

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВО ФТИЗИАТРИИ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

ДИРЕКТОР ФГБУ
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ
ТУБЕРКУЛЕЗА» РАМН
Владислав Всеволодович
Ерохин



До открытия в 1882 году Робертом Кохом (1843–1910) возбудителя туберкулеза, что решило проблему этиологии заболевания, выдающийся вклад в развитие учения о туберкулезе внесли такие ученые, как Р. Лаэннек, Р. Вирхов, Ж. Вильмен и др. Последний на основании своих экспериментальных исследований приходит к выводу: «Туберкулез вызывается специфическим вирусом и может быть вызван только этим вирусом и никаким другим».

В России первым научным трудом о легочной чахотке стала книга профессора Московского университета Г.И. Сокольского (1807–1886) «Учение о грудных болезнях», изданная в 1838 году. Автор различал три основные анатомические формы легочной чахотки: диссеминированная, инфильтративная и кавернозная. Этот труд служил руководством для многих поколений российских врачей, и фактически Г.И. Сокольский является основоположником российской фтизиатрии.

Велика роль в изучении туберкулеза выдающегося хирурга и ученого-патолога Н.И. Пирогова, впервые в 1842–1848 годах описавшего «военный туберкулез» и «туберкулез у солдат». В 1852 году Н.И. Пирогов опубликовал «Анатомо-патологические лекции», в которых не только подробно описал гистологическое строение туберкулезного бугорка, но и впервые выделил присутствие в нем крупных многоядерных клеток. Позднее, в 1868 году многоядерные клетки были описаны швейцарским ученым Т. Лангхансом. В России эти

клетки называют многоядерными гигантскими клетками Пирогова-Лангханса.

В 1883 году, вскоре после открытия бацилл Коха, И.И. Мечников сформулировал фагоцитарную теорию противотуберкулезного иммунитета, в которой ключевая роль принадлежит взаимодействию макрофагов и микобактерий туберкулеза.

В 1903 году выдающийся российский ученый-патолог А.И. Абрикосов первым описал начальные морфологические реакции при туберкулезном воспалении, начинающиеся на уровне терминальной бронхиолы с формированием небольшого пневмонического очага, названного впоследствии его именем – «очаг Абрикосова».

В дальнейшем исследования патогенеза и патологической анатомии туберкулеза получили развитие в трудах многих отечественных ученых-патологов (Штефко В.Г., Струкова А.И., Пузик В.И., Налётова Н.А., Чистовича А.Н. и др.). Всесторонне исследованы формы и фазы туберкулезного воспаления, особенности тканевых реакций в зависимости от вирулентности возбудителя и состояния макроорганизма.

С открытием и созданием первых противотуберкулезных препаратов (ППП) начались исследования механизмов их действия как на возбудитель туберкулеза, так и на туберкулезное воспаление, были разработаны эффективные режимы химиотерапии, позволившие повысить эффективность лечения и резко изменить ситуацию по туберкулезу в стране; стало возможным интенсивное развитие хирургических методов лечения туберкулеза.

Особое значение имели труды А.Г. Хоменко и его учеников, направленные на разработку новых схем химиотерапии туберкулеза с учетом состояния микобактериальной популяции, механизма действия препаратов на возбудитель туберкулеза и реакций макроорганизма.

Новые научные направления в клинике туберкулеза, рассматривающие взаимосвязь между течением заболевания, иммунным состоянием организма, особенностью тканевых и клеточных реакций, способствовали развитию фундаментальных исследований в области бак-

териологии, иммунологии, иммуногенетики и патоморфологии. Этому содействовали новые технологии и методы исследования, позволившие получить новые знания о возбудителе (ультраструктура, явление L-трансформации), патогенезе, межклеточных взаимодействиях и роли в этом процессе различных цитокинов, гистогенезе туберкулезной гранулемы, клеточной и субклеточной морфологии туберкулезного воспаления.

Доказано, в том числе и нашими исследованиями, что сурфактантная система легких включает в себя три основных компонента:

- альвеолоциты II типа, синтезирующие и секретирующие на поверхность альвеол фосфолипиды, белки и углеводы сурфактанта;
- внеклеточный сурфактант, обеспечивающий стабильное функционирование альвеол;
- альвеолярные макрофаги, принимающие участие в фагоцитозе и переработке отработанного сурфактанта и защите альвеол от повреждающих агентов.

Дефицит сурфактанта ведет к спадению альвеол, формированию дисфункции ателектазов, и как следствие, к развитию дыхательной недостаточности. Ярким примером значения сурфактанта в механике дыхания служит развитие респираторного дистресс-синдрома у недоношенных новорожденных вследствие недоразвития легких и дефицита сурфактанта.

