

## ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПЕРИТОНИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д. В. Плоткин<sup>1,2</sup>✉, Т. И. Виноградова<sup>3</sup>, М. Н. Решетников<sup>1</sup>, Б. М. Ариэль<sup>3</sup>, Ю. Р. Зюзя<sup>1</sup>, В. Ю. Журавлев<sup>3</sup>, М. В. Сеницын<sup>1</sup>, Е. М. Богородская<sup>1</sup>, П. К. Яблонский<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия

Наблюдаемый в последние десятилетия рост числа случаев туберкулезного перитонита обусловлен лимфогематогенным распространением микобактерий туберкулеза (МБТ) из легких и других экстрапульмональных источников. До сих пор остается неясным, почему при генерализации туберкулезной инфекции в воспалительный процесс вовлекаются те или иные органы и анатомические области. Почему в одних случаях развивается туберкулез брюшины, а в других туберкулез почек? Целью работы было изучить патогенез туберкулезного перитонита с помощью создания воспроизводимой биологической модели. Туберкулезный перитонит моделировали на 18 кроликах (10 особей — экспериментальная группа, 8 — контрольная) путем внутрибрюшинной инокуляции взвеси МБТ. Кроликам экспериментальной группы перед заражением вводили ингибитор TNF — и железа (III) гидроксид сахарозный комплекс с целью подавления активности перитонеальных макрофагов и основных цитокинов; в контрольной группе введение иммуносупрессивных препаратов не производили. При аутопсии животных контрольной группы в 37,5% случаев выявлены изменения, характерные для туберкулеза легких, поражения других органов и систем не отмечено. Напротив, у кроликов экспериментальной группы в брюшной полости выявлены признаки туберкулезного перитонита. По результатам проведенной работы, анатомическая область, где развивается вторичный очаг внелегочной туберкулезной инфекции, во многом зависит от местной иммунной защиты. Так, для брюшины таким необходимым и достаточным условием развития туберкулезного перитонита являются уменьшение пула перитонеальных макрофагов и снижение цитокиновой продукции.

**Ключевые слова:** перитонит, животная модель, туберкулезный перитонит, абдоминальный туберкулез, TNF $\alpha$ , фактор некроза опухолей, кролик

**Конфликт интересов:** Д. В. Плоткин, Т. И. Виноградова, М. Н. Решетников, Ю. Р. Зюзя, М. В. Сеницын, Е. М. Богородская, П. К. Яблонский — подали заявку в Федеральную службу по интеллектуальной собственности «Федеральный институт промышленной собственности» на регистрацию заявления о выдаче патента Российской Федерации на изобретение «Способ моделирования туберкулезного перитонита» (регистрационный № 2021114954 от 25 мая 2021 г.). Б. М. Ариэль, В. Ю. Журавлев — заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

**Вклад авторов:** Д. В. Плоткин, Т. И. Виноградова, М. В. Сеницын, Е. М. Богородская — разработка концепции и дизайна исследования; Д. В. Плоткин, М. Н. Решетников, В. Ю. Журавлев, Ю. Р. Зюзя — сбор материала; М. Н. Решетников, В. Ю. Журавлев — статистическая обработка; Д. В. Плоткин, Т. И. Виноградова, Б. М. Ариэль, П. К. Яблонский — анализ полученных данных; Д. В. Плоткин, Б. М. Ариэль, М. В. Сеницын, Е. М. Богородская — подготовка текста; Т. И. Виноградова, Ю. Р. Зюзя, П. К. Яблонский — редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии (протокол № 73 от 23 декабря 2020 г.). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS No. 170), а также руководствуясь «Правилами работы с лабораторными грызунами и кроликами» (ГОСТ 33216-2014).

✉ **Для корреспонденции:** Дмитрий Владимирович Плоткин  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; kn13@list.ru

**Статья получена:** 30.06.2021 **Статья принята к печати:** 21.07.2021 **Опубликована онлайн:** 04.07.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.036

## FEATURES OF THE PATHOGENETIC MECHANISMS OF TUBERCULOUS PERITONITIS IN AN EXPERIMENT

Plotkin DV<sup>1,2</sup>✉, Vinogradova TI<sup>3</sup>, Reshetnikov MN<sup>1</sup>, Ariel BM<sup>3</sup>, Zyuzya YuR<sup>1</sup>, Zhuravlev VYu<sup>3</sup>, Sinitsyn MV<sup>1</sup>, Bogorodskaya EM<sup>1</sup>, Yablonsky PK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Moscow Research and Clinical Center for TB Control, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint Petersburg, Russia

The prevalence of tuberculous peritonitis that has been observed in the recent decades is the result of lymphohematogenous spread of Mycobacterium tuberculosis (MBT) from lungs and other extrapulmonary sources. It is still unclear why certain organs and anatomical regions get involved in the inflammatory process during generalization of the tuberculosis infection. Why do some cases develop into peritoneal tuberculosis and other into kidney tuberculosis? Thus study aimed to investigate the pathogenesis of tuberculous peritonitis in a reproducible biological model. Tuberculous peritonitis was modeled in 18 rabbits (10 in the test group, 8 in control) by intraperitoneal inoculation of the MBT suspension. In order to suppress peritoneal macrophages and major cytokines, test group rabbits were injected with the TNF $\alpha$  inhibitor and iron (III) hydroxide sucrose complex before being infected, while control group rabbits received no immunosuppressive drugs. Autopsy of the control group animals revealed changes characteristic of pulmonary tuberculosis in 37.5% of cases, with no damage to other organs and systems registered. Conversely, test group rabbits had the signs of tuberculous peritonitis in their abdominal cavities. The results of this study suggest that it is the local immunity of an anatomical area that largely determines whether a secondary focus of extrapulmonary tuberculosis infection will develop there or not. For the peritoneum, a smaller pool of peritoneal macrophages and weaker cytokine production is a necessary and sufficient condition to have tuberculous peritonitis developing therein.

**Keywords:** peritonitis, animal model, tuberculous peritonitis, abdominal tuberculosis, TNF $\alpha$ , tumor necrosis factor, rabbit

**Conflict of interests:** Plotkin DV, Vinogradova TI, Reshetnikov MN, Zyuzya YuR, Sinitsyn MV, Bogorodskaya EM, Yablonsky PK have filed a request to the Federal intellectual property service "Federal Institute for Industrial Property" to register the Russian Federation patent for the invented "Method for modeling tuberculous peritonitis" (registration #2021114954 of May 25, 2021). Ariel BM, Zhuravlev VYu claim to have no conflict of interest.

