

УДК 616.381-002:616.361]-092

**Ю.Є. Роговий, О.В. Білоокій**

*Кафедра патологічної фізіології (зав. – проф. Ю.Є. Роговий) ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”*

## ОКИСНОМОДИФІКОВАНІ БІЛКИ ЗА ГІСТОХІМІЧНИМИ ДАНИМИ У НИРКАХ І ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА НЕІНФІКОВАНОГО ТА ІНФІКОВАНОГО ЖОВЧНОГО ПЕРИТОНІТУ

**Резюме.** У досліджах на 76 білих нелінійних щурах-самцях за інфікованого і неінфікованого жовчного перитоніту показано підвищення ступеня окисномодифікованих білків у нирках та печінці щурів за коефіцієнтом R/B, який зростав у проксимальних, дистальних відділах нефрону, збірних каналцях сопочка нирок та в цитоплазмі гепатоцитів. Водночас, за інфікованого жовчного перитоніту виявлені більш істотні порушення по відношенню до неінфікованого патологічного процесу

**Ключові слова:** окисномодифіковані білки, коефіцієнт R/B, неінфікований та інфікований жовчний перитоніт, нирка, печінка.

Неінфікований жовчний перитоніт має легкий чи середньої тяжкості перебіг з наявністю місцевого, розповсюдженого серозного перитоніту чи наявності витікання жовчі в очеревинну порожнину, супроводжується явищами ендотоксикозу із компенсованим порушенням функції внутрішніх органів [1, 2].

Інфікований жовчний перитоніт характеризується тяжким перебігом (при гнійному, жовчному, фібринозному, змішаному перитоніті); вираженим ендотоксикозом, порушенням функції внутрішніх органів на рівні субкомпенсації, що зумовлює необхідність передопераційної підготовки і інтенсивної післяопераційної терапії. Крім того, йому також властивий дуже тяжкий перебіг, при занедбаному, розповсюдженому (загальному, розлитому, гнійному, жовчному, фібринозному, змішаному перитоніті); функціонування внутрішніх органів знаходиться в стадії декомпенсації, що вимагає особливих заходів як у період підготовки хворих до операції, при виборі методу оперативного втручання, так і в післяопераційному періоді [3, 4].

Беручи до уваги розвиток істотних реакцій ушкодження, у патогенезі неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту суттєву роль можуть відігравати зміни окисномодифікованих білків за коефіцієнтом R/B [5]. Водночас аналіз окисномодифікованих білків за коефіцієнтом R/B у печінці та нирках в експерименті на щурах за неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту вивчено недостатньо.

**Мета дослідження:** з'ясувати зміни окисномодифікованих білків у гістологічних зрізах печінки та нирок щурів за неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту.

**Матеріал і методи.** Досліди проведено на 76 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16-0,18 кг. Експериментальне моделювання неінфікованого жовчного перитоніту проводили шляхом дискретного надходження автожовчі зі спільної жовчної протоки щура через сформований дефект її стінки шляхом термокоагуляції [6]. Моделювання інфікованого жовчного перитоніту вирізнялося додатковим введенням 0,5 мл вмісту тонкої кишки [7].

Ділянки тканини печінки та нирок фіксували впродовж 48 год у 10%-му розчині нейтрального забуферного формаліну, після чого проводили процедуру зневоднювання у висхідній батареї етанолу та парафінову заливку при температурі 58°C. Для оцінки окиснювальної модифікації білків зрізи гістохімічно забарвлювали бромфеноловим синім за Мікель-Кальво [8]. Комп'ютерну спектрометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми ColorPic (Graphic Art Tools, 2004). Спосіб гістохімічного визначення співвідношення між основними та кислотними групами білків оснований на вимірюванні інтенсивності червоного та синього кольорів спектра при комп'ютерно-спектральному аналізі цифрових зображень мікроскопічних об'єктів і розрахунку коефіцієнта R/B як співвідношення між інтенсивністю забарвлення у ділянці червоного спектра

(R) до інтенсивності забарвлення у ділянці синього спектру (B) [9]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерних програм "Statgrafics" та "Excel 7.0".

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Гістохімічне забарвлення тканин нирок та печінки бромфеноловим синім за Мікель-Кальво призвело до фарбування білків, що містять кислі групи, у червоний колір, а основні групи – у синій колір. Відношення інтенсивності червоного кольору до синього характеризує перевагу кислих білків над основними у тканині нирок і печінки та свідчить про ступінь окиснювальної модифікації білків.

