

Лепехова Светлана Александровна, д.б.н.,
Иркутский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук, Иркутск

Андаева Татьяна Михайловна, к.м.н.,
Центр нуклеарной диагностики ГУЗ Иркутской
областной клинической больницы, Иркутск

Иноземцев Павел Олегович, к.фарм.н.,
Иркутский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук, Иркутск

Григорьев Георгий Евгеньевич, к.вет.н.,
Иркутский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук, Иркутск

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЧЕННОЙ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ В РАДИОНУКЛИДНОМ ИССЛЕДОВАНИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ

Аннотация: в работе оценена возможность использования меченной кишечной палочки для исследования бактериальной транслокации методом сцинтиграфии на фоне аспленизации.

Ключевые слова: кишечная палочка, бактериальная транслокация, сцинтиграфия, аспленизация

Трансляционные исследования утраченных функций органов, разработка патогенетически обоснованных способов коррекции на основе биомедицинских технологий, изучение молекулярных механизмов воздействия на отдельные органы и системы невозможно без современных методов, включая методы ядерной медицины. Повышение восприимчивости к возбудителям инфекционных заболеваний, увеличение частоты гнойно-воспалительных осложнений в раннем послеоперационном периоде [1,2], расстройства иммунной системы и снижение антибластической резистентности, возникающие после аспленизации [3;4], составляют междисциплинарную проблему. Для современной медицины становится все более естественным объединение нескольких дисциплин в единую систему с новыми синергетическими возможностями.

Ранние постспленэктомические осложнения развиваются в сроки до 8 недель после операции, преобладают легочно-плевральные осложнения [5,6], реже раневые и внутрибрюшинные гнойно-воспалительные процессы [7].

Летальный исход при возникновении тяжелых осложнений спленэктомии достигает 16-30% [8], включая молниеносный сепсис с летальностью до 50—70% [9].

Известно, что спленэктомия ухудшает регенерацию печени у животных с острым токсическим повреждением печени [10].

Регуляторное воздействие на клетки печени может объясняться особенностью кровоснабжения. Это согласуется также с известными данными о продукции фактора роста гепатоцитов стромальными клетками селезенки [11].

Описано митогенное действие на гепатоциты селезеночно-производного фактора роста (SDGF-3) [12].

Для изучения механизмов патогенеза повреждения органов мы предлагаем использовать междисциплинарный подход, включая методы ядерной медицины.

Целью нашей работы была оценка возможности использования меченной кишечной палочки для исследования бактериальной транслокации методом сцинтиграфии.



Материалы и методы

Исследование выполнено в отделе медико-биологических исследований и технологий ИИЦ СО РАН. Эксперимент проводили на 48 крысах-самцах породы «Вистар», массой тела 200-250г в возрасте 6 месяцев. Отправной точкой эксперимента была полная аспленизация экспериментальных животных. Все оперативные вмешательства проведены в стерильных условиях, под общим обезболиванием. В качестве шовного материала использовался атравматический шовный материал викрил 4/0. После выполнения срединной лапаротомии в операционную рану выводили селезенку, проводили ревизию брюшинной полости для выявления добавочных селезенок, которые иссекали после перевязки. Спленэктомию выполняли после перевязки сегментарных и коротких желудочных сосудов. При удалении селезенки особое внимание уделяли сохранности капсулы для профилактики послеоперационного внутрибрюшинного спленоза. Исследование бактериальной транслокации из просвета тонкой кишки выполняли методом сцинтиграфии (в динамическом и статическом режимах) с применением бактериального радиопрепарата - меченных ^{99m}Tc бактерий *E. coli*, приготовленного по оригинальной методике у здоровых животных и на 6 сутки после аспленизации [13]. Для введения бактериального радиопрепарата животным устанавливали полихлорвиниловый катетер в просвет тонкой кишки. По катетеру вводили 1 мл бактериального радиопрепарата активностью 7,4-9,0 МВq и содержанием меченых бактерий 10^7 КОЕ, после чего выполняли динамическую сцинтиграфию в течение 4 часов. Исследование завершали проведением статической сцинтиграфии в течение 15 мин. Динамическую гамма-сцинтиграфию проводили на гамма-камере MULTISPECT-II (Siemens, Германия) с компьютерной системой обработки данных ICON 6.0. Регистрацию сцинтиграмм проводили в динамическом режиме при следующих параметрах сбора информации: 360 кадров, 1 кадр – 60 с, матрикс 64×64 . Исследование проводили в прямой проекции, устанавливая детектор гамма-камеры так, чтобы экспериментальное животное полностью попадало в поле детекции аппарата.