**Author contributions:** Plotkin DV, Vinogradova TI, Sinitsyn MV, Bogorodskaya EM — study concept and design development; Plotkin DV, Reshetnikov MN, Zhuravlev VYu, Zyuzya YuR — material collection; Reshetnikov MN, Zhuravlev VYu — statistical processing; Plotkin DV, Vinogradova TI, Ariel BM, Yablonsky PK — analysis of the data obtained; Plotkin DV, Ariel BM, Sinitsyn MV, Bogorodskaya EM — text preparation; Vinogradova TI, Zyuzya YuR, Yablonsky PK — editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology (protocol № 73 of December 23, 2020). All manipulations with animals conformed to the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS # 170) and followed guidelines provided in GOST 33216-2014 Rules for Working with Laboratory Rodents and Rabbits.

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry Vladimirovich Plotkin  
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997; kn13@list.ru

**Received:** 30.06.2021 **Accepted:** 21.07.2021 **Published online:** 04.07.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.036

В настоящее время считается, что четверть населения мира инфицирована туберкулезом; ежегодно регистрируется более 10 млн новых случаев болезни и 1,2 млн смертей от туберкулеза. По данным Всемирной организации здравоохранения, 15–20% наблюдений туберкулеза приходится на его внелегочные формы, а туберкулезный перитонит (ТП) прочно занимает среди них шестое место [1, 2].

Представления о патогенезе внелегочного туберкулеза сформировались в 30–60-х гг. прошлого века на основе клинических наблюдений, экспериментальных работ и результатов аутопсий. ТП рассматривали в рамках полисерозита с одновременным вовлечением в специфический процесс брюшины, перикарда, плевры и синовиальных оболочек крупных суставов [3, 4], что являлось типичным проявлением прогрессирующего первичного туберкулеза.

Наблюдаемый в последние десятилетия ТП у подавляющего большинства пациентов развивается в поздние сроки туберкулезной инфекции; его патогенез изучен недостаточно и, вероятно, обусловлен лимфогематогенным распространением микобактерий туберкулеза (МБТ) из легких, внутрибрюшных лимфатических узлов, кишечника, маточных труб [5, 6]. До сих пор остается неясным, почему в таких случаях генерализация инфекции вовлекает в воспалительный процесс те или иные органы и каковы условия, благоприятствующие развитию патологических изменений именно в данной анатомической области.

Основными из таких условий до недавнего времени считали микроциркуляторные расстройства, когда первоначальные очаговые поражения органов возникали лишь при определенной функциональной перестройке микроциркуляторного русла: большой объем последнего, замедленный кровоток, тесный контакт с тканями (полузамкнутый характер системы микроциркуляции, наличие пор и фенестр в стенках капилляров) [7].

Известно, что у каждой формы внелегочного туберкулеза имеется свой *locus minoris resistentiae*, где в строго закономерной последовательности развиваются первоначальные очаговые поражения. Так, в брюшной полости это илеоцекальная зона, где минимизации кровотока способствуют замедленный кишечный пассаж (илеостаз) и относительно большая масса лимфоидной ткани в мезентериальных лимфатических узлах и пейеровых бляшках, которые «заболачиваются» при низкой скорости кровотока [3, 8].

Нарушения микроциркуляторного русла не могут не играть существенную роль в развитии ТП, хотя, безусловно, и не исчерпывают его патогенез до самого конца. Как и во всяком ином патологическом процессе, определенная роль здесь принадлежит малоизученным иммунным защитным механизмам. Применительно к ТП речь идет о защитной роли брюшины, с которой взаимодействуют МБТ, а также о местном иммунитете [9].

Эти недостаточно исследованные механизмы могут быть изучены в экспериментальных условиях на моделях, воспроизводящих ТП человека во всех его характерных особенностях. Есть основание полагать, что при таком подходе удастся понять, каким образом и в какой мере повреждение брюшины и защитные реакции в ней интегрируются и уравновешиваются в системе целостного организма.

При использовании поисковой системы PubMed нам не удалось выявить в текущей литературе публикации, касающихся способов моделирования ТП. При более глубоком поиске в работах XIX и первой половины XX

веков [10, 11] были найдены немногочисленные описания неудачных попыток внутрибрюшинного заражения лабораторных животных культурой МБТ с целью экспериментального воспроизведения ТП.

Целью работы было изучение патогенеза туберкулезного перитонита с помощью создания воспроизводимой биологической модели.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 18 кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» массой 2,60–3,25 кг, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» («Курчатовский институт»; Россия). Использовали животных без внешних признаков заболевания, прошедших двухнедельный карантинный режим в условиях сертифицированного вивария Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии. Животных содержали в одинаковых условиях на стандартном пищевом режиме при доступе к воде *ad libitum*.

Все кролики были разделены на две группы: экспериментальную и контрольную, в каждую из которых входили животные одного возраста, полученные из питомника одновременно.

ТП моделировали по оригинальной, разработанной нами методике путем интраперитонеальной инокуляции 6 мл суспензии стандартизованного вирулентного тест-штамма *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, содержащей 10<sup>6</sup> микобактериальных клеток. Использовали суспензии МБТ в физиологическом растворе или в геле гидроокиси алюминия для заражения соответственно контрольных и экспериментальных групп животных. Культивирование тест-штамма *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (ТБС # 1/47, Институт гигиены и эпидемиологии; Прага, 1976) из коллекции Научного центра экспертизы средств медицинского применения проводили на среде Левенштейна–Йенсена (Becton, Dickinson and Company; США). Подготовку микобактериальной суспензии трехнедельного (вторая генерация) тест-штамма *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv выполняли *ex tempore* в день заражения животных.