Якщо величина показника R/B дорівнює "1" – співвідношення між основними та кислими білками рівне, якщо величина показника вище "1" – переважають кислі білки [9].

За неінфікованого жовчного перитоніту виявлено посилення окисної модифікації білків за зростанням показника R/B у проксимальних каналцях, мозкових товстих висхідних частинах петлі нефрону, збірних каналцях сосочка нирок, у цитоплазмі гепатоцитів за відсутності змін у жовчних каналцях (таблиця). Мікрофотографії гістохімічних змін за даного патологічного процесу наведені на рисунках 1, 2, 3.

Таблиця

Ступінь окиснювальної модифікації білків при використанні гістохімічного забарвлення бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за методом Mikel Calvo за коефіцієнтом R/B (ум. од.) при гістохімічному аналізі зрізів нирок та печінки щурів залежно від форми експериментального жовчного перитоніту ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Структура, де вимірюється показник R/B	Групи дослідження		
	Інтактні тварини (n=10)	Неінфікований експериментальний перитоніт (n=12)	Інфікований експериментальний перитоніт (n=12)
Цитоплазма епітелію проксимальних каналців нирки	1,09±0,006	1,84±0,012 p <0,001	2,48±0,016 p <0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефрону	1,03±0,004	1,28±0,007 p <0,001	1,38±0,012 P<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Цитоплазма епітелію трубочок сосочка нирки	1,02±0,002	1,27±0,009 p <0,001	1,35±0,011 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Цитоплазма епітелію гепатоцитів	1,14±0,008	1,89±0,014 p <0,001	2,84±0,018 p <0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Цитоплазма епітелію жовчних каналців	0,91±0,007	0,95±0,014	0,96±0,013

Примітка: p – вірогідність різниць порівняно з контролем; p<sub>1</sub> – вірогідність різниць порівняно з неінфікованим експериментальним перитонітом; n – кількість спостережень

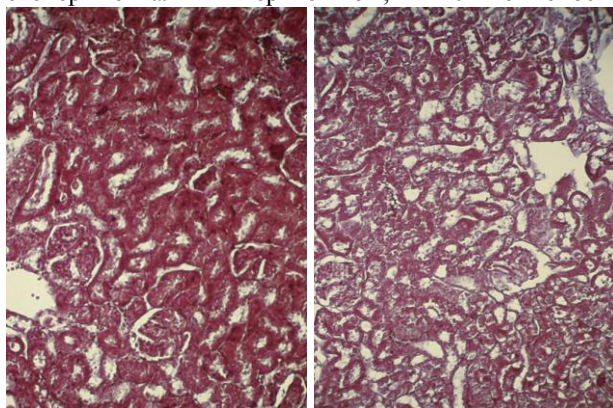


Рис. 1. Кіркова речовина нирки щура з експериментальним неінфікованим перитонітом зліва та інфікованим перитонітом справа. Гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за методом Mikel Calvo. Об. 20<sup>x</sup>; Ок. 10<sup>x</sup>

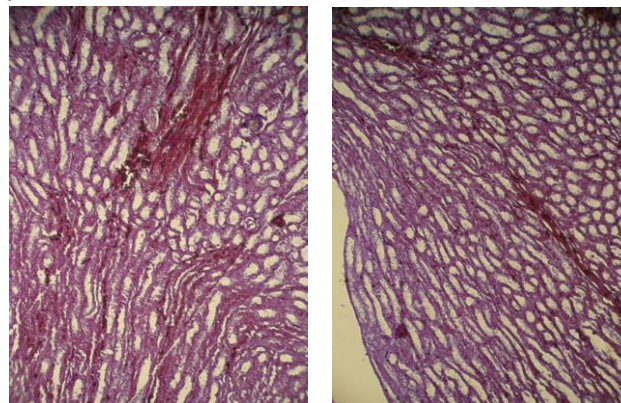


Рис. 2. Мозкова речовина нирки щура з експериментальним неінфікованим перитонітом зліва та інфікованим перитонітом справа. Гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за методом Mikel Calvo. Об. 20<sup>x</sup>; Ок. 10<sup>x</sup>

