

ПОКАЗАНИЯ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ ТУБЕРКУЛЕМ ЛЕГКИХ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

М.А. Багиров, Л.Н. Лепеха, С.С. Садовникова, М.В. Ерохина, Н.Л. Карпина, Е.В. Красникова
ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», г. Москва

NOWADAY INDICATIONS TO SURGERY FOR LUNG TUBERCULEMAS

M.A. Bagirov, L.N. Lepeha, S.S. Sadovnikova, M.V. Erokhina, N.L. Karpina, E.V. Krasnikova

Проведена сравнительная характеристика клиничко-рентгенологического и микробиологического обследования 153 больных с направительным диагнозом «туберкулема легкого» (ТЛ) до и после операции.

На операционном материале проведены морфологическое, микробиологическое и молекулярно-генетическое (ПЦР в реальном времени) исследования. Диагноз ТЛ подтвержден у 78,8% больных, у 61,4% обнаружены МБТ (в мокроте – у 29,4%), у 57,5% – МЛУ и ШЛУ возбудителя. При химиотерапии более 8 месяцев у 26 больных с ТЛ в 12,6 раз повышалась экспрессия гена MDRI, обеспечивающего синтез белка Pgp. Это свидетельствовало о формировании устойчивости клеток легкого к препаратам основного ряда, в частности, к рифампицину, который изначально получали 63,4% больных. Исследование операционного материала обеспечивает верификацию диагноза, создает условия для проведения адекватной химиотерапии.

Ключевые слова: туберкулема легкого, операционный материал, морфология, экспрессия гена MDRI

A comparative study of clinical, X-ray and microbiological examination of 153 patients with primary diagnosis of «lung tuberculema» (TL) before and after surgery was performed.

The examination of surgical material included morphological, microbiological and molecular-genetic (PCR in real time) studies. The diagnosis of TL was confirmed in 78.8% of patients, in 61.4% MBT was found (29.4% in sputum), in 57.5% – MDR and XDR was detected. Drug administration more than 8 months in 26 patients with TL led to 12.6 times rising of the expression of the MDRI gene, which is responsible for the synthesis of the Pgp protein. This indicated the formation of resistance of lung cells to drugs of the 1 st series such as rifampicin, which was initially obtained by 63.4% of patients. Examination of the surgical material ensures verification of the diagnosis, creates conditions for adequate chemotherapy.

Key words: lung tuberculema, surgical material, morphology, MDRI gene expression

Введение

Согласно данным официальной статистики, частота выявления туберкулем (ТЛ) остается достаточно высокой (до 7,5% в структуре клинических форм туберкулеза легких), а их длительная химиотерапия является одной из причин увеличения числа больных с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя [2, 7]. Вместе с тем до сих пор нет единого мнения в отношении прогнозирования и определения тактики лечения этой формы туберкулеза. Так, И.П. Жингель [6], признавая высокую эффективность хирургического лечения ТЛ, указывает на возможность в ряде случаев (11% больных) полного излечения туберкулеза с помощью одних только противотуберкулезных препаратов (ПТП). Важными показаниями к хирургическому лечению ТЛ некоторые авторы [3] считают туберкулемы малого и среднего размера (2–4 см) без наличия распада. В то же время при анализе отдаленных результатов (более семи лет наблюдений) отмечена наиболее высокая (92%) эффективность комплексного лечения больных ТЛ [2].

Подчеркивается необходимость морфологического исследования различных анатомических форм ТЛ, что в ряде случаев (слоистые, инфильтративно-пневмонические) позволяет корректировать проводимое лечение, снизить реактивацию туберкулеза в два раза [1, 3]. Из-за роста туберкулеза с лекарственной устойчивостью (ЛУ) возбудителя важное значение имеет и своевременное определение спектра чувствительности микобактерий туберкулеза (МБТ) к ПТП. Однако у больных ТЛ выявление МБТ в мокроте или в бронхоальвеолярном смыве наблюдается достаточно редко [8], ввиду чего противотуберкулезная терапия часто проводится без учета данных о лекарственной чувствительности МБТ. Кроме того, в современных условиях лечения туберкулеза необходимо учитывать и тот факт, что устойчивость к ПТП может развиваться не только на уровне возбудителя, но и в соматических клетках легкого. Показано, что специфические «белки МЛУ» располагаются на плазматической мембране различных клеточных элементов и функционируют в качестве «насосов», обеспечивающих

постоянное выведение во внешнюю среду чужеродных химических агентов [9–11]. В настоящее время установлено, что некоторые лекарственные препараты, и среди них рифампицин, являются субстратом для одного из наиболее универсальных белков МЛУ – Р-гликопротеину (Pgp) [4, 5, 12]. Он кодируется геном MDR1, уровень экспрессии которого можно определить с помощью ПЦР в реальном времени [13, 14].