Внутрибрюшинное заражение осуществляли в условиях иммунодефицита. Для этого, с одной стороны, снижали концентрацию фактора некроза опухоли TNF $\alpha$  (основного цитокина, регулятора образования и устойчивости гранулем) путем внутривенного введения ингибитора TNF $\alpha$  инфликсимаба (химерного мышино-человеческого моноклонального антитела) («БИОКАД»; Россия). С другой стороны, подавляли фагоцитарную активность агранулоцитов брюшины (перитонеальных макрофагов) путем внутрибрюшинного введения железа (III) гидроксида сахарозного комплекса (Ferric (III) hydroxide saccharose complex) («ФАРМАСИНТЕЗ»; Россия). Этот препарат выбран как донатор трехвалентного железа для создания эффекта «перегрузки железом» иммунокомпетентных клеток, которые поглощают избыточное нетрансферриновое железо [12, 13].

В экспериментальную группу вошли 10 кроликов, которым за сутки до внутрибрюшинного заражения культурой МБТ вводили однократно в краевую ушную вену инфликсимаб из расчета 16 мг/кг [14], а за 1 ч до заражения — внутрибрюшинно 5 мл раствора железа (III) гидроксида сахарозного комплекса.

Восемь кроликов контрольной группы были заражены аналогичным образом, однако ингибитор TNF $\alpha$  и железосахарозный комплекс они уже не получали.

После заражения осуществляли мониторинг массы тела животных (взвешивали один раз в 10 дней), наблюдали за их поведением, выполняли постановку внутрикожных проб с антигеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест®) для подтверждения развития туберкулезной инфекции. Выведение животных из эксперимента проводили на 45-е сутки от момента заражения с помощью передозировки средств для наркоза: тиопентала натрия 250 мг и пипекурония бромида 1 мг внутривенно.

При проведении аутопсии оценивали наличие выпота в серозных полостях и бугорковых образований на серозных покровах печени, селезенки, кишечника и легких, а также форму и величину внутригрудных и внутрибрюшных лимфатических узлов, размеры и структуру почек. Забирали материал для микроскопического исследования париетальной брюшины, печени, почек, селезенки, легких, сердца и лимфатических узлов. Весь материал заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также специальными методами по Ван Гизону (для идентификации коллагеновых волокон) и по Перлсу (качественная реакция на трехвалентное железо). Кроме того, проводили бактериоскопическое исследование после окраски срезов по Цилю–Нельсену для обнаружения МБТ. Дополнительно выполняли молекулярно-генетическое тестирование тканей брюшины и сальника методом ПЦР для детекции ДНК МБТ с использованием набора реагентов «Амплитуб-РВ» («Синтол»; Россия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе динамического наблюдения за животными после их внутрибрюшинного заражения суспензией МБТ потери веса не отмечено; напротив, все кролики прибавляли в весе в среднем на  $132 \pm 42,6$  г за весь период эксперимента. Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест®) на 20–22-е сутки после заражения была гиперергической у всех 18 кроликов.

При аутопсии и гистологическом исследовании материала обнаружены существенные и значимые различия между кроликами экспериментальной и контрольной групп.

В контрольной группе на 45-е сутки с момента внутрибрюшинного заражения серозный покров брюшной

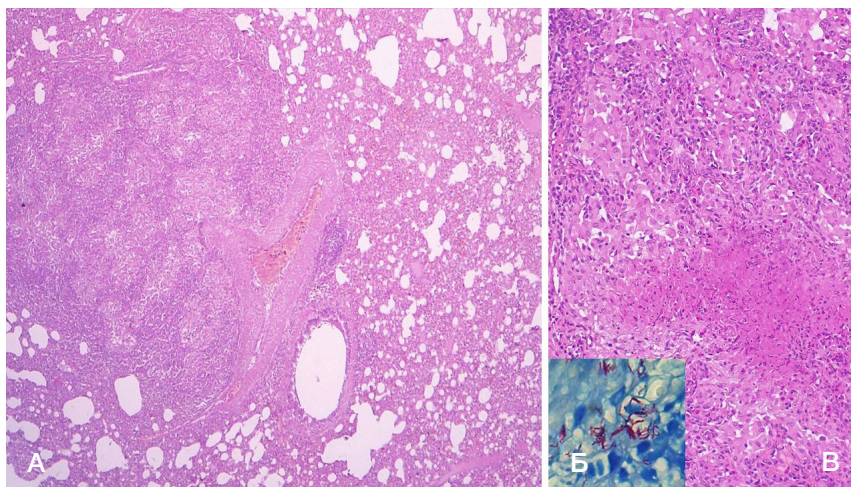
полости оставался интактным как на макро-, так и на микроскопическом уровне; специфические изменения не были выявлены ни в паренхиматозных органах брюшной полости, ни в почках. ДНК МБТ методом ПЦР в брюшине и сальнике не обнаружена.

Вместе с тем, у трех животных (37,5%) имелись четкие признаки туберкулезного воспаления легких. При микроскопии в легочной ткани были обнаружены нечеткие, сливавшиеся друг с другом макрофагальные гранулемы с небольшими участками некроза и слабо выраженной лейкоцитарной инфильтрацией по периферии, изредка — более крупные очаги казеозного некроза, инфильтрированные распадавшимися лейкоцитами. В прилегающей легочной ткани были обнаружены дистелектазы с преобладанием ателектазов, очаговая экссудативная реакция, явления продуктивного васкулита (рис. 1А, В). В таких участках плевра была утолщена за счет отека и мононуклеарной инфильтрации. При окраске по Ван Гизону инкапсуляции очагов казеозного некроза не найдено, признаков организации в участках туберкулезного воспаления не зафиксировано. При окраске по Цилю–Нельсену были выявлены микроколонии МБТ в очагах некроза (рис. 1Б).

Стоит отметить слабо выраженные реактивные изменения в отдельных лимфатических узлах брюшной полости и средостения без признаков специфического туберкулезного лимфаденита. При микроскопическом исследовании была обнаружена очаговая неспецифическая инфильтрация брюшины, где при бактериоскопии МБТ не определялись. Их отсутствие в таких участках брюшинного покрова было подтверждено и при ПЦР-диагностике.

В экспериментальной группе у всех животных на первой неделе после заражения были выявлены клинические симптомы интоксикации: гиподинамия, отсутствие аппетита и снижение массы тела на 75–110 г (в среднем 84 г). В последующие 35 дней отмечена положительная динамика с восстановлением обычной двигательной активности, увеличением массы тела и нормализацией аппетита.