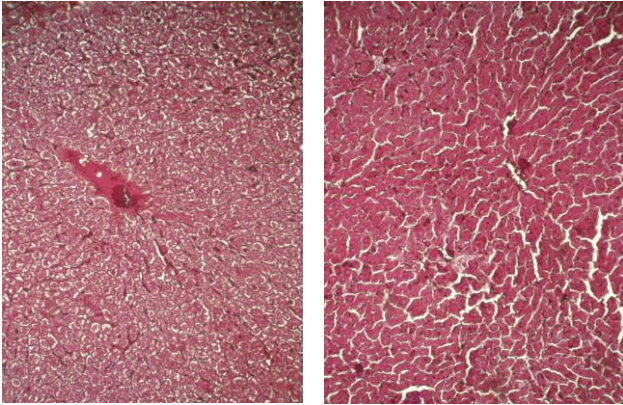


Рис. 3. Печінка щура з експериментальним неінфікованим перитонітом зліва та інфікованим перитонітом справа. Гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки за методом Mikel Calvo. Об. 20<sup>x</sup>; Ок. 10<sup>x</sup>

Водночас за інфікованого жовчного перитоніту виявлені більш істотні порушення у вищеперахованих структурах не тільки по відношенню до контролю, але й порівняно з неінфікованим патологічним процесом.

Механізм розвитку неінфікованого жовчного перитоніту зумовлений розвитком холециститу, просяканням у черевну порожнину серозного ексудату чи жовчовитіканням, інтоксикацією із збільшеним утворенням продуктів із середньою молекулярною масою.

Це супроводжується посиленням окисної модифікації білків та зростанням показника R/V у проксимальних канальцях, мозкових товстих висхідних частинах петлі нефрону, збірних канальцях сосочка нирок та цитоплазмі гепатоцитів. Розвиток інфікованого жовчного перитоніту пояснюється інфікуванням жовчі з формуванням флегмонозного холециститу із просяканням у черевну порожнину жовчного чи гнійного ексудату.

Надходження жовчі в очеревинну порожнину призводило до ушкодження стінки кишок з його паралітичним розширенням [10, 11]. Це сприяло розвитку дисбактеріозу в просвіті товстої кишки та надмірному надходженню жовчних кислот [12], ендотоксину в ворітну печінкову вену. Ці зміни сприяли подальшому наростанню окисної модифікації білків та зростанням показника R/V у проксимальних канальцях, мозкових товстих висхідних частинах петлі нефрону, збірних канальцях сосочка нирок та цитоплазмі гепатоцитів.

Окиснення білків під дією активних форм оксигену з утворенням альдегідо- чи кетогруп [5] є однією із адаптаційних систем і стимулює активацію мультикаталітичних протеаз, що вибірково руйнують окиснені протеїни. При надмірному утворення активних форм оксигену, зокрема при жовчному перитоніті, модифікація білків завершується утворенням кислих груп білків, що свідчить про глибоке порушення рівноваги про- й антиоксидантної системи. Останні зміни найбільш істотні при інфікованому жовчному перитоніті.

**Висновки.** 1. За інфікованого і неінфікованого жовчного перитоніту показано підвищення ступеня окисномодифікованих білків у нирках та печінці щурів за коефіцієнтом R/V, який зростав у проксимальних, дистальних відділах нефрону, збірних канальцях сосочка нирок та в цитоплазмі гепатоцитів. 2. За інфікованого жовчного перитоніту виявлені більш істотні порушення окисномодифікованих білків по відношенню до неінфікованого патологічного процесу.

**Перспективи подальших досліджень.** Обґрунтованою є перспектива подальших розробок щодо з'ясування шляхів корекції виявлених порушень окисномодифікованих білків за інфікованого та неінфікованого жовчного перитоніту.