Цель исследования

Изучить показания и оценить необходимость хирургического вмешательства в процессе комплексного лечения больных с туберкулемами легкого, в том числе с учетом множественной лекарственной устойчивости МБТ и/или развития МЛУ соматических клеток легкого, определяемых в операционном материале.

Материалы и методы исследования

Ретроспективно проанализированы данные клинико-рентгенологического и микробиологического (мокрота) исследований 153 больных, поступивших из противотуберкулезных диспансеров и учреждений общей лечебной сети с диагнозом «туберкулема легкого» в хирургический отдел ФГБНУ «ЦНИИТ» в 2015–2016 гг. Все больные были разделены на две группы:

- I – впервые выявленные, 30 больных (19,6%);
- II – ранее леченные, 123 больных (80,4%).

Больным I группы было выполнено полное предоперационное обследование. Для окончательной верификации диагноза этим пациентам понадобилось проведение диагностического хирургического вмешательства. У больных II группы операция носила лечебный характер. Основная часть этих больных (95 чел. – 77,2%) получали ПТП по I режиму в течение 6–18 месяцев.

В зависимости от размера и расположения очагового образования этим 153 больным были выполнены следующие хирургические вмешательства:

- 111 (72,6%) сегментарных резекций (атипичных и с анатомической обработкой корня);
- 21 (13,7%) лобэктомия;
- 21 (13,7%) комбинированная резекция.

Во всех случаях послеоперационный период протекал без осложнений, швы были сняты на 14-е сутки, больные были выписаны из стационара на $15,0 \pm 3,7$ суток после операции.

Для морфологического и микробиологического исследований из операционного материала выделяли фрагменты стенки очага и перифокальной легочной паренхимы. Часть материала фиксировали в забуференном 10% формалине, заключали в парафин обычным способом. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Цилю-Нельсену, по Ван Гизону и просматривали в световом микроскопе Leica DM4000B.

Микробиологическое исследование включало методы люминесцентной микроскопии и метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления ДНК МБТ. Выявленные ДНК в дальнейшем исследовали на наличие специфических мутаций на аппаратах GeneExpert, СИНТОЛ и Hain Lifesystems. Это позволило в кратчайшие сроки установить наличие лекарственной устойчивости к основным ПТП и назначить адекватный режим химиотерапии. Для определения лекарственной устойчивости на жидких питательных средах применяли бактериологический анализатор BACTEC™ MGIT™ 960. Кроме того, у 26 больных, леченых ПТП не менее восьми месяцев, у которых в операционном материале не были обнаружены МБТ с МЛУ, а активность ТЛ гистологически верифицирована как умеренно выраженная, определяли экспрессию гена MDR1 клеток легкого методом ПЦР в реальном времени. Тотальную РНК выделяли с помощью Trizol Reagent («Invitrogen», США) по протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре Nano Vue Plus («GE Healthcare», США). ПЦР в реальном времени проводили с помощью набора реагентов компании «СИНТОЛ» (Россия) с интеркалирующим флуоресцентным агентом EvaGreen. В одной реакции использовали 50 нг кДНК. Реакцию проводили в амплификаторе CFX96 Touch («Biorad», США). Нормализацию результатов проводили по экспрессии гена RPL27. Уровень экспрессии генов оценивали по значению $R = 2\Delta Ct$, определяли последовательность пар праймеров для MDR1. Праймеры для проведения ПЦР в реальном времени взяты из поисковой базы BLAST.

Результаты исследования и обсуждение

В I группе больных при морфологическом и микробиологическом исследованиях операционного материала только у 7 пациентов (23,3%) был подтвержден диагноз туберкулеза. В остальных случаях морфологически были верифицированы: злокачественные опухоли (11 чел.), гамартомы (7 чел.), аллюмо-силикоз, антракоз (2 чел.), гранулематоз Вегенера, очаговая пневмония, аспергиллез – по одному пациенту.

