

## Процесс бактериальной транслокации в условиях индуцированного в эксперименте синдрома длительного раздавливания (Сообщение 2)

К.Т. Саакян

*НИЦ и кафедра гистологии ЕрГМУ им. М. Гераци*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

**Ключевые слова:** синдром длительного раздавливания, бактериальная транслокация, персистенция микроорганизмов

В настоящее время желудочно-кишечный тракт рассматривается в качестве одной из экониш персистенции резидентных грам-негативных и грампозитивных микроорганизмов. В результате длительного "сосуществования" микро- и макроорганизма в эконишах хозяина задействованы многочисленные ассоциативные связи между широкой группой сапрофитов, условно-патогенными аэробными и анаэробными микроорганизмами, благодаря чему в условиях нормальной деятельности организма обеспечивается региональный бактериальный гомеостаз.

Первые сведения о бактериальной транслокации появились еще в 90-х годах прошлого столетия. Под бактериальной транслокацией подразумевается миграция резидентных микроорганизмов из экониш желудочно-кишечного тракта в кровь и во внутренние органы макроорганизма. Установлено, что процесс транслокации задействован при самых различных по происхождению экстремальных ситуациях – острых и хронических стрессах, травмах, ожогах, геморрагическом шоке, кишечной непроходимости, механической желтухе, остром панкреатите, токсическом гепатите, синдроме полиорганной недостаточности [1–5].

Следует обратить внимание на то обстоятельство, что процессы бактериальной транслокации в известной степени наделены видоспецифичностью. Многочисленными исследованиями преимущественно экспериментальной направленности было установлено, что не все микробы способны к транслокации. Из многокомпонентных представителей ассоциированной микрофлоры кишечника наиболее часто транслоцируются кишечная палочка, протей, энтеробактерии [6, 7], реже – грам-положительные аэробы. Очень низок уровень транслокации облигатных анаэробов [8].

Следует особо отметить, что многие механизмы, лежащие в основе бактериальной транслокации, были исследованы в условиях эксперимента, поскольку подобный методологический подход позволяет изучить динамику и особенности процессов колонизации и

реколонизации в новых эконишах хозяина [2, 9–11].

Считается установленным, что процессы колонизации и реколонизации внутренних органов во многом зависят от таксономических свойств самих персистирующих микроорганизмов (резистентность, бактерицидная, комплементарная, лизоцимная и антиинтерфероновая активность в сыворотке). С другой стороны, нейтрализации и элиминации микроорганизмов способствуют также местные защитные факторы (в первую очередь, в процессе формирования региональной специфической и неспецифической иммунологической резистентности) в конкретных органах и системах.

Именно поэтому в одних органах и системах процессы персистенции носят кратковременный транзитный характер, в других имеет место их длительная персистенция; прослеживаются также процессы их вторичного обсеменения – реколонизации.

Следует особо отметить, что процессы транслокации не служили предметом специального исследования при таком остром стрессорном состоянии, каковым является синдром длительного раздавливания (СДР). Правда, многими авторами описывается процесс бактериемии, особенно на ранних этапах течения СДР, однако этот процесс связывается лишь с декомпрессией, в результате которой в кровь попадают микроорганизмы исключительно из дистальных отделов девитализированных тканей. Целесообразность и необходимость изучения феномена кишечной транслокации при СДР продиктованы следующим обстоятельством: во-первых, относительно длительная персистенция *E. Coli* в крови и в новых эконишах хозяина может рассматриваться в качестве фактора, во многом отягчающего течение эндотоксикоза; во-вторых, проведенными нами исследованиями [12, 13] было установлено, что на ранних этапах течения СДР в ряде внутренних органов (легкое, поджелудочная железа, печень) наблюдались выраженные иммунопатологические сдвиги, сопровождающиеся направленным

синтезом провоспалительных иммуноцитокінов. Именно поэтому не исключено, что в результате возможной персистенции и распада грам-негативных микроорганизмов могут возникнуть условия, обеспечивающие местный синтез цитокинов иммунокомпетентными клетками. Выдвинутое нами допущение косвенно подтверждается и тем обстоятельством, согласно которому эндотоксины ряда резидентных грам-негативных микроорганизмов, включая и липополисахарид *E. Coli*, в условиях *in vitro* и *in vivo* оказывают выраженное дозозависимое стимулирующее действие на иммунокомпетентные клетки в плане избирательного синтеза ими ряда провоспалительных цитокинов.

