

# ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Ліскіна І. В., Мельник О. О.

УДК 616-002. 592:611. 24:616. 091. 8

Ліскіна І. В., Мельник О. О.

## РОЗПОДІЛ МАКРОФАГІВ У ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОМАХ

### ЛЕГЕНЬ З РІЗНОЮ АКТИВНІСТЮ СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ

### ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

ДУ «Національний інститут фізичної та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

(м. Київ)

Дана робота виконана в межах НДР «Дослідити патологоанатомічні ознаки фази прогресування туберкульозу легень на тлі його патоморфозу»,

№ держ. реєстрації 0113U000263; 2013–2015 рр., одним із завдань якої було дослідити низку морфологічних ознак, характерних для сучасного прогресування туберкульозного запалення при різних формах легеневого туберкульозу у хворих на момент оперативного втручання.

**Вступ.** Туберкульоз залишається однією з найбільш розповсюджених інфекційних хвороб у світі, не дивлячись на значні успіхи у дослідженні патогенезу хвороби, лікуванні та боротьби з подолання її поширеності. Слід відмітити, що останні 15-20 років характеризуються принципово новими підходами при наукових дослідженнях як самого збудника туберкульозу, так і механізмів розвитку захворювання у людини. Одні з основних напрямків цих досліджень – поглиблене вивчення механізмів персистенції *M. Tuberculosis* в організмі хазяїна, тобто розвитку латентної інфекції, та патогенезу захворювання, які ґрунтуються на детальному вивченні впливу та взаємозв'язку низки біологічно активних речовин, що спричиняють розвиток місцевих клітинних імунологічних реакцій, детального вивчення розвитку гранульоматозної тканинної реакції як специфічної складової туберкульозного запального процесу. Але, по-перше, більшість таких досліджень проводиться в експерименті, що не дозволяє повністю екстраполювати отримані результати на організм людини, по-друге, відомо, що в переважній більшості випадків туберкульоз легень є вторинним типом захворювання, що теж далеко не завжди можливо відтворити в експерименті.

Успіхи імунологічних досліджень, впровадження їх в морфологію сприяли розвитку імуногістохімічних досліджень туберкульозу. Основний загальний науковий робіт присвячений вивченню розвитку туберкульозної гранульоми, а разом з тим – і ролі окремих типів клітин, залучених до клітинних реакцій

місцевого імунітету в легенях. Відомо, що основними ефекторними клітинами в реалізації імунної відповіді на появу збудника є макрофаги та лімфоцити. Розвиток імунологічних реакцій супроводжується й появою різних підтипів цих клітин внаслідок складних механізмів їх взаємовпливу і дії численних протианти-запальних цитокінів та інших біологічно активних речовин.

Макрофаги виступають у якості головної клітини-ніші для росту та виживаності мікобактерій. Водночас, ці клітини відповідальні за активацію захисної імунної реакції, як уродженого, так і набутого характеру, яка необхідна для контролю або знищення інфекції. Макрофаги, які походять з гемопоетичних клітин кісткового мозку, диференціюються з промоноцитів у зрілі моноцити в периферичній крові та в подальшому – в макрофаги, які мігрують у різні тканини, де вони підтримують тканинний гомеостаз або у значній кількості мігрують в осередки запалення при наявності інфекції [5, 8, 9].

Подальше диференціювання макрофагів у значній мірі залежить від локального оточення, яке включає їх тканинну локалізацію та оточуючі клітини, а також присутні численні фактори росту і цитокіни. Внаслідок експресії різних рецепторів клітинної мембрани, макрофаги розпізнають, зв'язують та поглинають чужорідні часточки, у тому числі – мікобактерії. Таким чином, запускається складний механізм контролю внутрішньоклітинного росту бацил за допомогою каскаду сигналів, які є результатом вивільнення розчинних та клітино-асоційованих антимікробних та уроджених імунних медіаторів [4].

На теперішній час за особливостями будови та функції розрізняють чотири основні типи макрофагів: типу I (класично активовані), типу II, альтернативно активовані та деактивовані макрофаги [3, 7]. Перші два типи макрофагів виказують виразну бактерицидну дію та виробляють про-запальні цитокіни, тоді як альтернативно активовані макрофаги характеризуються секрецією протизапальних

речовин, асоціюються із процесами загоєння тканини та гуморальною ланкою імунітету. Схожу дію спостерігають і у деактивованих макрофагів.

