebekultursystem nach Anspruch 20, dadurch gekenn-
zeichnet, daß das Außenrohr (9) an seinen Enden jeweils
einen Auflageflansch (195) aufweist, daß7) eines Kap-
pengliedes (198) aufsetzbar ist, daß das Kappenglied
(198) einen Flansch (196) besitzt, der auf dem Aufla-
25 geflansch (195) des Außenrohres (9) aufliegt, daß eine
Platte (194) auf der dem Deckelteil (24) abgewandten
Seite anordenbar und auf den Flansch (196) aufsetzbar
ist, und daß die Platte (194) und das Ende des Außen-
rohres (9) jeweils schräg nach außen verlaufen und eine
30 Auswölbung, vorzugsweise ein "V" bilden, auf das ein
komplementär ausgebildeter Spannring (190) aufsetzbar
ist, der beim Spannen die Platte (198) gegen den
Flansch (196) und diesen gegen den Auflageflansch (195)
drückt.

35 22. Gewebekultursystem nach Anspruch 21, dadurch gekenn-
zeichnet, daß das Kappenglied (198) aus einem heiß po-
lymerisierten Zwei-Komponenten Silikon-Kautschuk-
Material besteht.

5 23. Gewebekultursystem nach einem der Ansprüche 1 bis 22,
dadurch gekennzeichnet, daß die Kanülen (1, 2) zweitei-
lig ausgebildet sind, und jeweils zwei miteinander ver-
bindbare Kanülenteile (1', 1'', 2', 2'') umfassen, daß
10 die Verbindungsstelle der Kanülenteile (1', 1'', 2',
2'') im Bereich der Quetschdichtungen (10, 11) positio-
nierbar und zirkumferent abdichtbar sind, daß mit dem
Deckelteil (24, 25) ein stempelartiges Teil (91) mit
seiner Auflagefläche gegen die Quetschdichtung (10, 11)
15 preßbar ist, wobei ein zylindrischer Bereich durch die
Öffnung (30, 36) des Deckelteiles (24, 25) verläuft und
daß das Kanülenteil (1', 2') durch eine Zentralbohrung
(92) des zylindrischen Bereiches des stempelartigen
Teiles (91) verläuft, und daß auf das freie Ende des
zylindrischen Bereiches ein Deckel (94) mit einer Öff-
20 nung zum Hindurchführen des Kanülenteiles (1', 2') oder
ein Abschlußdeckel (96) dicht aufsetzbar sind.

24. Verfahren zur Beschichtung eines Blutgefäßes (51) mit
Zellen in einer Beschichtungseinrichtung nach einem der
25 Ansprüche 1 bis 23, gekennzeichnet durch die folgende
Schritte:

a) Dichtes Verbinden eines von ihrem nativen Endothel be-
freiten Blutgefäßes (51) eines Spenders an seinen Enden
30 mit der ersten Kanüle (1) bzw. der zweiten Kanüle (2).

b) Anordnen des Blutgefäßes (51) und der damit verbundenen
ersten Kanüle (1) und zweiten Kanüle (2) in dem ersten
Rohr (3) derart, daß die zweite Kanüle (2) durch den
35 Durchgang (13) der zweiten Quetschdichtung (11) ver-
läuft, daß die erste Kanüle (1) und die Endbereiche
(7', 7'') der Leitung (7) durch den Durchgang (12) bzw.
die Durchgänge (16, 14) der ersten Quetschdichtung (10)
verlaufen und daß die zur Kammer (77) führenden Durch-
40 gänge durch die zweite Quetschdichtung (11) verlaufen.

5

c) Befestigen des ersten Deckels (24) und des zweiten Deckels (25) an dem zweiten Rohr (4).

10

d) Anordnen und Befestigen des Außenrohres (9) über dem zweiten Rohr (4) mit dem ersten Kappenteil (42) und dem zweiten Kappenteil (43) oder mit Kappengliedern (198), Platten (194) und Spannhebeln (190).

15

e) Durchströmen der Leitung (7) mit einem Luftgemisch mit einem vorbestimmten Volumenanteil Kohlendioxid.

f) Einbringen von patientenautologem Serum in das Blutgefäß (51) über eine Kanüle (1).

