

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 410**

51 Int. Cl.:

C12M 3/08 (2006.01)

A61K 35/36 (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2011 E 16182912 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 3106512**

54 Título: **Método para preparar tejido adiposo para trasplante de grasa lobular extraída por liposucción**

30 Prioridad:

20.05.2010 IT GE20100057

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.06.2018

73 Titular/es:

**LIPOGEMS INTERNATIONAL S.P.A. (100.0%)
Viale Bianca Maria 24
20129 Milano, IT**

72 Inventor/es:

TREMOLADA, CARLO

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 674 410 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para preparar tejido adiposo para trasplante de grasa lobular extraída por liposucción

5 La presente invención se refiere a un método para preparar tejido, particularmente tejido adiposo, para trasplante, de grasa lobular extraída por liposucción.

10 La invención también se refiere a un método de tratamiento de deficiencias de volumen corporal y facial, mejorando el trefismo de la piel y/o para estimulación biológica por el tejido adiposo obtenido a través de dicho método.

15 De acuerdo con la técnica anterior, la preparación requerida para reutilizar material liposucionado implica la separación del componente celular vital que se va a reinyectar del material residual compuesto de líquido anestésico o fluidos biológicos (suero o sangre) y residuos celulares y aceite que resultan de la ruptura de los adipocitos succionados.

Dicha separación puede ocurrir dentro de la jeringa que se utiliza para la extracción, o en recipientes especiales, esencialmente de tres formas:

- 20 - por decantación: los materiales se separan por diferencia en densidad bajo gravedad,
- por centrifugación: los materiales se separan por diferencias en la densidad bajo el efecto de la fuerza centrífuga,
- por lavado: el lipoaspirado se coloca en un filtro de malla delgada y se lava, en general con solución salina, que puede o no ser remplazada progresivamente.

25 De acuerdo con la mejor técnica conocida (lipoestructura Coleman), las jeringas que contienen el lipopolisacárido se cierran en la parte inferior por una tapa tipo Luer y se colocan en una centrifuga para separar la fase líquida del material biológico sólido.

30 Antes de utilizar el material biológico así obtenido, los líquidos biológicos y anestésicos dejados en el fondo de la jeringa después de centrifugación se drenarán manualmente, al retirar la tapa tipo Luer de la de la jeringa y haciéndolos fluir hacia fuera por gravedad, mientras que los fragmentos celulares de aceite resultantes de la rotura de las paredes celulares de los adipocitos descansan sobre el material celular que se va a trasplantar y se retira en una forma incompleta y rudimentaria, utilizando gasas que absorben parcialmente el exceso de aceite y frecuentemente hacen por lo menos parte del material succionado inutilizable.

35 La técnica descrita anteriormente padece de determinadas desventajas.

40 En primer lugar, la etapa de succión y separación por centrifugación provoca una cantidad considerable de adipocitos que se rompen y liberan demasiado aceite, que no se puede retirar completamente con la técnica Coleman, y hace una porción significativa del lipoaspirado inutilizable, es decir, la parte del material celular que, después de centrifugación, se ubica en la parte superior del cilindro de jeringa, en contacto con el aceite, y por lo tanto se contamina por dicho aceite.

45 Esto se debe a la presencia del aceite en el llenador biológico que se va a inyectar lo que aumenta el riesgo de infecciones y rechazos y provoca aumento de inflamación.

Adicionalmente, el proceso descrito anteriormente implica múltiples contactos del material liposucionado con superficies de diversos tipos de instrumentos, así como contacto prolongado con el aire en un entorno potencialmente no estéril, con lo cual se recomienda el uso del mismo en un quirófano.

50 También se conoce una técnica, pero se utiliza raramente, que implica fragmentación mecánica del aglomerado celular succionado utilizando un mezclador, cuyas palas de corte separan los lóbulos de grasa y proporcionan una suspensión celular inyectable.

55 Esta técnica de fragmentación tiene muchas desventajas.

Primero, la etapa de fragmentación, que está seguida por centrifugación, provoca una cantidad considerable de adipocitos para romper, lo que provoca que más de la mitad del material liposucionado sea inutilizable para tratamientos estéticos posteriores.

60 Como resultado directo, se requiere un creciente número de sesiones de liposucción para compensar esta pérdida de material que ocurre durante la preparación del material que se va a trasplantar, con aumento de la incomodidad de los pacientes.

65 Adicionalmente, la cantidad de suspensión celular utilizable que se puede obtener utilizando los dispositivos y procedimientos descritos anteriormente depende en gran medida de la habilidad del personal del cuidado de la salud en la configuración de los parámetros de tiempo de operación y velocidad del mezclador y la centrifuga y en las

condiciones de los instrumentos: una excesiva velocidad de rotación de las palas o el uso de, por ejemplo, un mezclador con palas de corte pobre no provoca la separación de los lóbulos de grasa, pero a diferencia de la ruptura mecánica de las paredes celulares de una gran cantidad de adipocitos, que implican la formación de aceite y hacen la suspensión celular inutilizable, en adición a requerir la separación precisa del aceite y los fragmentos celulares de la suspensión. Esto se debe a la presencia de aceite en el llenador biológico que se va a inyectar que aumenta el riesgo de infecciones y rechazos.

Adicionalmente, los procesos descritos anteriormente implican múltiples contactos del material liposucionado con las superficies de diversos tipos de instrumentos, así como algún contacto con el aire en un entorno perfectamente no estéril, como es el caso de los consultorios de los médicos. En razón a que el material tiene naturaleza biológica, el contacto extendido con el aire o con múltiples instrumentos, que pueden incluso no ser perfectamente estériles, aumenta el riesgo de contaminación vírica o bacteriana y pueden perjudicar los resultados del tratamiento.

La técnica que implica lavar a fondo un filtro también tiene determinadas desventajas.

Particularmente la red de filtro se puede taponar fácilmente con el material liposucionado, lo que requiere una acción manual para retirar la grasa de la malla, retardando por lo tanto el proceso de preparación y especialmente aumentando el riesgo de contaminación del material que se va a inyectar.

El uso de un filtro simple no permite que el material liposucionado se mantenga constantemente en un entorno cerrado y perfectamente estéril a través del proceso de preparación, es decir desde la etapa de liposucción hasta la etapa de inyección.

Se conocen documentos de patente que divulgan dispositivos de aislamiento celular.

La solicitud internacional WO 2009/073724 divulga un método y aparato para aislar células de lipoaspirados.

Particularmente, divulga un método para separar el adipocito y la fracción de aceite de la fracción celular no grasa en un lipoaspirado.

Con el fin de obtener lípidos y adipocitos que flotan sobre una solución celular de interés y otras células pequeñas dentro de un recipiente definido como "cámara de separación", el tejido adiposo se coloca en una cámara de digestión, y se obliga a pasar a través de un filtro y a través de un cabezal que tiene poros dentro de dicha "cámara".

Las etapas de lavar el tejido, retirar el exceso de líquidos, digestión enzimática, adición de antibióticos y selección celular pueden ocurrir en un recipiente definido como "cámara de digestión". La cámara de digestión puede contener un filtro que retiene el tejido, pero permite el paso de células y fluidos disociados. Se forma una emulsión acuosa que contiene lípidos de adipocitos en esta cámara.

El material disociado en la cámara de digestión puede pasar a través de un filtro de dispersión con poros más pequeños que los poros del cabezal de dispersión contenido en la primera "cámara de separación". Este filtro 115 se utiliza para evitar el taponamiento de los poros del cabezal de dispersión.

En la "cámara de separación" los lípidos y adipocitos se separan de la población celular.

El dispositivo proporciona una población celular a partir de un tejido sin utilizar la centrifuga sino al obligar pasar la solución a través de filtros con poros de diferentes tamaños.

Dicho dispositivo es particularmente complejo en términos de construcción, como se muestra en las figuras.

Adicionalmente, muchos pasajes del material orgánico a través de cámaras y filtros extienden la duración del método, y exponen el material orgánico a riesgos de contaminación.

También, la complejidad del método y dispositivo los hacen inadecuados para uso, por ejemplo, en entornos fuera del paciente que requieren preparación rápida del material inyectable a partir de lipoaspirado y rápido desempeño de corrección de defectos corporales y faciales sin la ayuda de personal particularmente especializado.

Adicionalmente, en este método, las emulsiones se forman utilizando productos químicos y no solamente a través del uso de fuerzas y medios mecánicos.

La solicitud US 2007/0274960 divulga un método para preparar una composición que contiene células madre. Con el fin de preparar una población de células madre, en determinadas realizaciones el tejido adiposo liposucionado se trata físicamente, es decir se corta o pica en piezas pequeñas, y experimenta tratamiento enzimático, lo que facilita la liberación de las células de interés de los otros componentes de tejido.

5 Por lo tanto el documento US 2007/0274960 permite al tejido adiposo ser dividido en piezas más pequeñas, al obligarlo a pasar a través de una matriz de tamices, para obtener partes más pequeñas de tamaños uniformes, que pueden experimentar tratamiento enzimático de una manera más uniforme, proporcionando por lo tanto una liberación más rápida de las células madre y reducir el tiempo de contacto entre las células liberadas y la solución enzimática.

De acuerdo con esta patente, se puede preparar una emulsión de tejido adiposo utilizando una solución de perfluorocarbono, cuya emulsión se puede separar de las células madre de interés.

10 La patente no incluye la preparación de una emulsión de líquidos que se puedan separar mecánicamente de las células de lípidos o aglomerados celulares pequeños.

El recipiente que contiene los medios de corte tampoco se puede utilizar para inyectar tejido adiposo en un paciente. El documento de patente US 6.020.196 divulga un método para recolectar células endoteliales microvasculares.

15 La patente describe un método para tratar tejido adiposo succionado, cuyo tejido adiposo, succionado por una jeringa con una cánula tiene aberturas de tal manera que un tamaño que minimiza la tensión sobre los componentes celulares y obtiene un tejido adiposo homogéneo, se ve obligado a pasar de una jeringa a otra a través de un filtro (74) ubicado entre los puertos de succión de las dos jeringas.

20 Al tirar los pistones de las jeringas, se homogeneiza el tejido adiposo succionado al ser obligados a pasar a través de un filtro desde una jeringa a la otra.

Una menor viscosidad del material succionado permite la fácil eliminación de los contaminantes y mejora la digestión de la muestra, para obtener células endoteliales.

25 El método como se divulgó en esta patente padece de determinadas desventajas que lo hacen inadecuado para uso en la preparación de grasa inyectable, porque:

- 30 - el filtro se puede taponar por tejido adiposo: el dispositivo de retención de filtro forma una restricción en la línea de flujo de una jeringa a la otra; el filtro taponado obstruye el paso del tejido adiposo de una jeringa a la otra y requiere desconexión de la jeringa y reemplazo del filtro para continuar el lavado de tejido adiposo; debido a estas etapas, la preparación de una emulsión de componentes líquidos y sólidos se hace difícil y consume tiempo y el material orgánico se expone a contaminación;
- 35 - el pasaje a través de la malla de filtro para desintegración del tejido conjuntivo también conduce a la ruptura de adipocitos, con la formación de exceso de aceite y la necesidad de una separación posterior precisa de células de grasa intacta a partir de aceite.

40 El documento U.S. 6,020,196 proporciona un homogenato del cual se pueden extraer células endoteliales con la adición de colagenasa y centrifugación, por lo tanto, a través de la combinación de acciones químicas y físicas. La patente no implica la formación de una emulsión de componentes líquidos luego de los cuales las células de lípidos o aglomerados pequeños de células de lípidos obtenidos a partir de tejido adiposo liposuccionado pueden flotar, cuyas células son directamente inyectables, después del tratamiento adecuado, en un paciente, sin requerir condiciones estériles particulares del ambiente, por ejemplo, sin requerir un quirófano perfectamente estéril.

45 El documento US 6,020,196 no implica la posibilidad de proporcionar un único dispositivo que, a través de pocas etapas de tratamiento simple, permite la preparación del material liposuccionado y la recolección y almacenamiento temporal de grasa, hasta reinyección.

50 La solicitud de patente US 2003/0100105 divulga un aparato para extraer células a partir de órganos. El aparato incluye una cámara de digestión que contiene el órgano y proteasa y medios de agitación, tal como bolas que tienen por lo menos una cavidad, cuyas bolas solo actúan sobre el órgano.

55 Por lo tanto, como las patentes anteriores, esta patente implica tratamiento químico agresivo del material orgánico.

Como se describe en la columna 3, párrafo 0026, los medios 14 de agitación se mueven con la cámara 12 de digestión para agitar el órgano y facilitar la liberación de las células.

60 La patente no implica la posibilidad de obtener una preparación de tejido adiposo para trasplante a partir de grasa lobular, particularmente la patente implica el uso de bolas para agitar el órgano y facilitar la liberación de las células desde dicho órgano.

65 Los métodos de la técnica anterior enzimáticos adicionales se conocen a partir del documento US 5.786.207, en el que un dispositivo que tiene medios de agitación activos (es decir, un mezclador) se usa para ayudar a la disgregación enzimática del tejido adiposo.

5 El objeto de la presente invención es proporcionar un método simple y económico, capaz de obviar las desventajas anteriores, para preparar tejido, particularmente tejido adiposo para trasplante a partir de grasa lobular, es decir, grasa compuesta de macroaglomerados celulares, células y fragmentos celulares, cuya grasa se obtiene por medio de liposucción. Un dispositivo que pueda proporcionar tejido para trasplante sin "utilizar" productos químicos para
10 preparación, es decir sin agresión química o cualquier otro tratamiento químico de lipoaspirado, se usa en el método de la invención. Esto proporciona un dispositivo fácil de utilizar y simple, que solamente utiliza fuerzas mecánicas aplicadas manualmente, cuyo dispositivo puede no requerir ensayos para uso médico, o solo requieren ensayos simples. El dispositivo de la presente invención también se puede utilizar en entornos médicos fuera de paciente, sin requerir condiciones estériles particulares, tal como condiciones requeridas en un quirófano. El objetivo adicional de la presente invención es un método que implica el uso de dicho dispositivo para preparar tejidos, particularmente
15 tejido adiposo para trasplante, dicho método y dispositivo permiten que el material biológico se mantenga en un sistema completamente cerrado, es decir un sistema que evite cualquier contacto del material de paciente succionado con el entorno externo. También se describe un método para tratar deficiencias de volumen corporal y facial, mejorando el trefismo de la piel y/o la estimulación biológica del tejido adiposo obtenido a través de dicho dispositivo y método. Particularmente, el dispositivo usado en el método de la presente invención permite la preparación de aglomerados celulares, particularmente aglomerados de adipocitos, utilizando unos pocos instrumentos simples y unas pocas etapas de proceso, sin utilizar productos químicos u otros tratamientos fisicoquímicos, sino solamente agitación mecánica, mientras se elimina la mayor parte de los componentes aceitosos y se evita la manipulación del material biológico en un entorno perfectamente no estéril.

20 De esta manera, también debido al uso de agujas especialmente delgadas, el trasplante de tejido adiposo será menos invasivo, menos traumático y más efectivo. Adicionalmente, los aglomerados celulares producidos por el dispositivo de la presente invención se preparan con mínimo contacto o sin contacto con el entorno externo y utilizando instrumentos desechables que reducen el riesgo de contaminación del material biológico, los riesgos de deterioro instrumental y las desventajas asociadas con el lavado y la reesterilización.

25 El material biológico así obtenido se puede inyectar en cualquier tejido u órgano.

30 El anterior objetivo se cumple mediante un método de preparación de tejido adiposo para trasplante usando un dispositivo compuesto de por lo menos un recipiente de separación y lavado que tiene una cámara de lavado para lavar el material liposuccionado, cuyo recipiente tiene una entrada y una salida para que el material liposuccionado ingrese a la cámara de lavado a través de la entrada y para por lo menos parte de dicho material, particularmente el componente de fluidos, salga de dicha cámara a través de la salida, dicha cámara de lavado incluye medios para formar mecánicamente una emulsión de componentes de fluidos, sobre el cual los componentes celulares diseñados para ser utilizados para trasplante posterior flotarán, separados del componente líquido.

35 Preferiblemente, el tejido preparado de esta manera se usa para autotrasplante, aunque el dispositivo también se puede utilizar para preparar tejidos para alotrasplante.

40 El dispositivo y método de la presente invención puede proporcionar no solamente tejido adiposo para uso como llenador biológico, es decir para corrección de deficiencias de volumen facial y corporal, sino también macroaglomerados de tejido adiposo que tienen células madre en su superficie, cuya disposición en contacto con el tejido del área de inyección, permite la regeneración rápida de los tejidos tratados.