Во всех случаях туберкулеза легкого в операционном материале больных I группы были обнаружены МБТ и определена их лекарственная чувствительность, причем у одного больного выявлена широкая лекарственная устойчивость возбудителя. У всех больных морфологически были верифицированы одиночные или множественные ТЛ: гомогенного типа (40%), типа заполненных каверн (40%), слоистые (20%). У большинства больных этой группы (56%) выявлена умеренная степень активности туберкулезного процесса. В составе ТЛ имелся рыхлый казеозный некроз в центре и более плотный по периферии, а сформированная фиброзная капсула сохраняла элементы грануляционной ткани, небольшие скопления нейтрофильных лейкоцитов (рис. 1а). У наружного слоя капсулы – лимфоидная инфильтрация с рыхлыми лимфонодулами.

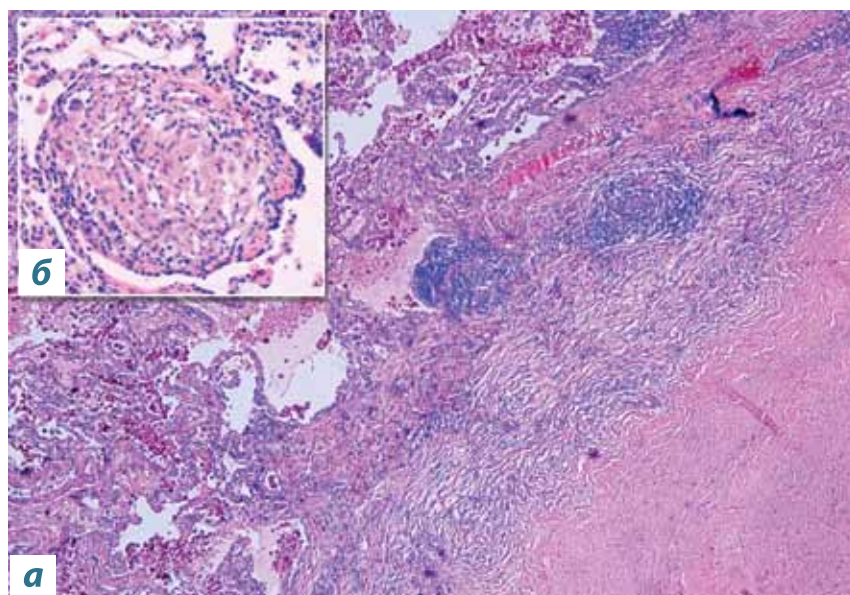


Рис. 1. Туберкулема легкого с признаками умеренной активности, окраска гематоксилином и эозином:
а – рыхлый казеозный некроз, сформированная фиброзная капсула с участками грануляционной ткани (× 128);
б – эпителиоидноклеточная гранулема в перифокальной легочной паренхиме (× 260)