На аутопсии через 45 суток после заражения у всех животных из экспериментальной группы отмечены характерные макроскопические признаки ТП: желтоватый серозный выпот в брюшной полости, не превышавший по объему 5 мл, плотные и рыхлые спайки



**Рис. 1.** Очаги туберкулезного поражения в легком кролика. **А.** Участок туберкулезного гранулематозного воспаления в легком с дистелектазами (микрпрепарат, окраска гематоксилином и эозином;  $\times 40$ ). **Б.** Кислотоустойчивые микобактерии в очаге туберкулезного воспаления (микрпрепарат, окраска по Цилю–Нельсену;  $\times 1000$ ). **В.** В легком очаг казеозного некроза с лейкоцитарной инфильтрацией и перифокально расположенными макрофагально-эпителиоидными гранулемами (микрпрепарат, окраска гематоксилином и эозином;  $\times 100$ )

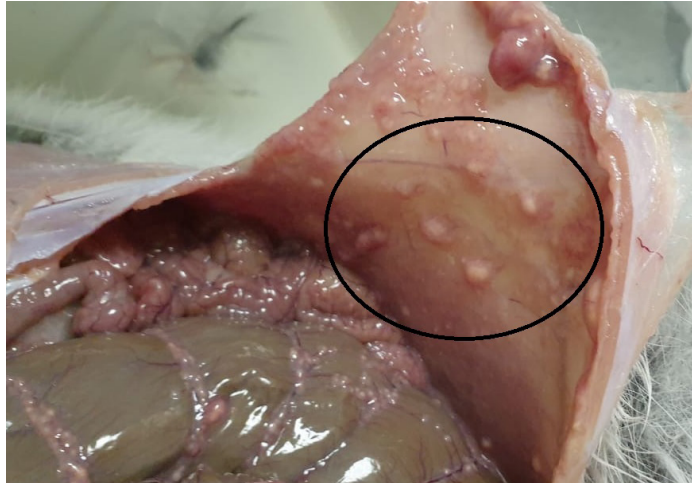


Рис. 2. На париетальной брюшине кролика множественные туберкулезные бугорки — диссеминаты (обведены круглой рамкой) (макропрепарат)

разной степени зрелости между петлями тонкой кишки, большим сальником и передней брюшной стенкой, множественные мелкие и крупные бугорки размерами 2–6 мм на париетальной и висцеральной брюшине (рис. 2). При гистологическом исследовании спаек и фрагментов серозного покрова были выявлены макрофагальные гранулемы с единичными гигантскими многоядерными клетками Лангханса, а также обширные очаги казеозного некроза с перифокальным скоплением сливающихся друг с другом макрофагальных гранул (рис. 3А, Б). Подобные изменения имелись также в брыжейке тонкой кишки и в большом сальнике.

У 9 из 10 (90%) экспериментальных животных был выявлен активный туберкулез легких в виде очагов казеозного некроза с небольшими скоплениями лимфоцитов по периферии и образованием специфических грануляций. При окраске по Ван Гизону признаков организации в очагах туберкулезного воспаления в легких не найдено. При окраске по Цилю–Нельсену в казеозных массах обнаружены микроколонии МБТ.

При окраске по Перлсу выявлены множественные скопления макрофагов с большим содержанием железа в цитоплазме, как в тканях брюшины, так и в тканях легких (рис. 3В, Г). В одном случае был обнаружен туберкулезный сплениит (10%), в другом — туберкулезный гепатит (10%). В

лимфатических узлах брыжейки тонкой кишки выявлены как специфические изменения, так и неспецифическая реактивная гиперплазия лимфоцитов. Наряду с этим у всех кроликов определялись дистрофические изменения в эпителии извитых канальцев почек, в печени и в миокарде, которые сопровождалась выраженным полнокровием и отеком стромы органов.

Изменения со стороны серозной оболочки кишечника были двоякого рода: в одних случаях выявлялся продуктивный туберкулезный перитонит без признаков организации, а в других — неспецифическое реактивное воспаление. В серозной оболочке желудка специфические воспалительные изменения не выявлены. При детекции ДНК МБТ в тканях большого сальника во всех 10 случаях получены положительные результаты.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выбор кролика (*Oryctolagus cuniculus domesticus*) как лабораторного животного при разработке экспериментальной модели ТП далеко не случаен. По словам Клода Бернара, удачный выбор животного часто достаточен, для того чтобы разрешить самые сложные общие вопросы.

Было показано, что у кроликов, считающихся резистентными к инфекции, вызванной *M. tuberculosis*, в

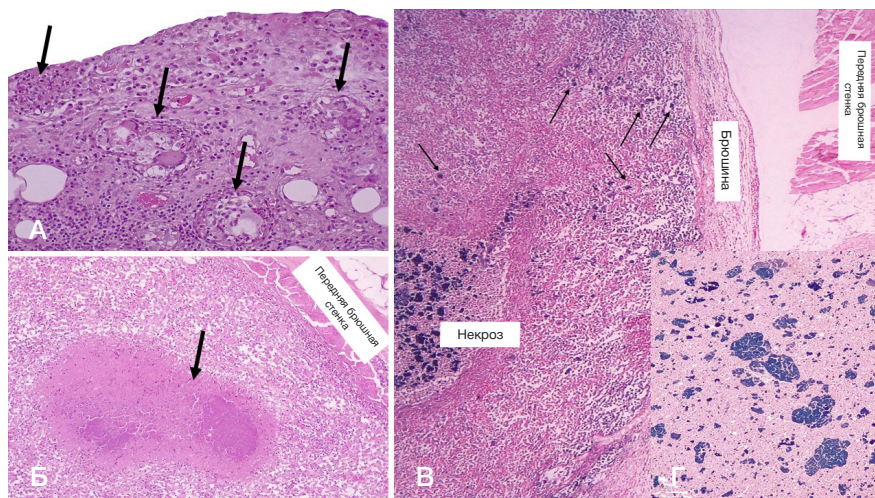


Рис. 3. Туберкулезный перитонит у кроликов (микропрепарат). А. Туберкулезный гранулематозный перитонит (гранулемы показаны стрелками) (окраска гематоксилином и эозином;  $\times 200$ ). Б. Казеозный перитонит (очаг казеозного некроза показан стрелкой) (окраска гематоксилином и эозином;  $\times 100$ ). В. Скопления железосодержащего пигмента в некротических массах и в прилежащих макрофагах (железосодержащий пигмент окрашен в сине-зеленый цвет, отдельные из макрофагов с пигментом показаны стрелками) (реакция Перлса;  $\times 100$ ). Г. Фрагмент рис. В (реакция Перлса;  $\times 200$ )

определенных условиях заражения этим возбудителем закономерно развивается специфическое хронически прогрессирующее гранулематозное воспаление или латентная туберкулезная инфекция в зависимости от вирулентности МБТ [15–17]. В морфологическом дискурсе речь идет об эволюции гранулем — их формировании, созревании и распаде, аналогично тому, как это происходит у человека. Эксперименты с кроликом как с достаточно крупным лабораторным животным позволяют провести надежный мониторинг патофизиологических изменений с самого начала инфекционного процесса и вплоть до его завершения, даже не прибегая к эвтаназии [18].