45 Estos medios para formación mecánica de una emulsión son capaces de obtener una emulsión de fluidos sanguíneos, residuos sanguíneos, aceites y otras soluciones (tal como soluciones salinas de lavado o soluciones anestésicas utilizadas durante succión), contenidos en el material liposuccionado, mediante acción mecánica simple, permitiendo que dichos fluidos permanezcan separados del material celular sólido, es decir, células de lípidos, células madre.

50 La separación de la fase líquida que se va a eliminar de la fase sólida que se va a trasplantar se obtiene solamente mediante una acción mecánica (y no química). Esta acción se realiza mediante medios de agitación, que pueden ser de cualquier tipo, particularmente del tipo activo o pasivo.

55 Los medios activos son medios de agitación motorizados, accionados por un motor o fuerza motriz para proporcionar el movimiento de agitación.

Los medios pasivos son medios para ejercer su acción luego de agitación del recipiente y por lo tanto operan, por ejemplo, por inercia.

60 Los medios de agitación forman una emulsión de líquidos que se van a eliminar y particularmente líquidos grasos, en un disolvente tal como fluido de lavado fisiológico. El dispositivo tiene una construcción muy simple y es efectivo.

65 Con este dispositivo, la acción mecánica del recipiente, en combinación con los medios de agitación pasivos no serán tan resistentes como requiere el uso de los medios mecánicos. La agitación manual es suficiente en el dispositivo actual.

Preferiblemente, la acción de agitación mecánica consiste en una rotación del recipiente alrededor de un eje, por ejemplo, un eje longitudinal, perpendicular a las superficies de extremo del recipiente, y externo o interno al recipiente. También se pueden proporcionar otros tipos de agitación, tal como agitación o similar.

5 Estos medios para formar una emulsión mediante agitación manual simple o posiblemente mecánica del recipiente de separación y lavado, sin utilizar productos químicos o enzimas que puedan conducir a la desintegración del material celular, producen separación del componente sólido del componente líquido en la cámara de lavado y permiten particularmente que el componente sólido, que consiste de fragmentos celulares, células y agregados celulares, floten sobre una emulsión de sustancias líquidas, tal como sangre, soluciones estériles y aceite
10 producidos de células grasas rotas. El componente sólido se lava en la cámara de lavado: una solución de lavado estéril, por ejemplo, una solución salina estéril, se inyecta una vez o múltiples veces en el recipiente de separación y lavado a través de la entrada. Con la agitación del recipiente, esta solución permite que el material celular para trasplante se limpie de cualquier residuo líquido, tal como sangre y aceite.

15 La grasa succionada se compone de una mezcla de materiales fluidos y fragmentos celulares, células y uno o más aglomerados celulares de tamaño heterogéneo.

La emulsión formada luego de agitación, debido a la presencia de medios emulsificantes mecánicos en la cámara de lavado, se provoca para que salga de la salida y se recolecte en un recipiente sellado, para evitar contaminación del
20 entorno externo, así como obtener material celular (fragmentos celulares, células, aglomerados celulares) para trasplante, almacenados en la cámara de lavado en condiciones perfectamente estériles.

Luego, se provoca que dicho material celular salga de la cámara de lavado y separación, y se inyecte o divida y almacene, para trasplante posterior, en uno o más recipientes estériles, tal como jeringas o similares.
25

Por lo tanto, una emulsión de líquidos de desperdicio se forma simplemente, sobre dichos fragmentos celulares, células de lípidos, microagregados de lípidos y flotación de células madre, cuyos fragmentos o células estarán listas para uso sin tratamiento adicional, particularmente sin tratamiento químico.

30 El recipiente de separación y lavado se llenará con lipoaspirados hasta aproximadamente 1/3 de su volumen, el resto del volumen se llena con líquido de lavado.

No hay aire en el recipiente durante el tratamiento del material.

35 La grasa y/o los líquidos para lavar o tratar grasa se obligan a pasar a través del dispositivo de la presente invención al aplicar presión o succión sobre los contenidos de dichos recipientes de reducción de tamaño y/o lavado y separación, es decir sobre el material que se va a tratar, a través del uso de medios de compresión tal como jeringas conectadas a dichos recipientes, pistones que cooperan con las aberturas de dichos recipientes o similares.

40 Por lo tanto, el dispositivo permite el lavado de lipoaspirado y la separación de la masa celular a partir de la emulsión de materiales de fluidos, tal como solución de lavado, solución salina, solución anestésica, sangre y aceite, de tal manera que una cantidad minimizada de impurezas indeseables se recolectan al final del procedimiento con las células o agregados celulares, particularmente adipocitos.

45 Con el dispositivo de la presente invención, se forma una emulsión por medio de medios mecánicos y particularmente al lavar, con eliminación de la emulsión de componentes líquidos a través de un gradiente de densidad.

El dispositivo se puede utilizar para lavar lipoaspirados divididos en células más pequeñas y/o aglomerados.

50 Se conocen técnicas para dividir el material lipoaspirado, por ejemplo, al utilizar un mezclador.

En una realización preferida, el material liposucionado particularmente macroaglomerado celulares se reducen a tamaños más pequeños para trasplante más fácil.

55 De acuerdo con la invención, en el recipiente de separación y lavado o en otro recipiente, conocido como recipiente de reducción de tamaño, que se adapta para que se conecte herméticamente a los fluidos a dicho recipiente de separación y lavado, se proporcionan medios de reducción de tamaño para reduce el tamaño del componente sólido del lipoaspirado, particularmente magroaglomerados celulares, para igualar aglomerados celulares más pequeños,
60 que tienen un tamaño igual a o más pequeño que un valor dado, cuyos medios consisten de por lo menos una serie de láminas paralelas o que se intersectan o cables de corte, para formar por lo menos una red de reducción de tamaño, a través de la cual se pasa el material liposucionado.

La homologación y/o reducción de tamaño del lipopolisacárido puede ocurrir antes de lavado, por medio de una
65 primera red de reducción de tamaño, a través de la cual se obliga a pasar el material liposucionado antes de ingresar a la cámara de lavado del recipiente de separación y lavado, y ocurre una segunda reducción/homologación

ES 2 674 410 T3

de tamaño por medio de una segunda red de reducción de tamaño, cuya reducción de tamaño se realiza después en por lo menos una etapa de lavado de material celular en el recipiente de separación y lavado.

5 La segunda reducción/homologación de tamaño puede ocurrir al final de las etapas de lavado, antes de la salida del material para trasplante del recipiente de separación y lavado.

Preferiblemente, la segunda red de reducción de tamaño tiene mallas más angostas que la primera red de reducción de tamaño.

10 Obviamente, el material para trasplante se puede provocar que pase a través de múltiples redes o medios de reducción de tamaño, particularmente a través de dos o más redes o medios de reducción de tamaño, dichos medios de reducción de tamaño posiblemente se proporcionan en un único recipiente, o en dos o más recipientes de separación y lavado conectables.

15 La primera reducción facilita el lavado cuando se fragmenta o detiene el componente de fibra de los lóbulos de grasa y los homologa al tamaño de la masa de lipoaspirado al reducirlo en aglomerados más pequeños, separarlos entre sí y del lipoaspirado propiamente dicho. La segunda reducción proporciona un material celular lavado listo para trasplante, cuyo tamaño permite la inyección de cualquier tipo de aguja incluso de tamaño muy pequeño.

20 La presencia de por lo menos dos medios de reducción, que tienen mallas o aberturas de diferentes tamaños, particularmente mallas o aberturas más grandes en la red ubicada en la entrada del lipoaspirado y mallas más pequeñas en la red ubicada en la salida para el material listo para trasplante, y el suministro de una distancia proporcionada entre dichos dos medios, es decir en los lados del extremo de la cámara de lavado, que evitan que dichos medios de reducción de tamaño se taponen con el material celular, ya que la reducción de tamaño ocurre
25 gradualmente.

Adicionalmente, dicha reducción de tamaño gradual del lipoaspirado permite que se utilicen posiblemente agujas grandes utilizará durante el retiro del tejido de las áreas del donante, acelerando por lo tanto el procedimiento de recolección del material. Por lo tanto, incluso cuando el material liposucionado está compuesto de aglomerados
30 grandes, aún no se coagulan las aberturas o los medios de reducción de tamaño del dispositivo, ya que se reduce progresivamente a aglomerados más pequeños, no al pasar a través de una única lámina, red o malla de reducción de tamaño, sino al pasar secuencialmente a través de dos o más medios de reducción de tamaño con mallas o aberturas para reducción de tamaño en la dirección de flujo del material que se va a tratar.

35 Preferiblemente, el material celular que se va a reducir a un tamaño que permite el trasplante del mismo a través de agujas muy delgadas después del final de las etapas de lavado.

El uso de una cánula de trasplante de tamaño particularmente pequeño reduce el trauma provocado por el procedimiento de trasplante, y permite a este último ser realizado bajo anestesia local, sin sutura o medicación
40 particular y con rápidos resultados de cicatrización.

Considerando que el material liposucionado también contiene células madre, la reducción de tamaño de la grasa proporciona aglomerados celulares pequeños, particularmente microaglomerados de células grasas o células
45 individuales, que tienen células madre adheridas a su superficie. La reducción de la masa de lipoaspirado en muchos aglomerados proporciona una mayor cantidad de células madre que hacen contacto potencialmente con el tejido que se va a tratar luego de inyección del material preparado por el método y el dispositivo de la presente invención, ya que la acción de reducción de tamaño, además de reducir la masa succionada en muchos aglomerados iguales más pequeños, también provoca un aumento del área de superficie que está potencialmente en contacto con el tejido que se va a tratar, aumentando por lo tanto el área de exposición con células madre de
50 esta.

La transformación de los lóbulos de tejido adiposo producidos por liposucción en un llenador biológico, es decir una suspensión celular o masa o un fluido o aglomerado de semifluido que contiene adipocitos, otros tipos de células, tal como células madre o células mesenquimales y posiblemente fragmentos celulares y residuos de material
55 conjuntivo, cuya suspensión, al final del procedimiento de transformación de la presente solicitud, tiene una fase sólida compuesta de células y/o agregados celulares de tamaños homogéneos promedios pequeños, adaptados para ser inyectados en cantidades pequeñas o grandes, permite a la grasa preparada que se va a utilizar no solamente en una inyección intra o submuscular, sino también en inyecciones subcutáneas, sin irregularidades, efectos de endurecimiento, calcificaciones y reabsorción total de la grasa inyectada.

60 No obstante, el material de grasa se puede inyectar en cualquier tejido u órgano. Adicionalmente, la separación de los lóbulos de grasa en células pequeñas o aglomerados celulares facilita el injerto, es decir la integración de la masa celular en tejidos en los que se inyecta.

La división de lóbulos de grasa en agregados celulares también proporciona un aumento de la superficie de la masa celular inyectada que hace contacto con los tejidos que experimentan trasplante, promoviendo por lo tanto la estimulación biológica de los tejidos tratados y por lo tanto la integración del material celular inyectado.

5 El uso de un dispositivo simple, compuesto de pocos componentes estériles, que aíslan el material biológico extraído del entorno externo actualmente a través del procedimiento de preparación, reduce considerablemente el riesgo de contaminación del material biológico, el personal y entorno, y por lo tanto el riesgo de infecciones o inyecciones durante el uso posterior del material celular.

10 Por lo tanto, el dispositivo también permite tratamiento de material biológico fuera de los quirófanos, en ambientes fuera de pacientes.

15 La construcción simple del dispositivo y la falta de tratamiento químico y/o enzimático del lipoaspirado, excepto las soluciones de lavado conducen a la formación de emulsiones, pueden facilitar la producción y venta y pueden evitar, facilitar o reducir etapas de investigación largas y costosas conducidas para recolectar datos de efectividad y seguridad acerca de nuevos fármacos o nuevos dispositivos para obtener autorizaciones de uso de los mismos.

20 De esta manera, el método de la presente invención producen un procedimiento rápido y simple, por ejemplo, requerir una única sesión fuera de paciente, para succión de grasa del cuerpo de un paciente, tratamiento de dicha grasa sin emulsión química/enzimática del lipoaspirado, y almacenamiento y/o reinyección de la misma en un paciente. El dispositivo puede tener medios allí, particularmente bolas, para formar una emulsión de líquidos, se requiere muy poco tiempo para obtener la emulsión de los líquidos y la separación del material celular que flota sobre dicha emulsión, mediante agitación mecánica manual.

25 El tiempo requerido para tratar el lipoaspirado y hacerlo adecuado para uso es de promedio 10 a 20 minutos; en cualquier caso, el tiempo requerido para obtener material trasplantable es menor que el requerido con otros métodos o dispositivos de la técnica anterior.

30 El dispositivo de tratamiento y almacenamiento de lipoaspirado también se puede utilizar para la etapa de trasplante posterior.

35 De otra forma, preferiblemente, el material tratado se puede dividir y transferir a otros recipientes, por ejemplo, una o más jeringas de 10 cc, cuyos recipientes pueden experimentar sedimentación y/o centrifugación, para separar el componente líquido/aceitoso residual del componente sólido, que estará de esta manera listo para trasplante, al transferirlo posteriormente a una o más jeringas de menor capacidad.

40 Por lo tanto, el dispositivo ofrece reducción de tamaño rápida de grupos de tejido adiposo, permitiéndoles ser inyectados a través de agujas muy pequeñas, que no dejan cicatrices en el paciente (el tejido preparado se puede utilizar para trasplante de tejido, en el que ningún agujero grande y visible sería estéticamente aceptable) y separar las fases de emulsión/célula, para obtener células inyectables o aglomerados celulares que tienen una mayor superficie para las células madre contenidas en el lipoaspirado, en contacto con los tejidos que se van a tratar. La reducción en aglomerados pequeños permite la activación de las células madre periféricas que se ubican sobre la superficie externa de dichos aglomerados. Entre más aglomerados, mayor la superficie celular expuesta y mayor las células madre periféricas que interactúan potencialmente con los tejidos tratados.

45 El método, dispositivo y kit como se describe en más detalle adelante se puede utilizarse para tratar no solamente material lípido sino también cualquier tipo de agregado celular que requiera reducción de tamaño de agregado celular y/o lavado y separación de la fase de líquido de la fase de células sólidas, simplemente mediante agitación mecánica. Estas y otras características y ventajas de la presente invención aparecerán más claramente a partir de la siguiente descripción de unas pocas realizaciones, ilustradas en los dibujos adjuntos, en los que:

- 55 - La figura 1 es una vista en perspectiva del recipiente de separación y lavado
- La figura 2 es una vista en perspectiva del recipiente de separación y lavado
- La figura 3 es una vista lateral del recipiente de separación y lavado,
- La figura 4 es una vista de sección longitudinal del recipiente de separación y lavado, con un filtro ubicado cerca a la salida,
- La figura 5 es una vista de sección longitudinal del recipiente de separación y lavado, que tiene: una red de reducción de tamaño de aglomerado celular ubicada cerca a la entrada de la cámara de lavado, una segunda red de reducción de tamaño ubicada cerca a la salida, y elementos de agitación en la cámara de lavado,
- 60 - La figura 6 es una vista en perspectiva del recipiente de reducción de tamaño,
- La figura 7 es una vista de sección longitudinal del recipiente de reducción de tamaño que tiene una red de reducción de tamaño cerca a la entrada y una cámara de recolección para la grasa de tamaño reducido,
- Las figuras 8a-8d muestran las etapas de tratamiento de lipoaspirados que ocurren en el recipiente de separación y lavado,

- La figura 9 es una vista de sección longitudinal del recipiente de separación y lavado de contenedor con el componente sólido de flotación sobre la emulsión de componentes líquidos que permite que el componente líquido salga de la salida de la cámara de lavado,
- La figura 10 muestra el dispositivo de la presente invención en primer plano, conectado al equipo ambulatorio y/o quirúrgico,
- Las figuras 11a, 11b, 11c muestran realizaciones de los medios de reducción de tamaño,
- Las figuras 12a, 12b muestran una realización de una red de reducción de tamaño, con detalle magnificado,
- Las figuras 13a, 13b, 13c muestran una realización de recipiente de separación y lavado y el terminal de cierre,
- La figura 14 muestra una aguja adaptada para uso en combinación con el dispositivo, para trasplante del material preparado.

El dispositivo proporciona una suspensión celular de tejido adiposo que se va a utilizar como llenador biológico, es decir un llenador de origen natural y autólogo o heterólogo, durante procedimientos de corrección de volumen facial y corporal y/o durante estimulación biológica de cualquier tejido u órgano inyectado con dicho material adiposo tratado solo o con otros llenadores naturales o sintéticos.