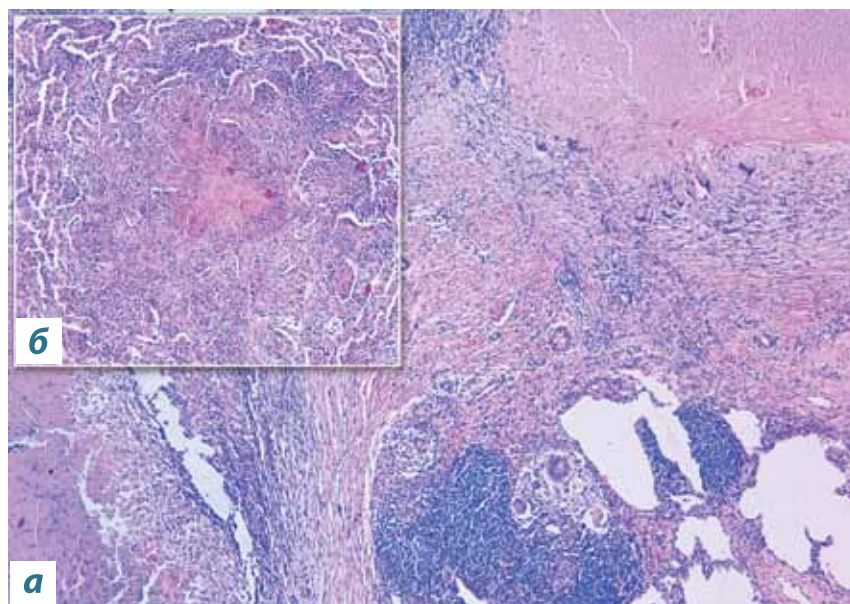


Рис. 2. Туберкулема легкого с признаками выраженной активности, окраска гематоксилином и эозином:
а – рыхлый казеозный некроз со скоплениями нейтрофильных лейкоцитов, окружен обильной грануляционной тканью со слабо выраженным фиброзированием (× 128);
б – очаг отсева с казеозом в центре (× 128)

Таблица 1. Частота выявления МБТ в мокроте и операционном материале у больных с туберкулемами легких

Наличие бактериовыделения	Мокрота (до операции) (n = 118)		Операционный материал (n = 111)	
	абс.	%	абс.	%
МБТ-	73	70,6	24	15,7
МБТ+	45	29,4	87	61,4

В перифокальной зоне воспаления можно было видеть отдельно расположенные разновозрастные эпителиоидноклеточные гранулемы (рис. 16). При этом периферическая легочная паренхима на значительном протяжении сохраняла воздушность.

У остальных больных I группы (44%) в ТЛ отмечена высокая степень активности процесса: рыхлый казеозный некроз со скоплениями нейтрофильных лейкоцитов сочетался с обильной грануляционной тканью, содержащей многоядерные клетки, слабо выраженными процессами фиброзирования и обильной лимфоидной инфильтрацией по периферии (рис. 2а). В перифокальной зоне отмечена инфильтрация паренхимы клеточными элементами воспаления, в отдаленной – гематогенные очаги-диссеминаты с наличием свежего некроза (рис. 2б). В трех случаях отмечена бронхогенная диссеминация в виде гранулематозной реакции в стенке бронха.

Во II группе наблюдения диагноз туберкулеза был микробиологически подтвержден у 111 больных (90,2%). Из них у 87 (61,4%), несмотря на проводимую ранее противотуберкулезную терапию, в операционном материале были обнаружены МБТ (табл. 1).

При этом более чем у половины больных (57,7%) выявлена множественная или широкая лекарственная устойчивость. Необходимо подчеркнуть, что при исследовании мокроты (до операции) МБТ были выявлены только у 45 (29,4%) больных, а в 26,7% случаев чувствительность возбудителя к ПТП определить не удалось (табл. 2).

При морфологическом исследовании операционного материала больных с микробиологически подтвержденным диагнозом в трех случаях был верифицирован фиброзно-кавернозный туберкулез, в остальных – ТЛ разного анатомического строения, как и в I группе наблюдения. При определении морфологических признаков активности ТЛ во II группе больных были выявлены различные признаки активности туберкулезного процесса. При этом умеренная или выраженная степень активности ТЛ отмечена в 26 % и 19 % случаев соответственно. В значительном проценте наблюдений (29%) в операционном материале больных этой группы была выявлена

Таблица 2. Спектр лекарственной чувствительности МБТ, выделенных из мокроты и из операционного материала у больных с туберкулемами легких

Спектр лекарственной чувствительности МБТ	Мокрота (до операции) (n = 118)		Операционный материал (n = 111)	
	абс.	%	абс.	%
Лекарственная чувствительность сохранена	5	11,1	38	43,6
Монорезистентность	6	13,3	2	2,1
МЛУ	19	42,2	40	50
ШЛУ	3	6,7	7	7,5
Чувствительность МБТ не определена	12	26,7	-	-