Результаты:

В результате проведенного исследования нами была предложена технология получения бактериального радиопрепарата - меченных ^{99m}Tc бактерий *E. Coli*, отвечающая условиям применения методов ядерной медицины для изучения процессов бактериальной транслокации при моделировании воспалительных процессов на мелких лабораторных животных.

Для выявления механизмов патогенеза повреждения органов, было проведено исследование с применением разработанного нами метода динамической гамма-сцинтиграфии с использованием меченой кишечной палочки. Проведены исследования с использованием аспленизированных животных на 6-е сутки после операции (рисунок 1).

В экспериментальных исследованиях проведенных на здоровых животных-крысах, было установлено, что в норме бактериальная транслокация кишечной палочки в портальную систему отсутствует. При бактериологическом исследовании ни в одном из наблюдений роста бактерий в ткани печени, селезенки, почек, легких, сердца, брыжейки, диафрагмы, портальной и системной крови, моче и выпоте не обнаружено.

Методом статической гамма-сцинтиграфии было установлено, что аспленизация способствует бактериальной транслокации (накопление меченных бактерий в области печени), полученные результаты свидетельствуют о поражении печени, источником которого является бактериальная транслокация.



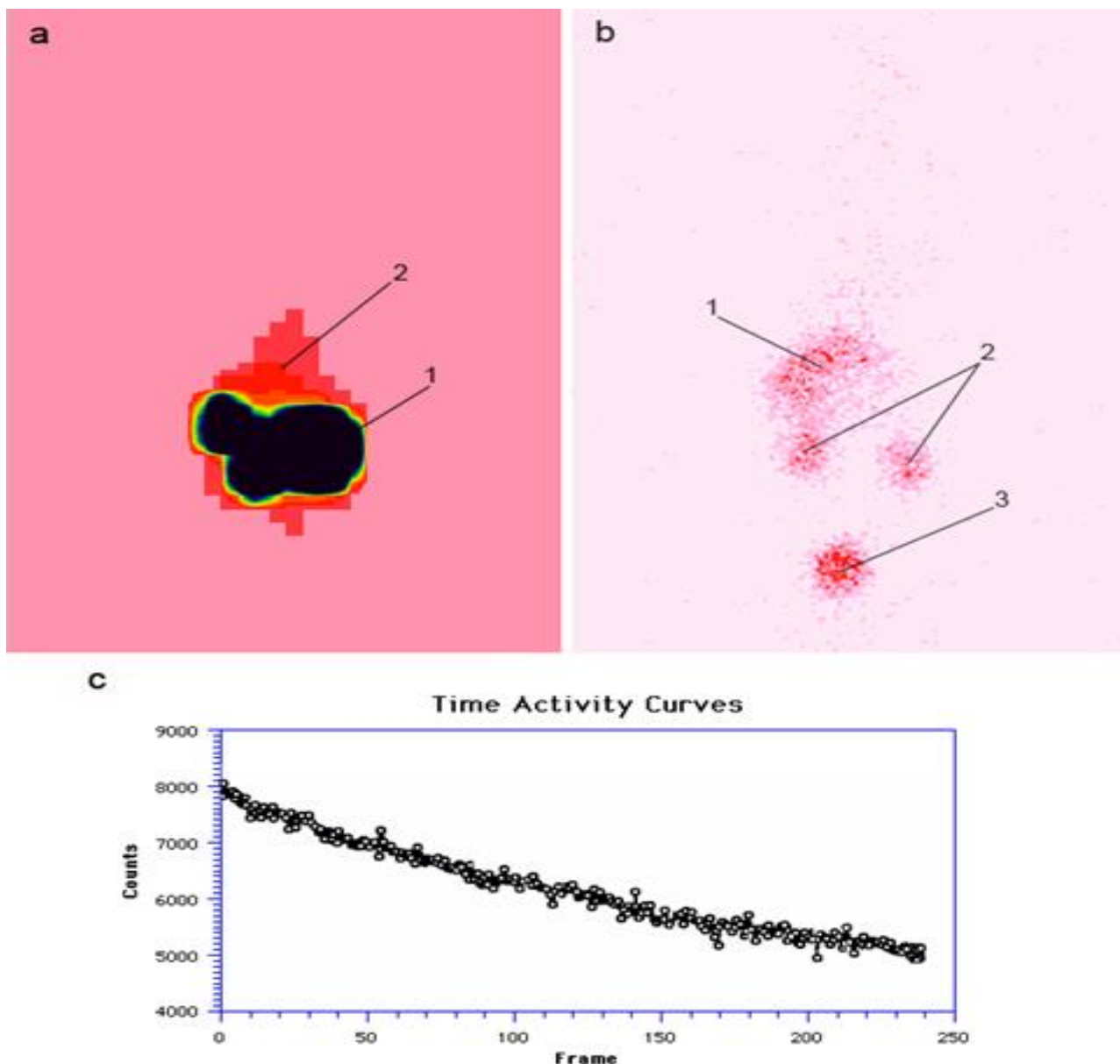


Рис.1. Радионуклидное исследование бактериальной транслокации меченой кишечной палочки у крыс на 6-е сутки после спленэктомии методом бактериальной сцинтиграфии. а – суммационная сцинтиграмма за 4 часа динамического исследования с указанными областями интереса: 1 – кишечник (место введения бактериального радио-препарата); 2 – печень. б – статическая сцинтиграмма после эвтаназии животного и экстирпации кишечника: 1 – печень, 2 – почки, 3 – мочевого пузыря. с – кривая «активность-время» с области кишечника: снижение количества импульсов происходит не только за счет убывания активности радионуклида технеция-99m вследствие радиоактивного распада, но и за счет поступления меченых бактерий за пределы кишечной трубки.

Выявлено поступление меченных бактерий с накоплением активности в проекции печени у аспленизированного животного. При бактериологическом исследовании в печени выявлен рост *E. Coli* - 10^3 КОЕ/г.

Таким образом, оценка бактериальной транслокации меченой кишечной палочки методом сцинтиграфии выявила, что технология маркировки бактерии данным способ позволяет делать это эффективно и дает возможность использовать в исследованиях на моделях, так при моделировании аспленизации развивается повреждение печени, патогенез связан с бактериальной транслокацией микрофлоры в систему воротной вены, что подтверждено использованием новой технологии мечения кишечной палочки.