Установлена важная роль сурфактантной системы легких в патогенезе туберкулезного воспаления, что послужило теоретической базой при разработке отечественного препарата сурфактанта и его применения в комплексном лечении туберкулеза легких. В настоящее время интересы исследователей сосредоточены на изучении белков сурфактанта (SP-A, B, C, D), выполняющих важную защитную функцию на поверхности альвеол, в том числе в фагоцитозе альвеолярными макрофагами микобактерий туберкулеза. Получены принципиально новые данные, которые важны для понимания тонких молекулярных механизмов патогенеза туберкулезного воспаления.

В формировании современных представлений о патогенезе туберкулеза большое значение имеют биохимические, иммунологические и генетические исследования. Так, изучены белковый, углеводный и липидный обмен, фармакокинетика основных и резервных противотуберкулезных препаратов, состояние систем гуморальной регуляции – простагландины, свертывающая и фибринолитическая системы крови. Установлено, что туберкулезный процесс в легких сопровождается гиперкоагуляционным сдвигом в системах гемостаза и фибринолиза, изменением уровня оксида азота, изменением метаболической функции эндотелия и фагоцитов; изучены механизмы противотуберкулезного иммунитета организма и роль различных цитокинов, хемокинов и других биологически активных молекул в его становлении и нарушениях, выделены гены, контролируемые восприимчивость к туберкулезной инфекции.

Доказано костномозговое происхождение легочных макрофагов, относящихся к единой системе мононуклеарных фагоцитов, и их значение в формировании туберкулезной гранулемы, роль в этом процессе меха-

низмов персистенции микобактерий туберкулеза в макрофагах и их влияние на созревание фагосомы и ее слияние с лизосомами, содержащими сильнодействующие гидролитические ферменты.

Последнее десятилетие XX века и начало XXI века ознаменовались стремительным развитием молекулярной биологии, появлением принципиально новых технологий и методических возможностей для проведения научных исследований. Современная медицина становится трансляционной медициной, для которой характерно быстрое внедрение результатов фундаментальной науки в клиническую практику. Примеры подобных научных исследований имеются и во фтизиатрии, на некоторых из них мы остановимся и рассмотрим их в данной работе.

Однако прежде всего следует кратко охарактеризовать сложившуюся в нашей стране эпидемическую ситуацию по туберкулезу. За последние годы она заметно улучшилась: снизились показатели заболеваемости на 19% и смертности от туберкулеза на 31%, уменьшилась его распространенность. Вместе с тем уровень основных эпидпоказателей остается достаточно высоким, особенно по заболеваемости детей, подростков и лиц молодого (18–44 года) возраста, что свидетельствует о сохраняющемся большом резервуаре туберкулезной инфекции и отражает неблагоприятную ситуацию по туберкулезу в стране.

Среди медицинских факторов, поддерживающих эпидемию туберкулеза в РФ, особое положение занимает распространение микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ МБТ) и ВИЧ-инфекции. Поэтому данные проблемы находятся в центре внимания многих исследователей.

Расшифрован геном МБТ, установлены гены, кодирующие белки, связанные с ЛУ МБТ к ряду противотуберкулезных препаратов. Получены результаты научных исследований по анализу точечных изменений (мутаций) в этих генах МБТ, выявлены участки генов с наибольшим числом мутаций, свидетельствующие об их связи с формированием устойчивости МБТ к основным и резервным противотуберкулезным препаратам.

Данные научные исследования послужили основанием для разработки молекулярно-генетических экспресс-методов определения ЛУ МБТ к препаратам и идентификации микобактерий до вида (микробиочипы, ДНК-стриповая технология, масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.).

Применение молекулярно-генетических методов выявления МБТ в патологическом материале и определение их лекарственной чувствительности позволяет в более ранние сроки назначить больному туберкулезом индивидуальный режим химиотерапии и значительно повысить эффективность лечения в более короткие сроки, что способствует предупреждению распространения туберкулезной инфекции. Вместе с тем установлено, что в процессе неадекватной химиотерапии штаммы МБТ приобретают не только МЛУ, но и спектр мутаций в геноме МБТ значительно расширяется за счет возникновения новых мутаций и их сочетаний в нескольких генах МБТ.