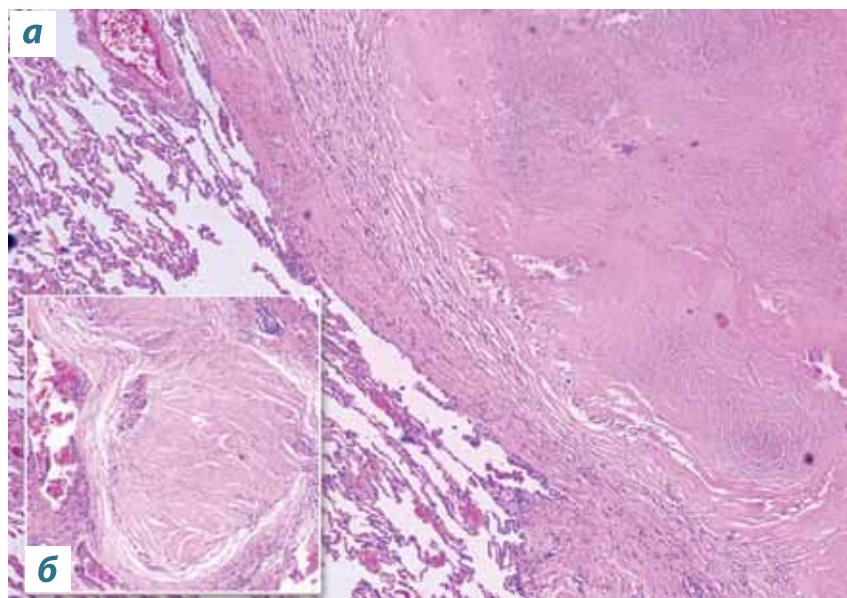


Рис. 3. Туберкулема легкого с признаками низкой активности, окраска гематоксилином и эозином:
а – очаг уплотненного казеоза окружен непрерывной фиброзной капсулой без клеточных элементов воспаления (× 128);
б – гранулема увядающего типа (× 128)

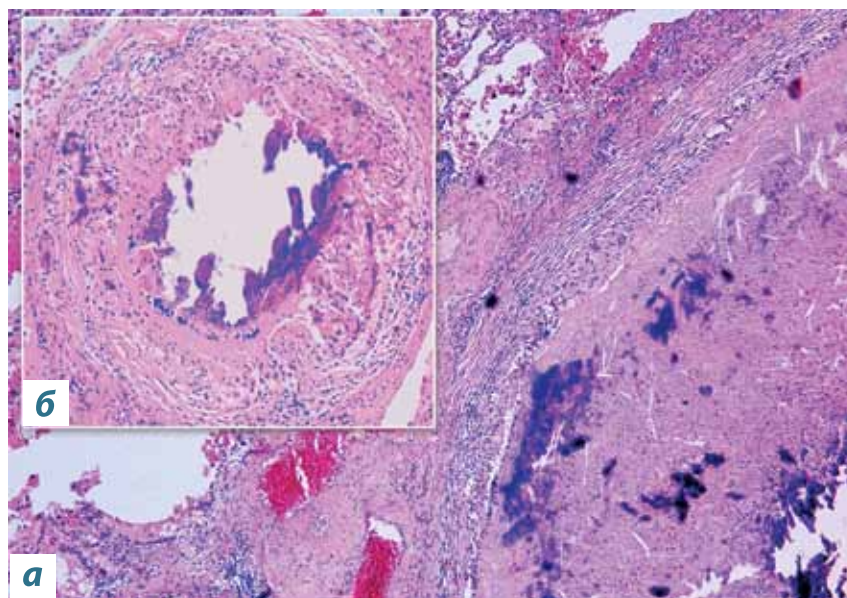


Рис. 4. Туберкулема легкого с признаками реактивации, окраска гематоксилином и эозином:
а – нейтрофильные лейкоциты в фиброзной капсуле и на границе с уплотненным казеозом, содержащим кальцинаты (× 128);
б – очаг-отсев с кальцинатами, содержащим молодую грануляционную ткань (× 128).

низкая активность туберкулезного процесса. Рыхлый очаг казеозного некроза имел признаки уплотнения, был окружен непрерывной фиброзной капсулой без наличия выраженного воспаления во внутреннем слое и немногочисленными гранулами увядающего типа – в перифокальной зоне, сохраняющей воздушность (рис. 3а и 3б). Гематогенные очаги-отсевы имели уплотненный казеозный слой, хорошо выраженную фиброзную капсулу под которой могли находиться небольшие фрагменты грануляционной ткани.