У перебігу туберкульозної інфекції спостерігають усі типи макрофагів, які першими реагують на появу *M. Tuberculosis* в організмі людини, та супроводжують усі етапи перебігу цієї патології. В літературі представлені лише поодинокі роботи щодо вивчення кількісного розподілу та локалізації макрофагів, переважно при деструктивних формах легеневого туберкульозу з бациловиділенням [2, 5]. Тоді як не менш важливе це питання при розвитку туберкульозом (Т), наразі як однієї з найбільш поширених форм ураження легень при туберкульозі серед дорослих осіб.

**Метою** даного дослідження було визначення локалізації та тенденцій щодо кількісного розподілу макрофагів відносно різних гістологічних структур легеневої тканини при туберкульозах легень з морфологічно різним ступенем активності специфічного запального процесу.

**Об'єкт і методи дослідження.** В дослідження увійшов операційний матеріал (фрагменти легеневої тканини – сегмент, сегменти або ціла частка легені), отриманий при оперативних втручаннях у 37 хворих на туберкульоз легень у формі туберкульозу або множинних туберкульозів. У 20 випадках при традиційному морфологічному дослідженні (фарбування зрізів тканини гематоксилін-еозин) був встановлений морфологічно високий ступінь активності запального процесу, а в інших 17 – помірно-низький ступінь активності. В 24 випадках мав місце діагноз солітарної (однієї) Т, а в 13 – діагностували множинні Т легені або обох легень.

Шматочки легеневої тканини площею середніх розмірів 1,5x1,8-2,0 см фіксували протягом 24-48 годин у нейтральному забуференому формаліні, здійснювали стандартну проводку та заливали у парафін. Виготовляли зрізи товщиною 5-6 мкм з наступним їх забарвленням оглядовою методикою гематоксилін-еозином та відповідні серійні зрізи товщиною 4 мкм – для подальшої імуногістохімічної (ІГХ) обробки.

ІГХ дослідження проводили з використанням автостейнеру AUTOSTAINER 360-2D виробництва компанії Thermo Fisher Scientific та реактивів компанії Thermo Fisher Scientific, у тому числі – моноклонального антитіла CD68/Macrophage Marker Ab-3, клон KP1; робоче розведення 1:8000. Застосована система візуалізації UltraVision Quanto, нова високочутлива система візуалізації на основі мікрополімеру виробництва компанії LabVision, яка дозволяє використовувати вищезазначене розведення, тоді як стандартним для зазначеного антитіла вважається розведення 1:2000. У якості контролю слугували серійні зрізи цих же випадків, але без додавання в процесі фарбування антитіла CD68.

Моноклональне антитіло CD68 є неспецифічним маркером гістіоцитів та макрофагів різних типів, у тому числі – їх попередників, моноцитів та гігантських багатоядерних клітин. Окрім того, встановлена

експресія CD68 й у фібробластах та ендотеліальних клітинах [6]. Але, не дивлячись на недоліки маркеру щодо його специфічності, він виказує високий рівень чутливості щодо експресії в клітинах моноцитарно-мієлоїдного ряду й широко застосовується для ідентифікації різних типів макрофагів, зокрема, є відомості, що піністі макрофаги, епітеліоїдні та гігантські багатоядерні клітини добре забарвлюються саме при застосуванні моноклонального антитіла CD68 [1]. Головним чином, для CD68, клон KP1, характерна цитоплазматична експресія, але має місце й незначний рівень мембранної експресії.

Результати ІГХ дослідження оцінювали, враховуючи відносну кількість (рівень експресії) та розподіл CD68+ позитивних клітин, з урахуванням різних їх типів, зокрема виділяли зрілі макрофаги типової будови (переважно це були піністі макрофаги), моноцити, епітеліоїдні клітини та гігантські багатоядерні клітини. Визначали їх локалізацію з урахуванням рівня експресії макрофагів різного типу. Для цього застосовували напівкількісний метод визначення експресії певного типу CD68+ клітин. Для епітеліоїдних клітин, типових макрофагів та моноцитів: при збільшенні мікроскопу 10x10 на 6-8 полів зору виділяли градацію «високий рівень» при наявності в усіх полях зору не менше 15-20 CD68+-клітин, «помірний рівень» – в більшості полів зору не менше 6-10 клітин та «низький» – при одиночних спостереженнях хоча б у половині полів зору, які досліджували. Для гігантських багатоядерних клітин – високий рівень експресії визначали при наявності 4-6 позитивно забарвлених клітин в 1 полі зору у більшості досліджень.