#### Список використаної літератури

1. Білоокій В.В. Роль ушкодження кишкового тракту у патогенезі розлитого жовчного перитоніту / В.В. Білоокій, Ю.С. Роговий // Шпитальна хірург. – 2004. – № 4. – С. 121-124.
2. Mc Carthy J. Bile peritonitis: Diagnosis and course / J. Mc Carthy, J. Picazo // J. of Surgery. – 2003. – V. 116, № 664. – P. 341-348.
3. Білоокій В.В. Аналіз популяційного рівня порожнинної мікрофлори товстої кишки за умов експериментального жовчного перитоніту / В.В. Білоокій // Вісн. наук. досліджень. – 2007. – № 4. – С. 69-71.
4. Перитоніт як ускладнення гострого холециститу / Б.О. Мільков, О.Л. Кухарчук, А.В. Бочаров, В.В. Білоокій. – Чернівці, 2000. – 175 с.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Укр. біохім. ж. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
6. Патент 97060 Україна, МПК (2015.01), А61В 17/00 Спосіб моделювання жовчного перитоніту / Білоокій О.В., Гринчук Ф.В., Роговий Ю.С., Білоокій В.В. – № u201410761. Заявл. 02.10.2014 р. Чинний з 25.02.2015. Заявник і власник патенту: Буковинський державний медичний університет. – Бюл. № 4.
7. Патент 97619 Україна, МПК G 09В 23/28 (2006.01) Спосіб моделювання інфікованого жовчного перитоніту / Білоокій О.В., Гринчук Ф.В., Роговий Ю.С., Білоокій В.В. – № u201410759. Заявл. 02.10.2014 р. Чинний з 25.03.2015. Заявник і власник патенту: Буковинський державний медичний університет. – Бюл. № 6.
8. Шендерюк О.П. Спосіб вимірювання окислювальної модифікації білків

в структурах плаценти / О.П. Шендерюк, І.С. Давиденко // Клін. анатом. та оператив. хірург. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 101. 9. Патент 13712 U Україна, МПК 7:А 61 В 10/00. Спосіб вимірювання окислювальної модифікації білків в структурах плаценти / Шендерюк О.П., Давиденко І.С.; заявник: БДМУ. – № u200509673; заявл. 14.10.2005; опубл. 17.04.2006., Бюл. “Пром. Власність”, № 4. 10. Нечитайло М.Ю. Жовчний перитоніт: патофізіологія і лікування / М.Ю. Нечитайло, В.В. Білоокій, Ю.С. Роговий. – Чернівці: БДМУ, 2011. – 296 с. 11. Місцевий імунітет травного тракту / А.А. Стасенко, В.Ф. Сасенко, Ю.А. Діброва [та ін.]. – К.: Три крапки, 2005. – 200 с. 12. Синельник Т.Б. Жовчні кислоти в процесах утворення канальцевої жовчі / Т.Б. Синельник, О.Д. Синельник, В.К. Рибальченко // Фізіолог. ж. – 2003. – Т. 49, № 6. – С. 80-93.

#### ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БЕЛКИ ПО ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ДАННЫХ В ПОЧКАХ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ НЕИНФИЦИРОВАННОМ И ИНФИЦИРОВАННОМ ЖЕЛЧНОМ ПЕРИТОНИТЕ

**Резюме.** В опытах на 76 белых нелинейных крысах-самцах при инфицированном и неинфицированном желчном перитоните показано увеличение окислительно-модифицированных белков в почках и печени крыс по коэффициенту R/B, который возрастал в проксимальных, дистальных отделах нефрона, собирательных канальцах сосочка почки и в цитоплазме гепатоцитов. В то же время при инфицированном желчном перитоните выявлены более существенные нарушения в сравнении с неинфицированным патологическим процессом.

**Ключевые слова:** окислительно-модифицированные белки, коэффициент R/B, неинфицированный и инфицированный желчный перитонит, почки, печень.

#### OXIDATION-MODIFIED PROTEINS ACCORDING TO HISTOCHEMICAL FINDINGS IN THE KIDNEYS AND LIVER OF RATS WITH UNINFECTED AND INFECTED BILE PERITONITIS

**Abstract.** The elevation of oxidation-modified proteins in the kidneys and liver of rats is demonstrated in the experiments on 76 albino non-linear male rats with uninfected and infected bile peritonitis according to R/B coefficient increasing in the proximal, distal portions of the nephron, the collecting tubules of the renal papilla and the cytoplasm of hepatocytes. At the same time, in case of infected bile peritonitis more significant disorders are found as compared to uninfected pathological process.

**Key words:** oxidation- modified proteins, R/B coefficient, uninfected and infected bile peritonitis, kidneys, liver.

State Higher Educational Establishment in Ukraine  
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi)

Надійшла 06.10.2015 р.  
Рецензент – проф. Швець В.І. (Чернівці)