

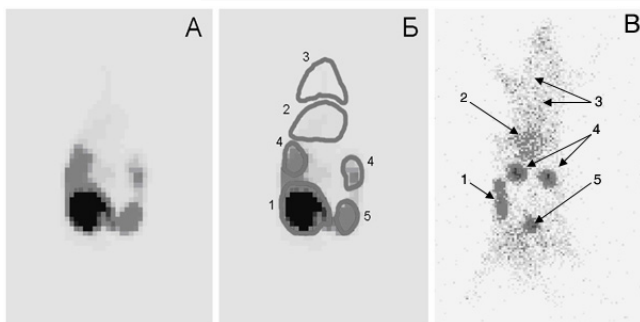


Рис. 2. Результаты исследования бактериальной транслокации из ущемленного отдела тонкой кишки при странгуляционной непроходимости кишечника методом динамической и статической сцинтиграфии. А – Динамическая сцинтиграфия. Суммационная сцинтиграмма за 4 часа исследования: регистрируется экстраинтестинальное распространение меченых бактерий. Б - Динамическая сцинтиграфия. Суммационная сцинтиграмма за 4 часа исследования с обозначенными зонами интереса: 1 – кишечник (место введения БРП); 2 – печень; 3 – мягкие ткани; 4 – почки; 5 – мочевого пузыря. В – Статическая сцинтиграфия после экстирпации кишечника: 1 – парietальная брюшина (место прилегания ущемленного сегмента тонкой кишки с введенным БРП); 2 – печень; 3 – мягкие ткани; 4 – почки; 5 – мочевого пузыря.

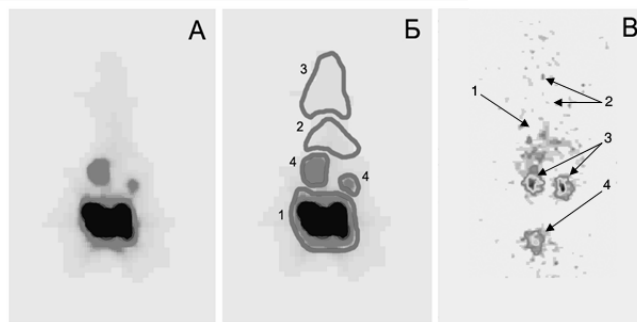


Рис. 3. Результаты исследования бактериальной транслокации из приводящего отдела тонкой кишки при странгуляционной непроходимости кишечника методом динамической и статической сцинтиграфии. А – Динамическая сцинтиграфия. Суммационная сцинтиграмма за 4 часа исследования: регистрируется экстраинтестинальное распространение меченых бактерий. Б - Динамическая сцинтиграфия. Суммационная сцинтиграмма за 4 часа исследования с обозначенными зонами интереса: 1 – кишечник (место введения БРП); 2 – печень; 3 – мягкие ткани; 4 – почки. В – Статическая сцинтиграфия после экстирпации кишечника: 1 – печень; 2 – мягкие ткани; 3 – почки; 4 – мочевого пузыря.

Заключение. Сцинтиграфия с мечеными ^{99m}Tc бактериями *E. coli* позволяет визуализировать процесс бактериальной транслокации и исследовать закономерности течения бактериемии при острой хирургической патологии живота. В ходе проведенного исследования установлено:

- в норме БТ из полости тонкой кишки не происходит;

- при СНК вследствие БТ условно патогенной микрофлоры из просвета тонкой кишки развивается системная бактериемия;

- приоритетным источником развития системной бактериемии при СНК является микрофлора ущемленного отдела тонкой кишки.

O.V.Salato, Yu.M.Galeev, M.V.Popov, K.A.Aparcin, E.V.Koval, S.A.Lepekhova
SCINTIGRAPHY WITH TECHNETIUM 99m LABELLED *E. COLI* IN EXPERIMENTAL RESEARCH OF BACTERIEMIA AT INTESTINAL OBSTRUCTION AND ISCHEMIA
Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery
Irkutsk, Russia

This article described new information technology in medicine – scintigraphy assessment of bacteriemia at intestinal obstruction and ischemia in experiment. Laws of current bacteriemia are investigated at intestinal obstruction and ischemia.

Key words: bacterial radiopreparation, scintigraphy, bacteriemia, intestinal obstruction and ischemia.

© Т.Ю.Салина, М.А.Владимирский, Т.И.Морозова, 2006.