Слабку та помірну експресію маркеру в клітинах типу фібробластів (фіброцитів) або в клітинах судинних стінок не враховували.

В роботі використані мікроскопи Olympus CX21 та Olympus BX51 зі спеціальною цифровою камерою для мікроскопу Olympus DP73, з якої отримані мікрофотографії у ході дослідження. Робочі збільшення мікроскопічного аналізу – 10x10, 10x20.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

### **Результати досліджень та їх обговорення.**

Типові морфологічні ознаки туберкульозу легень з ознаками **прогресування** специфічного запального процесу характеризувалися наступними гістологічними проявами. Сама туберкульоза представляла крупний осередок некротичних мас, оточений капсулою, яка зазвичай містила вогнищеві клітинні скупчення нейтрофілів на межі некротичних мас та грануляційного шару капсули, виразний грануляційний шар з ознаками специфічності, та фіброзний шар. Досить часто спостерігали так звану крайову деструкцію – часткове відокремлення казеозно-некротичних мас від капсули Т, у поєднанні з нейтрофільними інфільтратами у цій ділянці. Останні можуть проникати вглиб некротичного вмісту або в грануляційний шар капсули. В грануляційному шарі, ближче до некрозу, була присутня значна кількість

епітеліоїдних клітин, часто – гігантські багатоядерні клітини. Фіброзний шар за товщиною менший, аніж грануляційний, та утворений переважно молодшою пухкою сполучною тканиною, з явищами ангіоматозу. До нього прилягають невеликі скупчення лімфоїдних клітин, але які не утворюють структур типу істинних лімфонодулів (відсутній центр розмноження). В перифокальних ділянках характерна наявність ексудативної реакції в альвеолах, ділянок дрібних ателектазів, присутність значної кількості гранульом з різним клітинним складом, з та без центрального некрозу. Гранульоми часто поєднані з вогнищами або тяжами пневмофіброзу. Характерною ознакою були субмікроскопічні фокуси специфічної пневмонії з центральним розпадом або типові сформовані туберкульозні вогнища як наслідок інкапсуляції ацинарної казеозної пневмонії. Досить частим спостереженням був активний специфічний бронхіоліт та/або бронхіт, які розвиваються біля Т.

При ІГХ дослідженні із застосуванням антитіла CD68 в серійних зрізах легеневої тканини виявлена надзвичайно велика кількість макрофагальних клітин різного типу. Причому простежувалися певні тенденції щодо їх локалізації та кількісного розподілу в тканині з присутністю туберкульоми.

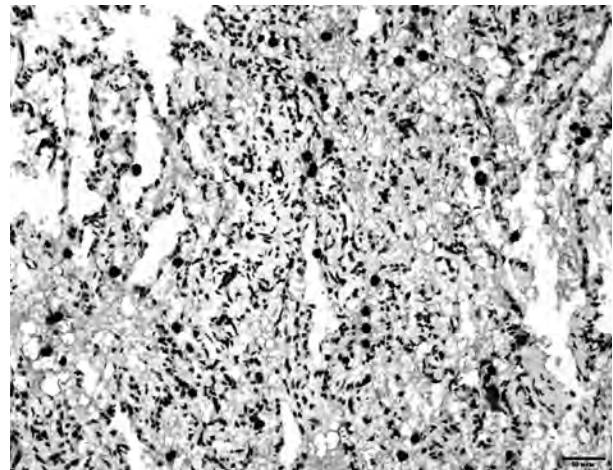
**Власне структура Т.** Її некротичні маси набувають нерівномірного світло-коричневого забарвлення, яке розцінювали як дифузно-вогнищеву слабку експресію CD68+, вірогідно, обумовлену залишковими фрагментами антигену зруйнованих макрофагів [2]. Зазначені казеозно-некротичні маси були оточені відносно рівномірної товщини вираженим шаром макрофагальних клітин з різною експресією CD68+, серед яких високий рівень демонстрували епітеліоїдні клітини, дещо менший – типові крупні макрофаги та зустрічалися багатоядерні клітини Пирогова-Лангханса. Візуально найбільша інтенсивність експресії CD68+ притаманна саме типовим макрофагам – округлим, досить крупним клітинам, з добре виразною зернистою цитоплазмою. Скупчення макрофагальних клітин поєднуються з грануляційним шаром капсули Т. Поза ним розміщується фіброзний шар, який може бути практично відсутнім, або ж перебувати на стадії формування, або демонструвати риси його тривалого існування. У фіброзному шарі типовим спостереженням була присутність значної кількості дифузно розсіяних моноцитів (високий рівень експресії), які візуально було важко відокремити від фібробластів, оскільки останні клітини також виказують позитивну експресію CD68+. Окрім того, у цьому шарі зустрічалися дрібні скупчення типових макрофагів та поодинокі гігантські багатоядерні клітини Пирогова. Зрідка спостерігали одиночні дрібні макрофагальні гранульоми без некрозу.