El material de grasa lobular, es decir macroaglomerados de células, particularmente adipocitos, que se tratan por el dispositivo de la presente invención, se pueden obtener por medio de procedimiento de liposucción que implica la extracción de tejido adiposo de cualquier área de donante del paciente, por ejemplo, parte subcutánea de la cadera, abdomen o área de rodillas, bajo anestesia local o en general en configuraciones de paciente externo.

Una vez se ha tratado dicho tejido adiposo con el dispositivo de la presente invención, se puede utilizar para autotrasplante, es decir inyección en áreas especiales del cuerpo del paciente del que se ha extraído el tejido, para rellenar áreas que, debido al envejecimiento, enfermedades, tratamientos, por ejemplo radioterapia, o cirugías anteriores, presentan deficiencias de volumen o reabsorción de grasa subcutánea, con la parte relevante del cuerpo que está hundida, con huesos que se proyectan y piel flácida.

El tejido tratado de acuerdo con el método de la presente invención se pueden disponer para ser utilizados en pacientes receptores diferentes a pacientes donantes.

Ahora se describirá un procedimiento de liposucción de ejemplo.

El procedimiento de liposucción incluye la separación del líquido anestésico, diluido adecuadamente y agregado posiblemente con adrenalina vasoconstrictora, en jeringas estériles, que tienen preferiblemente una aguja o un conector de cánula conocido como conector Luer, con el volumen de cilindro adecuado para el área de superficie del cuerpo que se va a anestesiar, por ejemplo, jeringas de 10 a 60 cc.

Una vez las áreas para retiro de tejido adiposo se han marcado y desinfectado adecuadamente, se inyecta el líquido anestésico local a través de las cánulas de extremo romo desechables estériles de aproximadamente 1 mm de diámetro, preferiblemente que tienen un conector Luer.

Se esteriliza la piel del paciente con técnicas convencionales y se anestesia mediante una pápula.

La anestesia se obtiene al introducir la solución anestésica a través de la introducción progresiva de la cánula estéril de extremo romo desechable a través de la piel dentro del tejido subcutáneo para impregnación del área objetivo completa con el anestésico.

Para inserción posterior e inyección de anestésico de la aguja o cánula para retiro de tejido adiposo, la piel se puede perforar mediante una aguja con punta estéril o una cuchilla lanceolada estéril de tamaño suficiente para permitir la introducción posterior de la cánula de extracción desechable.

Si se necesita, el paciente puede estar sedado.

La liposucción, es decir, el retiro de tejido adiposo se realiza con jeringa estériles conectadas a una cánula, preferiblemente tienen múltiples agujeros con un diámetro que varía de 1.2 a 3 mm. También se pueden utilizar cánulas de hasta 6 mm de diámetro.

Con el dispositivo descrito, cánulas de mayor diámetro (preferiblemente cánulas de múltiples agujeros de 3 mm) se pueden utilizar para extracción, permitiendo extracción rápida de una gran cantidad de tejido adiposo, debido a que los macro aglomerados de células extraídas de esta manera se someterán a reducción de tamaño antes de uso, como se describe en más detalle adelante. En una realización, dicha jeringa, que tiene por lo menos un volumen de 10 cc, tiene un conector Luer para conexión a cánulas estériles desechables, cuyas cánulas tienen uno o más agujeros sobre sus superficies para succión del tejido.

Obviamente, el volumen de la jeringa de succión y la cánula de succión depende de la cantidad de tejido adiposo que se va a succionar, que a su vez depende del volumen del tejido adiposo tratado que se considera se requiere para procedimiento de corrección y/o llenado posterior.

5 La cánula de retiro de tejido adiposo se introduce preferiblemente a través de los agujeros formados en la piel de antemano por la anestesia. Se utilizan preferiblemente jeringas de 10 cc para liposucción, ya que ejercen una presión adecuada sobre los tejidos y permiten el fácil manejo.

10 Estas son preferiblemente las jeringas 7 tipo Luer conocidas, que se conectan a una cánula de succión que tiene un conector Luer correspondiente, directamente o con la interposición de válvulas de dos vías especiales entre la cánula y la jeringa, cuyas válvulas, igual a aquellas mostradas esquemáticamente en la figura 10, se conectan por un tubo o conducto 8 a la entrada 102 del dispositivo, equipado preferiblemente con una válvula 9 de tres vías y permiten que el lipoaspirado se transfiera directamente a través de uno o más etapas del paciente al dispositivo de la invención.

15 Dicha transferencia puede ocurrir en un sistema cerrado, en el que el material biológico nunca hace contacto con el ambiente externo.

20 El dispositivo y método como se describe y reivindica adelante utiliza la grasa lobular succionada para obtener una suspensión celular con una fase sólida que consiste de célula, aglomerados celulares que tienen tamaños constantes pequeños y promedio, y la fase líquida libre de cualquier impureza tal como sangre, aceite, residuos celulares y líquido anestésico.

25 Como se muestra en las figuras 1 y 2, el dispositivo está compuesto del recipiente 1 de separación y lavado que tiene una cámara 101 de lavado para lavar el material liposucionado, cuyo recipiente 1 tiene una entrada 102 y una salida 103 para que el material liposucionado ingrese a la cámara 101 de lavado a través de la entrada 102 y para que por lo menos parte de dicho material, particularmente, en orden de tiempo, primero el componente de fluido y luego el componente sólido, salgan de dicha cámara 101 a través de la salida 103, dicha cámara 101 de lavado incluye medios para formar mecánicamente una emulsión de componentes de fluido, particularmente aceite obtenido de adipocitos rotos, sangre y/o otras soluciones líquidas estériles.

30 Dichos medios formadores de emulsión consisten de por lo menos un elemento 104 de agitación, tal como bolas o similar de diferente tamaño o tamaño igual, para aumentar la emulsión de componentes líquidos entre el recipiente 1 de separación y lavado que se somete a agitación. En el dispositivo de la presente invención, la agitación manual simple del dispositivo puede producir la separación de la fase líquida compuesta de la emulsión de fluidos desde la fase sólida compuesta de células, fragmentos celulares, agregados celulares.

35 La agitación mecánica también se puede proporcionar obviamente, para simular por lo menos la fuerza ejercida manualmente.

40 Estos agujeros 104 de agitación pueden tener tamaño relativamente pequeño cuando se compara con el de la cámara 101 de lavado, debido a que si son muy grandes pueden no moverse libremente en la cámara 101 y pueden dañar el material celular contenido en esa cámara 101. El peso de los agujeros de agitación debe ser también suficiente para formar una emulsión de líquidos sin provocar la ruptura de la pared celular.

45 Estos agujeros 104 de agitación puede ser cuerpos substancialmente esféricos, es decir, que tienen superficies exteriores redondeadas continuas y son huecas o sólidas y pueden girar y moverse dentro de la cámara 101 para ayudar a la mezcla gentil de componentes líquidos.

50 Los agujeros 104 de agitación se fabrican preferiblemente de un material estéril que no interactúa con el material biológico contenido en la cámara de lavado o con soluciones inyectadas para lavado del material celular: por ejemplo, pueden ser hechos de metal, que es fácil de esterilizar, incluso a altas temperaturas y evita que los elementos de agitación se rompan o deformen luego de la colisión entre sí o con las paredes internas de la cámara 101 de lavado.

55 Las superficies redondeadas de los elementos 104 de agitación también pueden facilitar la esterilización, ya que evitan la creación de áreas de acumulación de residuos o áreas de proliferación bacteriana de dichos elementos 104, que impedirían la limpieza y el mantenimiento de las condiciones estériles. Preferiblemente, los elementos 104 de agitación consisten de bolas que tienen un peso y tamaño dado, para facilitar la emulsión mutua de líquidos sin provocar ruptura mecánica de las paredes celulares durante la agitación manual o mecánica.

60 La emulsión de líquidos se obtiene debido a la presencia de medios 104 de agitación que mejoran la acción de mezcla, mientras también agitan gentilmente el recipiente para obtener emulsión de líquidos, y evitan el movimiento abrupto que puede conducir a la ruptura celular, dicha agitación no implica una desintegración de los enlaces entre los componentes líquidos.

65

ES 2 674 410 T3

Los elementos 104 de agitación de cualquier forma y material, tal como vidrio, se pueden utilizar obviamente.

El recipiente 1 de separación y lavado tiene preferiblemente una forma cilíndrica, pero puede ser diseñado de cualquier forma y tamaño que pueda contener una cantidad dada de grasa liposucionada y asegurar el manejo óptimo.

En una realización preferida, el lipoaspirado en la cámara de lavado no excede 1/3 de la capacidad general de la cámara. El volumen restante se llena con líquidos.

Por ejemplo, se puede proporcionar un recipiente 1 que tiene de 10 a 3000 cc de volumen.

El tamaño preferido es un contenedor de 300 a 600 cc, con aproximadamente 100 a 250 cc de lipoaspirado que se trata allí.

Como se muestra en las figuras, el recipiente 1 de separación y lavado se compone de una parte 111 tubular central con la cámara 101 de lavado formada allí, y dos terminales 112, 113 de cerrado en los extremos de dicha parte 111 tubular tal como tapas 112, 113 o similares, la entrada 102 y la salida 103 de la cámara 101 del recipiente 1 de separación y lavado consiste de un agujero formado en cada tapa 112, 113, que se comunica con una terminal 1021, 1031 de conexión y/o válvulas de cierre.

Obviamente, dichas terminales 1021, 1031 y/o dicho por lo menos una entrada 102 y salida 103 se pueden diseñar para ser cerradas con tapas estériles y/o estar equipadas con medios para evitar el retro flujo, tal como válvulas de una vía, durante la etapa de inyección y comprensión de grasa en dicho recipiente 1.

Por ejemplo, dicha entrada 102 y/o salidas 103 y/o dichos terminales 1021, 1032 de conexión se pueden conectar a válvulas 9 de tres vías como aquellas mostradas esquemáticamente en la figura 10.

El material de grasa se inyecta en la cámara 101 de lavado del recipiente 1 a través de la abertura 102 que está equipada, por ejemplo, con un conector 1021 luer y/o una válvula 9 de tres vías.

Los conectores macho, hembra y neutrales Luer son conocidos, y permiten la conexión de hermética de los fluidos entre dos dispositivos que tienen dichos conectores. Los conectores Luer se venden, por ejemplo, por GVS, en su sitio de red www.gvs.com. Ejemplos de jeringas con una válvula de dos vías se muestran en www.internationalpbi.it.

Se puede proporcionar por lo menos un filtro 4 en la cámara 101 de lavado del recipiente 1 de separación y lavado cerca a la salida 103 que permite el paso de los componentes de fluido y/o el componente sólido de la grasa y retiene los elementos 104 de agitación en la cámara 101 de lavado.

En una realización de variación de la presente invención, dicho filtro 4 puede consistir de una membrana selectivamente permeable que permite el paso de por lo menos parte de la fase líquida, que consiste de un componente aceitoso, un componente sanguíneo, soluciones estériles tales como solución salina y /o líquido anestésico y retienen la fase sólida, que consiste de fragmentos celulares, cuyas células y aglomerados celulares, permiten por lo tanto la separación de la fase líquida de la emulsión de la fase sólida.

Dicha membrana selectivamente permeable puede consistir de una red de mallas finas, que sean lisas, es decir, sin partes de proyección o superficies irregulares o afiladas que pueden dañar las paredes celulares, cuyas mallas o a través de intersticios más pequeños que los aglomerados celulares contenido en la cámara 101 de lavado del recipiente 1 de separación y lavado.

Las mallas de la red que forman la membrana selectivamente permeable pueden tener un tamaño que varía de 1000 a 50 μm .

Dicho filtro 4 se utiliza para retener los elementos 104 de agitación en la cámara 101 de lavado y evitan que se atasquen en la salida 103 durante el separación y lavado del componente celular sólido de la emulsión.

En una realización preferida, como se describe mejor adelante dicho filtro 4 se reemplaza por una red de corte de malla fina que proporciona medios para reducir el tamaño del componente sólido del lipoaspirado que sale de la cámara 101 de lavado.

En una alternativa, en el extremo opuesto, es decir, en la línea 102, se pueden proporcionar medios de reducción de tamaño para reducir el tamaño del componente sólido de la grasa 3 liposucionada, particularmente magro aglomerados de células, a aglomerados de células más pequeñas, es decir, que tienen un tamaño igual a o más pequeño que un valor dado, lo que significa que consisten en por lo menos una serie de láminas paralelas o de intersección o cables de corte hechos de material estéril, por ejemplo, metal, para formar por lo menos una red de reducción de tamaño, a través de la cual el material liposucionado pasa antes ingresar a la cámara 101 de lavado del recipiente 1 de separación y lavado.

El recipiente puede ser fabricado de vidrio o plástico estéril, o de cualquier forma de un material translúcido preferiblemente resistente a altas temperaturas y tratable en autoclave, para inyección allí de la grasa lipoasccionada.

5 Como se muestra en las figuras 4 y 5, dicha red de reducción de tamaño para aglomerados 3 celulares esta subtendido en la cámara 102 de lavado próxima a la entrada 103 del recipiente 1 de separación y lavado en una posición substancialmente perpendicular a la dirección del flujo de grasa que ingresa a la cámara 101 de lavado de dicho recipiente 1 de lavado y separación.

10 En una realización preferida de la presente invención los tamaños de lipoaspirados se reducen progresivamente.

Dicha reducción progresiva se obtiene al obligar a pasar el lipoaspirado por lo menos una vez a través de las mallas o aberturas de dos o más redes de reducción de tamaño en una distancia dada entre sí.

15 Además de la red próxima a la entrada 102, el recipiente 1 de separación y lavado tiene una segunda red 6 de corte de reducción de tamaño, subtendida en la cámara 101 de lavado próxima a la salida 103 del recipiente 1 de separación y lavado en una posición sustancialmente perpendicular a la dirección del flujo de la grasa que sale de la cámara 101 de lavado de dicho recipiente 1 de lavado y separación, de tal manera que el lipoaspirado que ingresa a la cámara 101 de lavado y separación, antes de salir de dicha cámara 101, puede fluir a través de dos redes con mallas progresivamente más finas, las mallas más ásperas se proporcionan en la red ubicada próxima a la entrada 20 102.

Por lo tanto, las dos redes se ubican una distancia dada entre sí: particularmente, que ubican en lados de extremo del recipiente 1 de lavado y separación, separados de la cámara 101 de separación y lavado que contiene los 25 medios 104 de agitación así como un espacio suficiente para formar una emulsión.

Considerando la dirección del flujo de lipoaspirado, la primera red 3, es decir, aquella ubicada cerca a la entrada 102, detiene los componentes de fibra de los lóbulos de grasa y realiza una primera pequeña reducción, por 30 ejemplo, proporciona aglomerados de un tamaño máximo relativamente homogéneo, es decir, tiene un diámetro de 0.5 a 2 mm, mientras que la segunda red 6, ubicada próxima a la salida 103, realiza una reducción adicional de los aglomerados, que se han lavado previamente. Por ejemplo, los aglomerados y/o las células que salen del recipiente 1 de separación y lavado tienen un diámetro de hasta 10 μm .

La segunda red 6, como un reemplazo del filtro 4, se puede utilizar para retener los elementos de agitación en 35 cámara de lavado y separación.

Dicha reducción progresiva a través de los tamices de corte de múltiples redes proporciona un componente sólido para ser inyectado que se está compuesto de aglomerados de diámetro muy pequeño, si se necesita, de células 40 individuales. El dispositivo permite al lipoaspirado ser reducido a material trasplantable de cualquier tamaño.

Cuando el material de célula pasa a través de la segunda red 6 ubicada próxima a la salida 103, después que se realiza la etapa de lavado en la cámara 103 de lavado y separación, dicha red tiene mallas o aberturas de tamaño reducido, pueden conducir a la formación de aceite, debido a la ruptura de los adipocitos.

45 Este aceite se puede retirar al transferir el material de célula en otro recipiente 1 que tiene la cámara 101 de lavado y separación, con o sin medios de reducción de tamaño.

Como una alternativa a o en combinación con dicha transferencia en un segundo recipiente de separación y lavado, se puede retirar cualquier aceite líquido /residual al decantar y/o centrifugar el material tratado que sale de la cámara 50 de separación y lavado uno o uno y se coloca en recipientes especiales.

Estos recipientes pueden ser una o más jeringas mantenidas en un soporte de jeringa. Como se muestra en las figuras 12a y 12b, las redes ubicadas, con medios y técnicas conocidas, próximas a la entrada y salida de la cámara 101 de separación y lavado, pueden tener mallas de corte de panel.

55 En una realización, el área de cada malla de la red próxima a la entrada 102, tiene aproximadamente 4 mm^2 , en el que el área de cada malla de la red próxima a la salida 103 tiene aproximadamente 1 mm^2 .