У значительной части пациентов II группы (26%) в операционном материале ТЛ были выявлены признаки реактивации туберкулезного процесса различной степени выраженности. На это указывало появление нейтрофильных лейкоцитов на границе уплотненного казеозного слоя с наличием кальцинатов и хорошо сформированной фиброзной капсулой. В составе последней также определяются скопления клеточных элементов воспаления, а у ее наружной стенки – лимфоидная инфильтрация и лимфонодулы (рис. 4а). В крупных очагах-отсевах с выраженными признаками заживления также можно видеть фрагменты молодой грануляционной ткани (рис. 4б). Характерно, что реактивацию ТЛ наблюдали у больных, длительно получавших противотуберкулезную терапию (не менее 8 месяцев), особенно 10–18 месяцев.

При определении экспрессии гена MDR1 у больных с умеренной активностью ТЛ наиболее высокие ее значения были отмечены в перифокальной легочной ткани, где сохранялись признаки лимфоидно-макрофагальной клеточной реакции разной степени выраженности. Клеточные элементы воспаления инфильтрировали межальвеолярные перегородки и определялись во внутриальвеолярном

пространстве. Величина показателя экспрессии MDR1 в этих зонах заметно варьировала, составляя в среднем $182,40 \pm 39,08$. Это в 11,2 раза выше, чем в участках легочной паренхимы, сохраняющей воздушность, где этот показатель составляет в среднем лишь $15,92 \pm 4,86$ ($p < 0,001$).

В связи с полученными данными об активности туберкулезного процесса и выявленной в результате исследования операционного материала лекарственной устойчивости МБТ или соматических клеток легкого, более чем трети больным (39,8%) потребовалась коррекция противотуберкулезной терапии в послеоперационном периоде. Это в первую очередь относилось к больным, получавшим ПТП по I режиму (42,1%).

Заключение

Как показало наше исследование, в современных условиях неуклонного роста МЛУ/ШЛУ МБТ и возможности развития МЛУ соматических клеток, хирургический этап в комплексном лечении больных с ТЛ становится важным гарантом его эффективности. Хирургическое вмешательство у этих больных необходимо не только в случаях неясного диагноза при наличии в легком округлого образования, но и при отсутствии данных об активности туберкулезного процесса, лекарственной чувствительности возбудителя к ПТП. Так, при изучении операционного материала у ранее леченных больных МБТ были обнаружены у 87 (61,4%) больных, из них более чем у половины (57,5%) была выявлена МЛУ или ШЛУ возбудителя. Согласно этим данным, 63,4% больных с ТЛ до поступления в ЦНИИТ получали неадекватное лечение, в результате чего активность туберкулезного воспаления сохранялась длительное время на достаточно высоком уровне, что даже при изначально благоприятном течении процесса могло приводить к его реактивации (26%).

В последнем случае необходимо учитывать также возможность развития МЛУ белков клеток легкого при длительном применении ПТП, особенно рифампицина, на что указывают данные М.В. Ерохиной с соавт. [5]. Как показало наше исследование, в условиях длительного применения противотуберкулезной химиотерапии по I режиму у больных ТЛ активируется экспрессия генов МЛУ клеток легкого. Она максимально выражена в перифокальной зоне, где сохраняются клеточные элементы воспаления, имеет место характерная макрофагальная

реакция, т.е. выявлены признаки активности туберкулезного процесса, которая морфологически верифицирована как умеренно выраженная. Это согласуется с результатами, полученными в модельных системах *in vitro*, показавших возможность относительно быстрого (за 3 мес.) формирования лекарственной устойчивости к рифампицину, повышенной экспрессии гена MDR1 в эпителиальных и моноцитарно-макрофагальных клеточных элементах [4, 5]. Становится очевидным, что повышение функциональной активности белков МЛУ соматических клеток, в частности Pgp, может способствовать развитию резистентности альвеолярного эпителия и макрофагальных элементов легкого к рифампицину и, возможно, другим ПТП первого ряда. Это не может не влиять на эффективность проводимой химиотерапии, которая у больных с ТЛ бывает особенно длительной.

Следовательно, показаниями для хирургического вмешательства при ТЛ является необходимость:

- морфологического подтверждения диагноза, определение анатомической формы и активности процесса;
- определения спектра лекарственной устойчивости МБТ и клеток легкого к ПТП;
- коррекции противотуберкулезной терапии в зависимости от результатов микробиологического и молекулярно-генетического исследований операционного материала;
- оценки выраженности признаков прогрессирования/затухания туберкулезного процесса в легких и определения длительности послеоперационной химиотерапии.