Характерною рисою є визначення численних, невеликих розмірів, скупчень зрілих лімфоцитів, серед яких визначається загалом низький рівень експресії CD68+ моноцитів та типових макрофагів. Такі скупчення безпосередньо прилягають до фіброзного шару капсули і можуть виявлятися ще в фіброзних

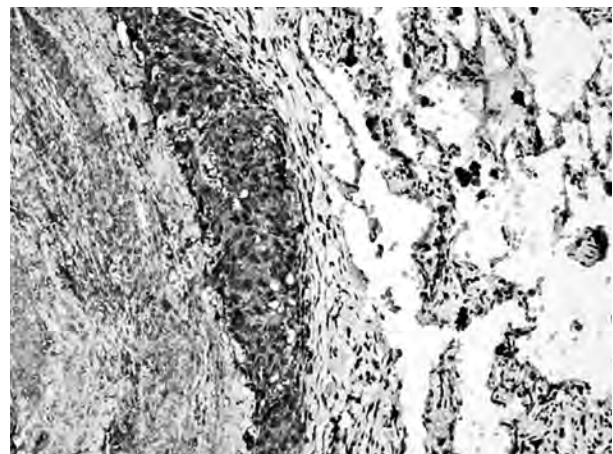
тяжах (осередках), які тягнуться від Т зовні у респіраторні ділянки легеневої тканини.

**Перифокальні ділянки легеневої тканини.** Типовим спостереженням були осередки ексудативної реакції в збережених альвеолах, найчастіше вони розташовані безпосередньо біля капсули Т. В таких осередках виявляються типові, а точніше – піністі макрофаги, у просвітах альвеол, серед фібринозного ексудату або вільно розташовані. В багатьох полях зору серед збережених альвеол переважали розсіяні одиночні макрофаги у значній кількості, але досить часто були наявні й помірні скупчення таких клітин (**рис. 1**). Тобто відмічали високий рівень експресії CD68+ типових макрофагів в альвеолярних ділянках.

Такий тип локалізації макрофагів спостерігали і в зонах ателектазу, які достатньо часто (9 випадків, 45%) виявлялися в легеневій тканині біля самої Т,

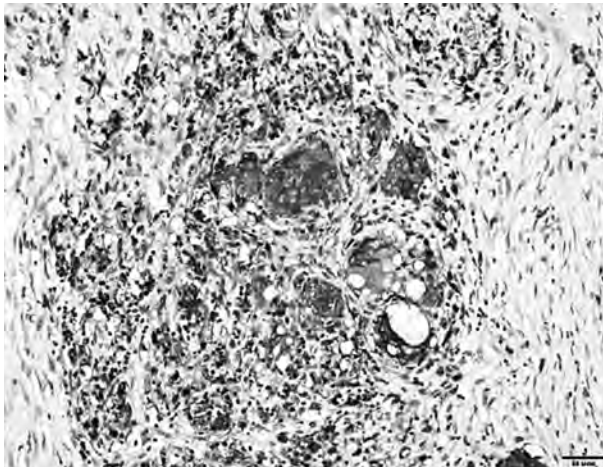


**Рис. 1.** Легенева тканина біля туберкульоми. Серед фібринозного ексудату в альвеолах виявляються поодинокі крупні округлі макрофаги з виразною експресією CD68+. ІГХ-фарбування з моноклональним антитілом до CD68. Зб.: x100.