20

g) Alternierendes Durchströmen des Raumes (67) zwischen dem zweiten Rohr (4) und dem Außenrohr (9) mit einer in der Temperiereinrichtung (80) temperierten Temperierflüssigkeit während einer ersten vorgegebenen Zeitdauer.

25

h) Entfernen des patientenautologen Serums aus dem Blutgefäß (51).

30

i) Füllen des Blutgefäßes (51) mit durch Kultivation vermehrten und anschließend suspendierten Epithelzellen des Patienten in einer genau bestimmten Konzentration.

j) Füllen der Kammer (77) mit einem Kulturmedium.

35

k) Alternierende Drehung des Außenrohres (9) in der Rotationseinrichtung (70) während einer zweiten vorgegebenen Zeitdauer, wobei die sedimentierten Endothelzellen an der Gefäßinnenwand anhaften.

- 5 1) Anhaltende Rotationseinrichtung (70) und Ausbringen des
Inhaltes des Blutgefäßes (51) über eine Kanüle (2).
- m) Füllen des Blutgefäßes (51) mit Kulturmedium und fort-
laufende diskontinuierliche Perfusion des Blutgefäßes
10 (51) mit dem Kulturmedium.
- n) Entfernen des Außenrohres (9) und der Kappenteile (42,
43) oder der Kappenglieder (198), Platten (194) und
Spannhebel (190) nach einer diskontinuierlichen Perfu-
15 sion mit dem Kulturmedium während einer dritten vorge-
gebenen Zeitdauer und Abdichten der ersten Kanüle (1)
und der zweiten Kanüle (2) und Transport des Blutgefä-
ßes (51) zusammen mit dem ersten Rohr (3) und dem zwei-
ten Rohr (4), die über die erste Quetschdichtung (10)
20 und den ersten Deckel (24) sowie die zweite
Quetschdichtung (11) und den zweiten Deckel (25) dicht
miteinander verbunden sind, in einen Operationsraum und
dort Entnahme des Blutgefäßes (51).

