



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 6191

(13) U

(51) 7 G01N21/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ТИМУСУ ТА СЕЛЕЗІНКИ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

1

2

(21) 20041008784

(22) 27.10.2004

(24) 15.04.2005

(46) 15.04.2005, Бюл. № 4, 2005 р.

(72) Волошин Микола Анатолійович, Григор'єва
Олена Анатоліївна(73) Запорізький державний медичний університет,
Волошин Микола Анатолійович, Григор'єва Олена
Анатоліївна

(57) Спосіб виявлення дендритних клітин тимусу та селезінки у лабораторних тварин шляхом підготовки препарату, проведення гістохімічної реакції, заключення препарату і світлової мікроскопії, який відрізняється тим, що досліджують гістологічний препарат, а гістохімічну реакцію проводять з лектином сочевиці.

Корисна модель стосується медицини, а саме, гістології і анатомії, і може бути використаною у вивченні морфології тимусу та селезінки лабораторних тварин.

Існує багато способів виявлення дендритних клітин тимусу та селезінки, але вони недостатньо специфічні, що викликало необхідність у розробці нових способів.

Відомий спосіб виявлення дендритних клітин тимусу і селезінки, який полягає в виділенні та очищенні культури дендритних клітин *in vitro* та їх аналізі [Smith A.L., Fazekas de St. Groth B. Antigen-pulsed CD8⁺ dendritic cells generate an immune response after subcutaneous injection without homing to draining lymph node // J. Experimental Medicine.- 1999.- Vol 189, №3.- P.593-598].

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є така:

- підготовка препаратів для дослідження;
- заключення препарату;
- мікроскопія.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що не дозволяє специфічно виявляти дендритні клітини в зрізах тимусу та селезінки.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є спосіб, який полягає у виявленні дендритних клітин за допомогою набору моноклональних антитіл [Maeda Kunihiro, Matsuda Mikio, Suzuki Hitoshi, and Hito-aki Saitoh Immunohistochemical Recognition of Human Follicular Dendritic Cells (FDCs) in Routinely Processed Paraffin Sections// Journal of Histochemistry and Cytochemistry.- 2002.-Vol.50.-P. 1475-1486].

Спільними суттєвими ознаками прототипу і винаходу, що заявляється, є такі:

- підготовка гістологічних препаратів;
- проведення гістохімічної реакції;
- заключення препарату;
- світлова мікроскопія.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що використання моноклональних антитіл є дуже дорогим і потребує багато моноклональних антитіл.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу виявлення дендритних клітин тимусу та селезінки у лабораторних тварин шляхом використання гістологічних препаратів для постановки гістохімічної реакції з лектином сочевиці (LCA), що дозволяє підвищити ефективність специфічного виявлення цих клітин.

Поставлена задача вирішується завдяки тому, що у способі, який включає підготовку гістологічних препаратів тимусу та селезінки, постановку гістохімічної реакції з лектином, заключення препарату і світлову мікроскопію, новим є те, що досліджують гістологічний препарат, а гістохімічну реакцію проводять з лектином сочевиці (LCA).

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

Постановка гістохімічної реакції з лектином сочевиці (LCA) для виявлення дендритних клітин тимусу і селезінки у лабораторних тварин дозволить зменшити помилки при підрахунку цих клітин в гістологічних препаратах тимусу і селезінки, тому що лектин сочевиці (LCA) є специфічним маркером дендритних клітин тимусу та селезінки, в ци-

(13) U

(11) 6191

(19) UA

топлазмі яких розміщуються рецептори для даного лектину (вуглеводні залишки α -D-манози).

Запропонований спосіб дозволяє вибірково диференціювати дендритні клітини тимусу та селезінки щурів.

Ця специфічна гістохімічна реакція дозволить аналізувати функціональний стан дендритних клітин тимусу та селезінки завдяки періодичній зміні експресії LCA* - рецепторів в цитоплазмі цих клітин.

Таким чином, сукупність вищезазначених позитивних моментів дозволить підвищити якість оцінки цитоархитектоники тимусу та селезінки.

Спосіб здійснюють таким чином.

Для гістохімічного дослідження тимус та селезінку щурів фіксують в рідині Буена. Шматочки обезжовують в висхідній батареї спиртів, починаючи з 50%. Отримують парафінові зрізи товщиною 5-6мкм. Гістохімічне визначення рецепторів до лектину сочевиці (LCA) проводять з використанням прямої реакції з кон'югатами і пероксидазою хрину. Рецептори до лектину виявляють по відкладенню бензидинової мітки. Морфометричний підрахунок клітин, які мають на своїй поверхні пігментну бензидинову мітку, кон'юговану з лектином

сочевиці (LCA), проводять за допомогою окулярної сітки при іммерсійному збільшенні мікроскопу.

Приклад.

Після фіксації шматочків тимусу та селезінки щурів в рідині Буена, обезжовування в висхідній батареї спиртів, отримують парафінові зрізи товщиною 5-6 мкм та виготовляють гістологічні препарати. Гістохімічне визначення рецепторів до лектину сочевиці (LCA) проводять з використанням прямої реакції з кон'югатами і пероксидазою хрину. Рецептори до лектину виявляють по відкладенню бензидинової мітки. Вуглеводні залишки α -D-манози, які є рецепторами до лектину сочевиці (LCA), розташовані в цитоплазмі дендритних клітин тимусу та селезінки щурів. Дендритні клітини полігональної форми з численними відростками локалізуються переважно на кортико-медулярній межі тимусу та по периферії періартеріальних муфт і маргінальної зони селезінки. В дендритних клітинах тимусу та селезінки інтенсивність розподілу внутрішньоцитоплазматичних рецепторів до лектина сочевиці постійно змінюється, залежно від морфофункціонального стану органів.