

УДК 616.381-002:616.361]-092

*О.В. Білоокій, Ю.Є. Роговий, В.В. Білоокій***МЕТААНАЛІЗ ОКИСНО-МОДИФІКОВАНИХ БІЛКІВ У НИРКАХ І ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА НЕІНФІКОВАНОГО ТА ІНФІКОВАНОГО ЖОВЧНОГО ПЕРИТОНІТУ**

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

**Резюме.** Застосування форест-графіків метааналізу в досліджах на 76 білих нелінійних щурах-самцях за інфікованого і неінфікованого жовчного перитоніту показало найбільшу чутливість визначення ступеня окисно-модифікованих білків за коефіцієнтом R/B у проксимальних відділах нефрону та в цитоплазмі гепатоцитів порівняно з інтактними тваринами. За інфікова-

ного жовчного перитоніту виявлена аналогічна закономірність по відношенню до неінфікованого патологічного процесу.

**Ключові слова:** окисно-модифіковані білки, коефіцієнт R/B, неінфікований та інфікований жовчний перитоніт, метааналіз.

**Вступ.** Відомо, що неінфікований жовчний перитоніт має легкий чи середньої тяжкості перебіг із наявністю місцевого, розповсюдженого серозного перитоніту чи витікання жовчі в очеревинну порожнину, супроводжується явищами ендотоксикозу з компенсованим порушенням функції внутрішніх органів [8, 12].

Інфікований жовчний перитоніт характеризується тяжким перебігом (при гнійному, жовчному, фібринозному, змішаному перитоніті); вираженим ендотоксикозом, порушенням функції внутрішніх органів на рівні субкомпенсації чи декомпенсації, що зумовлює необхідність передопераційної підготовки та інтенсивної післяопераційної терапії [1, 2].

Беручи до уваги розвиток істотних реакцій ушкодження, у патогенезі неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту суттєву роль можуть відігравати зміни окисно-модифікованих білків за коефіцієнтом R/B [3]. Водночас метааналіз з використанням форест-графіків для оцінки діагностичної цінності коефіцієнта R/B у структурах печінки та нирок за неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту практично не проводився.

**Мета дослідження.** З'ясувати діагностичну цінність змін окисно-модифікованих білків у гістологічних зрізах печінки та нирок щурів за неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту шляхом використання форест-графіків метааналізу.

**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 відрізнялося додатковим уведенням 0,5 мл вмісту тонкої кишки [7].

Ділянки тканини печінки та нирок фіксували впродовж 48 год у 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого проводили процедуру зневоднювання у висхідній батареї етанолу та парафінову заливку при температурі 58°C. Для оцінки окиснювальної модифікації біл-

ків зрізи гістохімічно забарвлювали бромфеноловим синім за Мікель-Кальво [5]. Комп'ютерну спектрометрію здійснювали за допомогою комп'ютерної програми ColorPic (Graphic Art Tools, 2004). Спосіб гістохімічного визначення співвідношення між основними та кислими групами білків оснований на вимірюванні інтенсивності червоного і синього кольорів спектра при комп'ютерно-спектральному аналізі цифрових зображень мікроскопічних об'єктів і розрахунку коефіцієнта R/B, як співвідношення між інтенсивністю забарвлення в ділянці червоного спектра (R) до інтенсивності забарвлення в ділянці синього спектра (B) [10]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерних програм "Statgrafics" та "Excel 7.0" з використанням форест-графіків метааналізу.

**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 [10].

За неінфікованого та інфікованого жовчного перитоніту виявлено посилення окисної модифікації білків за зростанням показника R/B по відношенню до контролю (інтактних тварин), який розподілився, починаючи з найбільших значень: цитоплазма гепатоцитів за інфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епітелію проксимальних каналців за інфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епітелію проксимальних каналців за неінфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма гепатоцитів за неінфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефрону за інфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епіте-