Нами с бактериологических и бактериоскопических позиций был изучен процесс кишечной бактериальной транслокации грам-негативных микроорганизмов, а также характер и длительность их персистенции в органах-мишенях на относительно ранних этапах течения СДР.

## Материал и методы

Опыты ставились на 58 белых половозрелых мышах массой 40–50 г. Животные были подразделены на 5 групп. Контрольной группой служили интактные животные. На специальной установке мыши опытных групп подвергались сдавливанию в течение 1 часа. Площадь поражения занимала внутреннюю поверхность бедра и составляла 7 см<sup>2</sup>. На указанную площадь оказывалось давление в 280 кПа.

Животные опытных групп выводились из эксперимента через 1, 24 часа, на 7- и 14-е сутки после декомпрессии.

Бактериологические исследования проводили по общепринятой схеме с посевом содержимого тощей и подвздошной кишок, поджелудочной железы, легких, печени, крови и региональных (брыжеечных) лимфоузлов на среды Эндо и Плоскирева. Параллельно осуществляли бактериологический анализ на предмет определения в колониях роста *E. Coli*.

## Результаты и обсуждение

Бактериологическими и бактериоскопическими исследованиями было установлено, что однократная экспозиция задней конечности мышей провоцировала процесс транслокации резидентной грам-отрицательной микрофлоры из экониш дистальных отделов желудочно-кишечного тракта (тощая и подвздошная кишки) во внутреннюю среду макроорганизма. В пользу данного обстоятельства свидетельствуют положительные результаты при высевании грам-негативных микроорганизмов, включая и *E. Coli*, из тканей региональных брыжеечных лимфатических

узлов, крови и ряда паренхиматозных органов.

Уже на ранних этапах течения СДР (через 1 час после декомпрессии) весьма четко прослеживается "ретроградная" транслокация грам-негативных микроорганизмов в пределах самого желудочно-кишечного тракта. Так, возрастала степень бактериальной обсемененности в тощей кишке – 10<sup>8</sup> КОЕ на фоне понижения числа колоний в подвздошной кишке – 10<sup>7</sup> КОЕ. Следует отметить, что грам-негативная микрофлора в указанный период наблюдения начинала высеиваться из поджелудочной железы (10<sup>4</sup> КОЕ), в то время как посев у мышей контрольной группы оказался стерильным. Грам-отрицательная микрофлора с наличием *E. Coli* начинала высеиваться также из крови – 10<sup>3</sup> КОЕ.

Полученные на сравнительно ранних этапах течения СДР данные бактериологического исследования, правда, косвенно, свидетельствуют о том, что в качестве возможного источника повышенного обсеменения поджелудочной железы выступали бактериальные экониши дистальных отделов желудочно-кишечного тракта.

Через 24 часа после декомпрессии в изучаемых органах желудочно-кишечного тракта наблюдалась следующая картина. В толстом кишечнике число колоний продолжало понижаться (10<sup>5</sup> КОЕ). В тонком кишечнике число колоний резко понижалось (10<sup>3</sup> КОЕ) даже по сравнению с контрольными показателями (5×10<sup>7</sup> КОЕ).

Как показали результаты бактериоскопического исследования подвздошной, тощей кишок, из общего числа обнаруженных в мазках грам-негативных микроорганизмов *E. Coli* удалось идентифицировать в 8–10% случаев. Следует особо отметить, что в этот период течения СДР поджелудочная железа продолжала служить источником колонизации транслоцируемой из тонких и толстых кишок микрофлоры. При этом общее число колоний практически не отличалось от содержания колоний в поджелудочной железе мышей предыдущей опытной группы. Однако при бактериоскопическом исследовании среди грам-негативных микроорганизмов *E. Coli* начинала обнаруживаться гораздо чаще – в 20% из общего числа микробных клеток. На 7-е сутки наблюдения происходила дальнейшая "колонизация" поджелудочной железы грам-негативными микроорганизмами (10<sup>5</sup> КОЕ), одну треть которых составляли *E. Coli*.

В подвздошной кишке прослеживалась тенденция, направленная в сторону нормализации бактериальной картины (10<sup>8</sup> КОЕ). Аналогичная тенденция наблюдалась в тощей кишке (10<sup>6</sup> КОЕ). Весьма низкие показатели числа колоний (10<sup>3</sup> КОЕ), представленных грам-негативными микроорганизмами, были зарегистрированы при посеве поджелудочной железы. На 14-е сутки наблюдения бактериальная картина (речь идет лишь о резидентных грам-негативных микроорганиз-

ма, которые обнаруживаются в эконизах кон-  
кретных отделов желудочно-кишечного тракта) нор-  
мализовалась: в тощей кишке  $5 \times 10^7$  КОЕ, в под-  
вздошной  $10^9$  КОЕ.