La reducción y homologación del tamaño del aglomerado celular se proporcionan por láminas o mallas de la red o 60 preferiblemente las dos redes de corte ubicadas en el recipiente 1.

Cada red tiene mallas iguales o a través de espacios, que tiene un diámetro que varía de 2000 μm a 50 μm , preferiblemente de 1500 μm a 100 μm .

65 En razón a que las mallas de la red 3 se ubican próximas a la entrada 102 son más grandes que las mallas de la segunda red 6 ubicada próxima a la salida 103, un primer tamaño de homologación y/o reducción de aglomerados

de lipoaspirado tiene mediante el paso a través de las mallas de la primera red 3 y se obtiene una segunda reducción de aumento cuando se provoca que el material salga del recipiente 1, al ser pasado a través de las mallas de la segunda red 6.

5 En una realización, los espacios (aberturas de mallas) de los medios de reducción de tamaño para aglomerados celulares, particularmente en la red 6 Se ubican próximos a la salida 103, que tienen un diámetro que varía de 750 a 50 μm y suficientemente lejos para permitir el paso del material celular, incluso de células individuales.

10 Obviamente, la reducción de tamaño de lipoaspirado y/o lavado también puede ocurrir utilizando un único recipiente 1 de separación de lavado, que tiene medios de reducción de tamaño allí, es decir, uno, dos o más redes, pero utilizando una sucesión de dos o más recipientes 1, adaptados para ser conectados entre sí. Las mallas de las redes 3, 6 de cada recipiente 1 pueden tener diferentes tamaños de mallas de redes ubicadas o en otro recipiente 1 y/o mallas de la red o redes de un recipiente pueden tener diferentes tamaños entre sí.

15 Por lo tanto, para reducción progresiva de tamaño de aglomerados de lipoaspirado, el material puede ser obligado a salir de un dispositivo dentro de un segundo dispositivo con una cámara 1 de separación y lavado y medios de reducción de tamaño que tienen mallas más pequeñas luego la red o redes se ubican en el dispositivo utilizado anteriormente.

20 Como se muestra en las figuras 6 y 7, por lo menos una red de reducción de tamaño para aglomerados 3 celulares, se subtiende entre una entrada 202 y una salida 203 en una cámara 201 de reducción de un recipiente 2 de reducción de tamaño, próximo a dicha entrada 202 del recipiente 2 de reducción de tamaño para recibir la grasa que ingresa a dicha cámara 202 de reducción, dicho recipiente 2 también tiene una salida 203, para grasa liposucionada que se va a inyectar a través de la entrada 202, pasada a través de la red 3 de reducción de tamaño dentro de la cámara 201 de reducción del segundo recipiente 2 y se permite para salir de dicha cámara 201 de reducción a través de la salida 203, dicha salida 203 se designa para estar conectada a la entrada 102 del recipiente 1 de recolección y separación para proporcionar comunicación entre cámara de reducción de tamaño (201) del recipiente (2) de reducción de y la cámara 101 del recipiente 1 de separación y lavado.

30 Alternativamente y preferiblemente, puede ocurrir la reducción multietapas al recolectar el material celular en jeringas, por ejemplo, jeringas de 10 cc y utilizar la última para introducir el material en un segundo dispositivo completo que tiene mallas progresivamente más finas.

35 Como se muestra en las figuras 6 y 7, el recipiente 2 de reducción de tamaño se puede componer de dos porciones sema cubiertas conectadas entre sí, por lo menos una de dichas dos partes, preferiblemente la parte con la salida 203, tiene una cámara 201 interna para recolectar la grasa reducida en tamaño.

40 En una alternativa, dicho recipiente 2 de recolección puede ser diseñado para estar compuesto de dos elementos similares a los terminales de cierre de la cámara de lavado como se describe aquí.

Las dos terminales se pueden conectar entre sí de en una forma fija o removible, para formar un recipiente 2 de reducción de tamaño con una cámara 201 de reducción de tamaño interna.

45 Al igual que la cámara 1 de separación y lavado, el recipiente de recolección es preferiblemente del tipo desechable o se puede retirar para esterilización de los elementos internos y reutilización.

Obviamente, la cámara 201 de reducción de tamaño se le puede permitir diferentes tamaños, para recolectar diferentes cantidades de material celular, de tamaño reducido pasar a través de por lo menos la red 3 de reducción de tamaño.

50 Próximo a la salida 203 se puede proporcionar una red de reducción de tamaño de aglomerado celular adicional.

Particularmente, se pueden proporcionar dos redes de reducción de tamaño de lipoaspirado en el recipiente 2 de reducción de tamaño uno próximo a la entrada 202 y el otro próximo a la salida 203, dichas dos redes tienen mallas de diferentes tamaños: particularmente, la red próxima a la entrada 202 tiene una malla más grande que la red próxima a la salida 203. De acuerdo con una variante, el dispositivo de la presente invención está compuesto de por lo menos un recipiente 2 de reducción de tamaño y por lo menos un recipiente de separación y lavado para separar el componente de fluido del componente sólido, dicho recipiente 2 de reducción de tamaño tiene una cámara 201 de reducción de tamaño con una entrada 202 y una salida 203 y una red 3 de reducción de tamaño entre ellas, la salida 203 tiene medios 2021, 2031 de conexión herméticos a los fluidos removibles para conexión con medios 102 de conexión de acoplamiento adecuados en la entrada 102 de la cámara 101 de lavado del recipiente 1 de separación y lavado.

65 Como se muestra en la figura 7, el recipiente 2 de reducción de tamaño tiene una entrada 202 y una salida 203 y una red 3 de reducción de tamaño para los aglomerados celulares que forman el componente sólido de la grasa, ubicado en una posición intermedia entre la entrada 202 y la salida 203 o desfasado hacia la entrada 203 y el

ES 2 674 410 T3

compartimiento en la dirección del flujo, con referencia a la dirección de inyección de grasa, actúa como una cámara de recolección para el material 202 de tamaño reducido, dicho compartimiento tiene un volumen predeterminado.

5 Las entradas 102, 202 y salidas 103, 203 del recipiente 2 de reducción de tamaño y/o el recipiente 1 de separación y lavado tienen medios de conexión herméticos a los fluidos removibles, tal como conectores Luer o similares, para conexión a dispositivos médicos, tal como jeringas, bolsas o similares, que tienen medios de conexión herméticos a los fluidos removibles compatible con medios ubicados en las aberturas 102, 103, 202, 203.

10 Obviamente, las entradas 202 y las salidas 203 del recipiente 2 de reducción de tamaño se pueden diseñar para ser cerrados con tapas estériles y/o estar equipado con medios de prevención de retro flujo, tal como válvulas de una vía, durante reducción de tamaño.

15 Con el fin de permitir que la grasa liposucionada fluya hacia dentro y fuera de la cámara 201 de reducción de tamaño del recipiente de reducción de tamaño y/o la cámara 101 de lavado del recipiente 1 de separación y lavado y permitir el retiro de componente de fluido, es decir, la emulsión obtenida mediante agitación mecánica de la cámara 101 de lavado, se proporcionan medios para comprimir o aspirar el componente de fluido y/o el componente de grasa sólido, tal como jeringas o similares, lo que significa que se puede conectar en forma hermética a los fluidos y en forma removible con medios 1021, 1031, 2021, 2031 de acoplamiento ubicados en las entradas 102, 202 y las salidas 103, 203 de la cámara 201 de reducción de tamaño y/o la cámara 101 de separación y lavado.

20 Obviamente, el flujo de material de grasa a través de las mallas de la red 3, 4 de reducción de tamaño se puede facilitar mezclar dicho material de grasa con líquidos, particularmente solución salina.

25 Las redes 3, 6 de reducción de tamaño en el recipiente 1 de separación y lavado y/o redes 3 en el recipiente 2 de reducción de tamaño pueden estar cada una diseñadas para que tengan espacios o mallas de diferente tamaño, de tal manera que las redes en un recipiente tienen mallas de diferentes tamaños entre sí y/o de las mallas de redes o en otro recipiente, de tal manera que la reducción de tamaño de aglomerado celular está dirigido a obtener aglomerados celulares iguales a o más pequeños que un valor dado, lo que ocurre en múltiples etapas a través de las redes en dichos recipientes 1 y/o 2.

30 Por lo tanto, el propósito de esta parte del dispositivo descrito es reducir el tamaño de los lóbulos de tejido adiposo al forzarlos a través de una red de corte especial o láminas de cortes paralelas, preferiblemente a través de dos redes y formar una suspensión celular con células y/o aglomerados celulares, particularmente adipocitos, que tienen tamaños uniformes promedio y reducidos o de cualquier forma aglomerados que tienen tamaños igual o más pequeños que un valor predeterminado, dicha suspensión celular se adapta para uso en una etapa de trasplante posterior utilizando particularmente agujas delgadas o cánulas, mientras se evita el taponamiento de los mismos.

35 El propósito de las redes de reducción de tamaño también es aumentar la cantidad de células madre periféricas que pueden hacer contacto con el tejido que se va a tratar después de inyección, cuyas células madre se adhieren a las superficies externas de los aglomerados de células obtenidas al reducir la masa de lipoaspirado.

40 Con el dispositivo anterior, los tamaños de aglomerados celulares, luego del paso a través del medio de reducción de tamaño, son sustancialmente idénticos y varían de 2000 μm a 50 μm , preferiblemente de 1500 μm a 100 μm .

45 Como se muestra en las figuras, el recipiente 1 de separación y lavado está compuesto de un cuerpo 111 tubular central y dos terminales 112, 113 de terminales de cierre o tapas, que están o se pueden fijar a los extremos del cuerpo 111 central. Dicha parte 111 central se muestra ya que tiene una forma cilíndrica, pero puede tener cualquier forma y tamaño.

50 El recipiente 101 de lavado tiene tal tamaño que permite el manejo del mismo con una mano.

55 En una variante, como se muestra en las figuras 2, 3, 4 y 5, se proporciona una sección 115 con forma de copa ampliada en un extremo de la parte 111 tubular central, cuya sección tiene un extremo axial ampliado de dicha parte tubular, cuyo diámetro interno es mayor que aquel de la parte 111 central.

Una terminal 112 de cierre tiene una abertura adaptada para engancharse con el extremo de la parte central, mientras que un segundo terminal 113 de cierre tiene una extensión 116 cilíndrica para enganche en el asiento 115 con forma de copa de la parte 111 central, al limitar contra un resalto 117 de límite radial anular externo.

60 En las superficies de contacto de la extensión 116 axial del terminal 113 de cierre y la parte 115 con forma de copa ampliada en un extremo de la porción 111, y entre la superficie exterior del lado de extremo de la parte central de las superficies interiores de la abertura de segundo terminal de 112 cierre en contacto con este, medios para conexión hermética a los fluidos, tal como juntas tóricas o similares se pueden proporcionar, que forman, en combinación con los componentes descritos anteriormente, es decir los terminales 112, 113 de cierre, y con la parte 111 central, un

65 cámara 101 de lavado completamente estéril, aislada del entorno externo. Protuberancias y ranuras se pueden

ES 2 674 410 T3

proporcionar adicionalmente sobre estas superficies de contacto para asegurar la fijación de estos terminales 112, 113 sobre el cuerpo 111 tubular.

5 Dichos terminales 112, 113 de cierre se pueden diseñar para fijarse en forma removible al cuerpo 111 tubular central, pero dicho recipiente 1 de separación y lavado también se puede diseñar para ser removible para permitir la separación de uno o ambos terminales de la parte 111 tubular. Por lo tanto, esto proporcionará un recipiente 1 de separación y lavado desechable, que se adapta para ser esterilizado también en su cámara 101 de lavado interna, y por lo tanto ser reutilizable.

10 Como se muestra en las figuras 13a, 13b, 13C, los terminales 112, 113 de cierre en la parte tubular central pueden tener construcciones muy simples: los dos terminales de cierre pueden estar en la forma de tapas montadas en forma fija o removible a los extremos del cuerpo 111 tubular.

15 Estos terminales pueden tener resaltos sobre la cara que se orienta hacia la cámara de lavado, para evitar la deformación de las redes, que pueden ser delgadas y delicadas.

20 Estos terminales 112, 113 de cierre tienen aberturas, tal como agujeros pasantes, formados en el eje central longitudinal de la parte tubular, cuyas aberturas tienen válvulas de cierre y/o medios 1021, 1031 de conexión hermética a los fluidos tal como conectores Luer, o conectores de tornillo o de ajuste a presión o similares, o válvulas de múltiples vías, que proporcionan conexión a la cámara 101 de lavado con uno o más dispositivos médicos, posiblemente al mismo tiempo, tal como jeringas, bolsas o similares, o con la cámara 201 de reducción lateral del recipiente de reducción de tamaño, a través de entradas 202 y/o salidas 203 que tienen medios 2021, 2031 de conexión de acoplamiento.

25 Como se muestra en las figuras, se proporciona un filtro 4 en la salida 103, en la conexión entre el terminal 113 de cierre y el lado de extremo de la parte tubular central, dentro de la cámara de lavado, sustancialmente perpendicular al eje longitudinal de la parte 111 tubular central, cuyo filtro mantiene los elementos 104 de agitación dentro de la cámara 101 de lavado, para evitar que se atasquen en cualquier abertura, particularmente la salida 133, cuando el recipiente 2 de separación y lavado se orienta verticalmente con relación al suelo para el retiro de la emulsión líquida. Como se mencionó anteriormente, el recipiente 1 de separación y lavado se puede diseñar para que se proporcione, en la entrada 102 con medios 3 de reducción de tamaño para reducir el tamaño de grasa lobular producida de la liposucción, en células y aglomerados celulares, particularmente adipocitos y células madre, de tamaño similar o idéntico y más pequeño.

35 Como se mencionó anteriormente, en cambio de o además del filtro 4, se puede proporcionar unos medios de reducción de tamaño para el material liposucionado, tal como una red de reducción de tamaño de lipoaspirado, cuyo lipoaspirado se divide adicionalmente en aglomerados más pequeños antes de salir de la cámara 101 de separación y lavado.

40 Por lo tanto, en la conexión entre el terminal 112 de cierre y el lado de extremo de la parte tubular central, se proporciona una red de reducción de tamaño en la cámara de lavado próxima a la entrada 102, sustancialmente perpendicular al eje longitudinal de la parte 111 tubular central, cuya red reduce el tamaño de un macroaglomerado hasta un valor determinado, cuyos macroaglomerados se inyectan o empujan en la cámara de separación y lavado a través de la entrada 102.

45 Una red de reducción de tamaño adicional se puede proporcionar en la conexión entre el terminal 113 de cierre y el lado de extremo de la parte tubular central, en la cámara 101 de lavado próxima a la salida 103, sustancialmente perpendicular al eje longitudinal de la parte 111 tubular central. En esta alternativa, el pasaje a través de la primera red de reducción de tamaño, próxima a la entrada 102, fragmenta las piezas de tejido conjuntivo de lipoaspirado y/o proporciona una primera reducción áspera del tamaño del aglomerado de lipoaspirado, mientras que el pasaje a través de la segunda red de reducción de tamaño ubicada próxima a la salida 103 proporciona aglomerados celulares cuyo tamaño es igual a o más pequeño que un valor dado, dichas redes tienen mallas de diferentes tamaños, particularmente la primera red, con referencia a la dirección del flujo de grasa en el recipiente 1 de separación y lavado, que tiene mallas más grandes que la segunda red.

50 La masa preparado de tejido adiposa preparada por el dispositivo descrito anteriormente, es decir el tejido adiposo que experimenta reducción de tamaño a través de redes de reducción de tamaño y/o de separación y lavado del componente sólidos del componente líquido, que está compuesto principalmente de adipocitos, pero también otros tipos de células viables y perfectamente saludables que se pueden encontrar en un lipoaspirado, y se pueden utilizar para trasplante en procedimientos de remodelación corporal y/o facial.

55 Un método para tratar o evitar lesiones o enfermedades en un paciente, particularmente un método para tratar las deficiencias de volumen en un cuerpo y cara, mejorando el trofismo de la piel y/o la estimulación biológica se describe, cuyo método incluye:

60

- por lo menos una etapa para extraer material biológico de áreas donantes del paciente, particularmente tejido adiposo extraído por liposucción,
- por lo menos una etapa para tratar dicho material,
- por lo menos una etapa para inyectar el material tratado en un paciente.

5 Antes de la etapa de inyección, se puede proporcionar obviamente una etapa de recolección y almacenamiento de material biológico.

10 La etapa de tratamiento incluye por lo menos una etapa de reducción de tamaño para reducir el tamaño del material extraído y/o por lo menos una etapa de separación y lavado para separación y lavado de la fase líquida de la fase de células sólidas, dicha etapa de tratamiento se lleva a cabo utilizando el dispositivo y método de la presente invención.