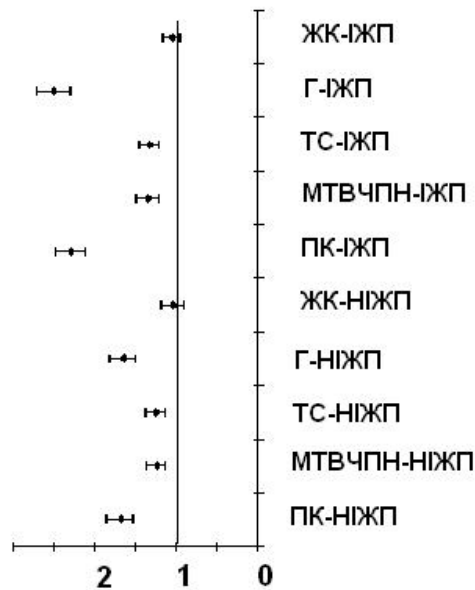


Рис. 1. Форест-графік метааналізу окиснювальної модифікації білків при використанні гістохімічного забарвлення бромфеноловим синім на «кислі» та «основні» білки за методом Mikel Calvo за коефіцієнтом R/V при гістохімічному аналізі зрізів нирок та печінки шурів, залежно від форми експериментального жовчного перитоніту. ПК-НІЖК – цитоплазма епітелію проксимальних каналців за неінфікованого жовчного перитоніту, МТВЧПН-НІЖП – цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефрону за неінфікованого жовчного перитоніту, ТС-НІЖП – цитоплазма епітелію трубочок сосочка нирок за неінфікованого жовчного перитоніту, Г-НІЖП – цитоплазма епітелію гепатоцитів за неінфікованого жовчного перитоніту, ЖК-НІЖП-цитоплазма епітелію жовчних каналців за неінфікованого жовчного перитоніту, ПК-ІЖК – цитоплазма епітелію проксимальних каналців за інфікованого жовчного перитоніту, МТВЧПН-ІЖП- цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефрону за інфікованого жовчного перитоніту, ТС-ІЖП – цитоплазма епітелію трубочок сосочка нирок за інфікованого жовчного перитоніту, Г-ІЖП – цитоплазма епітелію гепатоцитів за інфікованого жовчного перитоніту, ЖК-ІЖП-цитоплазма епітелію жовчних каналців за інфікованого жовчного перитоніту. Контроль для всіх досліджень (інтактні тварини) представлено у вигляді вертикальної лінії та прийнято за 1

лію збірних каналців сосочка нирок за інфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епітелію збірних каналців сосочка нирок за неінфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма жовчних каналців за інфікованого жовчного перитоніту, цитоплазма епітелію збірних каналців сосочка нирок за неінфікованого жовчного перитоніту (рис. 1).

За інфікованого жовчного перитоніту виявлено посилення окисної модифікації білків за зростанням показника R/V по відношенню до неінфікованого патологічного процесу, який розподілився, починаючи з найбільших значень: цитоплазма гепатоцитів, цитоплазма епітелію проксимальних каналців, цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефро-

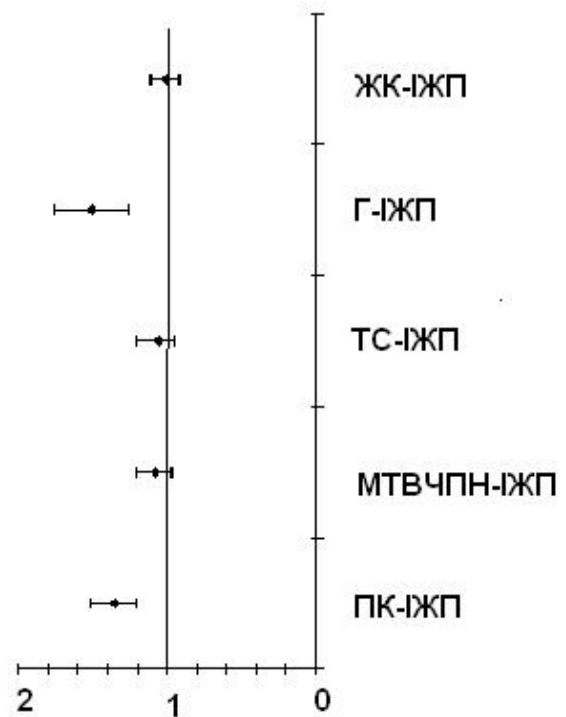


Рис. 2. Форест-графік метааналізу окиснювальної модифікації білків при використанні гістохімічного забарвлення бромфеноловим синім на «кислі» та «основні» білки за методом Mikel Calvo за коефіцієнтом R/V при гістохімічному аналізі зрізів нирок та печінки шурів за інфікованого експериментального жовчного перитоніту. ПК-ІЖК – цитоплазма епітелію проксимальних каналців, МТВЧПН-ІЖП – цитоплазма епітелію мозкових товстих висхідних частин петлі нефрону, ТС-ІЖП – цитоплазма епітелію трубочок сосочка нирок, Г-ІЖП – цитоплазма епітелію гепатоцитів, ЖК-ІЖП – цитоплазма епітелію жовчних каналців. Контроль для всіх досліджень (неінфікований жовчний перитоніт) представлено у вигляді вертикальної лінії та прийнято за 1

ну, цитоплазма епітелію збірних каналців сосочка нирок, цитоплазма жовчних каналців (рис. 2).