Согласно нашим наблюдениям, при внутрибрюшинном заражении МБТ у кроликов с интактным иммунным статусом развивается не ТП, а туберкулезное воспаление легких и лимфатических узлов средостения. Заболевает лишь половина зараженных животных, причем изменения в легких и лимфоузлах носят у них переходящий характер и спустя 1,5 месяца после заражения сходят на нет. Наряду с исчезновением воспалительных изменений в этих органах исчезают и МБТ. Отсутствие воспалительных изменений в брюшной полости является следствием того, что серозная оболочка фигурирует в патологическом процессе как механический барьер, роль которого играет, к примеру, большой сальник, самостоятельно ограничивающий воспалительные очаги в брюшной полости, и как орган гуморальной и клеточной защиты *sui generis*.

В настоящее время общепризнано, что инвазии микроорганизмов в брюшной полости противостоят три клеточные системы: лимфоциты, мезотелиоциты и перитонеальные макрофаги, обеспечивающие первую линию защиты через фагоцитарную активность и выработку воспалительных цитокинов [19]. Защитную роль играет и секреторная функция мезотелия, наблюдаемая в нормальных и патологических условиях [20], благодаря которой МБТ высвобождаются в свободную брюшную полость, где погибают в экссудате, содержащем комплемент, свободные антитела, перитонеальные макрофаги и нейтрофильные лейкоциты, которые в совокупности обеспечивают его бактериостатические и бактерицидные свойства. Иными словами, мы рассматриваем брюшину не как морфологически сложившееся статически постоянное образование, а в качестве органа гуморального и клеточного иммунитета [21].

Очевидно, что физиологическая активность перитонеальных макрофагов играет далеко не последнюю роль в реализации защитных свойств брюшины, так как в условиях ее подавления инфликсимабом (ингибитором TNF $\alpha$ ) и «перегрузки железом» нам удалось воспроизвести хронически прогрессирующий ТП с формированием альтеративных и гранулематозных изменений на фоне размножения МБТ. Говоря о значении защитных реакций в патогенезе ТП, мы имеем в виду не только фагоцитоз возбудителей макрофагами, но и дальнейшую судьбу тех и других. В цитоплазме макрофагов МБТ частично или полностью погибают, сами же пораженные клетки удаляются в процессе физиологического очищения: из брюшины в результате секреции в свободную брюшную полость, а из легких — клиренсом.

Таким образом, для развития ТП, помимо наличия этиологического фактора в брюшной полости, необходима инактивация перитонеальных макрофагов и регулирующих цитокинов, главным из которых является TNF $\alpha$ . Последний важен для защиты от туберкулеза и у людей. Он выполняет множество иммунорегуляторных функций,



Рис. 4. Схема патогенеза туберкулезного перитонита

включая раннюю индукцию хемокинов, приводящую к привлечению лейкоцитов, а также принимает участие в морфогенезе гранул, которые являются обязательной морфологической структурой любого микобактериального заболевания у человека [22, 23].

Генетические исследования показали, что значительно влияют на восприимчивость (соответственно устойчивость) к туберкулезу toll-подобные рецепторы, например такие, как TLR-2. Варианты их полиморфизма изучали в основном при легочном туберкулезе, однако обнаружена существенная связь между полиморфизмом TLR-2 Arg753Gln и частотой развития ТП. Это свидетельствует о том, что лица с генетическим полиморфизмом части Arg753Gln TLR-2 находятся в зоне повышенного риска возникновения ТП [24].

Наше экспериментальное моделирование ТП позволило выявить ряд важных особенностей его патогенеза.

1. При использовании ингибитора TNF $\alpha$  и сахарозного комплекса гидроксида железа (III) у всех животных закономерно развивается распространенное активно прогрессирующее туберкулезное воспаление брюшины с преобладанием гранулематозно-некротических изменений, местами переходящих в казеоз. О его массивном характере можно судить по тому, что помимо париетальной брюшины и большого сальника туберкулезное воспаление охватывает висцеральную брюшину брыжейки и петель кишечника.

2. При описанном способе моделирования ТП развивается также деструктивный туберкулез легких с лимфаденопатией внутригрудных и внутрибрюшных лимфатических узлов, в которых обнаруживаются

специфические гранулематозные и неспецифические гиперпластические изменения.

3. Другие органые поражения гематогенного генеза (печени, селезенки, почек) встречаются при данном способе моделирования ТП лишь в единичных случаях как свидетельство гематогенной генерализации инфекции.

На нашей экспериментальной модели ТП надежно воспроизведены клинко-морфологические и патогенетические особенности туберкулезного поражения брюшины у человека. Их можно наблюдать при гематогенной диссеминации легочного туберкулеза, развивающегося на том или ином коморбидном фоне, когда имеется нарушение местного иммунитета брюшины и/или развивается общая иммуносупрессия.

По данным литературы и собственных клинических наблюдений, туберкулез брюшины развивается при беременности, у больных сахарным диабетом, при циррозе печени, болезнях сердца и сосудов, сопровождающихся асцитом, при перитонеальном диализе, при врожденных и приобретенных иммунодефицитах.

Беременность всегда сопровождается иммуносупрессией, связанная со сложной системой иммунологического взаимодействия матери и плода. Прогестерон и кортизол, уровни которых повышаются при беременности, подавляют Т- и В-клеточный иммунитет, и после разрешения беременности, ко 2–3 месяцу после родов наступает истощение пула агранулоцитов [25]. Оно затрагивает количество и активность перитонеальных макрофагов, на что указывает частота развития ТП в первые месяцы после рождения ребенка.

