

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 15.I.1968 (P 124 692)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 1.IV.1970

Kl. 30 a, 17/01

MKP A 61 b

17/92

UKD

Współtwórcy wynalazku: doc. dr med. Krzysztof Schneiberg, mgr inż.
Tadeusz Ordysiński

Właściciel patentu: Instytut Onkologii (Oddział w Gliwicach), Gliwice
(Polska)

Sposób pomiaru liczby komórek jądrzastych w żywej tkance

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób pomiaru liczby komórek jądrzastych w żywej tkance na zasadzie ujemnej korelacji linearnej pomiędzy przewodnością właściwą tej tkanki, a liczbą jąder komórkowych znajdujących się w mierzonym polu.

Pomiar liczby komórek jądrzastych stanowi podstawę do stwierdzenia zmian zachodzących w tkance pod wpływem określonych czynników chorobowych, czy też wskutek działania takich czynników zewnętrznych jak na przykład środki chemiczne, pewne substancje lekowe, promieniowanie jonizujące i tym podobne.

Pomiar ma szczególne zastosowanie do określania liczby komórek jądrzastych w szpiku kostnym co zostało stwierdzone laboratoryjnie w toku licznych doświadczeń oraz do określania ilości tych komórek w innych żywych tkankach jak śledziona, węzły chłonne, wątroba i niektóre typy guzów nowotworowych. Dotychczas zagadnienie bogactwa komórkowego tkanki rozwiązywano klasyczną techniką histologii, która wymaga pobrania wycinka tkanki badanej, utrwalenia jej, skrojenia na skrawki grubości kilku mikronów, wybarwienia i oceny pod mikroskopem. Metoda histologiczna jest w samym swym założeniu praco- i czasochłonna, ponadto nie zawsze może znaleźć zastosowanie u ludzi.

Orientacyjnie czas potrzebny do uzyskania w tej metodzie odpowiedzi wynosi od kilku do kilkunastu dni, a w przypadku szpiku kostnego, gdzie należy

2

najpierw odwapnić kość, nawet do kilkudziesięciu dni.

Przy badaniu liczby komórek jądrzastych w szpiku można też stosować metodę ilościowego wypłukiwania komórek krwiotwórczych z danej kości i ich liczenie w odpowiednich kamerach, co jednak może mieć praktyczne zastosowanie tylko w eksperymencie zwierzęcym. Metoda ta nie stanowi rozwiązania zadowalająco dokładnego, gdyż przy samej czynności wypłukiwania dochodzi nieuchronnie do utraty pewnej liczby komórek, którą dodatkowo zwiększa proces krzepnięcia.

Ponadto powstają zlepy komórek liczone następnie w kamerze jako jedna komórka, co zaniża wyniki pomiarów. Próby rozbicia tych zlepow prowadzą do fragmentacji jąder komórkowych, co z kolei zawyża wynik.

Podobne zastrzeżenia można mieć do znanej metody obliczania „blastozy” szpiku u ludzi, to znaczy obliczania w kamerach liczby komórek jądrzastych, znajdujących się w jednym milimetrze sześciennym treści szpikowej wydobytej strzykawką po nakłuciu kości. Dowiedziono też, że uzyskiwana w ten sposób liczba komórek zależy w dużym stopniu od siły z jaką aspiruje się treść szpikową, od ilości wydobytej treści oraz od wielu innych szczegółów techniki nakłuwania, które nie dają się ujednolicić.

Stosuje się również badania ilości czynnego szpiku na zasadzie szybkości znikania z osocza i szybkości wbudowywania się w komórki szpikowe nie-

których izotopów promieniotwórczych na przykład fosfor trzydzieści dwa, chrom pięćdziesiąt jeden, żelazo pięćdziesiąt dziewięć, kobalt sześćdziesiąt i inne, podanych badanemu doustnie lub dożylnie, lub też prekursorów znakowanych izotopami, jak tymidyna znakowana trytem, metionina znakowana siarką trzydzieści pięć i inne. Metody izotopowe dają odpowiedź na temat aktywności podziałowej lub metabolicznej komórek układu krwiotwórczego i tylko pośrednio orientują w ich liczbie. Są one też praco- i czasochłonne, gdyż pełna odpowiedź zostaje udzielona po kilku lub nawet kilkunastu dniach.

Z uwagi na dużą szkodliwość izotopów dla zdrowia, badanie może być stosowane tylko w bardzo ograniczonej liczbie przypadków klinicznych. Aparatura konieczna do oznaczeń jest bardzo droga, a od pracowników obsługujących tę aparaturę wymagane jest przeszkolenie w zakresie bezpieczeństwa pracy. Tylko nieliczne ośrodki są zatem w stanie badania te prowadzić.