15 En el método actual, el paciente donante también es el paciente receptor en el que se lleva a cabo la etapa de inyección.

No obstante, el donante y un receptor también pueden ser personas diferentes. Obviamente, el dispositivo y método para tratar el tejido y el método para tratar al paciente pueden implicar el uso de tejido diferente al tejido adiposo.

20 Un procedimiento de ejemplo para trasplante de material biológico preparado por el dispositivo anterior se describirá ahora.

25 El material preparado utilizando el dispositivo descrito anteriormente se puede almacenar en uno o más recipientes estériles, por ejemplo jeringas, se le permite decantarse y posiblemente centrifugar para separar el componente sólido de cualquier aceite residual o solución.

El material celular preparado utilizando el método de la presente invención se puede inyectar en cualquier tipo de tejido y con cualquier procedimiento adecuado.

30 Una vez se han designado las áreas de recepción y desinfectado en forma precisa, la aguja o microcánula de la jeringa que contiene la suspensión celular preparada se introduce en el tejido muscular o subcutáneo, creando por lo tanto la red tridimensional de túneles para inyección de cantidades muy pequeñas de aglomerados celulares.

35 Esta etapa se lleva preferiblemente a cabo utilizando una cánula de extremo romo estéril desechable con un conector Luer, que tiene un diámetro muy pequeño.

40 El tamaño pequeño de los túneles formados en la integración de las instalaciones de tejidos tratados de las células, y los aglomerados celulares en los espacios intersticiales del tejido subcutáneo o el tejido muscular, reducen por lo tanto el trauma quirúrgico y facilitan el retorno rápido a la consistencia normal de los tejidos que experimentan tratamientos de remodelamiento y aumento de volumen.

Por lo tanto, la formación de túneles de diámetro pequeño varía en los tejidos que optimizan los resultados de estimulación biológica y/o reconstrucción de volumen de tejido.

45 La reducción del tamaño del lóbulo de grasa al dividir dichos lóbulos en aglomerados produce una superficie de contacto más grande entre la masa inyectada y los tejidos que se tratan, facilitando por lo tanto la estimulación biológica de las áreas pertinentes y la integración del tejido adiposo trasplantado.

50 El uso de estas cánulas particularmente delgadas, posiblemente de menos de 1 mm, se permite mediante la reducción del tamaño de la grasa lobular liposucionada, que ocurre en por lo menos un recipiente 2 de reducción de tamaño y/o por lo menos un recipiente 1 de separación y lavado que tiene medios de reducción de tamaño que consisten de por lo menos una serie de láminas paralelas y/o por lo menos una red de cables o láminas delgadas, preferiblemente en por lo menos dos redes, por lo menos una de dichas dos redes tiene mallas de tamaño muy pequeño, que permiten el pasaje de aglomerados de celulares o incluso células individuales que tienen tamaños del orden de las micras.

55 Si no ocurre reducción de tamaño de grasa, las cánulas que se utilizan en los procedimientos de trasplante estarían taponadas.

60 Como una alternativa a las cánulas estériles con extremo romo, se pueden utilizar cánulas 5 helicoidales o con forma de espiral que tienen un extremo puntiagudo o romo como el mostrado en la figura 12 para trasplante de células adiposas.

65 Una cánula 5 helicoidal se utiliza particularmente para la inyección en órganos en los que se requieren unas pocas etapas de penetración de la aguja de trasplante: la aguja sacacorchos produce densidad de material celular maximizado depositado a lo largo de la ruta individual.

Dicho tipo de cánula permite el trasplante de aglomerados de células de tejido adiposo incluso en tejidos de alta consistencia o tejidos particularmente delicados, tal como tejidos de cicatrices, huesos, cartílagos, miocardio o en otros órganos, a través de un único punto de inyección que permite el tratamiento de un determinado volumen de tejido.

5 La cánula se introduce con un movimiento giratorio para permitir que la hélice ingrese al tejido. Luego, se extrae la cánula en la misma forma mientras se inyectan grupos o aglomerados celulares de tejido adiposo. Esto aumentará considerablemente la cantidad de tejido adiposo trasplantado por unidad de volumen, en comparación con inyección individual mediante una aguja rectilínea, y por lo tanto el volumen de el volumen tratado sin reducir la superficie de
10 contacto entre el tejido adiposo inyectado y el tejido de recepción, aumenta por lo tanto el potencial de vascularización de las células inyectadas, ya que el tejido adiposo se libera como bandas o glóbulos muy delgados de células, debido al diámetro más pequeño de la cánula, y en una ruta en espiral.

15 El uso de estas cánulas, que permiten al tejido adiposo preparado, contener, además de adipocitos, otros tipos de células que incluyen células madre, que se van a liberar en una ruta en espiral en los tejidos que se van a tratar, es particularmente adecuado cuando no hay forma de realizar llenado de tejido Coleman, es decir formar una red de túneles en el tejido que se va a tratar debido, por ejemplo, a consistencia excesiva del tejido que se va a tratar, o cuando el trauma de tejido es indeseado, tal como el tratamiento de miocardio. La presente invención también se refiere a un tejido para trasplante, por ejemplo, para autotrasplante o heterotrasplante, cuyo tejido está compuesto
20 de células, posiblemente fragmentos de células y/o aglomerados de células, y se obtiene utilizando el método y/o dispositivo descrito anteriormente.

El tejido está compuesto de material celular de tamaño uniforme, con diámetros promedios que varían de 10 μ m a 2 mm.

25 Preferiblemente 0.05 a 1.5 mm, especialmente aproximadamente 0.75-0.5 mm o menos (hasta 10 μ m).

Si se necesita, la presente divulgación también puede proporcionar tejido compuesto de células individuales.

30 El tejido puede ser un tejido adiposo compuesto principalmente de adipocitos y células madre.

Dichas células madre se adaptan para ser utilizadas para crear cualquier tipo de célula, tal como condrocitos, osteocitos, adipocitos, células nerviosas.

35 Después de preparación, este tejido adiposo tiene una fracción líquida pequeña, libre de cualquier impureza, que se mezcla con aglomerados celulares y es suficiente para facilitar la introducción de células en los tejidos que se van a tratar.

40 Dicha fracción líquida puede ser de aproximadamente 50% en peso de tejido adiposo preparado para trasplante. Se describe un kit desechable y estéril preferiblemente, adaptado para uso tanto en configuraciones quirúrgicas como fuera de paciente. El dispositivo o kit tiene conectores de dos o tres vías, con o sin válvulas, jeringas y tubos de conexión, y diversos recipientes (por ejemplo, una bolsa para solución salina de lavado y una bolsa para recolectar desperdicios de lavado).

45 El kit se puede utilizar para tratar material celular de cualquier tipo, preferiblemente grasa para autotrasplante o heterotrasplante 1 y comprende por lo menos un recipiente 1 para lavar el componente sólido de la grasa y separar el componente sólido del componente fluido, dicho recipiente 1 de separación y lavado se forma como se describió anteriormente.

50 Este kit, que está compuesto de por lo menos un recipiente de separación y lavado tiene medios de reducción de tamaño en la cámara 101 de lavado que es particularmente ventajoso cuando se utiliza en el campo de tratamiento cosmético, por ejemplo en configuraciones de paciente externo, ya que proporciona un dispositivo estéril perfectamente simple, que se va a utilizar para tratamiento rápido del material extraído del paciente, sin riesgo de contaminación material de células debido a contacto con el ambiente externo.

55 El kit permite el tratamiento de material biológico, a partir de la primera etapa de succión de tejido hasta la última etapa de inyección, en un sistema completamente cerrado, que permite al material que se va a tratar sin provocar contacto al ambiente exterior y sin utilizar medios que puedan contaminarlo.

60 Esto es permitido a través del uso de uno o más tubos, jeringas, bolsas, válvulas de múltiples vías, conectores Luer y obviamente uno o más recipientes 1 de separación y lavado (y posiblemente uno o más recipientes 2 de reducción de tamaño), que son estériles y se conectan o se pueden conectar juntos en una forma hermética a los fluidos.

65 Por lo tanto, el sistema que proporciona retiro de material biológico, tratamiento de material, almacenamiento, inyección de material biológico es un sistema que se aísla completamente del ambiente externo en todas sus etapas, desde el retiro del paciente hasta inyección en el paciente receptor.

Uno o más componentes de sistema se pueden mecanizar mediante conexión a equipo especial, de tal manera que una o más etapas de los procesos incluyen succión y/o tratamiento de material biológico y/o la inyección se puede llevar a cabo sin requerir ninguna acción de un operador.

5 Este kit es particularmente adecuado para procedimientos de cirugía estética menor. En una realización preferida, el kit comprende uno o más recipientes 1 que tienen por lo menos una red de reducción de tamaño, preferiblemente dos redes de reducción de tamaño, como se describió anteriormente. Cada recipiente 1 del kit se puede diseñar para que tenga redes con mallas de diferentes tamaños de aquellos de los otros recipientes 1 de tal manera que, al forzar el material a través de las mallas de las redes de múltiples recipientes, los aglomerados celulares se reducen en tamaño progresivamente hasta el valor deseado que permite trasplante.

Dicha reducción progresiva evita el riesgo de taponamiento de las mallas de las redes y evita que se haga lento el proceso de tratamiento.

15 Como una alternativa, se puede producir un kit que comprende:

- por lo menos un recipiente 1 para lavar el componente sólido de grasa y separar dicho componente sólido del componente fluido, que posiblemente tiene por lo menos una red de reducción de tamaño o láminas 3,
- por lo menos un recipiente 2 de reducción de tamaño formado como se describió anteriormente y adaptado para conectarse a dicho recipiente 1.

20 En una realización, el kit tiene dos o más recipientes 2 de reducción de tamaño, que se adaptan para conectarse alternativamente mediante sus salidas 203 o entradas 202 a la entrada 102 o salida 103 del recipiente 1 de separación y lavado, una cantidad predeterminada de grasa de tamaño reducido se almacena y preserva en condiciones estériles en la cámara 201 de reducción de cada recipiente 2 de reducción de tamaño.

25 Un Kit que tiene un grupo de recipientes 2 de reducción de tamaño también se puede proporcionar, que está compuesto de por lo menos dos recipientes 2 de reducción de tamaño que tienen diferentes tamaños en términos de malla de la red 3 de reducción de tamaño y/o el volumen de grasa de tamaño reducido contenido en la cámara 201 de reducción.

30 Por ejemplo, el kit se puede diseñar para que contenga dos o más recipientes 2 de reducción de tamaño que tiene medios 3 de reducción de tamaño a través del cual el material celular puede ser forzado, cada uno tiene una red 3 con mallas de diferentes tamaños.

35 La disposición de dos o más recipientes 2 de reducción de tamaño permite el tratamiento de una gran cantidad de grasa sin riesgo de taponar las mallas de la red de reducción de tamaño y por lo tanto reduciendo los procesos de tratamiento material. Los recipientes 1 de separación y lavado y/o los recipientes 2 de reducción de tamaño pueden ser de tipo desechable o se pueden formar de tal manera que permitan la esterilización completa y el uso posterior del mismo.

El kit de la presente invención también incluye, alternativa o en combinación:

- una o más jeringas estériles desechables con diferentes volúmenes,
- 45 - una o más agujas de punta estéril o cuchilla lanceolada estéril de diferentes tamaños particulares para permitir la introducción transcutánea de cánulas para anestesia, retiro y trasplante,
- una o más cánulas estériles desechables que tienen un extremo romo o puntiagudo, por lo menos uno de los cuales tiene un diámetro muy pequeño, del orden de 1 mm,
- 50 - una o más válvulas de vías de una o múltiples vías, con o sin válvulas de cheque, por ejemplo válvulas de tres vías que se van a conectar a las entradas 102, 202 y/o las salidas 103, 203 de los recipientes 1 y/o 2,
- uno o más tubos estériles con conectores Luer, que permiten el paso de material biológico de un componente del kit a otro (por ejemplo, de la jeringa a la cámara 1 de separación y lavado o de una bolsa de solución salina a la cámara de separación y lavado)
- 55 - medios o recipientes, tal como jeringas, para permitir decantar y/o posiblemente descentrifugar el material de grasa preparado utilizando el dispositivo descrito anteriormente, cuyo material de grasa se puede distribuir en uno o más recipientes estériles, para proporcionar separación adicional del componente sólido, que flota después de decantación sobre el componente líquido/aceitoso residual que se va a retirar antes de trasplante,
- medios para preservar el material biológico de tal manera que se prepara y está listo para trasplante, por ejemplo, medios para criopreservación del mismo en una simulación de entorno cerrado de una sala limpia, es decir un recipiente que tiene condiciones controladas, por ejemplo, en términos de polución de partículas, presión y temperatura.
- 60

65 Como se muestra esquemáticamente en la figura 10, el kit puede comprender uno o más dispositivos tal como uno o más recipientes 1 de reducción de tamaño y separación y lavado, jeringas 8 para succionar material del paciente, jeringas 12 para recolectar/inyectar el material biológico tratado, lavar bolsas 10 de líquido (por ejemplo, una bolsa

que contiene solución salina), bolsas 11 para recolectar material de desperdicio, que son o se van a conectar juntas mediante tubos estériles, válvulas de múltiples vías, conectores Luer.

5 En lugar de o en adición a dichas cánulas de diámetro pequeño, el kit puede incluir por lo menos una cánula 5 de forma de espiral o helicoidal con un extremo puntiagudo o romo que permite, como se describió anteriormente, el trasplante de masa de células de tejido adiposo en alta consistencia o particularmente tejidos delicados al aumentar el volumen de tejido tratado con un único punto de inyección.

10 El kit también puede incluir un instrumento para jeringas de bloqueo durante succión para evitar temporalmente que el émbolo rebote hacia atrás, por ejemplo, durante liposucción y permita menos succión de tejido adiposo traumático.

15 El kit puede comprender adicionalmente un mecanismo de empuje de resorte para impartir un movimiento oscilante al pistón de jeringa, cuyo mecanismo se conecta a la válvula de dos vías y ofrece extracción rápida de tejido adiposo, cuyo tejido adiposo es transportado a la cámara 101 de separación y lavado sin poner en contacto el entorno exterior, a través de un tubo que tiene conectores Luer en sus extremos.

20 La disposición de la válvula de tres vías en la entrada 102 de la cámara permite adicionalmente la inyección de una solución de lavado dentro de dicha cámara sin desconectar la jeringa de extracción.

Las jeringas en el kit pueden ser hechas de plástico, preferiblemente con un conector Luer o similar y tener diferentes volúmenes.

Por vía de ejemplo se puede utilizar lo siguiente:

- 25
- jeringas de 10 a 60 cc para inyección de anestesia local,
 - jeringas de 5 cc con aguja para crear una pápula de anestésico,
 - jeringas de 10 cc de volumen o más, conectadas a cánulas estériles de 1.5 a 3 mm de diámetro para extracción de tejido adiposo de áreas de donante,
 - 30 - jeringas de 1 a 5 cc para trasplante de tejido.

Por lo tanto, el método de tratamiento que se puede llevar a cabo con el dispositivo de la presente invención permite la preparación de un extracto adiposo, obtenido por ejemplo por liposucción, que está en la forma de una mezcla de materiales de fluido y fragmentos celulares y uno o más macroaglomerados celulares de tamaños heterogéneos, en una suspensión celular que contiene aglomerados celulares, particularmente aglomerados de adipocitos, con tamaños idénticos o similares y más pequeños, en cualquier caso, más pequeños que un valor dado, para permitir el trasplante en áreas de la cara o el cuerpo del paciente, que requieren un procedimiento de llenado con trauma menor y acompañado por estimulación biológica de los tejidos implicados en el procedimiento.

40 El método se puede llevar a cabo en un sistema cerrado para evitar contaminación del material celular antes de la administración de este a un paciente.

Obviamente, el tejido adiposo que se va a trasplantar se puede obtener no solamente mediante liposucción sino también utilizando otras técnicas conocidas.

45 Como se describió anteriormente, los aglomerados se pueden obtener con un tamaño promedio de 500 μm , o menos, es decir aproximadamente 100-10 μm , dependiendo de los tamaños de las mallas o aberturas de los medios de reducción de tamaño que se utilizan para reducción de tamaño de material liposucionado.

50 Por lo tanto, la preparación del material de grasa implica la división de dicho material de grasa en fragmentos celulares, células o aglomerados celulares que son más pequeños que los macroaglomerados succionados.

Dicha división, como se mencionó anteriormente, mejora la actividad de las células madre, ya que crea un microambiente que facilita el contacto de las células madre con el tejido en el que ocurre el trasplante.