Т.Ю.Салина, М.А.Владимирский, *Т.И.Морозова ИНДУЦИРОВАННАЯ АНТИГЕНАМИ (H37Rv и ESAT-6) ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНА ГАММА В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

*Саратовский государственный медицинский университет,
 НИИ фтизиопульмонологии ММА им. И.М.Сеченова**
Саратов, Россия

Аннотация

Изучалась спонтанная и индуцированная антигенами (H37Rv и ESAT-6) продукция ИФН- γ в супернатантах 48 часовых культур цельной периферической крови больных туберкулезом ($n=36$). Установлено значительное снижение индуцированной продукции ИФН- γ у больных с тяжелым прогрессирующим течением туберкулезного процесса (группа 2) в ответ на H37Rv $10,9 \pm 3,8$ пг/мл и ESAT-6 $24,8 \pm 9,3$ пг/мл по сравнению с пациентами с благоприятным течением туберкулезного процесса (группа 1) $225,4 \pm 102$ пг/мл и $65,0 \pm 15,2$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$. Предложенный метод может быть полезным для оценки тяжести течения туберкулеза.

Ключевые слова: туберкулез, гамма интерферон, спонтанная и индуцированная продукция, цельная периферическая кровь.

E-mail: SalinaTU@rambler.ru

Интерферон гамма (ИФН- γ) продукт активированных Т-лимфоцитов (Th1) и натуральных киллерных клеток (NK), ему принадлежит критическая роль в реализации

врожденного и приобретенного иммунного ответа (Strieter R.M. et al., 2002). Многочисленными экспериментальными исследованиями (Flynn J.L. et al., 1993; Cooper A.M. et al.,

1997) было показано, что недостаточная продукция ИФН- γ ведет к неспособности организма ограничить рост и размножение внутриклеточных микобактерий и ассоциируется с выраженным тканевым некрозом и фатальным течением туберкулеза. Важная роль ИФН- γ и ИЛ-12 в течении микобактериальной инфекции была установлена и у генетически дефектных детей (Rook G.A.W. et al., 2001). Традиционно проводятся исследования спонтанной и индуцированной продукции цитокинов мононуклеарными клетками крови. Однако эти исследования являются достаточно трудоемкими, требующими предварительного выделения иммунокомпетентных клеток на градиенте плотности фиколл-урографин. Кроме того, имеются литературные данные (Швыдченко И.Н. и др., 2005), указывающие на возможность дополнительной активации иммунокомпетентных клеток в процессе их выделения. В связи с этим наши исследования были направлены на изучение диагностической информативности определения спонтанной и индуцированной антигенами (H37Rv и ESAT-6) продукции ИФН- γ в супернатантах 48 часовых культур, где вместо периферических мононуклеарных клеток использовалась неразделенная гепаринизированная кровь.

Материалы и методы. Исследования проводились у 36 женщин с впервые выявленным, преимущественно инфильтративным туберкулезом легких, в возрасте от 19 до 65 лет. Пациенты были распределены на 2 группы в зависимости от тяжести течения туберкулезного процесса. Группу 1 составили 14 пациенток с ограниченным по протяженности (1-2 сегмента) туберкулезом легких и без симптомов интоксикации. Деструктивные изменения в легочной ткани, преимущественно в виде мелких полостей распада выявлялись только у 5 (35,7%) человек. Бактериовыделение – у 2-х (14,3%) пациенток. В группу 2 были включены 22 женщины с тяжелым, прогрессирующим и осложненным течением туберкулезного процесса. Выраженный интоксикационный синдром выявлен у 20 (90,9%), бронхолегочный синдром – у 22 (100%) человек. Распространенные и деструктивные процессы в легочной ткани с бактериовыделением наблюдались у всех 22 (100%) пациенток этой группы. У 8 (36,4%) человек отмечалось осложненное течение туберкулезного процесса в виде экссудативного плеврита, туберкулеза гортани, бронхов, кишечника, формирования трахеобронхиального свища, легочно-сердечной и дыхательной недостаточности. У 5 (22,7%) пациенток наступил летальный исход, обусловленный непрекращающимся прогрессированием туберкулезного процесса, несмотря на проведение комплексной этиопатогенетической терапии. В контрольную (3-ю) группу были включены 15 здоровых доноров. Определение содержания ИФН- γ проводилось в супернатантах 48-часовых культур разведенной в 10 раз гепаринизированной крови. Культивирование осуществлялось в 96 луночных культуральных планшетах в среде RPMI, содержащей 5% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМоль L-глутамин и по 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина при $t=37^{\circ}\text{C}$ в атмосфере повышенной влажности и CO_2 . Изучалась спонтанная и индуцированная продукция ИФН- γ . В качестве специфического стимулятора использовались два антигена: H37Rv в рабочей концентрации 10 мкг/мл и ESAT-6 – 15 мкг/мл. Технология получения антигена H37Rv разработана сотрудниками Российского НИИ фтизиопульмонологии. Антиген представляет собой суспензию гамма-облученной (2,5 мегарад) биомассы вирулентного штамма микобактерий туберкулеза H37Rv, обработанную с помощью ультразвукового диспергатора