Мікрофотографії гістохімічних змін у сосочку нирок за неінфікованого та інфікованого патологічного процесу наведені на рис. 3.

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

Це супроводжується посиленням окисної модифікації білків та зростанням показника R/V у проксимальних каналцях, мозкових товстих висхідних частинах петлі нефрону, збірних каналцях сосочка нирок та цитоплазмі гепатоцитів. Розвиток інфікованого жовчного перитоніту пояснюється інфікуванням жовчі з формуванням флегмонозного холецистити із просяканням у черевну порожнину жовчного чи гнійного ексудату. Надходження жовчі в очеревинну порожнину призводило до ушкодження стінки кишечника з його паралітичним розширенням [4, 11]. Це

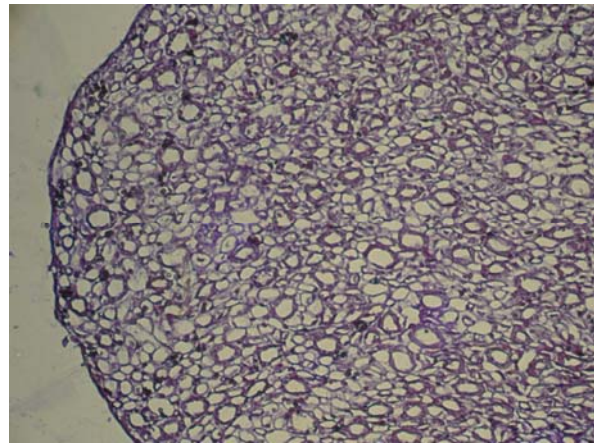
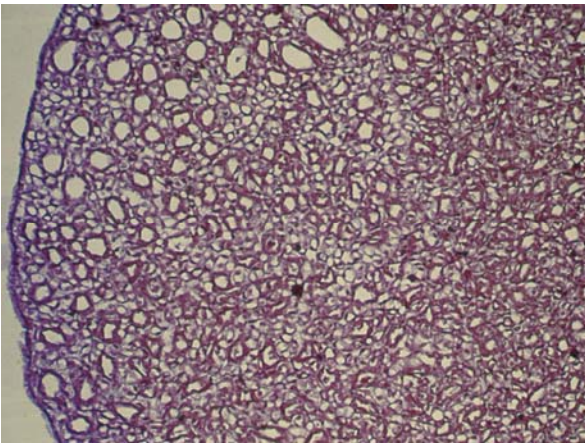


Рис. 3. Сосочок нирки щура з експериментальним неінфікованим перитонітом зліва та інфікованим перитонітом справа. Гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім на «кислі» та «основні» білки за методом Mikel Calvo. Об.20<sup>x</sup>. Ок.10<sup>x</sup>

сприяло розвитку дисбактеріозу в просвіті товстої кишки та надмірному надходженню жовчних кислот [9], ендотоксину у ворітну 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 кисню з утворенням альдегідо- чи кетогруп [3] є однією з адаптаційних систем і стимулює активацію мультикаталітичних протеаз, що вибірково руйнують окиснені протеїни. При надмірному утворенні активних форм кисню, 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. Виявлена за рахунок застосування форест-графіків метааналізу найбільший ступінь окисно-модифікованих білків за коефіцієнтом R/V у проксимальних відділах нефрону та в цитоплазмі гепатоцитів порівняно з інтактними тваринами за інфікованого і неінфікованого жовчного перитоніту вказує на найбільшу схильність до альтерації зазначених структур. За інфікованого жовчного перитоніту виявлена аналогічна закономірність по відношенню до неінфікованого патологічного процесу, що підтверджує істотні альтеративні впливи інфікування на перебіг патологічного процесу.

#### Висновки

1. Застосування форест-графіків метааналізу за інфікованого і неінфікованого жовчного перитоніту показало найбільшу чутливість визначення ступеня окисно-модифікованих білків за коефіцієнтом R/V у проксимальних відділах нефрону та в цитоплазмі гепатоцитів порівняно з інтактними тваринами.

2. За інфікованого жовчного перитоніту виявлена аналогічна закономірність по відношенню до неінфікованого патологічного процесу.