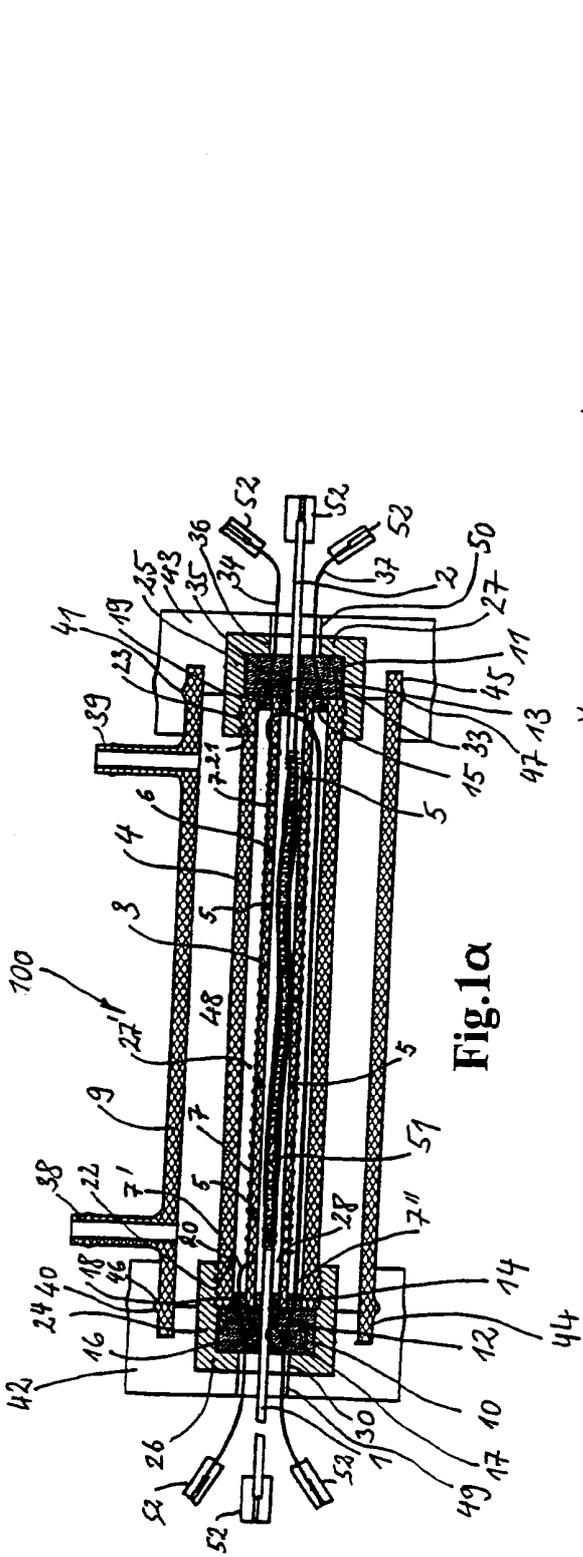


Fig. 1a

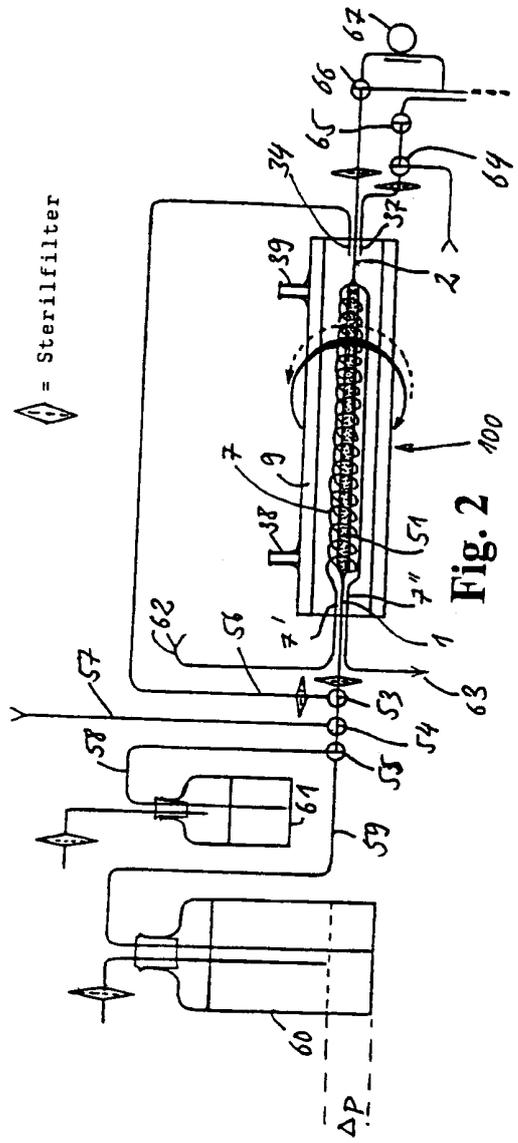


Fig. 2

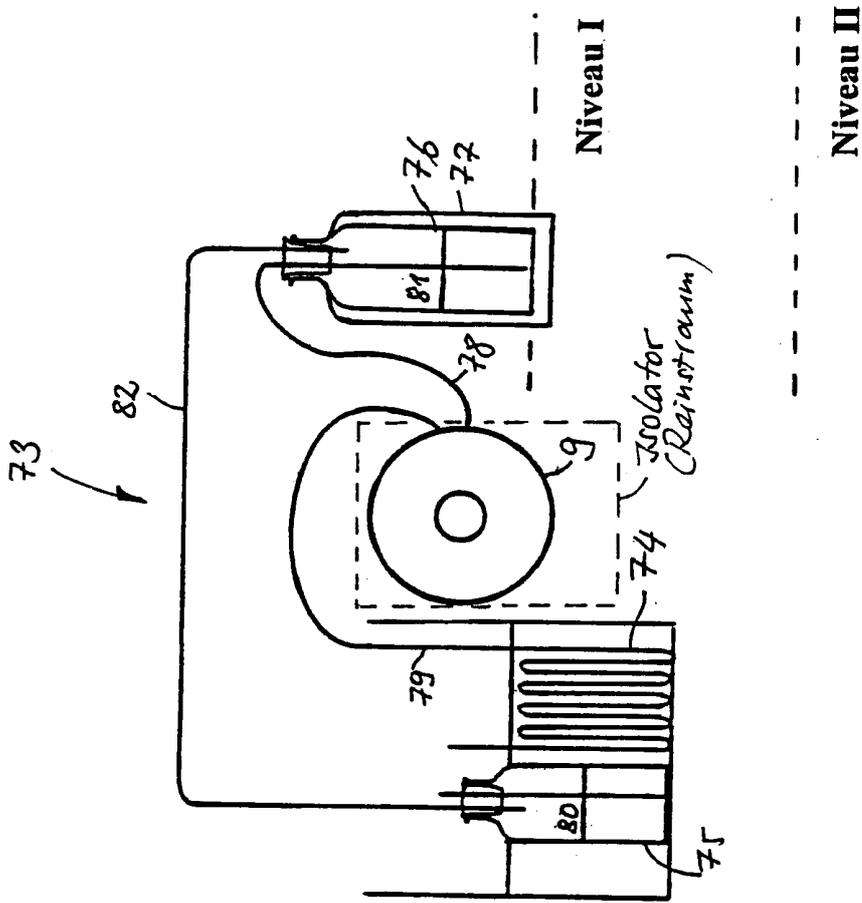