У больных сахарным диабетом, как в фазе декомпенсации углеводного обмена, так и при достижении компенсации отмечается достоверное повышение спонтанной и снижение индуцированной продукции IL1 и TNF $\alpha$  мононуклеарами периферической крови по сравнению со здоровыми лицами [26], что приводит к нарушению морфогенеза гранулем и снижает их устойчивость. Это объясняет случаи выявления ТП у таких больных.

Длительно существующий асцит при вышеперечисленной патологии, а также при канцероматозе приводит к хроническому асептическому воспалению брюшины, при исходе которого значительно уменьшается численность макрофагов, в том числе перитонеальных, и снижается локальная концентрация TNF $\alpha$  [27].

Напрямую связан с развитием туберкулеза брюшины и хронический перитонеальный диализ. Диализные растворы содержат повышенную концентрацию глюкозы и имеют нефизиологичное значение pH, что влечет за собой нарушение функциональной активности фагоцитов и лимфоцитов в брюшине [28].

Иммунодефицитные состояния, как врожденные, так и приобретенные, в том числе после применения иммуномодулирующих препаратов (ингибиторы TNF $\alpha$ ) и глюкокортикостероидов, влекут за собой снижение числа агранулоцитов и синтеза TNF $\alpha$ . Низкие концентрации TNF $\alpha$  и инактивация макрофагов в брюшине напрямую

способствуют развитию ТП. И, конечно, пусковым звеном в патогенезе туберкулеза брюшины может стать ВИЧ-инфекция с характерной для нее иммуносупрессией [29, 30].

Анализируя результаты нашего эксперимента и принимая во внимание клинические наблюдения и данные литературы, можно предложить следующую схему патогенеза ТП у человека. Стрессорные воздействия, такие как недоедание, беременность, внезапная смена социального статуса, иммуносупрессивные заболевания и др., приводят к реактивации первичного туберкулезного очага с деструкцией ранее образованных гранулем и лимфогематогенным распространением МБТ [31]. Анатомическая область, где развивается вторичный очаг внелегочной туберкулезной инфекции, напрямую зависит не только от особенностей микроциркуляции в данном регионе, но и от местной иммунной защиты (местного иммунитета по А. М. Безредка). Так, для брюшины таким необходимым и достаточным условием развития вторичного очага является уменьшение численности пула перитонеальных макрофагов и снижение цитокиновой продукции. Схема патогенеза ТП представлена на рис. 4.

## Выводы

Клинические проявления, методы выявления, диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания хорошо изучены и полноценно освещены в научно-медицинской литературе. Туберкулез в основном поражает легочную паренхиму, в то же время при определенных условиях, связанных с изменениями местного и гуморального иммунитета, процесс может локализоваться практически во всех органах и тканях человека. Предметом описания оказывается, как правило, активно прогрессирующий туберкулез легких, в то время как внелегочным проявлениям инфекции с тяжелыми деструктивными изменениями уделяется существенно меньше внимания. Последние десятилетия около 15% случаев выявленного туберкулеза во всем мире являются внелегочными. Их клиническая диагностика чревата объективными трудностями, поскольку при внелегочном туберкулезе результаты золотого стандарта диагностики — выявления МБТ в мокроте часто оказываются отрицательными. И самым парадоксальным образом наличие *M. tuberculosis* во внелегочных очагах зачастую вызывает широкий спектр неспецифических симптомов, тем самым создавая дополнительные трудности диагностики. Одной из таких сложных для диагностики и лечения внелегочных форм туберкулеза является ТП. В проведенной работе экспериментально показана роль перитонеальных макрофагов в формировании местного протективного иммунитета, а также TNF $\alpha$  в обеспечении гуморального звена защитных процессов. Полученные данные позволяют улучшить понимание особенностей современного патогенеза туберкулезного перитонита, разработать диагностические критерии и лечебную, в том числе хирургическую тактику ведения таких пациентов.

## Литература

- Behr MA, Edelstein PH, Ramakrishnan L. Is Mycobacterium tuberculosis infection life long? BMJ. 2019; 367: l5770. PubMed PMID: 31649096. DOI: 10.1136/bmj.l5770.
- WHO. Global Tuberculosis Report 2020. World Health

- Organization, Geneva, 2020. Available at: [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en).
- Мирзоян Э. З. Туберкулез кишечника и брюшины. В книге: В. Л. Эйнис, редактор. Многоотомное руководство по