**Перспективи подальших досліджень.** Обґрунтованою є перспектива подальших розробок щодо використання можливостей форест-графіків метааналізу в з'ясуванні ефективності корекції виявлених порушень окисно-модифікованих білків за інфікованого та неінфікованого жовчного перитоніту.

#### Література

1. 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.
2. Білоокій В.В. Роль ушкодження кишечника у патогенезі розлитого жовчного перитоніту / В.В. Білоокій, Ю.С. Роговий // Шпит. хірургія. – 2004. – № 4. – С. 121-124.
3. 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.
4. Місцевий імунітет травного тракту [Стасенко А.А., Саєнко В.Ф., Діброва Ю.А. та ін.]. – К.: Три крапки, 2005. – 200 с.
5. Патент 13712 Україна, МПК 7:А 61 В 10/00. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у структурах плаценти / Шендерюк О.П., Давиденко І.С.; заявник: БДМУ. – № u200509673; заявл. 14.10.2005; опубл. 17.04.2006., Бюл. «Пром. власність», № 4.
6. Патент 97060 Україна, МПК (2015.01), А61В 17/00 Спосіб моделювання жовчного перитоніту / О.В. Білоокій, Ф.В. Гринчук, Ю.С. Роговий, В.В. Білоокій. – №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 / О.В. Білоокій, Ф.В. Гринчук, Ю.С. Роговий, В.В. Білоокій – №u201410759. Заявл. 02.10.2014 р. Чинний з 25.03.2015. Заявник і власник патенту: Буковинський державний медичний університет. – Бюл. № 6.
8. Перитоніт як ускладнення гострого холециститу / Б.О. Мільков, О.Л. Кухарчук, А.В. Бочаров, В.В. Білоокій. – Чернівці, 2000. – 175 с.
9. Нечитайло М.Ю. Жовчний перитоніт: патофізіологія і лікування / М.Ю. Нечитайло, В.В. Білоокій, Ю.С. Роговий. – Чернівці: БДМУ, 2011. – 296 с.
10. Шендерюк О.П. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у структурах плаценти / О.П. Шен-

- дерюк, І.С. Давиденко // Клін. анат. та операт. хірургія. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 101.
11. Синельник Т.Б. Жовчні кислоти в процесах утворення каналцевої жовчі/ Т.Б. Синельник, О.Д. Синельник, В.К. Рибальченко // Фізіол. ж. – 2003. – Т. 49, № 6. – С. 80-93.
12. Mc Carthy J. Bile peritonitis: Diagnosis and course / J. Mc Carthy, J. Picazo // J. of Surgery. – 2003. – Vol. 116, № 664. – P. 341-348.

### МЕТААНАЛИЗ ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В ПОЧКАХ И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ НЕИНФИЦИРОВАННОМ И ИНФИЦИРОВАННОМ ЖЕЛЧНОМ ПЕРИТОНИТЕ

*А.В. Белокий, Ю.Є. Роговий, В.В. Белокий*

**Резюме.** Использование форест-графики метаанализа в опытах на 76 белых нелинейных крысах – самцах при неинфицированном и инфицированном желчном перитоните показало наибольшую чувствительность определения окислительно-модифицированных белков в почках и печени крыс по коэффициенту R/B в проксимальных отделах нефрона и в цитоплазме гепатоцитов в сравнение с интактными животными. При инфицированном желчном перитоните показана аналогичная закономерность в сравнение с неинфицированным патологическим процессом.

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

### META-ANALYSIS OF OXIDATIVE MODIFIED PROTEINS IN THE KIDNEYS AND LIVER OF RATS IN UNINFECTED AND INFECTED BILE PERITONITIS

*O.V. Bilookyi, Yu.Ye. Rohovyi, V.V. Bilookyi*

**Abstract.** Using forest graphic of meta-analysis in experiments on 76 white non-linear male rats in uninfected and infected bile peritonitis showed the greatest sensitivity of oxidatively modified proteins in the kidney and liver of rats by the coefficient R/B in the proximal nephron and in the cytoplasm of hepatocytes in comparison to intact animals. In infected bile peritonitis similar pattern in comparison with uninfected pathological process is indicated.

**Key words:** oxidatively modified proteins, R/B coefficient, uninfected and infected of the bile peritonitis, meta-analysis.

Higher State Educational Institution of Ukraine  
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi)

Рецензент – проф. А.Г. Іфтодій

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 1 (77). – P. 8-11

Надійшла до редакції 25.11.2015 року