Fig. 4

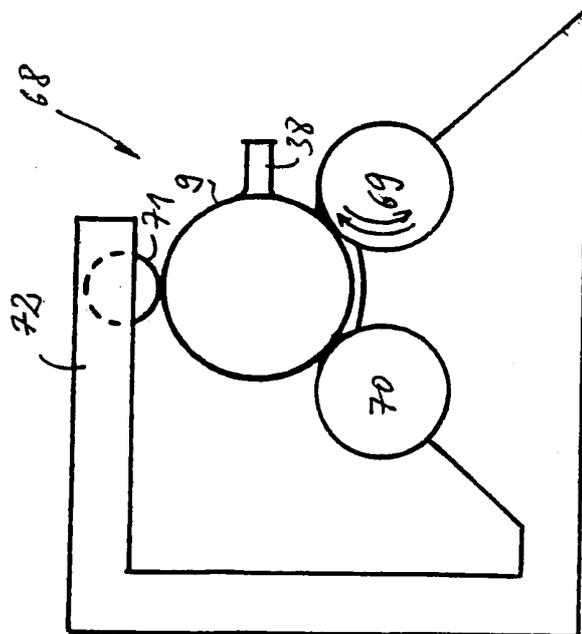
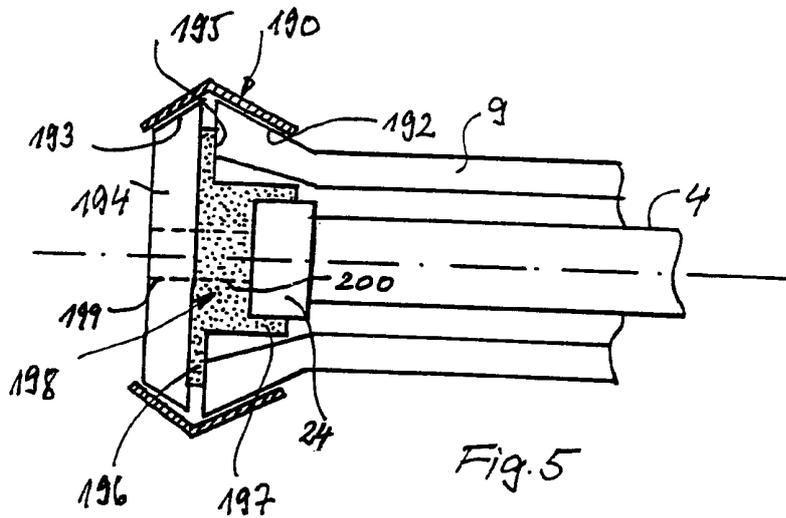
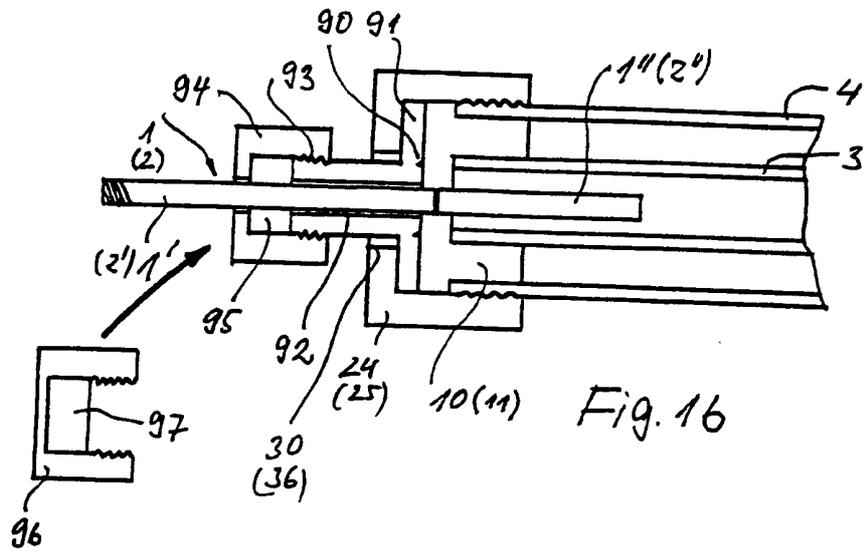