мощностью 100 Вт при 22 кгц в течение 40 циклов по 1 минуте. Использовался супернатант этой биомассы после центрифугирования (18 тыс. об/мин). ESAT-6 – секретируемый пептид, с молекулярной массой 6 кДа, продуцент метаболической активности микобактерий, получен из института биологической химии им. М.М. Шемякина и Ю.Н. Овчинникова. Оценка содержания ИФН- γ в супернатантах культур проводилась методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием 2-х моноклональных антител в авидин-биотиновой системе (тест-система «гамма-Интерферон-ИФА-Бест», Новосибирск). Количественный учет результатов реакции оценивался на многоканальном иммуноферментном анализаторе марки «Линкей», при длине волны 450 нм. Концентрация ИФН- γ определялась путем построения калибровочной кривой по результатам титрования рекомбинантного ИФН- γ в качестве стандарта и выражалась в пг/мл. Рассчитывалась разность между величиной оптической плотности образца в ответ на стимулятор и уровнем спонтанной продукции (Δ H37Rv и Δ ESAT-6).

Получены статистически значимые различия по уровню спонтанной и индуцированной продукции ИФН- γ в зависимости от тяжести течения туберкулезного процесса. Нестимулированная продукция ИФН- γ в группе 1 составила $52,7 \pm 7,5$ пг/мл против $93,2 \pm 15,1$ пг/мл в группе 2, $p < 0,05$, и в группе 2 она была достоверно выше, чем у здоровых $43,1 \pm 9,8$ пг/мл, $p_{1-2} < 0,05$. Установлено значительное угнетение индуцированной продукции ИФН- γ в ответ на стимуляцию антигенами у тяжелых больных. Среднее значение Δ H37Rv в группе 2 составило $10,9 \pm 3,8$ пг/мл против $225,4 \pm 102,0$ пг/мл в группе 1, $p < 0,05$. У 13 из 22 (59,1%) пациенток группы 2 ответ иммунокомпетентных клеток на антиген H37Rv отсутствовал, в то время как в группе 1 таких пациентов было только 2 (14,3%) человека. Аналогичные изменения в сторону угнетения индуцированной продукции ИФН- γ получены и при стимуляции антигеном ESAT-6, среднее значение Δ ESAT-6 составило $24,8 \pm 9,3$ пг/мл в группе 2 против $65,0 \pm 15,2$ пг/мл в группе 1, $p < 0,05$. Нулевые значения прироста индуцированной продукции относительно спонтанной в группе 2 установлены у 12 (54,5%) человек и только в 3-х (21,4%) случаях у пациентов 1-й группы. У здоровых туберкулин-положительных лиц колебания индуцированной продукции ИФН- γ в ответ на оба антигена наблюдались в диапазоне от 0 до 60 пг/мл. Среднее значение Δ H37Rv у здоровых составило $15,0 \pm 5,8$ пг/мл, Δ ESAT-6 $15,0 \pm 5,3$ пг/мл.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных тяжелым, осложненным и неблагоприятно протекающим туберкулезом наблюдается повышение спонтанной и угнетение индуцированной специфическими антигенами продукции ИФН- γ в цельной гепаринизированной крови. Повышение спонтанной продукции ИФН- γ у больных туберкулезом, вероятно, является следствием «преактивации» иммунокомпетентных клеток в живом организме и определяет в большей степени интерферогенную активность самого возбудителя. В то время, как угнетение индуцированной продукции ИФН- γ у тяжелых больных, возможно, связано с повреждением иммунокомпетентных клеток или их функциональным истощением, и может быть является одной из причин тяжелого течения туберкулеза. Метод определения индуцированной специфическими антигенами продукции ИФН- γ в цельной гепаринизированной крови может оказаться полезным для оценки функциональной способности иммунокомпетентных клеток у больных туберкулезом.

T.Yu.Salina, M.A.Vladimirsky, * T.I.Morozova

INDUCED WITH ANTIGENS H37Rv AND ESAT-6 PRODUCTION INTERFERON- γ WHOLE BLOOD OF THE PATIENTS PULMONARY TUBERCULOSIS

Medical university, Saratov, Research institute of Phthisiopulmonology, Sechenows Moscow Medical Academy Russia

We studied the spontaneous and induced H37Rv and ESAT-6 production IFN- γ in supernatants 48 hours cultures whole blood of the patients with active pulmonary tuberculosis (n=36). It was found decreasing induced production IFN- γ of the patients with high-gravity progressing flow of tuberculosis (group 2) in response to H37Rv $10,9 \pm 3,8$ pg/ml and ESAT-6 $24,8 \pm 9,3$ pg/ml against $225,4 \pm 102,0$ pg/ml and $65,0 \pm 15,0$ pg/ml accordingly ($p < 0,05$) for the patients (group 1) with favourable flow of tuberculosis process. Thus, offer method can be useful for appraisalment gravity course tuberculosis.

The Third International Scientific Teleconference: New Technology in Medicine - 2006