- туберкулезу. Т. 3. М.: Медгиз, 1960; с. 125–146.
4. Оносовский В. В. О лечении туберкулезного перитонита у детей, по материалам Ольгинской детской больницы в Москве за 36 лет. Проблемы туберкулеза. 1923; 5–6 (1): 148–155.
  5. Савоненкова Л. Н., Арямкина О. Л. Патогенез и морфогенез абдоминального туберкулеза с поражением гастроинтестинального тракта. Нижегородский медицинский журнал. 2006; 2: 89–94.
  6. Dülger AC, Karadaş S, Mete R, Türkdöğän MK, Demirkıran D, Gültepe B. Analysis of cases with tuberculous peritonitis: a single-center experience. *Turk J Gastroenterol.* 2014; 25 (1): 72–8. PubMed PMID: 24918135. DOI: 10.5152/tjg.2014.5145.
  7. Беллендир Э. Н. Патогенез внепеченочных локализаций туберкулеза. В книге: А. В. Васильев, редактор. Внепеченочный туберкулез. СПб., 2000; с. 36–48.
  8. Singh MM, Bhargava AN, Jain KP. Tuberculous peritonitis. An evaluation of pathogenetic mechanisms, diagnostic procedures and therapeutic measures. *N Engl J Med.* 1969; 281 (20): 1091–4. PubMed PMID: 5824174. DOI: 10.1056/NEJM196911132812003.
  9. Безредка А. М. Очерки по иммунитету. М–Л., 1929; 267 с.
  10. Кишенский Д. Н. Влияние чревосечения на туберкулез брюшины. Экспериментальное исследование [диссертация]. М.: Товарищество типографии А. И. Мамонова, 1894; 82 с.
  11. Lurie MB. The fate of tubercle bacilli in the organs of reinfected rabbits. *J Exp Med.* 1929; 50 (6): 747–765. PubMed PMID: 19869661. DOI: 10.1084/jem.50.6.747.
  12. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168 (9): 4620–7. PubMed PMID: 11971010. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4620.
  13. Brissoit E, Bernard DG, Loréal O, Brissoit P, Troadec MB. Too much iron: A masked foe for leukemias. *Blood Rev.* 2020; 39: 100617. PubMed PMID: 31753415. DOI: 10.1016/j.blre.2019.100617.
  14. Шёкунова Е. В., Ковалева М. А., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос для. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020; 10 (1): 19–28. DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28.
  15. Земскова З. С., Ариэль Б. М., Бабаева И. Ю., Ерохин В. В., Зюзя Ю. Р., Лепеха Л. Н. Туберкулез (вклад отечественных ученых XX столетия в развитие фтизиатрии). М.: Изд-во Сеченовского университета, 2020; 352 с.
  16. Шепелькова Г. С., Евстифеев В. В., Апт А. С. Исследование молекулярных механизмов патогенеза туберкулеза на экспериментальных моделях. Туберкулез и болезни легких. 2012; 89 (7): 3–11.
  17. Singhal A, Aliouat el M, Hervé M, Mathys V, Kiass M, Creusy C. et al. Experimental tuberculosis in the Wistar rat: a model for protective immunity and control of infection. *PLoS One.* 2011; 6 (4): e18632. PubMed PMID: 21533270. DOI: 10.1371/journal.pone.0018632.
  18. Graur D, Duret L, Gouy M. Phylogenetic position of the order Lagomorpha (rabbits, hares and allies). *Nature.* 1996; 379 (6563): 333–5. PubMed PMID: 8552186. DOI: 10.1038/379333a0.
  19. Буянов В. М., Родман Г. В., Белоус Г. Г. Экспериментальная модель острого гнойного перитонита. Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. 1997; 1: 25–28.
  20. Knutsen KM, Skuterud B, Halvorsen S. Hemoperfusjon ved forgiftninger [Hemoperfusion in poisoning]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1979; 99 (3): 172–4. PubMed PMID: 419497.
  21. Dobbie JW. Serositis: comparative analysis of histological findings and pathogenetic mechanisms in nonbacterial serosal inflammation. *Perit Dial Int.* 1993; 13 (4): 256–69. PubMed PMID: 8241326.
  22. Mohan VP, Scanga CA, Yu K, Scott HM, Tanaka KE, Tsang E, et al. Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: possible role for limiting pathology. *Infect Immun.* 2001; 69 (3): 1847–55. PubMed PMID: 11179363. DOI: 10.1128/IAI.69.3.1847-1855.2001.
  23. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168 (9): 4620–7. PubMed PMID: 11971010. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4620.
  24. Saleh MA, Ramadan MM, Arram EO. Toll-like receptor-2 Arg753Gln and Arg677Trp polymorphisms and susceptibility to pulmonary and peritoneal tuberculosis. *APMIS.* 2017; 125 (6): 558–64. PubMed PMID: 28332241. DOI: 10.1111/apm.12680.
  25. Алешкин В. А., Ложкина А. Н., Загородняя Э. Д. Иммунология репродукции. Чита, 2004; 79 с.
  26. Крекова Ю. В. Изменение функционального состояния иммунной системы у больных различными типами сахарного диабета [диссертация]. 2002; 122 с.
  27. Шаталин Ю. В., Наумов А. А., Поцелуева М. М. Изменение состава клеточных популяций и уровня активных форм кислорода в крови и асцитической жидкости опухоленосителя. Цитология. 2010; 52 (2): 131–35.
  28. Rohit A, Abraham G. Peritoneal dialysis related peritonitis due to Mycobacterium spp.: A case report and review of literature. *J Epidemiol Glob Health.* 2016; 6 (4): 243–8. PubMed PMID: 27443487. DOI: 10.1016/j.jegh.2016.06.005.
  29. Pornprasert S, Leechanachai P, Klinbuayaem V, Leenasirimakul P, Promping C, Inta P, et al. Unmasking tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-1 infection after antiretroviral therapy. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2010; 28 (2–3): 206–9. PubMed PMID: 21038792.
  30. Roth S, Delmont E, Heudier P, Kaphan R, Cua E, Castela J, et al. Anticorps anti-TNF alpha (infliximab) et tuberculose: à propos de trois cas [Anti-TNF alpha monoclonal antibodies (infliximab) and tuberculosis: apropos of 3 cases]. *Rev Med Interne.* 2002; 23 (3): 312–6. PubMed PMID: 11928379. DOI: 10.1016/s0248-8663(01)00556-2.
  31. Moule MG, Cirillo JD. Mycobacterium tuberculosis Dissemination Plays a Critical Role in Pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 10: 65. PubMed PMID: 32161724. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00065.

## References

1. Behr MA, Edelstein PH, Ramakrishnan L. Is Mycobacterium tuberculosis infection life long? *BMJ.* 2019; 367: i5770. PubMed PMID: 31649096. DOI: 10.1136/bmj.i5770.
2. WHO. Global Tuberculosis Report 2020. World Health Organization, Geneva, 2020. Available at: [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en).
3. Mirzojan JeZ. Tuberkulez kishchchnika i brjushiny. V knige: V. L. Jejnıs, redaktor. Mnogotomnoe rukovodstvo po tuberkulezu. T. 3. M.: Medgiz, 1960; s. 125–146. Russian.
4. Оносовский В. В. О лечении туберкулезного перитонита у детей, по материалам Ольгинской детской больницы в Москве за 36 лет. Проблемы туберкулеза. 1923; 5–6 (1): 148–155. Russian.
5. Savonenkova LN, Arjamkina OL. Patogenez i morfogenez abdominal'nogo tuberkuleza s porazheniem gastrointestinal'nogo trakta. *Nizhegorodskij medicinskij zhurnal.* 2006; 2: 89–94. Russian.
6. Dülger AC, Karadaş S, Mete R, Türkdöğän MK, Demirkıran D, Gültepe B. Analysis of cases with tuberculous peritonitis: a single-center experience. *Turk J Gastroenterol.* 2014; 25 (1): 72–8. PubMed PMID: 24918135. DOI: 10.5152/tjg.2014.5145.
7. Bellendir JeN. Patogenez vnelegochnyh lokalizacij tuberkuleza. V knige: A. V. Vasil'ev, redaktor. Vnelegochnyj tuberkulez. SPb., 2000; s. 36–48. Russian.
8. Singh MM, Bhargava AN, Jain KP. Tuberculous peritonitis. An evaluation of pathogenetic mechanisms, diagnostic procedures and therapeutic measures. *N Engl J Med.* 1969; 281 (20): 1091–4. PubMed PMID: 5824174. DOI: 10.1056/NEJM196911132812003.
9. Bezredka AM. Oчерki po immunitetu. M–L., 1929; 267 с. Russian.