Fig. 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03420

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 B01F9/00 A61F2/06 C12M3/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01F A61F C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93 01843 A (UNIV LEICESTER) 4 February 1993 (1993-02-04) claims; figures ---	1,2
A	US 5 492 826 A (TOWNSEND LAURACE E ET AL) 20 February 1996 (1996-02-20) ---	
A	WO 98 32367 A (HEARTEN MEDICAL INC ;LAUFER MICHAEL D (US)) 30 July 1998 (1998-07-30) ---	
A	WO 97 49799 A (ADVANCED TISSUE SCIENCES INC) 31 December 1997 (1997-12-31) ---	
A	US 5 035 708 A (WILLIAMS STUART K ET AL) 30 July 1991 (1991-07-30) ---	
A	US 5 155 035 A (SCHWARZ RAY P ET AL) 13 October 1992 (1992-10-13) ---	
	-/--	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 August 2000

Date of mailing of the international search report

23/08/2000

Name and mailing address of the ISA
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

 Coucke, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03420

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 320 441 A (SULZER AG) 14 June 1989 (1989-06-14) -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

national Application No PCT/EP 00/03420
--

Patent document cited in search report	A	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9301843	A	04-02-1993	AU 2361792 A	23-02-1993
US 5492826	A	20-02-1996	NONE	
WO 9832367	A	30-07-1998	AU 5722998 A	18-08-1998
WO 9749799	A	31-12-1997	US 5792603 A AU 3581797 A CA 2261027 A EP 0927245 A	11-08-1998 14-01-1998 31-12-1997 07-07-1999
US 5035708	A	30-07-1991	US 4820626 A AT 87811 T AU 637100 B AU 5578290 A BR 9002433 A CA 2017346 A DE 69001275 D DE 69001275 T DK 399340 T EP 0399340 A IL 94431 A JP 3136640 A MX 163811 B US 5441539 A US 5372945 A US 5312380 A ZA 9003826 A US 5230693 A US 5628781 A AT 113850 T AU 590573 B AU 5830586 A BR 8602659 A CA 1293700 A DE 3650134 D DE 3650134 T EP 0206025 A EP 0518389 A ES 555739 D ES 8900149 A IL 78950 A JP 2686930 B JP 62049857 A MX 165125 B US 5194373 A ZA 8603958 A	11-04-1989 15-04-1993 20-05-1993 29-11-1990 06-08-1991 24-11-1990 13-05-1993 21-10-1993 24-05-1993 28-11-1990 28-11-1994 11-06-1991 22-06-1992 15-08-1995 13-12-1994 17-05-1994 27-03-1991 27-07-1993 13-05-1997 15-11-1994 09-11-1989 11-12-1986 03-02-1987 31-12-1991 15-12-1994 22-06-1995 30-12-1986 16-12-1992 01-03-1989 01-05-1989 15-12-1991 08-12-1997 04-03-1987 28-10-1992 16-03-1993 28-01-1987
US 5155035	A	13-10-1992	US 4988623 A AU 3969689 A DE 68922216 D DE 68922216 T EP 0423227 A JP 7004227 B JP 4504499 T US 5496722 A WO 9000190 A US 5627021 A	29-01-1991 23-01-1990 18-05-1995 23-11-1995 24-04-1991 25-01-1995 13-08-1992 05-03-1996 11-01-1990 06-05-1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

i. International Application No

PCT/EP 00/03420

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5155035 A		US 5851816 A	22-12-1998
		US 5962324 A	05-10-1999
		US 5155034 A	13-10-1992
		US 5153132 A	06-10-1992
		US 5846807 A	08-12-1998
		US 5308764 A	03-05-1994
EP 0320441 A	14-06-1989	CH 675679 A	31-10-1990
		AT 66581 T	15-09-1991
		DE 3864500 A	02-10-1991
		JP 2140159 A	29-05-1990
		JP 2657081 B	24-09-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03420