Следует учитывать и возможность формирования ЛУ к противотуберкулезным препаратам у клеток макро-



организма в процессе химиотерапии больного туберкулезом. В ЦНИИТ РАМН ведутся исследования по данной проблеме. Установлена не только возможность, но и условия формирования ЛУ в культуре эпителиальных клеток и мононуклеаров к одному из основных противотуберкулезных препаратов – рифампицину. По существу, формируется новое научное направление во фтизиатрии, имеющее как фундаментальное, так и практическое значение.

Расшифровка генома МБТ позволила провести сравнительный анализ генома у разных видов МБТ и обнаружить локус RD1, присутствующий у МБТ и отсутствующий в микобактериях БЦЖ и большинства нетуберкулезных микобактерий. Локус RD1 кодирует продукцию белков (антигенов) ESAT-6 и SFP-10, являющихся специфичными лишь для МБТ. В России на основании этих исследований разработан новый препарат для кожного теста на туберкулез – «Диаскинтест».

Геномика и протеомный анализ МБТ открывают хорошие перспективы для поиска в геноме МБТ новых мишеней для создания противотуберкулезных препаратов.

В области молекулярной эпидемиологии впервые изучены особенности штаммов МБТ, циркулирующих на территории РФ. Методами генотипирования и сплюгитипирования установлено преобладание штаммов кластера W-Beijing по сравнению со штаммами МБТ других кластеров. В неблагополучных по туберкулезу районах России распространение W-Beijing-штаммов доходит до 60% и выше (Черноусова Л.Н.). Установлено, что более 50% штаммов МБТ этого кластера обладают МЛУ и повышенной способностью выживать (персистировать) в макрофагах. Перспективными являются дальнейшие исследования биологических свойств МБТ W-Beijing-кластера, механизмов персистенции в макроорганизме, источников и путей трансмиссии МБТ разных генетических кластеров.

В последние годы доказана важная роль корд-фактора МБТ в патогенезе туберкулезного воспаления. Корд-фактор – гликолипид (TDM) – находится на поверхности МБТ, существует в двух формах, имеющих разную биологическую активность:

- мицеллярная форма TDM (нетоксичная) защищает МБТ внутри макрофага от разрушения через механизм ингибирования процесса слияния фагосомы, где находится МБТ, с лизосомой, содержащей сильнодействующие гидролитические ферменты;
- монослойная форма TDM формируется при взаимодействии корд-фактора МБТ с липидной поверхностью, является высокотоксичной и иммуногенной.

Большую перспективу имеют исследования взаимодействия корд-фактора МБТ и сурфактанта, выстилающего альвеолярную поверхность легких и имеющего липидную природу. Результаты этих исследований позволят не только получить знания о новом молекулярном механизме патогенеза туберкулеза, но и дополнить ответ на вопрос: почему туберкулезный процесс наиболее часто развивается в легких?

Не исключено, что при взаимодействии корд-фактора МБТ и сурфактанта происходит трансформация TDM в монослойную токсичную форму, поврежде-

ние внеклеточного сурфактанта и всей сурфактантной системы легких, скопление альвеолярных макрофагов (АМ) в просвете альвеол, фагоцитоз последними МБТ и фрагментов разрушенного сурфактанта. Скопление большого количества липидов в АМ способствует выживанию находящихся в них МБТ. Вместе с тем доказано, что функциональная активность альвеолярных макрофагов сохраняется на высоком уровне до тех пор, пока в альвеолах имеется физиологически нормальное содержание легочного сурфактанта для обеспечения механики дыхания.

На модели макрофагов, полученных из культуры моноцитов человека, а также на материале бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) больных туберкулезом легких показано, что сурфактант оказывает непосредственное действие на созревание и фагоцитарную активность макрофагов. При этом установлено, что сурфактант (препарат Сурфактант-VL) не только активирует фагоцитоз, но и стимулирует появление в цитоплазме макрофагов большего числа лизосом и фаголизосом, то есть способствует более полному завершению процесса фагоцитоза. Эти изменения следует рассматривать как начальную фазу патогенеза туберкулезного воспаления легких.

В связи с ухудшением эпидемической ситуации по туберкулезу в 1990-е годы и ростом числа случаев остро прогрессирующих форм туберкулеза легких с МЛУ возбудители изучены особенности патологической анатомии МЛУ-форм туберкулеза легких. К ним относятся:

- острое прогрессирование с преобладанием казеозно-некротического компонента воспаления;
- поражение кровеносных сосудов с выраженной экссудативной реакцией;
- инфаркты легких с вовлечением инфарцированных участков в специфическое воспаление с казеификацией и формированием пневмониогенных каверн;
- поражение бронхов (панбронхиты);
- обширные дис- и ателектазы в результате повреждения альвеолярной паренхимы и сурфактантной системы легких (ЦНИИТ РАМН, НИИ ФП МГМУ имени И.М. Сеченова, СПб НИИ ФП и др.).

