

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTCHRIFT



(12) Ausschließungspatent

(11) **DD 286 294 A5**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983

5(51) A 61 M 1/34

in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 M / 331 505	(22)	04.08.89	(44)	24.01.91
------	---------------------	------	----------	------	----------

(71)	Humboldt-Universität zu Berlin, Direktorat für Forschung, Unter den Linden 6, O - 1086 Berlin, DE
(72)	Montag, Thomas, Dr. med.; Berg, Ernes-Elme, Dipl.-Ing.; Bergfeld, Jost, Dr. habil. med. vet.; Weichold, Frank, DE
(73)	Humboldt-Universität zu Berlin, Bereich Medizin (Charité), O - 1040 Berlin; Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Forschungszentrum für Tierproduktion Rostock-Dummerstorf, O - 2551 Dummerstorf, DE
(74)	siehe (71)

(54) **Vorrichtung und Verfahren zur Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen**

(55) Kapselimplantat; Migrationskammer; Leukozytenmobilisation; zelluläre und humorale Immunstoffgewinnung; Wirkstofftest

(57) Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen. Die Erfindung hat die Aufgabe, eine Vorrichtung und ein Verfahren zu schaffen, mit der zelluläre und mit humoralen Immunstoffen beaufschlagte Flüssigkeiten periodisch oder kontinuierlich am Ort der Reizinduktion im Körper gewonnen werden können. Diese Aufgabenstellung wird durch eine zylinderförmige Kapsel aus bioinerten Material gelöst, die implantierbar ist. In den Zylinder wird eine Trennmembran 2 eingebracht, die diesen in zwei Kammern teilt. Verschluss wird die Kapsel mit einer permeablen Membran 1, die den Durchtritt fester und flüssiger Blutbestandteile in die vordere Kammer ermöglichen. Die hintere Kammer ist mit reizauslösenden Agenzien beaufschlagt. Die Entnahme der zellulären und humoralen Immunstoffe aus der vorderen Kammer erfolgt über durch die Haut gehenden Schläuche durch eine definierte Spülflüssigkeitsmenge, die über synchron zu betätigende Befüll- und Entnahmeeinrichtungen gleichzeitig in die Kammer hineingegeben und entnommen wird.

ISSN 0433-6461

6 Seiten

Patentansprüche:

1. Vorrichtung zur Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen, bestehend aus einem subkutan oder peritoneal implantierbaren hohlen Formkörper, dadurch gekennzeichnet, daß dessen Öffnung mit einer permeablen Membran (1) verschlossen ist, daß eine Trennmembran (2) diesen Körper in zwei Kammern teilt und daß in die vordere Kammer Anschlußstücke (3) für durch die Haut gehende Schläuche (4) unterschiedlich tief hineinragen, und daß diese Schläuche (4) mit Befüll- und Entnahmeverrichtungen koppelbar sind.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß auch in die hintere Kammer Anschlußstücke (3) hineinragen.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß der zylindrische Körper durch kreuzförmige Einbauten in mehrere Kammern unterteilt ist.
4. Vorrichtung nach Anspruch 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, daß auch andere Ausführungsformen möglich sind, beispielsweise eine mit Kreuzeinbauten versehene scheibenförmige Gestalt, deren äußerer Rand durch die permeable Membran (1) gebildet wird und deren innere Kammern für die Aufnahme von Agenzien vorgesehen sind.
5. Verfahren zur Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen, dadurch gekennzeichnet, daß in die durch die Trennmembran (2) geschaffenen Kammern die den gewünschten Reiz ausübenden Agenzien eingebracht sind und daß die Entnahme der durch die permeable Membran (1) hindurchtretenden zellulären und humoralen Immunstoffe aus der vorderen Kammer durch Einbringen von Spülflüssigkeit und synchron dazu erfolgenden Entnahme der beaufschlagten Spülflüssigkeit erfolgt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß eine mehrfache Entnahme der mit zellulären und humoralen Immunstoffen beaufschlagten Spülflüssigkeit erfolgt.
7. Verfahren nach Anspruch 5 und 6, dadurch gekennzeichnet, daß über die Anschlußstücke (3) der hinteren Kammer mehrfach gleiche oder unterschiedliche Agenzien eingebracht werden.