Список литературы:

1. Jugenburg M., Haddock G., Freedman M.H. The morbidity and mortality of pediatric splenectomy: does prophylaxis make a difference // *J. Pediatr. Surg.* - 1999.- Vol.34, №7.- P. 1064-1067.,
2. Ejstrup P., Kristensen B., Hansen J.B. et al. Risk and patterns of bacteraemia after splenectomy: a population-based study // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2000. – Vol.32, №5. – P.521-525.
3. Павлова И.Е. Динамика показателей клеточного и гуморального иммунитета у пациентов, перенесших спленэктомию, в отдаленном послеоперационном периоде / Павлова И.Е., Бубнова Л.Н. // *Медлайн-экспресс* – 2007. – №3-4. – С. 26-31.
4. Апарцин К.А., Лепехова С.А., Галеев Ю.М., Прокопьев М.В., Григорьев С.Е. Механизмы развития постспленэктомических расстройств гомеостаза //В книге: Неоперативное лечение повреждений селезенки в детском возрасте Saarbrucken, 2015. С. 56-66.
5. Органосохраняющая хирургия селезенки/ Е.Г. Григорьев, К.А. Апарцин, Н.С. Матинян и др.; Под ред. Е.Г. Григорьева, К.А. Апарцина .- Новосибирск: Наука, 2001.- 400с.
6. Neumann UP, Langrehr JM, Kaisers U. Simultaneous splenectomy increases risk for opportunistic pneumonia in patients after liver transplantation. *Transp Int.* 2002 May;15(5):226-32.
7. Wilkes A., Wills V., Smith S. Patient knowledge of the risks of post-splenectomy sepsis. *ANZ J Surg.* 2008 Oct;78(10):867-70.
8. Peters T.G., Andrews C.P. Postsplenectomy complications // *Amer. Surg.* – 1985. – Vol. 51, № 8. – P. 437-441.
9. Kyaw MH., Holmes EM., Toolis F. Evaluation of severe infection and survival after splenectomy *Am J Med.* 2006 Mar;119(3):276.e1-7.
10. Piecuch J., Orkisz W., Gabriel A. et al. Liver regeneration following portal blood arterialization and splenectomy in acute hepatic failure. / *Hepatogastroenterology.* 2007 Jul-Aug;54(77):1546-50.
11. Miao L.H., Jan Y.W., Shen B.J. et al. Identification of a novel variant hepatocyte growth factor secreted by spleen-derived stromal cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 1996.- №223(3).- P.487-491.
12. Suzuki M., Itoh T., Osada H. et al. Spleen-derived growth factor, SDGF-3, is identified as keratinocyte growth factor (KGF). // *FEBS Lett.*- 1993.- №328(1-2).- P.17-20.
13. Способ радионуклидной маркировки бактерий кишечной палочки для сцинтиграфических исследований: Пат. 2290643 Рос. Федерация: МПК7 G 01 N 33/60; G 12 N 1/20 / О.В. Салато, Ю.М. Галеев, М.В. Попов, Е.В. Коваль, С.А. Лепехова, Т.В. Фадеева (Рос. Федерация). Заявлено 12.07.05; Оpubл. 27.12.06, Бюл. № 36.