55 En la presente invención, para aglomerados celulares que se van a dividir en tamaños iguales a o más pequeños que un valor dado, se prefiere la reducción progresiva de tamaño de lipoaspirado, lo que significa que la grasa se ve obligada a pasar por lo menos una vez a través de una red de corte de láminas o cables paralelos o intersectados, preferiblemente a través de dos redes ubicadas en una distancia dada una de la otra, dichas redes tienen mallas de diferentes tamaños.

60 Antes y/o después de reducción de tamaño, la grasa puede ser lavada obviamente una vez o múltiples veces con una solución de lavado estéril.

65 Los aglomerados celulares obtenidos de esta manera experimentan un tratamiento adicional, que implicar lavar con soluciones estériles y separación del componente celular de las fases líquidas, es decir, sangre, aceite que sale de

la ruptura de los adipocitos, cualquier solución anestésica en uso y la solución en las que se han mezclado dichos aglomerados, por ejemplo, solución salina.

5 La separación y lavado se permiten mediante el uso de un recipiente 1 con una cámara de lavado que contiene elementos 104 de agitación tal como bolas o similares que, al agitar el recipiente 1, pueden formar una emulsión de componentes líquidos contenidos en dicha cámara de lavado.

10 El lavado de los aglomerados celulares en uno o más recipientes de separación y lavado puede continuar hasta que la fase de residuos líquidos que sale de la salida 103 es perfectamente clara.

15 Ventajosamente, en razón a que la reducción de tamaño progresiva de lipoaspirado se obtiene al forzarlo a través de por lo menos dos redes ubicadas en una distancia dada una de la otra en un recipiente de separación y lavado, es decir, en los extremos de la parte tubular central, los aglomerados celulares se lavan una primera vez después de una primera etapa de separación de tejido adiposo de lóbulos o macro aglomerados y la reducción/homologación de los tamaños de dichos aglomerados por debajo de un valor predeterminado, en razón a que el pasaje a través de los medios 3 de reducción de tamaño de tejido adiposo, que se obtiene al aplicar presión sobre dicho tejido adiposo, pueden provocar que las paredes celulares de los adipocitos se rompan con la formación de aceite que se tiene que retirar de la suspensión celular que contiene aglomerados celulares, para asegurar el trasplante exitoso de dicho tejido.

20 Una o más etapas de lavado serán preformadas después de una segunda o posterior etapa de reducción de tamaño, para obtener un componente sólido de tamaño adecuado para trasplante.

25 La separación y lavado componente celular de la fase líquida de la grasa extraída en el recipiente 1 descrito anteriormente, también puede ocurrir antes de las etapas de reducción de tamaño de agregado celular.

30 El método de la presente invención incluye por lo menos una etapa de lavar los agregados celulares, que se lleva a cabo al mismo tiempo que una etapa de separar el componente de fluidos, en forma de emulsión, del componente sólido.

Las figuras 8a - 8d y 10 ilustran esquemáticamente el método.

35 En una primera etapa, se agota el área del recipiente 1 de separación y lavado, y el volumen interno completa se llena de un líquido.

40 Por ejemplo, el aire que se va a agotar antes de uso del dispositivo se puede retirar al aspirar solución salina con la jeringa 7, al provocar que ingrese a la bolsa 10 por gravedad y provocar que el aire salga de la jeringa 12 (después de retiro de la tapa de jeringa) y desde el recipiente 11 (que puede estar equipado con una válvula de escape que se puede abrir).

45 El recipiente 1 de separación y lavado se orienta verticalmente con la salida 103 abierta y se orienta hacia arriba: se introduce líquido en el recipiente 1 y escapa aire de este a través de la entrada de 102.

El líquido puede ser solución salina contenida en una bolsa 10 conectada a través de un tubo hasta la abertura de la cámara, que tiene una válvula de tres vías.

Luego, el lipoaspirado se inyecta en la cámara 101 de separación y lavado.

50 El lipoaspirado se puede inyectar directamente desde una jeringa de succión del recipiente 1 o a través de un sistema completamente cerrado como se muestra en la figura 10. Se pueden utilizar jeringas de cualquier volumen, se prefieren jeringas de 10 cc.

55 El material graso se inyecta en la cámara 101 a través de una jeringa de succión utilizada para extracción, por ejemplo, una jeringa de dos vías equipada con una válvula, directamente o a través de un tubo conectada a la jeringa y a la abertura del recipiente y el material de grasa se empuja dentro de dicha cámara mediante acción de presión ejercida por el pistón de la jeringa.

60 En esta etapa, el recipiente se mantiene en posición vertical con la salida 103 que se orienta hacia abajo, hacia el suelo.

La presencia de medios de reducción de tamaño próximos a la entrada 102 proporciona una reducción/homologación de primer tamaño de lipoaspirado.

65 Se puede aplicar una fuerza hidráulica al material de grasa mediante un fluido de lavado bajo presión, que se inyecta dentro de la cámara 101 de separación y lavado y obliga al material de grasa a entrar y salir de la cámara 101 de lavado.

El aglomerado adiposo inyectado en el recipiente 1 de separación y lavado a través de la entrada 102, se puede lavar repetidamente mediante inyección a presión de materiales líquidos tal como solución salina estéril dentro de dicha cámara 101 de lavado interina para obtener un aglomerado celular de alta pureza, libre de cualquier aceite, sangre y de cualquier solución utilizada durante extracción.

5 La etapa de separación y lavado en la que se separan dichos materiales fluidos de dichas aglomeraciones ocurre al:

- 10 - por lo menos una inyección de una solución de lavado estéril, por ejemplo, solución salina, dentro de la cámara 101 de lavado que contiene el material de grasa, de un recipiente 1 de separación y lavado, cuya cámara 101 de lavado contiene por lo menos un elemento 104 de agitación. En esta etapa, el recipiente se mantiene en posición vertical con la salida 103 orientada hacia y en paralelo al piso,
- 15 - agitación manual o mecánica, agitación manual es suficiente, de dicho recipiente 1 de separación y lavado para facilitar la emulsión de componentes fluidos, particularmente el componente aceitoso y la sangre con sustancias fluidas estériles; la emulsión se forma al orientar el recipiente de separación y lavado en una posición horizontal, es decir, aproximadamente paralelo al piso (figura 8b),
- 20 - disposición del recipiente 1 de separación y lavado en una posición vertical con relación al piso, con la salida 103 que se orienta hacia abajo, para obtener estratificación de los componentes sólidos sobre la emulsión líquida que constituyen la grasa contenida en la cámara 101 de lavado, particularmente para obtener un componente sólido compuesto de fragmentos celulares, células y uno o más aglomerados celulares que flotan sobre una emulsión de los componentes del fluido en la parte inferior de la cámara 101 de lavado en contacto con la salida 103 del recipiente 1 de separación y lavado.
- 25 - descarga de la emulsión de componentes de fluidos (es decir, aceites/líquidos) de la cámara 101 de lavado a través de la salida 103 del recipiente 1 de separación y lavado (Figura 8c). La emulsión se ve obligada a salir por la inyección del fluido de lavado a través de la abertura 102, con una presión dada.

En razón a que el recipiente tiene una forma cilíndrica, su posición horizontal significa que su eje mayor pasa a través de los lados de extremo paralelo al piso, mientras que su posición vertical significa que el cilindro se orienta con su eje perpendicular mayor al piso.

30 La emulsión se recolecta en otro recipiente 11 que se conecta hermética a los fluidos mediante medios adecuados para dicha abertura 103, para evitar la contaminación tanto del entorno externo del material celular contenido en la cámara 101.

35 Por lo tanto en la etapa de lavado, el recipiente 1 de separación y lavado que contiene grasa mezclada con una solución estéril, por ejemplo solución salina inyectada con una jeringa a través de la entrada 102 o solución salina extraída desde una bolsa, se agita con una fuerza que no provoca que las paredes celulares se rompan pero es suficiente para formar una emulsión, es decir, una dispersión de pequeñas gotas de aceite dentro del fluido de lavado, debido a la presencia de las bolas 104.

40 El recipiente se agita para formar la emulsión con el recipiente 1 orientado horizontalmente.

Obviamente en esta etapa las aberturas, es decir, por lo menos una entrada 102 y/o una salida 103 del recipiente 1 se cierran para evitar cualquier fuga de material.

45 Al final de la etapa de agitación de recipiente, se mueve el recipiente a una posición vertical y las diferentes densidades de los materiales que forman el lipoaspirado crean una capa sólida de células y fragmentos celulares en la cámara 101 de lavado, cuya capa flota sobre la emulsión de líquidos.

50 La etapa de lavado se repite al inyectar soluciones de lavado estériles dentro de la cámara, con la posterior formación de emulsión (al agitar el recipiente con la entrada y la salida cerrada) y descargar la emulsión (mediante inyección de una solución de lavado limpia), hasta que aparece la emulsión líquido-aceite-sangre que fluye hacia afuera que está libre de cualquier impureza tal como sangre y aceite.

55 Por lo tanto, se puede repetir la descarga de emulsiones de componente de fluido.

60 Dicha descarga de la emulsión se obtiene mediante flujo de un líquido fisiológico provocado por gravedad, que el flujo permite retiro de componentes líquidos (aceite/ líquido) a través de un gradiente de densidad, por lo menos durante un intervalo de tiempo dado, es decir, hasta exista emulsión entre las gotas pequeñas de aceite y líquido, que sea suficiente cada vez, es decir, para cada ciclo de lavado, para retirar una cantidad considerable de líquidos residuales (particularmente aceite).

La emulsión de agua/aceite se elimina del recipiente a través de un gradiente de densidad, luego de la salida de líquidos (el flujo de la entrada 102 y la salida 103) obviamente siempre que dicho flujo de lavado sea suficiente.

65 Como se muestra en la figura 9, se descarga la emulsión de aceite/líquido.

ES 2 674 410 T3

El aceite se puede descargar mientras que sea parte de una emulsión.

Lo que se descarga es una emulsión de gotas pequeñas de aceite y líquido de lavado.

5 La masa celular flota sobre dicha emulsión.

Por lo tanto, se requiere que la emulsión permita la eliminación de impurezas, tal como aceite, en el lipoaspirado. Al final de la etapa de lavado, el componente sólido flota sobre la solución de lavado limpia.

10 Por lo tanto, al final de la etapa de separación y lavado, el material en la cámara 101 del recipiente se puede utilizar para trasplante.

15 El lavado de tejido adiposo es una etapa importante, ya que permite el retiro de aceite que resulta de la rotura de las paredes celulares de los adipocitos durante la extracción mecánica del tejido adiposo, utilizando cánulas o agujas, de áreas de donantes y durante el paso de la grasa, bajo presión, a través de la red 3 de reducción de tamaño.

20 El componente sólido no permanece en el dispositivo 1 si no que se recupera, preferiblemente después de que se realiza la reducción de tamaño adicional en la salida 103, mediante un empuje hidráulico ejercido desde la entrada 102.

El componente sólido se descarga del recipiente de separación y lavado mediante la orientación vertical de dicho recipiente con la salida 103, con una red 6 de reducción de tamaño preferiblemente proporcionada próxima a este, orientándose hacia arriba, de tal manera que el componente sólido flota sobre la solución de lavado (figura 8d).

25 Por lo tanto, el componente sólido que se va a descargar se ubica junto a la salida de 103.

El componente sólido es empujado a través de la segunda red 6, mediante inyección de la solución de lavado a través de la entrada 102.

30 Se encuentra que lo que se descarga es primero una solución acuosa con poco material celular, luego una solución rica en material celular y finalmente una solución con poco material celular.

Se pueden conectar uno o más recipientes a la salida 103, uno después del otro, por ejemplo, jeringas 12, para recolectar material biológico preparado mezclado con líquido.

35 Dicho material ha experimentado reducción/homologación adicional a través de la red 6.

Se deja decantar el recipiente 12 para obtener la separación del componente sólido del componente líquido residual.

40 En lugar de o en adición de lo anterior, puede ocurrir separación por centrifugación.

El material biológico preparado de esta manera se preserva o preferiblemente se crio preserva en un entorno cerrado, simulando una sala limpia.

45 Obviamente, el material almacenado en el recipiente 12 puede ser diseñado para ser tratado de nuevo del recipiente 1 de separación y lavado y/o un recipiente 2 de reducción de tamaño, antes de ser finalmente preservado y/o reinyectado.

50 El sistema de tratamiento de material completo se cierra, desde el retiro del paciente hasta reinyección. Esta característica es particularmente importante para depósitos en bancos de tejidos biológicos, es decir, preservación de los mismos en bancos biológicos.

Por lo tanto, el material biológico transportado en el recipiente 12 siempre ha estado en un sistema cerrado esterilizado, nunca en contacto con el aire.

55 De esta manera, dicho material se puede criopreservar directamente sin cambio adicional que solicita el uso de una cámara limpia.

60 Como se describe anteriormente, se pueden proporcionar múltiples recipientes de separación y lavado conectables mutuamente, para reducción progresiva y/o lavado del lipoaspirado. El dispositivo descrito permite tratamiento simple, rápido y económico de extractos celulares en la forma de macro aglomerados celulares mezclados con una fase líquida, que proporcionan agregados celulares de células viables y enteras substancialmente idénticas de tamaño predeterminado, siempre más pequeñas que un valor predeterminado, cuyos aglomerados se separan del componente líquido, en la forma de emulsión, que contienen líquidos residuales. Estos aglomerados se pueden utilizar para el trasplante.

65

Obviamente, el material producido del tratamiento de lóbulos adiposos puede contener no solo agregados celulares, sino también las células individuales y fragmentos celulares que se van a utilizar como llenador biológico.

5 Adicionalmente, el material liposucionado contiene no solo adipocitos, sino también otros tipos de células, tales como células madre.

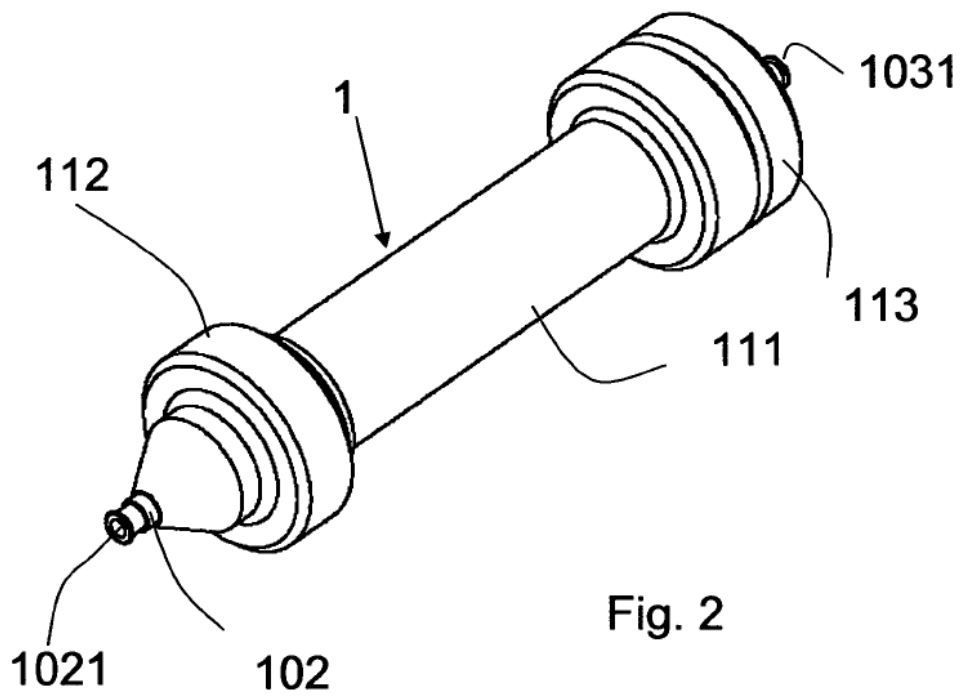
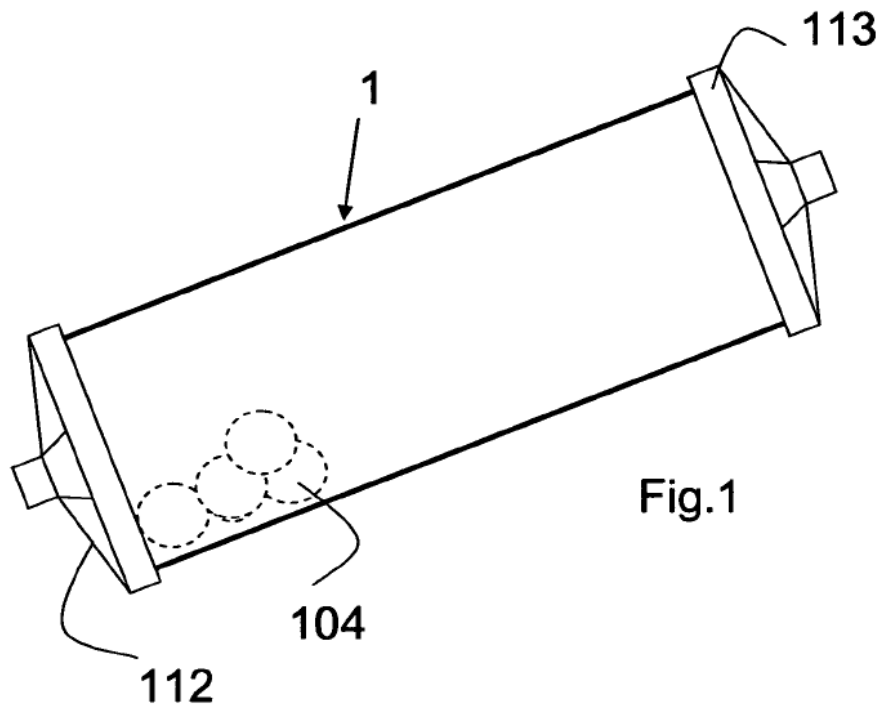
10 El método de tratamiento implementado por el dispositivo no implica el uso de enzimas u otros componentes que pueden tener acción química sobre el material liposucionado, o una acción biológica sobre células de composición aglomerada, pero utiliza la posibilidad de cambiar el tamaño de aglomerados celulares, para obtener mayores superficies celulares expuestas, que pueden hacer contacto con los tejidos tratados durante el trasplante. Particularmente, se proporciona el material sólido para la inyección, que también forma un microambiente in vivo óptimo para la acción de células madre en las áreas en las que se reinyecta dicho material tratado, cuyas células madre están contenidas en el material succionado.