Hierzu 3 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren für die subkutane Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Für die Gewinnung von Zellmaterialien wurden bereits unterschiedliche Methoden und Vorrichtungen entwickelt. Bekannt ist beispielsweise die Gewinnung von Gewebestreifen für die Beurteilung funktioneller Schleimhautbilder durch Ausschabung. Diese Methode stellt einen operativen Eingriff dar. Bekannt ist weiterhin das Gewinnen von Zellmaterialien durch Ausspülen von Körperhöhlen. Diese Methode hat den Hauptnachteil, daß die gewonnenen Zellen im allgemeinen einen schlechten Erhaltungsgrad besitzen. Es wurden auch schon bürstenähnliche Instrumente beschrieben (US 3881464), mit denen Zellen aus Körperhöhlen gewonnen werden. Bei diesen Vorrichtungen besteht eine sehr große Verletzungsgefahr. Mit der Patentschrift AT 366.253 wurde eine Vorrichtung bekannt, die in Körperhöhlen eingeführt werden kann und die einem Nachweis von Mikroorganismen dient. Dazu wird in eine Öffnungen aufweisende stabile Umhüllung ein Trägermaterial eingebracht, das ein zur Anreicherung und ein zum Nachweis von Mikroorganismen geeignetes Kultursubstrat trägt. Offenbart wurden auch schon sogenannte Migrationskammern, die direkt auf Hautschabungen aufgebracht wurden. Eine Weiterentwicklung dieser Migrationskammern ist in EP 0012637 beschrieben.

Diese Vorrichtung ist mit einer Vielzahl von Anschlüssen versehen, die einerseits der Thermostabilisierung dienen und die andererseits eine ständige Bewegung des in jeder Migrationskammer aufhaltenen reaktionsfähigen Mediums durch Flüssigkeitsströmung gewährleisten.

Letztlich wurden auch schon implantierbare, in den Blutstrom einschaltbare Kapseln (beispielsweise: DE 3710794 A1) beschrieben, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie unter der Haut implantiert werden können, daß sie Anschlußmöglichkeiten besitzen, die sowohl mit dem arteriellen als auch mit dem venösen System verbunden werden können und daß das Innere der Kapsel in Kompartimente aufgeteilt ist. Eine Methode und einen Apparat für die Gewinnung von Blut aus Tieren unter Verwendung von tropfenweiser Zugabe von Anticoagulantien wird in EP 0007327 offen gelegt. Die bekannten Verfahren zur Isolierung von Immunzellen aus dem peripheren Blut haben den Nachteil, daß sie relativ aufwendig sind, z. B. Dichtegradientenzentrifugation erfordern, was einen erheblichen Arbeitsaufwand, Chemikalieneinsatz und eine eventuelle Modifikation des Zustandes der Zellen bedeutet.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Gewinnung von zellulären und humoralen Immunstoffen zu schaffen, das einfach und billig herzustellen und zu implantieren ist und die die wiederholte Entnahme der o.g. Stoffe zuläßt.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Es ist Aufgabe der Erfindung, eine Vorrichtung und ein Verfahren zu schaffen, mit der zellulären und mit humoralen Immunstoffen beaufschlagte Flüssigkeiten periodisch oder kontinuierlich am Ort einer Reizinduktion im Körper gewonnen werden können.

Diese Aufgabenstellung wird erfindungsgemäß durch eine zylindrische Kapsel aus bioinertem Material gelöst, die subkutan oder peritoneal implantierbar ist.

Die Kapsel ist an einer Seite permeabel für feste und flüssige Blutbestandteile und im Inneren durch eine Trennmembran in mindestens zwei Teile geteilt. Die Kammer hinter der permeablen Wand hat einen, besser zwei Zugänge nach außen zur Körperoberfläche und ermöglichen so eine wiederholte Kapselspülung mit einer definierten Spülflüssigkeitsmenge.