В поджелудочной железе степень бактериальной  
обсемененности заметно понижалась ( $10^2$  КОЕ), при  
этом высеваемая грам-негативная микрофлора при ее  
последующем бактериологическом анализе была  
представлена исключительно в виде монокультуры —  
E.Coli.

Как показали результаты бактериологического  
анализа, процесс бактериальной транслокации на ран-  
них этапах течения СДР сопровождался также коло-  
низацией печени и легких грам-негативной микрофло-  
рой, среди которой в 15–20% случаев была идентифи-  
цирована E.Coli. Через час после декомпрессии в лег-  
ких и в печени определялись лишь единичные точеч-  
ные колонии.

Через 24 часа из легких "интенсивно" высевалась  
грам-негативная микрофлора ( $10^5$  КОЕ). В последую-  
щий период наблюдения весьма четко прослежива-  
лась тенденция, направленная в сторону понижения  
обсемененности бронхолегочной ткани ( $10^3$  КОЕ), а  
на 7-е сутки, как и через час после декомпрессии, на  
питательных средах обнаруживались лишь единичные  
точечные колонии.

В отличие от легких колонизация печени грам-  
негативными микроорганизмами происходила лишь  
через 24 часа после декомпрессии ( $10^3$  КОЕ). В после-  
дующий период наблюдения (на 7- и 14-е сутки после

декомпрессии) высевались лишь единичные точечные  
колонии.

Следует особо отметить, что в региональных  
(брыжеечных) лимфоузлах на всех этапах течения  
СДР наблюдалась картина, аналогичная таковой при  
бактериологическом и бактериоскопическом анализе  
бронхолегочной ткани.

На основании проведенных бактериологических  
исследований можно прийти к заключению, согласно  
которому установленный нами на ранних этапах тече-  
ния СДР процесс бактериальной транслокации может  
рассматриваться в качестве фактора, отягощающего  
течение интоксикации. В то же время особенности и  
характер персистенции E.Coli в конкретных органах  
могут рассматриваться в качестве местных факторов,  
стимулирующих избирательный синтез цитокинов  
иммунокомпетентными клетками. При сопоставлении  
результатов бактериологического анализа в каждом  
конкретном органе можно прийти к заключению, что  
наблюдаемый процесс транслокации кишечной мик-  
рофлоры при СДР характеризуется относительно дли-  
тельной колонизацией. Именно поэтому выявленный  
нами ранее симптомокомплекс структурных, иммун-  
ных и эндокринных сдвигов должен рассматриваться  
с учетом данного факта. Не исключено, что местная  
"иммунологическая" перестройка вышеуказанных  
органов, сопровождающаяся процессами модуляции  
медиаторной функции, во многом обусловлена перси-  
стирующим в них E.Coli.

Поступила 14.11.04

## Մանրէային փրանսլոկացիայի գործընթացը՝ փորձարարական երկարապարհի ճնշման համախտանիշի պայմաններում

Կ.Տ. Սահակյան

Հետազոտության մանրէաբանական և մանրէադի-  
տակային եղանակներով ուսումնասիրվել են գրամ-  
բացասական ռեզիզենտ միկրոօրգանիզմների ադի-  
բային մանրէային տրանսլոկացիայի գործընթացի  
ընթացում ու առանձնահատկությունները՝ փորձա-  
րարական երկարատև ճնշման համախտանիշի (ԵՃՀ)  
պայմաններում:

Կատարված մանրէաբանական հետազոտու-  
թյունների հիման վրա կարելի է հանգել այն եզրա-  
կացությանը, որի համաձայն ԵՃՀ-ի վաղ փուլերի  
ընթացքում մեր կողմից հաստատված մանրէային  
տրանսլոկացիայի գործընթացը կարող է դիտարկվել  
որպես թունավորումը (ինտոքսիկացիա) ծանրաբեռ-  
նող գործոն: Միաժամանակ որոշակի օրգաններում  
տեղի ունեցող E.Coli-ի պերսիստենցիայի առանձնա-  
հատկություններն ու բնույթը կարող են դիտարկվել  
որպես տեղային գործոններ, որոնք ինունակում-

