



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36028 (13) A

(51) 6 G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ЕПІТЕЛІОРЕТИКУЛОЦИТІВ У ТИМУСІ ССАВЦІВ І ПТАХІВ

(21) 99105814

(22) 26.10.1999

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Клименко Олег Миколайович

(73) Інститут епізоотології УААН

(57) Спосіб виявлення епітеліоретикулоцитів у тимусі ссавців і птахів, який включає фіксацію дослідного матеріалу, заливку в парафін, виготовлення парафінових зрізів, їх депарафінування, та виготовлення постійних гістохімічних препаратів **відрізняється** тим, що як реагент для виявлення епітеліоретикулоцитів на гістозрізах використовується нітросиній тетразолій.

Винахід відноситься до ветеринарної медицини, а саме, - до лабораторної діагностики функціональних порушень епітеліоретикулоцитів у тимусі ссавців та птахів.

Епітеліоретикулоцити оточують паренхіму органу ззовні і служать каркасом стромальної сітки, яка пронизує внутрішнє середовище тимуса. Найважливішою функцією, що виконують епітеліоретикулоцити тимуса, є інкреція гормональних речовин, які сприяють трансформації претимічних попередників в посттимічні та зрілі Т-клітини (Т.К.Валуєва і др., 1982).

Враховуючи ведучу роль епітеліоретикулоцитів тимуса у синтезі гормональних чинників, слід вказати, що послаблення його секреторної активності обумовлене процесами інволюції залози, зокрема, дегенеративними змінами її епітеліального компоненту. Наявність патологічного процесу в організмі внаслідок захворювання та порушення метаболізму тимічних структур ссавців і птахів в постнатальному періоді призводить до змін у функціональній активності епітеліоретикулоцитів тимуса. Інактивація і заміщення кортикальної зони тимуса за рахунок анаболізму жирової тканини також пов'язані з функціями епітеліоретикулоцитів тимуса у формуванні Т-клітин у процесі дозрівання лімфоїдної тканини. Окрім цього, суттєвим є питання про вплив іонізуючого опромінення на рівень секреції гуморальних продуктів в тимусі і зниження функціональної активності лімфоїдних клітин.

Одним з найбільш поширених способів виявлення епітеліоретикулоцитів в тимусі є спосіб лектинної гістохімії. Суть цього способу полягає в фіксації дослідного матеріалу в суміші Буена, заливці в парафін, виготовленні парафінових зрізів, їх депарафінуванні та обробці зрізів конкаваліном А, та виготовленні постійних гістохімічних препаратів (А.Д.Луцик, Е.С.Детюк, М.Д.Луцик. Лектини в гіс-

тохимии. - Львов: "Выща школа", 1989. - С.24-36, 67).

Недоліком цього методу, як взагалі методів роботи з пектинами, є висока вартість імпортованих препаратів для проведення дослідження, а також значна трудомісткість та складність отримання і очищення пектину у випадку використання методів препаративної біохімії при застосуванні вітчизняної сировини.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалити спосіб виявлення стромальних епітеліоцитів тимуса шляхом заміни обробки препарату конкаваліном А нітросинім тетразолієм, який забезпечує чітке виявлення епітеліальної строми у тимусі ссавців та птахів.

Перевага даного способу полягає в тому, що використання нітросинього тетразолію не потребує використання пектинів, їхньої очистки та дає чітку, стійку картину параметрів та локалізації клітин епітеліального ретикулуму тимуса.

Суть способу полягає в виявленні епітеліоретикулоцитів у тимусі ссавців і птахів, яке включає фіксацію дослідного матеріалу, заливку в парафін, виготовлення парафінових зрізів, їх депарафінування, та виготовлення постійних гістохімічних препаратів, в яких як реагент для виявлення епітеліоретикулоцитів на гістозрізах використовується нітросиній тетразолій, завдяки якому проявляється їх сукцинатдегідрогеназна активність.

Сукцинатдегідрогеназа (СДГ), згідно з класифікацією V міжнародного біохімічного конгресу, є оксидоредуктазою, що діє на СН-СН групу донорів (КФ - 1.3.99.1). Для гістологічного виявлення дегідрогеназ використовують солі тетразолію - безбарвні або слабозабарвлені сполуки. Відновлюючись, вони утворюють нерозчинні зафарбовані речовини - формазани. Найбільш придатним для виявлення сукцинатдегідрогенази є нітросиній тетразо-

лій (Р.Лилли, 1969; А.И.Кононский, 1976). Виходячи з того, що сукцинооксидазна активність пов'язана із митохондріальним апаратом, скупчення СДГ може вказувати на накопичення енергії у вигляді макроергічних фосфатних зв'язків.

Спосіб здійснюють таким чином: проводять фіксацію дослідного матеріалу в 10% розчині нейтрального формаліну з подальшою заливкою в парафін. Після чого виготовлюють парафінові зрізи, депарафінують їх, поміщають в інкубаційне середовище на 5-20 хв при 37°C, промивають у 0,85 %-ному сольовому розчині NaCl, переносять у формалін-сольовий розчин на 10 хв та промивають у 15 %-ному розчині етанолу протягом 5 хв та виготовлюють постійні гістохімічні препарати. Згідно з

проведеною обробкою гістозрізів нітросинім тетразолієм, як реагентом, утворюється забарвлена речовина - формаган, що надає змогу виявити епітеліоретикулоцити на гістозрізах.

Інтенсивність гістохімічної реакції на постійних препаратах оцінюється за допомогою мікроскопії. Формаган при постановці реакції на СДГ відкладається переважно у цитоплазмі епітеліальних клітин та макрофагів у вигляді чорно-фіолетових гранул.

Було досліджено 20 проб тканин тимуса великої рогатої худоби симентальської та чорно-рябої породи та 15 курей породи легорн різних вікових груп. Результати дослідження доводять, що спосіб дозволяє чітко виявляти кількість, розміри та морфологічні показники епітеліальних клітин тимуса.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