15 Por lo tanto, el método de la presente invención proporciona simplemente y económicamente material biológico inyectable biológicamente activo del material extraído del paciente, también debido a la presencia de células madre y no requiere el uso de productos químicos tales como emulsificantes o enzimas, ni etapas de cultivo in vitro. Adicionalmente, estos aglomerados de células muy pequeñas se pueden trasplantar utilizando cánulas muy delgadas, lo que reduce el trauma quirúrgico y optimiza la integración de tejido.

20 También, el uso de un dispositivo de la presente invención proporciona un sistema cerrado que aísla el material biológico del ambiente externo y le permite ser preparado para uso en un muy corto tiempo, reduciendo por lo tanto los posibles riesgos de contaminación.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método de preparación de tejido adiposo para trasplante de grasa lobular extraída, por ejemplo, mediante liposucción, dicha grasa consiste de un componente de fluido que comprende un componente aceitoso, un componente sanguíneo y/ o soluciones estériles y un componente sólido que comprende fragmentos celulares, células y uno o más macro aglomerados celulares de tamaño heterogéneo, caracterizado por que incluye al menos una etapa de lavado de los agregados celulares llevada a cabo al mismo tiempo que una etapa de separación del componente fluido, en forma de emulsión, del componente sólido; ocurriendo dicha etapa de lavado y separación:
- 10 - por lo menos una inyección de una solución de lavado estéril dentro de la cámara (101) de lavado que contiene el material de grasa, de un recipiente (1) de separación y lavado, cuya cámara (101) de lavado contiene por lo menos un elemento (104) de agitación;
- 15 - agitación manual o mecánica de dicho recipiente (1) de separación y lavado para obtener una emulsión de los componentes fluidos, tales como los fluidos sanguíneos, los residuos de sangre, aceites y otras soluciones contenidas en el material liposucionado permitiendo que dichos fluidos se mantengan separados del material sólido celular sin el uso de enzimas o químicos,
- 20 - disposición del recipiente (1) de separación y lavado en una posición vertical con relación al piso, con una salida (103) que se orienta hacia abajo, para obtener una estratificación de los componentes sólidos sobre la emulsión líquida que constituyen la grasa contenida en la cámara (101) de lavado para obtener un componente sólido compuesto de fragmentos celulares, células y uno o más aglomerados celulares que flotan sobre una emulsión de los componentes del fluido en la parte inferior de la cámara (101) de lavado en contacto con dicha salida (103) del recipiente (1) de separación y lavado.
- 25 - descarga de la emulsión de componentes de fluidos de la cámara (101) de lavado a través de la salida (103) del recipiente (1) de separación y lavado;
- 30 - localización del componente sólido cerca de la salida (103) y descarga del componente sólido de la salida (103),
- en el que dicho método se lleva a cabo sin el uso de químicos tales como emulsionantes o enzimas ni etapas de cultivo *in vitro*.
- 35 2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la descarga del componente sólido se lleva a cabo por:
- disposición del recipiente (1) de separación y lavado de tal manera que el componente sólido se localice cerca de la salida (103);
- 40 - descarga del componente sólido del recipiente de separación y lavado desde la salida (103).
3. Método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que durante la inyección de dicha solución de lavado estéril el recipiente (1) se mantiene en una posición vertical con su salida (103) mirando hacia y paralela al piso.
- 45 4. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que comprende una etapa de dividir dicha grasa en aglomerados celulares más pequeños que dichos macroaglomerados, de tal manera que dichos aglomerados celulares son tan grandes como o más pequeños que un tamaño predeterminado, y de esta manera están en promedio del mismo tamaño, cuya etapa de reducción de tamaño se lleva a cabo provocando que dicha grasa lobular extraída pase al menos una vez a través de dicho medio (3) de reducción localizado en dicho recipiente (1) de separación y lavado o en un recipiente (2) de reducción de tamaño.
- 50 5. Método de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado por que dicho medio (3) de reducción de tamaño consiste en por lo menos una serie de láminas o cables de corte paralelos o que se intersectan que forman al menos una red de reducción de tamaño.
- 55 6. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dichas etapas de disposición y descarga de componente sólido se llevan a cabo orientando verticalmente dicho recipiente con la salida (103) hacia arriba, de tal manera que el componente sólido flote sobre la solución de lavado.
- 60 7. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el elemento (104) de agitación es un medio pasivo que ejerce su acción tras la agitación del recipiente (1) y funcionando por inercia.



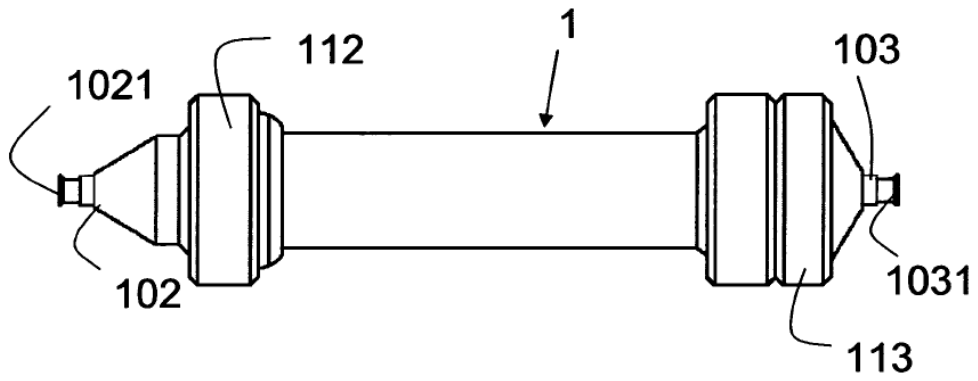


Fig. 3

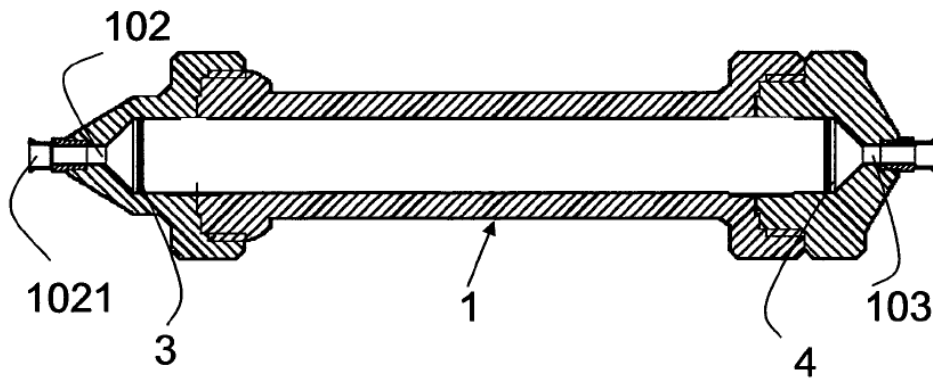
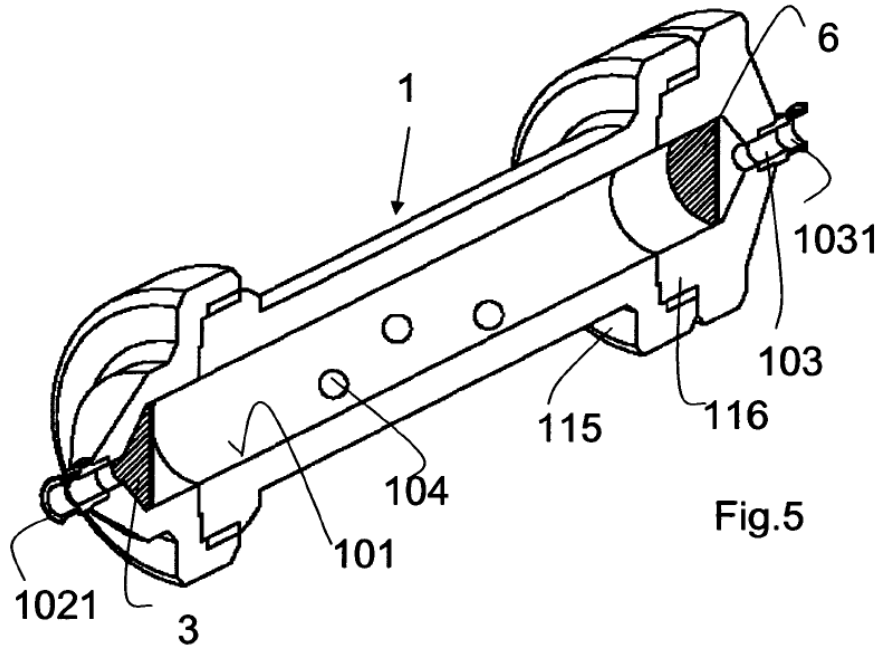
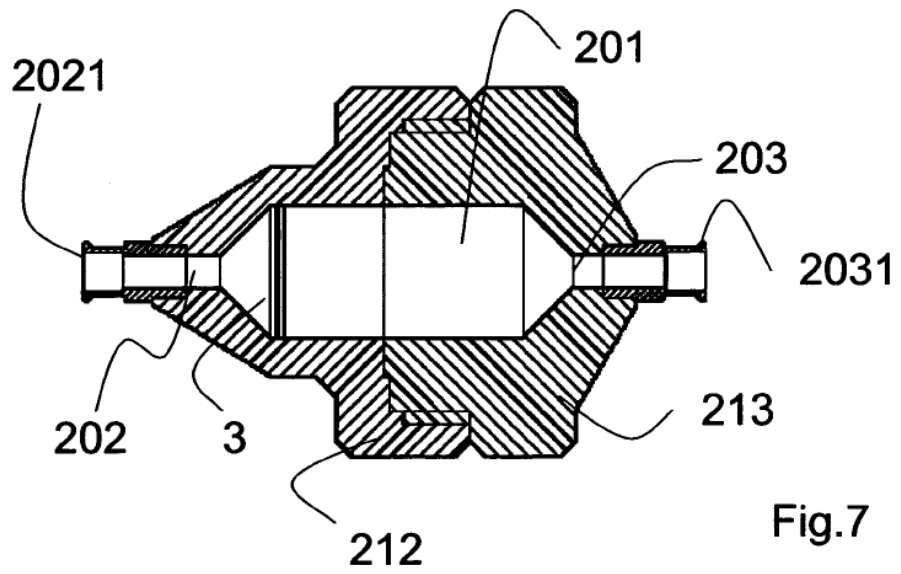
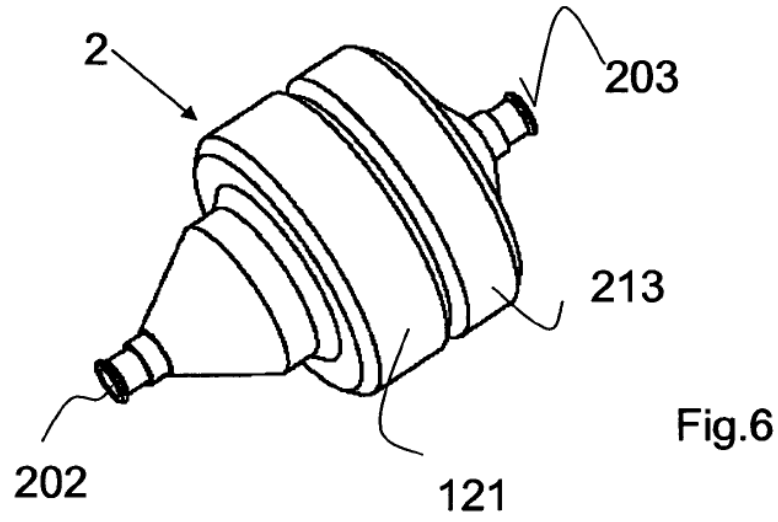
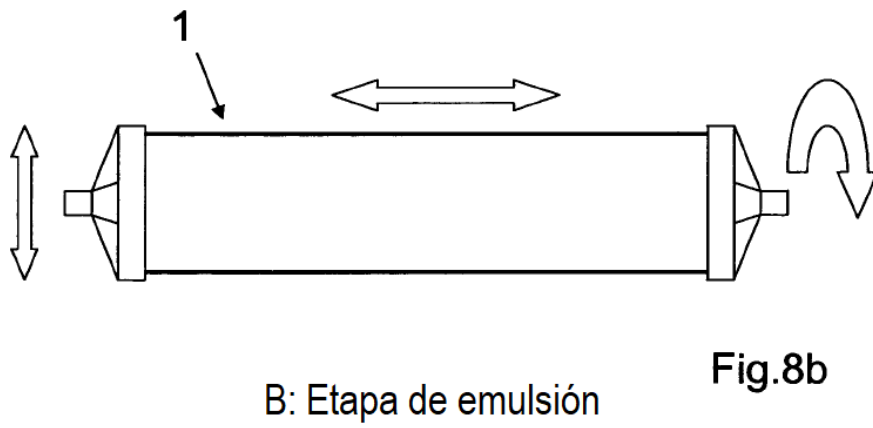
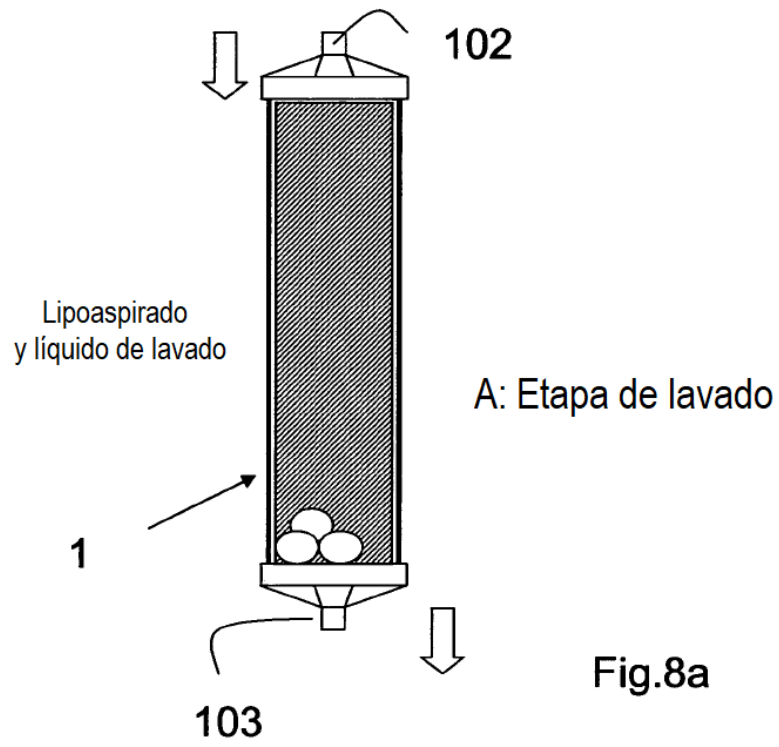
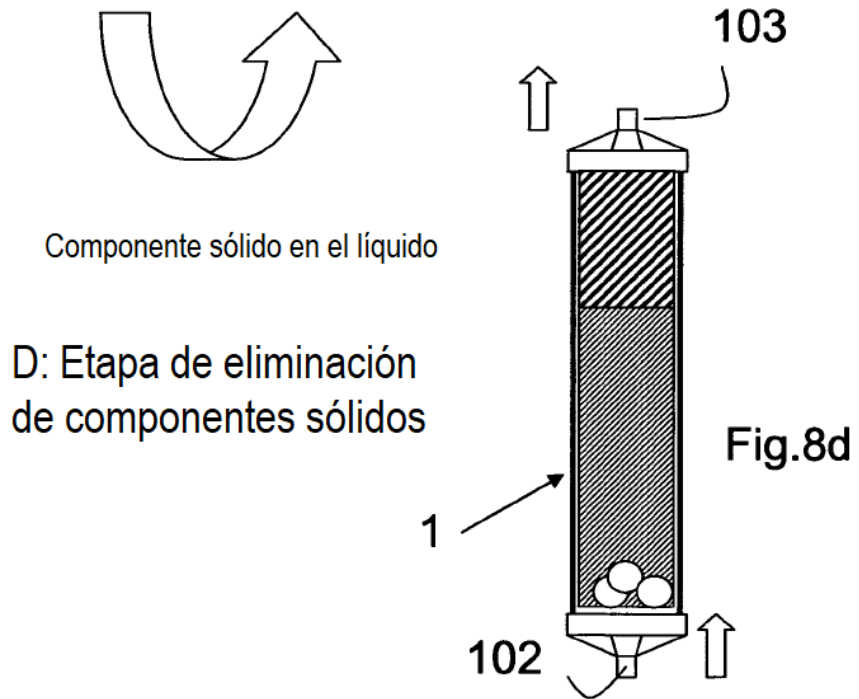
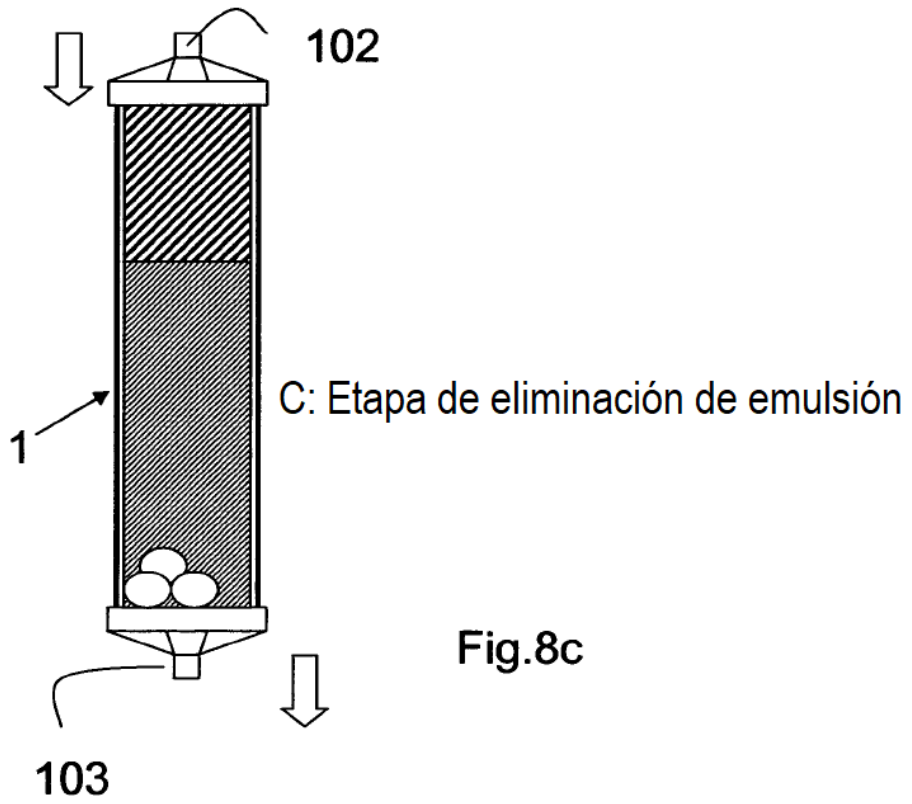


