



УКРАЇНА

(19) UA (11) 13282 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 21/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ В-ЛІМФОЦИТІВ В ГІСТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

1

2

(21) u200509959

(22) 24.10.2005

(24) 15.03.2006

(46) 15.03.2006, Бюл. № 3, 2006 р.

(72) Волошин Микола Анатолійович, Куш Оксана  
Георгіївна(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ, Волошин Микола Анатолійович,  
Куш Оксана Георгіївна(57) Спосіб виявлення В-лімфоцитів в гістологіч-  
них препаратах шляхом підготовки зрізів і прове-  
дження лектингістохімічного дослідження з викорис-  
танням специфічного маркера, який  
**відрізняється** тим, що як специфічний маркер  
використовують лектин кори бузини чорної.

Корисна модель стосується медицини, а саме, імунморфології, гістології та анатомії, і може бути використана для вивчення лімфоїдної тканини.

Існують деякі лектингістохімічні способи виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах по наявності рецепторів до пектинів, але вони недостатньо специфічні, що викликало необхідність у розробці нових способів.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є спосіб, який полягає у виявленні В-лімфоцитів шляхом підготовки гістологічного препарату і проведення лектингістохімічного дослідження з використанням специфічного маркера - пектину сої [Reisner Y. Chiao J.W., Sharon N. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin//J. Natl. Acad. Sei USA. - 1980. - Vol. 77(11). - P. 6778-6782.].

Спільними суттєвими ознаками аналога і корисної моделі, що заявляється, є такі:

- підготовка гістологічних препаратів;
- проведення лектингістохімічного дослідження з використанням специфічного маркера.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що не дозволяє високоспецифічно виявляти В-лімфоцити в гістологічних зрізах.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах шляхом використання лектину кори бузини чорної як специфічного маркера, що забезпечить ефективність високоспецифічного виявлення цих клітин.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який полягає у підготовці зрізів і прове-

денні лектингістохімічного дослідження з використанням специфічного маркера, новим є те, що як специфічний маркер використовують лектин кори бузини чорної.

Прийчинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Постановка гістохімічної реакції з пектином кори бузини чорної (SNA) для виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах дозволить зменшити помилки при підрахунку цих клітин в гістологічних препаратах, тому що лектин кори бузини чорної (SNA) є високоспецифічним маркером для рецепторів В-лімфоцитів, що мають вуглеводні залишки  $\text{Sia}\alpha 2\text{-6Gal}\beta 1\text{-4GlcNAc}\beta 1$ , які є лігандами для даного пектину.

Запропонований спосіб дозволяє високоспецифічно диференціювати В-лімфоцити від інших клітин в гістологічних препаратах.

Ця специфічна лектингістохімічна реакція дозволить аналізувати функціональний стан В-лімфоцитів в тканинах органів. Щільність рецепторів на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин до пектину кори бузини чорної вказує на ступінь активності В-лімфоцитів.

Таким чином, сукупність вищезазначених позитивних моментів дозволить підвищити ефективність виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах і більш досконало вивчати будову лімфоїдної тканини.

Спосіб здійснюють таким чином.

Для лектингістохімічного дослідження тканину фіксують в розчині Буєна. Шматочки зневоднюють

(19) UA (11) 13282 (13) U

в висхідній батареї спиртів, починаючи з 40%. Отримують парафінові зрізи товщиною 5-7мкм. Гістохімічне визначення рецепторів до лектину кори бузини чорної (SNA) проводять з використанням прямої реакції з кон'югатом - лектин і пероксидаза хрину. Рецептори до лектину виявляють по відкладенню часточок бензидину на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин. Морфометричний підрахунок клітин, які мають на своїй поверхні бензидинову мітку, кон'юговану з лектином кори бузини чорної (SNA), проводять за допомогою окулярної сітки при імерсійному збільшенні мікроскопу.

#### Приклад

Після фіксації шматочків децидуальної тканини матки в рідині Буєна, їх зневоднюють у висхідній батареї спиртів, отримують парафінові зрізи товщиною 5-6мкм та виготовляють гістологічні препарати. Лектингістохімічне визначення рецеп-

торів до лектину кори бузини чорної (SNA) проводять з використанням прямої реакції з кон'югатом лектина кори бузини чорної і пероксидази хрину. Рецептори до лектину виявляють по відкладенню часточок бензидину на поверхні цитоплазматичної мембрани. Вуглеводні залишки Sia $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1, які є рецепторами до лектину кори бузини чорної (SNA), розташовані на цитоплазматичній мембрані В-лімфоцитів децидуальної тканини матки. В-лімфоцити діаметром 12-14мкм локалізуються переважно в спонгіозному шарі децидуальної тканини матки, навколо мезометральних залоз і судин. На цитоплазматичній мембрані клітин колір часточок бензидину від світло-коричневого до чорного, що вказує на щільність рецепторів. Інтенсивність бензидинових відкладень на поверхні цитоплазматичної мембрани вказує на функціональний стан В-лімфоцитів.