Wszystkie omówione braki, czy też trudności stosowania opisanych metod dla ilościowego oznaczania liczby komórek w tkance powodują, że badanie to omija sferę, przestając jedynie na badaniu rozmazu tkanki. W wyjątkowych tylko wypadkach, niekiedy dopiero po zgonie pacjenta lub w razie amputowania jakiegoś narządu, na przykład kości, dodaje się jeszcze wynik uzyskany metodą histologiczną. Należy podkreślić z naciskiem, że badanie metodą histologiczną oraz ocena jakościowa rozmazów tkanki mają swoje od dawna uznane miejsce w biologii i medycynie i w zakresie diagnostyki jakościowej pozostają nadal niezastąpione. Niemniej jednak potrzebę oceny ilościowej, zwłaszcza w badaniach narządów krwiotwórczych odczuwa każdy klinicysta.

Celem wynalazku jest szybkie i dokładne określenie liczby komórek jądrzastych w tkance w sposób nie przynoszący badanemu szkody.

Cel ten został osiągnięty przez pomiar oporności lub przewodności, lub spadku napięcia w badanym odcinku tkanki, a wynik pomiaru porównuje się z wykresem zależności pomiędzy tymi wielkościami a liczbą komórek jądrzastych określonej tkanki danego gatunku zwierzęcego.

Ten sposób pomiaru pozwala w ciągu kilku sekund uzyskać odpowiedź na temat liczby komórek w umownej jednostce obojętności w jednym milimetrze sześciennym tkanki. Przez porównanie wartości dla tkanki zdrowej z wynikami w tkankach zmienionych przez proces chorobowy lub też wskutek działania czynników zewnętrznych, które niszczą komórki, możemy natychmiast ująć liczbę i stopień uszkodzenia badanej tkanki. Na podstawie wyżej opisanego pomiaru, przeprowadzonego w szpiku kostnym, możemy bezpośrednio określić dawkę promieni jonizujących lub też dawkę leku cytotoksycznego, które badany otrzymał, znając je-

dynie czas jaki upłynął od chwili zadziałania czynnika uszkadzającego. Zestaw przyrządów potrzebnych do przeprowadzenia pomiarów opisaną metodą jest prosty i łatwy do uzyskania.

Wynalazek zostanie bliżej objaśniony na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia schemat pomiaru oraz przekrój podłużny igły jednostrzowej, a fig. 2 schemat pomiaru przy użyciu igły dwuostrowej i przekrój podłużny tej igły.

Urządzenie do pomiaru liczby komórek jądrzastych zawiera igłę punkcyjną 2, w której zamiast wypełniacza tej igły, to jest mandrynu, znajduje się warstwa izolacji 4 otaczająca wewnętrzną elektrodę 3. Igła 2 i elektrodę 3 podłączone są przewodami 5 z układem elektrycznym składającym się ze źródła prądu 6 i przyrządu pomiarowego 7. W urządzeniu można również stosować dwie igły punkcyjne 2 odizolowane od siebie izolacją 9.

Urządzenie pracuje w sposób opisany niżej. Igłę punkcyjną 2 wprowadza się do badanej tkanki 1 z mandrynem. Mandryn po nakłuciu tkanki zostaje usunięty i w jego miejsce do igły 2 wprowadza się odpowiednio izolowaną od zewnętrznej igły izolacją 4 elektrodę 3, podłączoną przewodami 5 do źródła prądu 6 i do przyrządu pomiarowego 7. Przy jednostrzowej odmianie igły elektrodami są z zewnątrz ścianka igły punkcyjnej 2 i wewnętrzna elektroda 3. Mierzona tkanka znajduje się pomiędzy tą zewnętrzną ścianką, a wewnętrzną elektrodą w polu 8. W igle dwuostrowej wprowadza się równocześnie dwie połączone we wspólny uchwyt igły punkcyjne 2, odizolowane od siebie izolacją 9. W analogiczny sposób w miejsce podwójnego mandryna wprowadza się dwie elektrody 3, odizolowane izolacją 4 od igieł 2. Elektrody 3 podłączone są przewodami 5 do źródła prądu 6 i aparatu pomiarowego 7.

Mierzona tkanka znajduje się w tym wypadku pomiędzy elektrodami 3 w polu 8. Po dokonaniu pomiaru można usunąć elektrody do otworu igły punkcyjnej ewentualnie podłączyć strzykawkę i wydstać treść tkankową celem sporządzenia rozmazu, jak to od lat stosuje się na przykład w badaniu szpiku kostnego w klinice. Do pomiarów można stosować prądy elektryczne zmienne lub stałe, w zakresie napięć i natężeń nieszkodliwych dla ustroju żywego.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób pomiaru liczby komórek jądrzastych w żywej tkance **znamienny tym**, że mierzy się oporność, przewodność lub spadek napięcia w badanym odcinku tkanki i porównuje się go z wykresem zależności pomiędzy tymi wielkościami a liczbą komórek jądrzastych określonej tkanki danego gatunku zwierzęcego.