Fig. 4









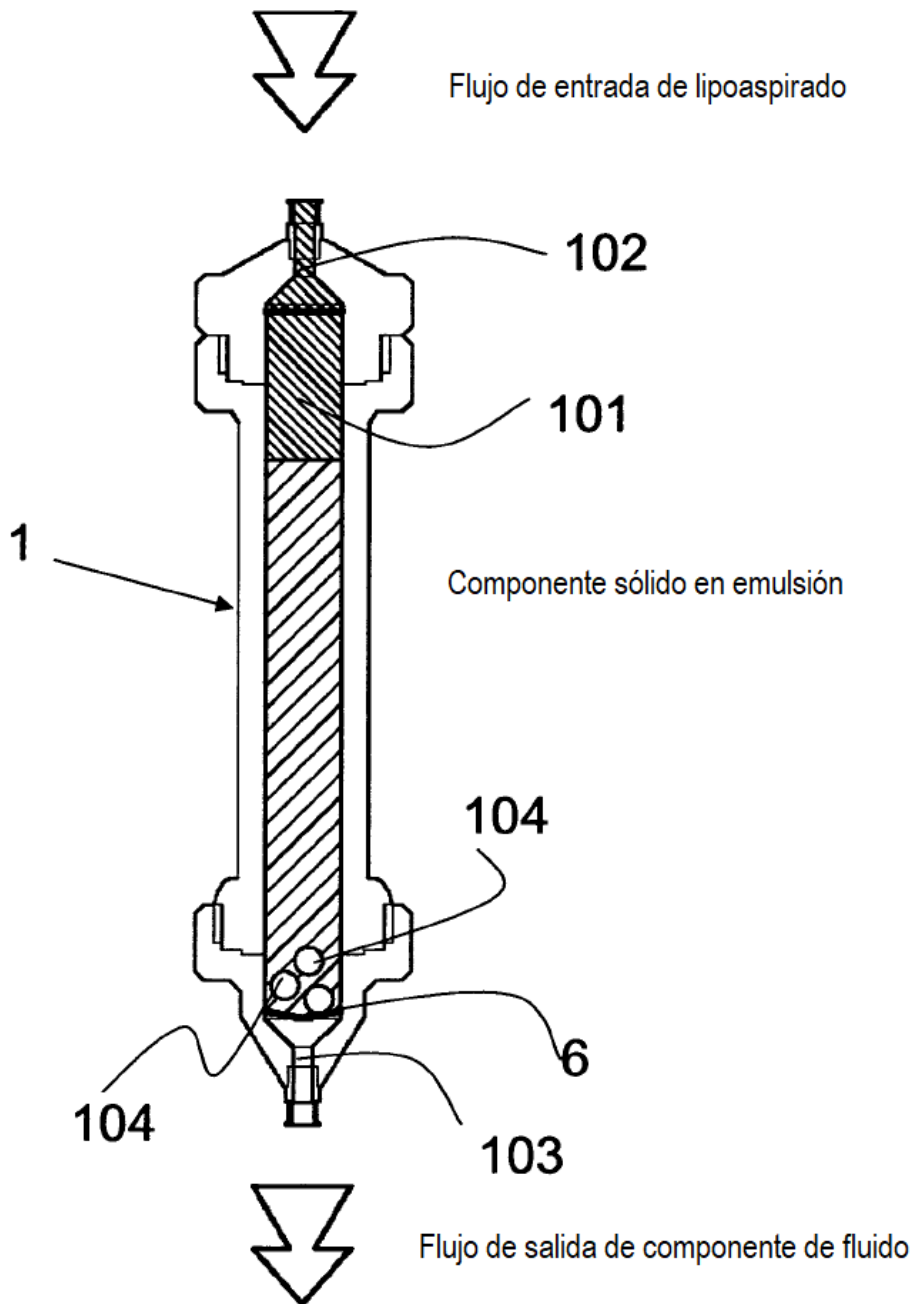
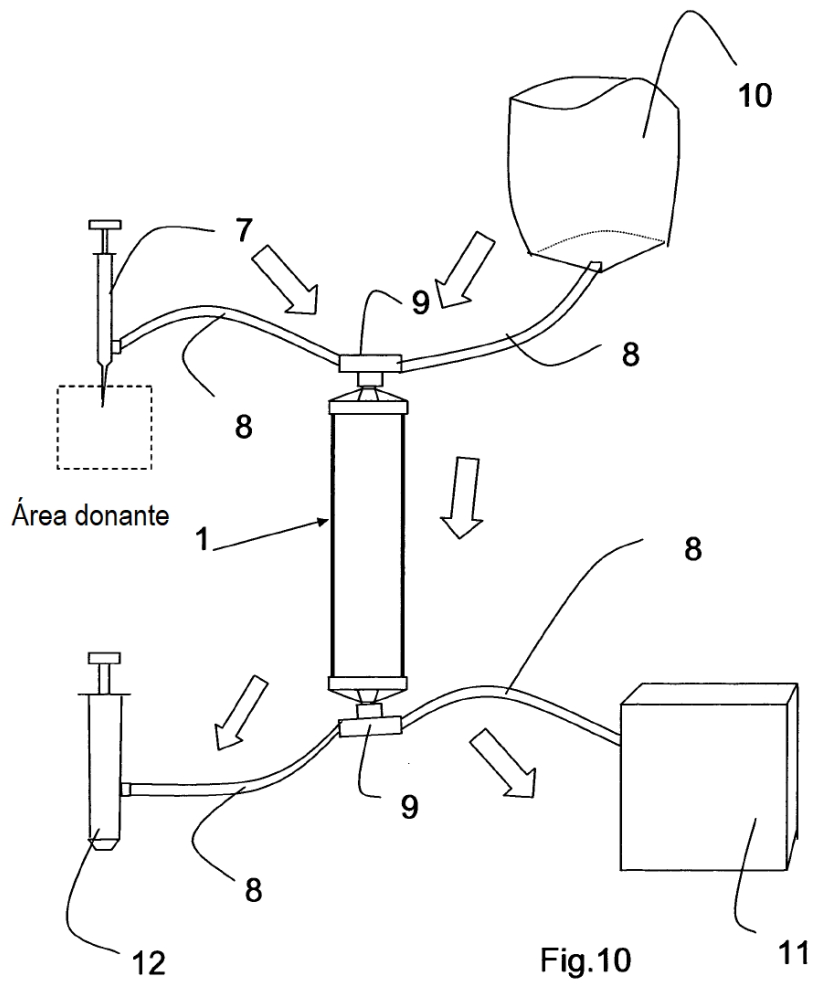
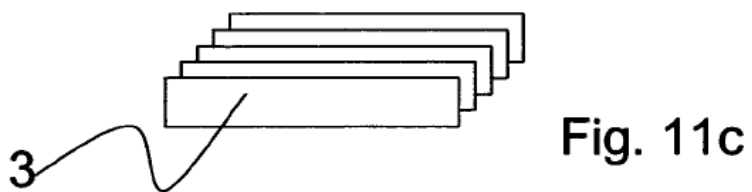
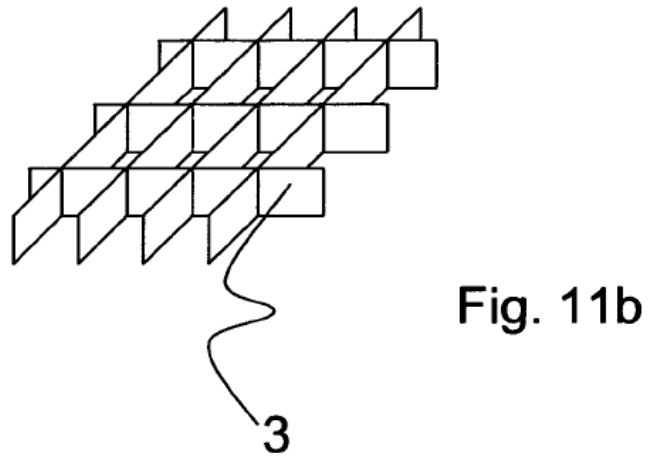
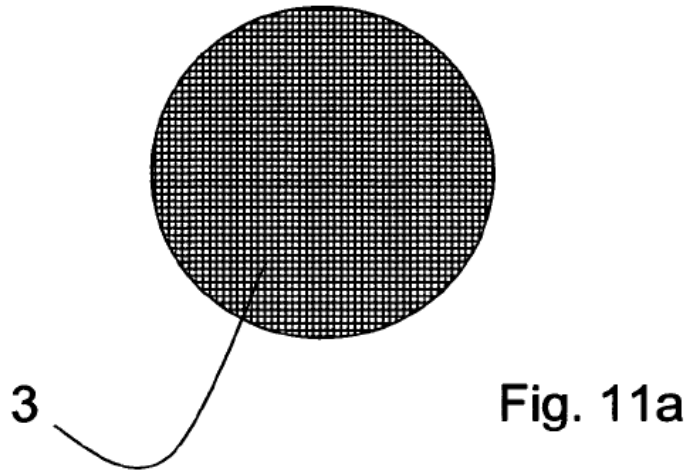


Fig.9





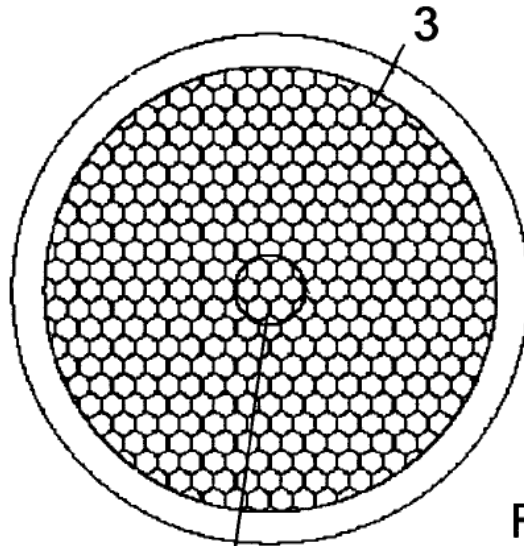


Fig.12a

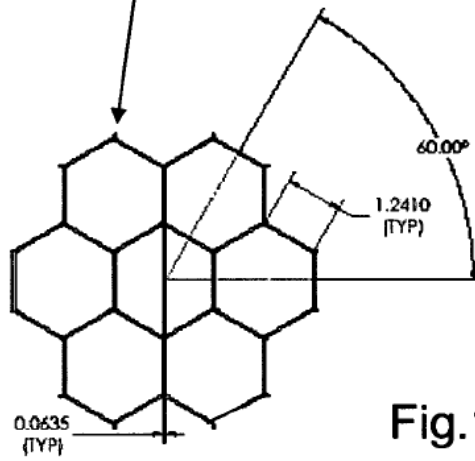


Fig.12b

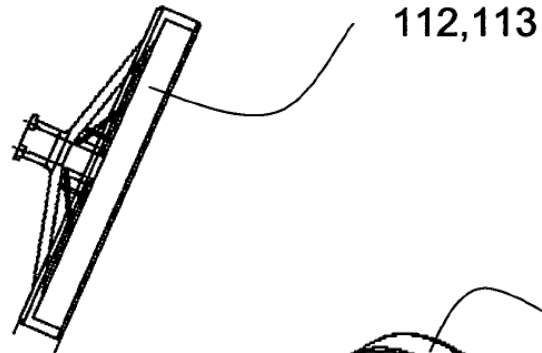


Fig.13a

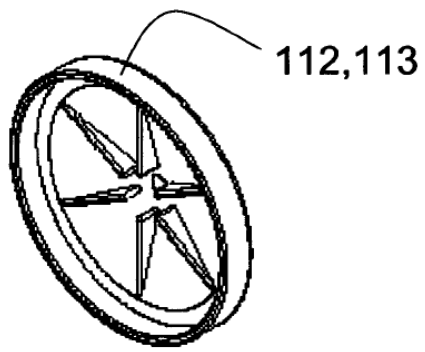


Fig.13b

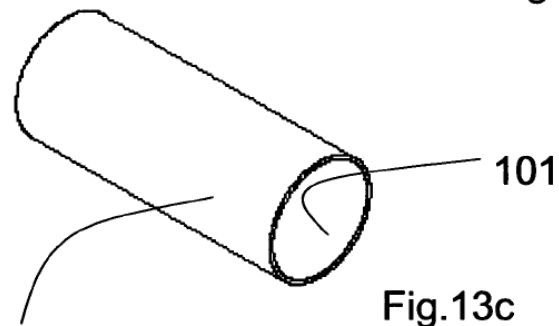


Fig.13c