10. Kishenskij DN. Vlijanie chrevosechenija na tuberkulez brjushiny. Jeksperimental'noe issledovanie [dissertacija]. M.: Tovarishestvo tipografii A. I. Mamontova, 1894; 82 c. Russian.
11. Lurie MB. The fate of tubercle bacilli in the organs of reinfected rabbits. *J Exp Med.* 1929; 50 (6): 747–765. PubMed PMID: 19869661. DOI: 10.1084/jem.50.6.747.
12. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168 (9): 4620–7. PubMed PMID: 11971010. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4620.
13. Brissot E, Bernard DG, Loréal O, Brissot P, Troadec MB. Too much iron: A masked foe for leukemias. *Blood Rev.* 2020; 39: 100617. PubMed PMID: 31753415. DOI: 10.1016/j.blre.2019.100617.
14. Shekunova EV, Kovaleva MA, Makarova MN, Makarov VG. Vybór dozy preparata dlja doklinicheskogo issledovanija: mezhdvidovoj perenos doz. *Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primenenija.* 2020; 10 (1): 19–28. DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28. Russian.
15. Zemskova ZS, Arijel BM, Babaeva IJu, Erohin VV, Zjuzja JuR., Lepcha LN. Tuberkulez (vklad otechestvennyh uchenyh HH stoletija v razvitie ftiziatrii). M.: Izd-vo Sechenovskogo universiteta, 2020; 352 s. Russian.
16. Shepelkova GS, Evstifeev VV, Apt AS. Issledovanie molekularnyh mehanizmov patogeneza tuberkuleza na jeksperimental'nyh modeljah. *Tuberkulez i bolezni legkih.* 2012; 89 (7): 3–11. Russian.
17. Singhal A, Aliouat el M, Hervé M, Mathys V, Kiass M, Creusy C. et al. Experimental tuberculosis in the Wistar rat: a model for protective immunity and control of infection. *PLoS One.* 2011; 6 (4): e18632. PubMed PMID: 21533270. DOI: 10.1371/journal.pone.0018632.
18. Graur D, Duret L, Gouy M. Phylogenetic position of the order Lagomorpha (rabbits, hares and allies). *Nature.* 1996; 379 (6563): 333–5. PubMed PMID: 8552186. DOI: 10.1038/379333a0.
19. Bujanov VM, Rodoman GV, Belous GG. Jeksperimental'naja model' ostrogo gnojnogo peritonita. *Hirurgija. Zhurnal im. N. I. Pirogova.* 1997; 1: 25–28. Russian.
20. Knutsen KM, Skuterud B, Halvorsen S. Hemoperfusjon ved forgiftninger [Hemoperfusion in poisoning]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1979; 99 (3): 172–4. PubMed PMID: 419497.
21. Dobbie JW. Serositis: comparative analysis of histological findings and pathogenetic mechanisms in nonbacterial serosal inflammation. *Perit Dial Int.* 1993; 13 (4): 256–69. PubMed PMID: 8241326.
22. Mohan VP, Scanga CA, Yu K, Scott HM, Tanaka KE, Tsang E, et al. Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: possible role for limiting pathology. *Infect Immun.* 2001; 69 (3): 1847–55. PubMed PMID: 11179363. DOI: 10.1128/IAI.69.3.1847-1855.2001.
23. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168 (9): 4620–7. PubMed PMID: 11971010. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4620.
24. Saleh MA, Ramadan MM, Arram EO. Toll-like receptor-2 Arg753Gln and Arg677Trp polymorphisms and susceptibility to pulmonary and peritoneal tuberculosis. *APMIS.* 2017; 125 (6): 558–64. PubMed PMID: 28332241. DOI: 10.1111/apm.12680.
25. Aleshkin VA, Lozhkina AN, Zagorodnjaja JeD. *Immunologija reprodukcii.* Chita, 2004; 79 s. Russian.
26. Krekova JuV. *Izmenenie funkcional'nogo sostojanija immunnoj sistemy u bol'nyh razlichnymi tipami saharanogo diabeta [dissertacija].* 2002; 122 s. Russian.
27. Shatalin JuV, Naumov AA, Pocolueva MM. *Izmenenie sostava kletochnyh populjacij i urovnja aktivnyh form kisloroda v krvi i asciticheskoj zhidkosti opuholenositelja.* *Citologija.* 2010; 52 (2): 131–35. Russian.
28. Rohit A, Abraham G. Peritoneal dialysis related peritonitis due to *Mycobacterium* spp.: A case report and review of literature. *J Epidemiol Glob Health.* 2016; 6 (4): 243–8. PubMed PMID: 27443487. DOI: 10.1016/j.jegh.2016.06.005.
29. Pomprasert S, Leechanachai P, Klinbuayaem V, Leenasirimakul P, Promping C, Inta P, et al. Unmasking tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-1 infection after antiretroviral therapy. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2010; 28 (2–3): 206–9. PubMed PMID: 21038792.
30. Roth S, Delmont E, Heudier P, Kaphan R, Cua E, Castela J, et al. Anticorps anti-TNF alpha (infliximab) et tuberculose: à propos de trois cas [Anti-TNF alpha monoclonal antibodies (infliximab) and tuberculosis: apropos of 3 cases]. *Rev Med Interne.* 2002; 23 (3): 312–6. PubMed PMID: 11928379. DOI: 10.1016/s0248-8663(01)00556-2.
31. Moule MG, Cirillo JD. *Mycobacterium tuberculosis Dissemination Plays a Critical Role in Pathogenesis.* *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 10: 65. PubMed PMID: 32161724. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00065.