Durch Eingabe entsprechender Agenzien in die hintere Kammer wie Zellen und Wirkstoffe, die zur Anlockung von Zellen der Infektabwehr führen oder/und die die Einwanderung von Zellen der Infektabwehr modulieren wird eine Chemotaxis und Migration von Immunzellen ausgelöst, die zusammen mit humoralen Immunstoffen in den vorderen Teil der Kapsel einströmen und können von dort über nach außen führende Schläuche ausgespült werden. Dieser Vorgang kann beliebig oft wiederholt werden. Ist/Sind der/die hinter der Trennmembran liegende(n) Kammer(n) ebenfalls mit nach außen führenden Schläuchen versehen, besteht die Möglichkeit, Agenzien auszutauschen oder zu erneuern. Die durch die Haut führenden Schläuche werden auf dieser ähnlich wie Katheter befestigt. Zur Entnahme der zellulären und humoralen Immunstoffe werden die beiden zur vorderen Kammer führenden Schläuche mit Blutverdünnungspipetten/Maßpipetten verbunden und über eine wird eine definierte Spülflüssigkeitsmenge eingebracht und synchron dazu über die zweite wird die gleiche Menge, die dann allerdings mit zellulären und humoralen Immunstoffen beaufschlagt ist, entnommen.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll nachstehend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. Die dazugehörigen Zeichnungen zeigen in

Fig. 1: die erfindungsgemäße Vorrichtung in perspektivischer Darstellung

Fig. 2: die zur Ausspülung benutzten Blutverdünnungspipetten/Maßpipetten

Fig. 3: eine scheibenförmige Variante der Vorrichtung in perspektivischer Darstellung.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist an einer Seite mit einer für feste und flüssige Blutbestandteile permeablen Membran verschlossen. Im Inneren der Kapsel befindet sich eine Trennmembran 2, die die Kapsel in zwei Kammern unterteilt. In die vordere Kammer ragen zwei Anschlußstücke 3, für die durch die Haut führenden Schläuche 4, unterschiedlich tief hinein.

In die hintere Kammer werden vor der Implantation Agenzien eingebracht, die

entweder eine Entzündung induzieren

oder/und zur Anlockung von Zellen der Immunabwehr führen

oder/und die Einwanderung von Zellen der Immunabwehr modulieren

In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist es möglich, auch die hintere Kammer mit einem/mehreren Schlauchanschluß(schlüssen) zu versehen, um entweder die Agenzien zu erneuern oder zu verändern.

Denkbar ist auch eine scheibenförmige Ausführung der erfindungsgemäßen Vorrichtung, bei der die den Reiz auslösenden Agenzien in eine in der Mitte liegenden Kammer eingebracht sind und bei der die für fest und flüssige Blutbestandteile permeable Membran über den ganzen äußeren Umfang angeordnet ist.

Auch hier können eine oder mehrere innere und äußere Kammern vorhanden sein, die mit nach außen führenden Schläuchen 4 versehen werden. Möglich ist auch, die Agenzien in nicht oder in biologisch abbaubare Polymeren-Kugeln einzubringen, so daß das Einströmen von zellulären und humoralen Immunstoffen in Abhängigkeit von einer definierten Zell- oder Wirkstoff-Freisetzung untersucht werden kann.

Zur Entnahme von zellulären und humoralen Immunstoffen aus der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird aus der Kammer, die durch die permeable Membran 1 und die Trennmembran 2 begrenzt wird, eine definierte Menge Spülflüssigkeit entnommen.

Dazu werden die Schläuche 4 mit Pipettenspitzen 5 versehen, in die Blutverdünnungspipetten 6 eingreifen, die über Verbindungsschläuche 7 mit Glaskörpern von Injektionsspritzen 8 verbunden sind.

Die Betätigung beider Spritzen (Glaskörper mit Hubkolben) erfolgt synchron, d. h. während über eine Blutverdünnungspipette 6 Spülflüssigkeit in die vordere Kammer gedrückt wird, wird zugleich über die zweite Blutverdünnungspipette 6 die gleiche Menge der mit zellulären und humoralen Immunstoffen beaufschlagten Spülflüssigkeit entnommen.

Der Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung besteht darin, daß die Entnahme der Flüssigkeit direkt am Ort der Reizinduktion erfolgt, daß keine aufwendigen Operationsverfahren erforderlich sind und daß die Aussagen wesentlich präziser gegenüber Messungen aus dem peripheren Blut sind.