պետենտ բջիջների կողմից ընտրողական սինթեզ  
իրականացնելու համար խթանիչներ են հանդիսա-  
նում: Յուրաքանչյուր կոնկրետ օրգանում մանրէաբա-  
նական վերլուծության արդյունքների համադրման  
պարագայում կարելի է գալ եզրահանգմանը, որ ԵՃՀ-  
ի պայմաններում դիտվող ադիբային միկրոֆլորայի  
տրանսլոկացիայի գործընթացը բնորոշվում է համե-  
մատաբար երկար կոլոնիզացիայով: Այդ իսկ պատ-  
ճառով, մեր կողմից բացահայտված կառուցված-  
քային, ինունային և ներգաղիչ շեղումների համախ-  
տանիշների համալիրը պետք է դիտարկվի հաշվի  
առնելով սույն փաստը: Բացառված չէ, որ վերոնշյալ  
օրգանների տեղային ինունաբանական վերակառու-  
ցումը, որը գուցակցում է մեղիատոր գործառնության  
մոդուլյացիայի գործընթացներով, մեծամասամբ  
պայմանավորված է նրանցում պերսիստացվող E.Coli-  
ով:

## Bacterial translocation process in conditions of experimentally induced crush-syndrome

K.T.Sahakyan

The nature and peculiarities of the process of intestine bacterial translocation of Gram-negative resident microorganisms have been investigated by means of bacteriological and bacterioscopic methods, under the conditions of experimentally induced crush-syndrome.

On the base of carried out bacteriological investigations it is suggested that the stated process of bacterial translocation at early stage of SDR can be considered as a factor aggravating intoxication process. At the same time peculiarities and nature of E.Coli persistence in definite organs can be considered as local factors stimulating cytokines selective synthesis by immunocompetent cells.

Comparison of bacteriological analysis data in each organ can result in the conclusion that observed process of intestine microflora translocation at SDR is characterized by comparatively long-time colonization. That is why the earlier revealed by us symptomocomplex of structural immune and endocrine shifts should be considered taking into account the mentioned fact. It is supposed that local "immunological" re-organization of above-mentioned organs, being accompanied by processes of mediator function modulation, in many respects might be conditioned by persisting in them E.Coli.

### Литература

1. Deitch E.A. Bacterial translocation: the influence of dietary variables. *Gut*. 1994 Jan; 35 (1 Suppl): S23-27.
2. De Souza L, Sampietre S.N., Figueiredo S., Yria Y., Machado M.C., Pinotti H.W. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med., Sax Paulo*, 1996 Jul-Aug; 51(4): 116-120.
3. Lemaire L.C., van Lanschot J.J., Stoutenbeek C.P., van Deventer S.J., Wells C.L., Gouma D.J. *Br. J. Surg.*, 1997 Oct; 84(10): 1340-1350. Review.
4. Adawi D., Molin G., Jeppsson B. *Ann. Surg.*, 1998 Dec; 228(6): 748-755.
5. Demetriades D., Smith J.S., Jacobson L.E., *J. Trauma*, 1999 Apr; 46(4): 667-676; discussion 676-677.
6. Steffen E.K., Berg R.D., Deitch E.A. *J. Infect. Dis.*, 1988 May; 157(5):1032-1038.
7. Gautreaux M.D., Deitch E.A., Berg R.D. *Infect. Immun.*, 1994 May; 62(5): 2132-2134.
8. Cruz N., Alvarez X., Berg R.D., Deitch E.A. *Shock*, 1994 Jan; 1(1): 67-72.
9. Foitzik T., Klar E., Buhr H.J., Herfarth C. *Eur. J. Surg.*, 1995 Mar; 161(3): 187-192.
10. Gianotti L., Munda R., Gennari R., Pyles R., Alexander J.W. *Eur. J. Surg.*, 1995 Feb; 161(2): 85-92.
11. Liu Q., Djuricin G., Nathan C., Gattuso P., Weinstein R.A., Prinz R.A. *J. Surg. Res.*, 1997 Apr; 69(1): 171-177.
12. Саакян К.Т. *Мед. наука Армении НАН РА*, 2002, XLII, 1, с. 28.
13. Саакян К.Т. *Мат. междунар. конф. "Роль биологически активных веществ в интегративной деятельности организма в норме и в процессе формирования адаптационного стресса"*. Ереван, 2003, с. 139.