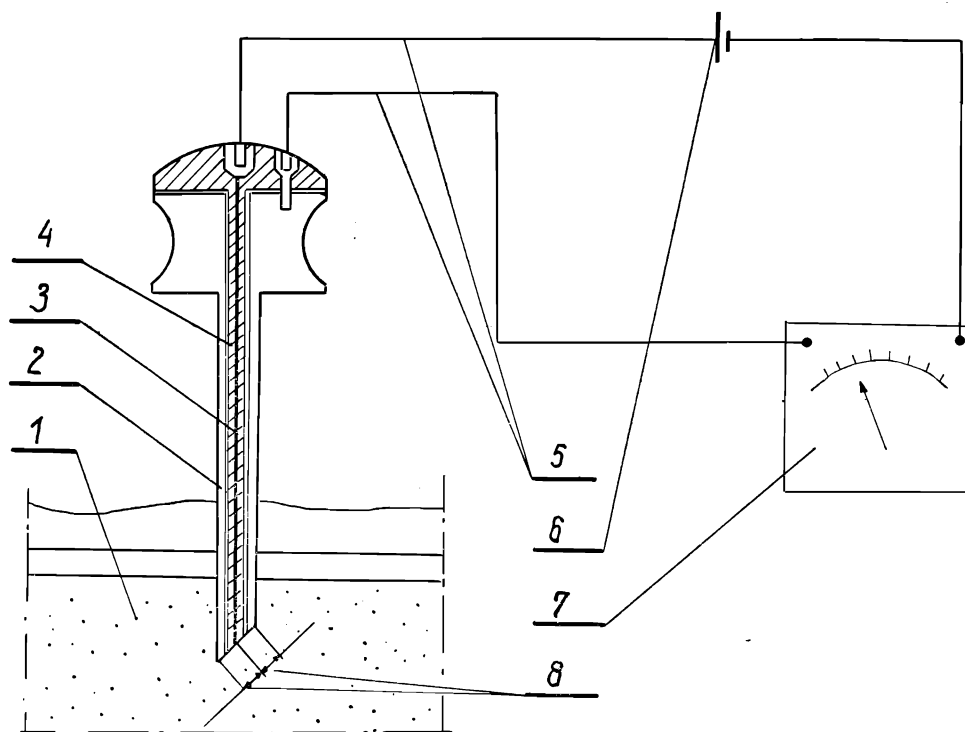


Fig. 1

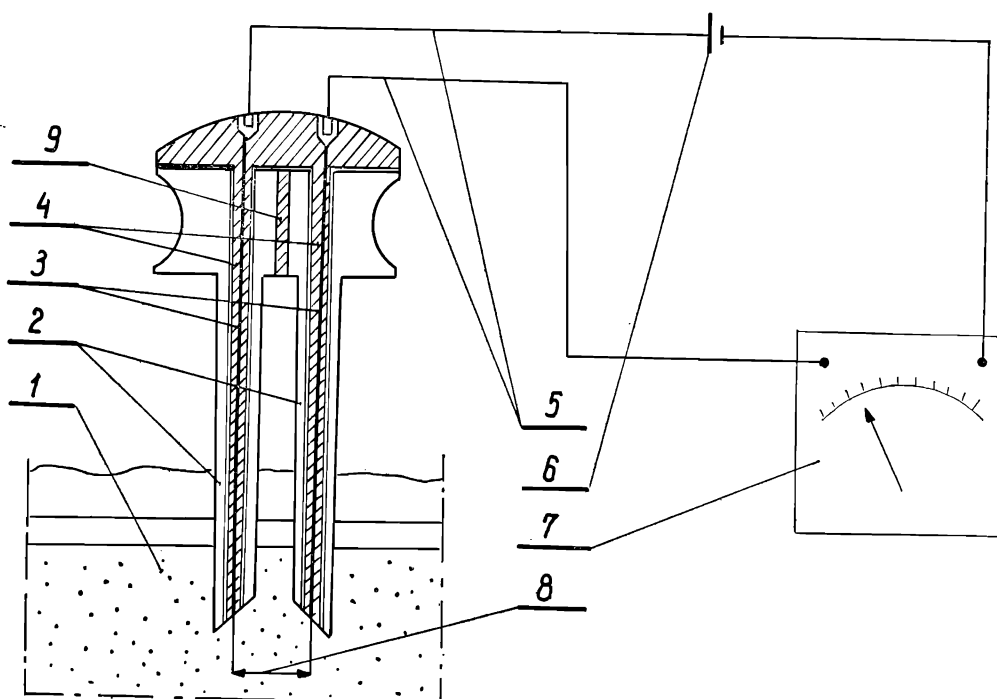


Fig. 2