Таким образом, хирургический этап в комплексном лечении ТЛ является эффективным и необходимым методом, особенно в условиях современного распространения МЛУ/ШЛУ МБТ и возможности развития МЛУ белков соматических клеток легкого. Своевременно проведенное хирургическое вмешательство позволяет в короткие сроки удалить патологический очаг в легких, добиться окончательной морфологической верификации процесса, достоверно определить его активность и лекарственную чувствительность возбудителя, а также Pgp-белка клеток легкого к ПТП. Все это позволяет создать необходимые условия для проведения адекватной противотуберкулезной химиотерапии и добиться излечения больного ТЛ в более короткие сроки.

Литература

1. Авербах М.М. Туберкулемы легкого. – М.: Медицина, 1969. – 336 с.
2. Винокуров И.И. Клинико-морфологическое обоснование хирургического лечения туберкулем легких // Пробл. туберкулеза. – 2009. – № 4. – С. 28-30.
3. Диденко Г.В. Результаты хирургического лечения больных туберкулемой легкого // Пробл. туберкулеза. – 2007. – № 11. – С. 26-28.
4. Ерохина М.В., Александрова Е.А., Онищенко Г.Е. Развитие устойчивости к рифампицину в эпителиальных клетках *in vitro* // Туберкулез и болезни легких. – 2006. – № 8. – С. 58-61.
5. Ерохина М.В., Лепеха Л.Н., Эргешов А.Э. Возможность формирования устойчивости моноцитарных и эпителиальных клеток к рифампицину // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2016. – № 2. – С. 59-65.

6. Жингель И.П. Туберкулема легкого: дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 1974. – 214 с.
7. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2012–2013 гг. Аналитический обзор основных показателей и статистические материалы / Под ред. С.А. Стерликова – М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2014. – 72 с.
8. Туберкулез органов дыхания: руководство для врачей / Под ред А.Г. Хоменко. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1988. – 576 с.
9. Borst P., Evers R., Kool M., Wijnholds J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins // J. Natl. Cancer Inst. – 2000. – Vol. 92. – N. 16. – P. 1295-1302.
10. Haydel S. Extensively drug-resistant tuberculosis: a sign of the times and an impetus for antimicrobial discovery // Pharmaceuticals (Basel). – 2010. – Vol. 3. – N. 7. – P. 2268-2290.
11. Scheffer G.I., Pijnenborg A.C.L.M., Smit E.F. et al. Multidrug resistance related molecules in human and murine lung // J. Clin. Pathol. – 2002. – Vol. 55. – P. 332-339.
12. Schuetz E.G., Schinkel A.H., Relling M.V., Schuetz J.D. P-glycoprotein: a major determinant of rifampicin-inducible expression of cytochrome P4503A in mice and humans // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. – Vol. 93. – N. 9. – P. 4001-4005.
13. Trussardi-Regnier A., Millot J.M., Gorisse M.C. et al. Detection of drug-resistance genes using single bronchoscopy biopsy specimens // Oncol. Rep. – 2007. – Vol. 18. – P. 703-708.
14. Trauner A., Borrell S., Reither K. et al. Evolution of drug resistance in tuberculosis: recent progress and implications for diagnosis and therapy // Drugs. – 2014. – Vol. 74. – P. 1063-1072.

Сведения об авторах

Багиров Мамед Адилевич – руководитель хирургического отдела ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», доктор медицинских наук

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-60

e-mail: bagirov60@gmail.com

Лепеха Лариса Николаевна – руководитель отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», доктор биологических наук, профессор

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-91-79

e-mail: lep3@yandex.ru

Садовникова Светлана Сергеевна – заведующая I хирургическим отделением ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», доктор медицинских наук

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-60

e-mail: sadovnikova.sv@mail.ru

Карпина Наталья Леонидовна – руководитель консультативно-поликлинического отдела ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», доктор медицинских наук

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-26

e-mail: natalya-karpina@rambler.ru

Красникова Елена Вадимовна – старший научный сотрудник хирургического отдела ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», кандидат медицинских наук

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-60

e-mail: el.krasn@gmail.com

Ерохина Мария Владиславовна – старший научный сотрудник отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», кандидат биологических наук

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-60

e-mail: erokhinam@bk.ru