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 B01F9/00 A61F2/06 C12M3/04		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 B01F A61F C12M		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 93 01843 A (UNIV LEICESTER) 4. Februar 1993 (1993-02-04) Ansprüche; Abbildungen ----	1,2
A	US 5 492 826 A (TOWNSEND LAURACE E ET AL) 20. Februar 1996 (1996-02-20) ----	
A	WO 98 32367 A (HEARTEN MEDICAL INC ;LAUFER MICHAEL D (US)) 30. Juli 1998 (1998-07-30) ----	
A	WO 97 49799 A (ADVANCED TISSUE SCIENCES INC) 31. Dezember 1997 (1997-12-31) ----	
A	US 5 035 708 A (WILLIAMS STUART K ET AL) 30. Juli 1991 (1991-07-30) ----	
A	US 5 155 035 A (SCHWARZ RAY P ET AL) 13. Oktober 1992 (1992-10-13) ----	
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
17. August 2000		23/08/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Coucke, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03420

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 320 441 A (SULZER AG) 14. Juni 1989 (1989-06-14) -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03420

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9301843	A	04-02-1993	AU 2361792 A	23-02-1993
US 5492826	A	20-02-1996	KEINE	
WO 9832367	A	30-07-1998	AU 5722998 A	18-08-1998
WO 9749799	A	31-12-1997	US 5792603 A	11-08-1998
			AU 3581797 A	14-01-1998
			CA 2261027 A	31-12-1997
			EP 0927245 A	07-07-1999
US 5035708	A	30-07-1991	US 4820626 A	11-04-1989
			AT 87811 T	15-04-1993
			AU 637100 B	20-05-1993
			AU 5578290 A	29-11-1990
			BR 9002433 A	06-08-1991
			CA 2017346 A	24-11-1990
			DE 69001275 D	13-05-1993
			DE 69001275 T	21-10-1993
			DK 399340 T	24-05-1993
			EP 0399340 A	28-11-1990
			IL 94431 A	28-11-1994
			JP 3136640 A	11-06-1991
			MX 163811 B	22-06-1992
			US 5441539 A	15-08-1995
			US 5372945 A	13-12-1994
			US 5312380 A	17-05-1994
			ZA 9003826 A	27-03-1991
			US 5230693 A	27-07-1993
			US 5628781 A	13-05-1997
			AT 113850 T	15-11-1994
			AU 590573 B	09-11-1989
			AU 5830586 A	11-12-1986
			BR 8602659 A	03-02-1987
			CA 1293700 A	31-12-1991
			DE 3650134 D	15-12-1994
			DE 3650134 T	22-06-1995
			EP 0206025 A	30-12-1986
			EP 0518389 A	16-12-1992
			ES 555739 D	01-03-1989
			ES 8900149 A	01-05-1989
			IL 78950 A	15-12-1991
			JP 2686930 B	08-12-1997
			JP 62049857 A	04-03-1987
			MX 165125 B	28-10-1992
			US 5194373 A	16-03-1993
			ZA 8603958 A	28-01-1987
US 5155035	A	13-10-1992	US 4988623 A	29-01-1991
			AU 3969689 A	23-01-1990
			DE 68922216 D	18-05-1995
			DE 68922216 T	23-11-1995
			EP 0423227 A	24-04-1991
			JP 7004227 B	25-01-1995
			JP 4504499 T	13-08-1992
			US 5496722 A	05-03-1996
			WO 9000190 A	11-01-1990
			US 5627021 A	06-05-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03420

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5155035 A		US 5851816 A	22-12-1998
		US 5962324 A	05-10-1999
		US 5155034 A	13-10-1992
		US 5153132 A	06-10-1992
		US 5846807 A	08-12-1998
		US 5308764 A	03-05-1994
EP 0320441 A	14-06-1989	CH 675679 A	31-10-1990
		AT 66581 T	15-09-1991
		DE 3864500 A	02-10-1991
		JP 2140159 A	29-05-1990
		JP 2657081 B	24-09-1997