

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**



## **МАТЕРІАЛИ**

**104-ї підсумкової науково-практичної конференції  
з міжнародною участю  
професорсько-викладацького персоналу  
БУКОВИНСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
06, 08, 13 лютого 2023 року**

Конференція внесена до Реєстру заходів безперервного професійного розвитку,  
які проводитимуться у 2023 році №5500074

**Чернівці – 2023**

Давиденко І.С.

## ГІСТОХІМІЧНА МЕТОДИКА НА БІЛОК ЗА MIKEL CALVO ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЗРІЛОСТІ КОЛАГЕНІВ У МІКРОСКОПІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

*Кафедра патологічної анатомії*

*Буковинський державний медичний університет*

**Вступ.** Існує чимало гістохімічних методів на білок, кожний з яких має свої особливості оцінки результатів специфічного забарвлення. Одним з багатьох є метод за Mikel Calvo, в якому за спеціальних умов використовується барвник бромфеноловий синій. Спеціальні умови спричиняють особливість фарбування білків у різні кольори - переважно в синій та червоний. Автор методики вважав, що переважання червоного кольору свідчить про домінування карбоксильних груп в білках, а переважання синього кольору - про домінування аміногруп у білках. Вказане припущення дозволило автору анонсувати свою методику як методику на "кислі" та "основні" білки. Нами в результаті багаторічних досліджень висунуто гіпотезу про те, що метод Mikel Calvo насправді визначає ширший спектр змін у білках, ніж вважав автор методики. Зокрема, припускається, що процеси гідрокислювання залишків проліну та лізину в колагенових білках (які відбуваються в ході їх дозрівання) так само супроводжуються змінами кольору білків при застосуванні методу Mikel Calvo. Отже, виникла необхідність об'єктивної перевірки того, чи процеси гідрокислювання залишків проліну та лізину в колагенових білках призводять до змін кольору білків.

**Мета дослідження.** Мікроспектрофотометричним методом перевірити припущення про те, що дозрівання колагенів (процеси гідрокислювання залишків проліну та лізину в колагенових білках) призводять до змін кольору забарвлення білків у гістохімічних препаратах при застосуванні гістохімічного методу Mikel Calvo.

**Матеріал і методи дослідження.** Матеріалом для дослідження служили посмертні тканини "молодої" (1-4 доби - n=34) грануляційної тканини та рубця (28-364 доби - n=31), а також тканини (групний матеріал - n=32), де завжди існують у різних локалізаціях швидкозамінна сполучна тканина та давно утворена сполучна тканина (кишечник, легені). Шматочки тканин фіксували в розчині 10%-го нейтрального формаліну (24 години), заливали в парафін, у гістологічних зрізах 5 мкм завтовшки виконували гістохімічний метод за Mikel Calvo в модифікації Ігоря Давиденка. З гістологічних зрізів цифровою камерою в оптичному мікроскопі робили цифрові зображення, які аналізували в комп'ютерній програмі ImageJ 1.52 (USA) мікроспектрофотометричним методом з визначенням об'єктивного показника - коефіцієнту R/B (від англ. "Red" та "Blue"), який був кількісною мірою кольору.

**Результати дослідження.** У результаті проведених вимірювань встановлено, що коефіцієнт R/B в колагенових волокнах "молодої" грануляційної тканини становив  $1,02 \pm 0,014$ , в колагенових волокнах рубця -  $2,08 \pm 0,028$ , в колагенових волокнах стінок респіраторних відділів легень (швидкозамінна сполучна тканина) -  $1,12 \pm 0,017$ , в колагенових волокнах стінок бронхів (давно утворена сполучна тканина) -  $2,19 \pm 0,033$ , в колагенових волокнах слизової оболонки клубової кишки (швидкозамінна сполучна тканина) -  $1,08 \pm 0,019$ , в колагенових волокнах підслизової основи клубової кишки (давно утворена сполучна тканина) -  $2,34 \pm 0,039$ . Згідно методу Стьюдента (непарний, двобічний критерій) встановлено високу вірогідність розбіжності між недавно утвореними та давноутвореними колагенами ( $P < 0,001$ ).

**Висновки.** 1. Колагени сполучнотканинних волокон різної локалізації мають різне забарвлення при застосуванні методу Mikel Calvo, що підтверджується об'єктивно мікроспектрофотометричним методом. 2. Існує суттєва розбіжність у характеристиці забарвлення між недавно утвореними та давно утвореними колагенами ( $P < 0,001$ ), зокрема, давно утворені волокна, де більш зрілий колаген, мали більш червоне забарвлення, і відповідно даних мікроспектрофотометрії коефіцієнт R/B - вище 2.