Известно, что среди причин смерти больных ВИЧ-инфекцией одно из первых мест занимает туберкулез. В связи с этим возникла необходимость изучения особенностей туберкулезного воспаления у больных ВИЧ-инфекцией в стадии СПИДа. Патологоанатомические исследования аутопсийного материала позволяют выделить некоторые их особенности. Они следующие:

- преобладание альтеративно-экссудативных изменений при слабом развитии продуктивной тканевой реакции;
- отсутствие типичных туберкулезных гранулем с эпителиоидными и многоядерными гигантскими клетками Пирогова-Лангханса, незначительным количеством макрофагов и лимфоидных элементов;
- распространенное поражение кровеносных сосудов с выраженным периваскулярным отеком и клеточной инфильтрацией по типу серозно-фибринозной или фибринозно-гнойной пневмонии с преобладанием нейтрофильных лейкоцитов;



- очаги поражения имеют гнойно-некротический характер с большим содержанием МБТ, выявляемых в гистологических срезах при их окраске по Цилю – Нельсену;
- морфологические признаки указывают на имеющиеся особенности иммунного статуса и течение туберкулезного воспаления по типу реакции повышенной чувствительности немедленного типа.

В области химиотерапии туберкулеза научные исследования направлены на разработку и испытание новых противотуберкулезных лекарственных средств или их форм на основе нанотехнологий. В ЦНИИТ РАМН совместно с Всероссийским научным центром молекулярной медицины разработаны и проведены доклинические испытания нанолечебных форм ПТП (нанорифампицин, нанолевофлоксацин и наноциклосерин). Важнейшее достижение наномедицины в создании лекарственных форм заключается в получении лекарств пролонгированного действия с дозированным высвобождением активных субстанций, отличающихся высокой стабильностью. По данным доклинического исследования нанопрепараты не отличаются по токсичности и по выраженности нежелательных эффектов от «свободных» форм этих же ПТП и позволяют достичь терапевтического эффекта при тяжелой острой форме экспериментального туберкулеза.

Большинство ПТП обладает высокой активностью против МБТ *in vitro*, однако возможность подобного их действия *in vivo* является проблемой, учитывая внутриклеточную локализацию МБТ. Поэтому предпринимаются попытки объединить эти свойства в конъюгате моноклональных антител и ПТП, обладающем высокой специфичностью и биологической активностью против МБТ. Тем более положительный опыт имеется в онкологии, где конъюгация моноклональных антител с препаратом применяется при лечении опухолей.

Клинические исследования также являются основой для получения фундаментальных знаний. Так, впервые во фтизиатрии выполнены экспериментальные и клинические исследования по трансплантации аутологических ме-

зенхимальных стволовых клеток больным прогрессирующим распространенным туберкулезом легких с МЛУ МБТ. Эти исследования открывают новые возможности для применения клеточных технологий во фтизиатрии.

В стране сохраняется рост распространения туберкулеза с МЛУ и туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией, высока доля больных с хроническими формами туберкулеза, в том числе с бактериовыделением, подерживающим резервуар туберкулезной инфекции. Все это требует инновационных решений проблем, стоящих перед фтизиатрией. Научные исследования, в том числе фундаментальные, в области фтизиатрии должны быть направлены на решение данных проблем и содействовать дальнейшему повышению эффективности противотуберкулезных мероприятий в России, а также успешному выполнению совместного решения Минздрава России, РАМН и ФМБА России о разработке 12 приоритетных платформ научных исследований в области инновационного развития здравоохранения.

В данной статье освещены, в основном, лишь отдельные, на наш взгляд, наиболее важные этапы развития научных исследований в области туберкулеза. Несомненно, развитие научных исследований ведет к новым фундаментальным знаниям о туберкулезе и способствует повышению эффективности лечебно-диагностического процесса и проводимых профилактических мероприятий. Все эти успехи достигнуты трудами многих ученых, внесших неоценимый вклад в изучение биологических свойств возбудителя туберкулеза и его изменчивости, механизмов противотуберкулезного иммунитета, генетического контроля чувствительности и резистентности макроорганизма к туберкулезной инфекции.

Исследования геномики и протеомики возбудителя туберкулеза и макроорганизма являются перспективными в плане выявления генов, которые активируются или подавляются у больных туберкулезом в присутствии микобактериальных антигенов, необходимо изучать их влияние на метаболизм клеток органов и тканей и вести поиск средств для подавления размножения МБТ в организме человека.