



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **70754** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 21/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 14282	(72) Винахідник(и): Волошин Микола Анатолійович (UA), Федотченко Андрій Вікторович (UA)
(22) Дата подання заявки: 02.12.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2012	(73) Власник(и): ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA), Волошин Микола Анатолійович, вул. Дзержинського, 104, кв. 57, м. Запоріжжя, 69000 (UA), Федотченко Андрій Вікторович, вул. Сталеварів, 40, кв. 26, м. Запоріжжя, 69095 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2012, Бюл.№ 12	

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ТУЧНИХ КЛІТИН

(57) Реферат:

Спосіб виявлення тучних клітин шляхом виготовлення гістологічного препарату, проведення лектингістохімічної реакції, висновок препарату та світлової мікроскопії. Лектингістохімічну реакцію проводять з N-ацетил-D-глюкозамінспецифічним лектином зародків пшениці (WGA).

UA 70754 U

Корисна модель належить до медицини, а саме анатомії, гістології, і може бути використана з метою вивчення морфології тучних клітин в органах і тканинах.

Існує декілька способів виявлення тучних клітин на гістологічних препаратах з використанням панелі лектинів: α -D-манозоспецифічні лектини (лектин сочевиці (LCA), лектин гороху (PSA), лектин канавалії мечовидної (ConA)), β -D-галактозоспецифічні лектини (лектин арахісу підземного (PNA), N-ацетил- β -галактозамінспецифічні лектини (лектин сої культурної (SBA)) [Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д. Луцик, Е.С. Детюк, М.Д. Луцик. - Львов: Вища школа, 1989.-140 с.], але ці способи не дають повної інформації про наявність інших видів вуглеводних залишків в тучних клітинах, що викликало необхідність у розробці нових способів.

Найбільш близьким за технічною суттю та результатом, що досягається, є способи які полягають у виявленні тучних клітин на гістологічних препаратах лектингістохімічним методом за наявності рецепторів до α -D-манозоспецифічного лектину канавалії мечовидної (ConA), оскільки він взаємодіє з залишками D-манози, D-глюкози та N-ацетил-D-глюкозаміном. Виготовляють гістологічні препарати. Лектингістохімічне визначення рецепторів до канавалії мечовидної (ConA), відбувається з використанням прямої реакції з кон'югатом лектину канавалії мечовидної (ConA), та пероксидази хрину. Рецептори до лектину канавалії мечовидної (ConA) виявляють по відкладенню часточок бензидину в цитоплазмі тучних клітин.

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

- виготовлення гістологічного препарату;
- проведення гістохімічної реакції з лектином;
- закладання препарату;
- світлова мікроскопія.

Цей спосіб є ефективним, але не достатньо інформативним, оскільки не дає повної інформації про наявність інших вуглеводних залишків в структурі тучних клітин.

В основу корисної моделі поставлено задачу розширення способів виявлення тучних клітин та детальнішого вивчення їх морфології на гістологічних препаратах шляхом проведення лектингістохімічної реакції з N-ацетил-D-глюкозамінспецифічним лектином зародків пшениці (WGA), що має найвищу афінність до вуглеводних залишків N-ацетил-D-глюкозаміну і дозволить розширити способи виявлення тучних клітин та більш детально вивчити їх морфологію, а також визначати ступінь їх дегрануляції.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який включає виготовлення гістологічного препарату, проведення лектингістохімічної реакції, висновок препарату, світлову мікроскопію, новим є те, що гістохімічну реакцію проводять з N-ацетил-D-глюкозамінспецифічним лектином зародків пшениці (WGA).

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

Проведення лектингістохімічної реакції з N-ацетил-D-глюкозамінспецифічним лектином зародків пшениці (WGA) дозволить розширити способи виявлення тучних клітин на гістологічних препаратах, наприклад в форс-мажорних випадках, коли вищезгадані лектини відсутні; а також більш детально вивчити морфологію та визначати ступінь дегрануляції тучних клітин, а також оцінити розподіл речовин, які афінні до лектину зародків пшениці (WGA).

Запропонований метод дозволить високоспецифічно диференціювати тучні клітини в тканинах, давати оцінку їх біохімічному складу та біосинтетичним процесам, що відбуваються в них, визначати їх кількість на умовній одиниці площі, наявність та рівень біосинтезу речовин, що афінні до лектину зародків пшениці (WGA) та робити висновки про морфо-функціональний стан тканини та органу в цілому.

Таким чином, сукупність описаних позитивних факторів дозволить підвищити якість оцінки морфо-функціонального стану тучних клітин та органу в цілому. Позитивний момент полягає у можливості застосування N-ацетил-D-глюкозамінспецифічного лектину зародків пшениці (WGA) в тих випадках, коли інші лектини, афінні до тучних клітин, відсутні. Зміни ступеня спорідненості лектину зародків пшениці (WGA) до тучних клітин, що обчислюються напівкількісно, дають підстави робити висновки про зміни біосинтетичних процесів у клітинах, ступінь їх дегрануляції, та можливі зміни фізико-хімічних властивостей тканини та органу в цілому.

Спосіб здійснюють таким чином.

Для гістохімічного дослідження тканину фіксують в рідині Буена. Шматочки зневоднюють у висхідній батареї спиртів та хлороформів згідно із загальноприйнятою методикою та заливають у парафін. Виготовляють гістологічні зрізи товщиною 3-5 мкм. Гістохімічне виявлення рецепторів до лектину зародків пшениці (WGA) проводять з використанням прямої реакції з кон'югатом лектину та пероксидазою хрину. Рецептори до лектину зародків пшениці (WGA) виявляють по відкладенню бензидинової мітки в цитоплазмі тучних клітин. Морфологічний кількісний аналіз

WGA⁺ тучних клітин проводять на оглядовій мікроскопії при малих збільшеннях, а морфофункціональний стан WGA⁺ тучних клітин - при імерсійному збільшенні мікроскопу.

Приклад.

- Після фіксації тканини в рідині Буена, зневоднення у висхідній батареї спиртів та хлороформів, заливки у парафін та виготовлення гістологічних зрізів товщиною 3-5 мкм проводять пряму гістохімічну реакцію з кон'югатом лектину і пероксидазою хрину. Рецептори до лектину зародків пшениці (WGA) виявляють по відкладенню бензидинової мітки в цитоплазмі тучних клітин при імерсійному збільшенні мікроскопу. WGA⁺ тучні клітини неправильної овально-сферичної форми розміром 20-35 мкм, цитоплазма має рясні коричневі гранулярні включення, що високоафінні до лектину зародків пшениці (WGA).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб виявлення тучних клітин шляхом виготовлення гістологічного препарату, проведення лектингістохімічної реакції, висновок препарату та світлової мікроскопії, який **відрізняється** тим, що лектингістохімічну реакцію проводять з N-ацетил-D-глюкозамінспецифічним лектином зародків пшениці (WGA).

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601