Bei einigen Versuchstieren, z. B. bei Schweinen, ist die Zahl der Zellen der Immunabwehr im peripheren Blut sehr gering, so daß große Blutmengen entnommen werden müssen, um die zu aussagekräftigen Tests notwendige Zellzahl zu erhalten.

Um beispielsweise eine kinetische Betrachtung der Funktionsentwicklung der Abwehrzellen in den ersten 14 Lebenstagen von Ferkeln zu bekommen, wäre bei einer täglichen Abnahme eine solche Blutmenge erforderlich, daß die Tiere nicht überleben könnten. Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann zu jeder Zeit retransplantiert werden.

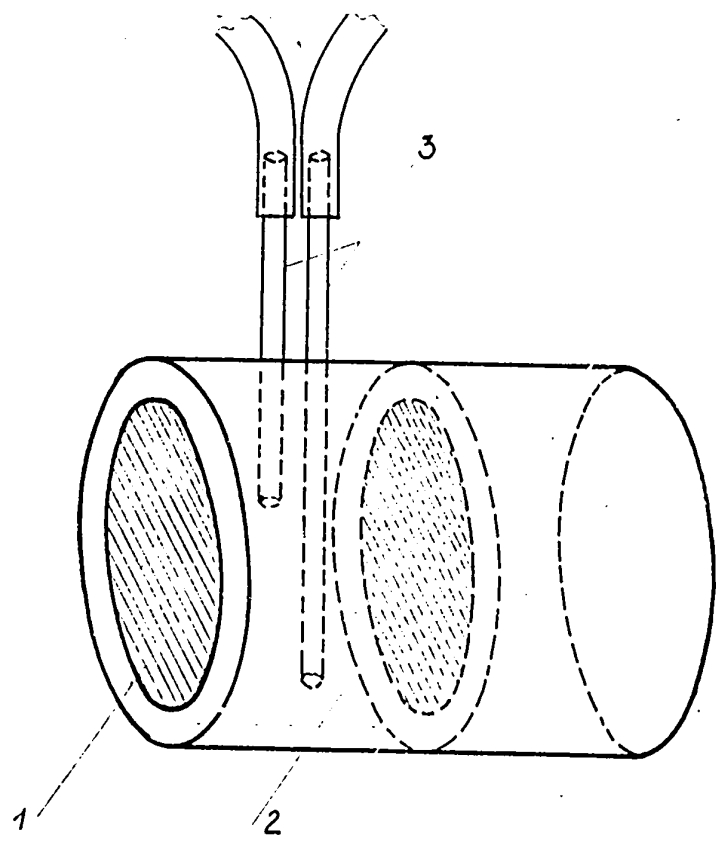


Fig. 1

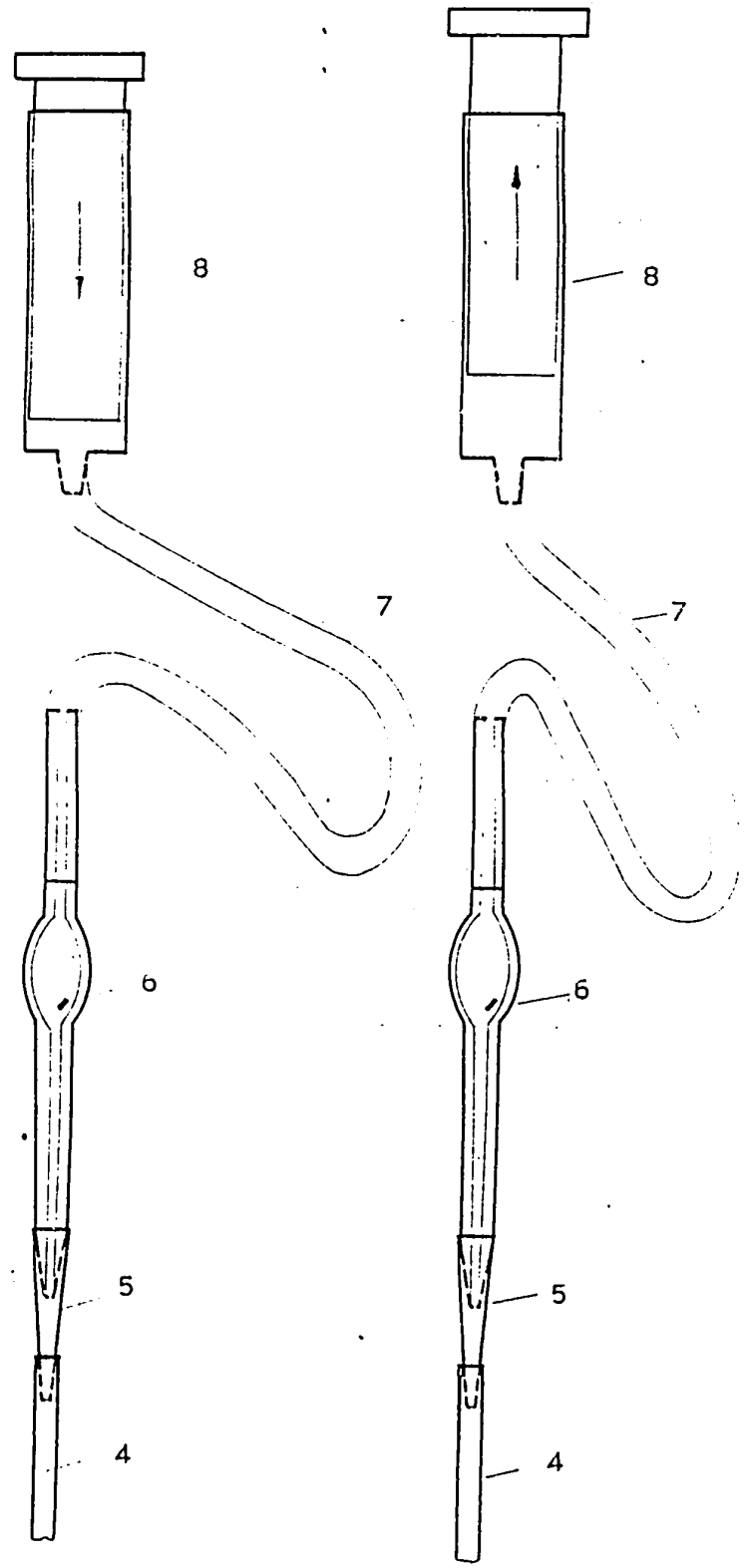


Fig. 2

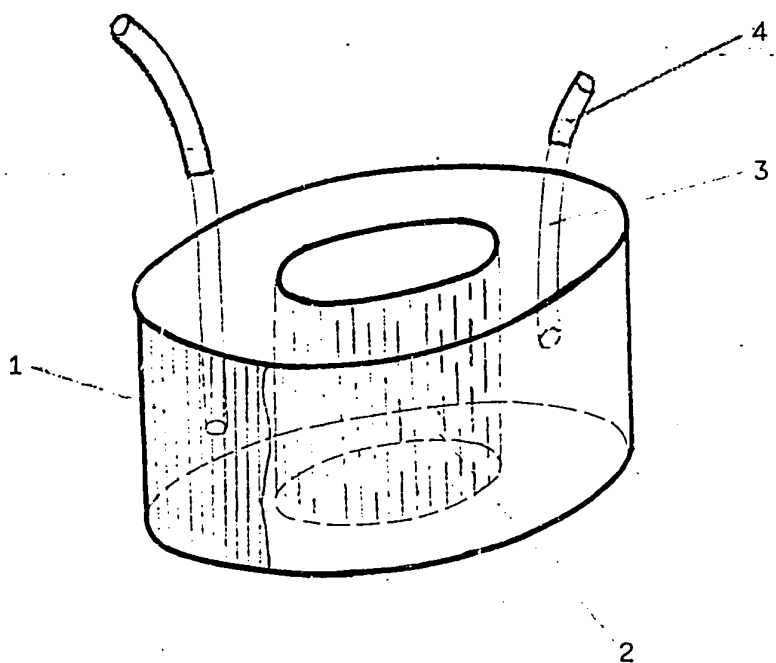


Fig. 3