**Рис. 2.** Фрагмент туберкульозного вогнища поза туберкульозною. Осередок некрозу оточений шаром з клітин-макрофагів CD68+, зовні до нього прилягають волокна сполучної тканини. ІГХ-фарбування з моноклональним антитілом до CD68. Зб.: x100.





**Рис. 3. Типова «зріла» макрофагальна гранулома серед розростань сполучної тканини в легеневій тканині біля туберкульоми. Спостерігаються численні CD68+ гігантські багатоядерні клітини у поєднанні з різними іншими типами макрофагальних клітин. ІГХ-фарбування з моноклональним антитілом до CD68. 36.: x100.**

де, відповідно, був ще вищим рівень експресії типових CD68+ макрофагів.

Досить часто (11 випадків, 55%) поблизу Т виявляються туберкульозні вогнища на різних стадіях розвитку, розмірами менше 1 см, але типові осередки гострої казеозної пневмонії ми не спостерігали. Найчастіше такі структури представлені крупним вогнищем некрозу, оточеним нерівномірним шаром з типових макрофагів та епітеліоїдних клітин (рис. 2), поза яким розташовані сполучнотканинні волокна, серед яких, як правило, присутні численні окремі багатоядерні клітини, з дифузно-вогнищевим розташуванням. Таким чином, спостерігали нерівномірну експресію CD68+ макрофагів різного типу.

Туберкульозні гранульоми виявлені у 15 випадках (75%), вони локалізувалися як у капсулі Т, так і у візуально мало зміненій легеневій тканині, зрідка гранульоми формували специфічні запальні осередки. Окрім того, при виявленні туберкульозних вогнищ, у 4 випадках (20%) безпосередньо по їх периферії також виявлялися гранульоми. Найчастіше це були дрібні макрофагальні гранульоми, з виразною експресією CD68+, в яких переважали типові макрофаги, могли бути гігантські багатоядерні клітини, а лімфоцити в невеликій кількості розміщувалися по периферії (рис. 3). Некротичні зміни в гранульомах зазначеного типу не спостерігали. Менш часто спостерігали типові епітеліоїдно-лімфоїдні гранульоми, у складі яких було також багато типових макрофагів та зустрічалися гігантські клітини.

У чотирьох випадках (20%) виявлені гранульоми з центральним некрозом, які локалізувалися серед мало змінених альвеол. У 5 випадках (25%) гранульоми взагалі були відсутні.

Що стосується повітряноносних структур, то у 5-х випадках (25%) у стінках бронхів виявлені ознаки специфічного продуктивного запалення – інфільтрації з типових макрофагів, гігантських багатоядерних

клітин серед лімфоцитів, а прояви специфічного бронхіоліту діагностували у 7-х (35%) випадках.

У групі спостережень Т з морфологічними ознаками затихання активності специфічного запалення, тобто з **помірно-низькою активністю** типові прояви були наступні. В самій Т практично не спостерігали скупчень нейтрофілів на межі некротичних мас та капсули, грануляційний шар був тонким та переривистим, а за товщиною переважав зовнішній фіброзний шар. Сполучна тканина, яка є основою фіброзного шару, складалася переважно з грубих колагенових волокон з ознаками їх часткової галінізації. Як і при активних туберкульозах, зовні до фіброзного шару прилягали невеликі скупчення лімфоцитів в більшості спостережень, 15 випадків (88%). Некротичний вміст Т часто був фрагментований – внаслідок ущільнення мас некрозу, або ж розвитку ділянок звапнення. В перифокальних до Т ділянках ексудативна реакція не виявлялася, або зрідка спостерігали залишкові її прояви. В легеневій тканині поблизу Т найчастіше зберігалися одиночні «старі» туберкульозні вогнища, тоді як одиночні гранульоми виявляли рідко, та зазвичай вони розташовувалися біля капсули Т або специфічних вогнищ, 4 спостереження (23,5%). Характерними ознаками були сполучнотканинні розростання помірної вираженості, як у вигляді осередків, так і тяжів. Невеличкі вогнища специфічних запально-клітинних інфільтратів виявлені в 3 спостереженнях (18%) у вигляді скупчень гранульом без некротичних проявів. Прояви специфічного бронхіоліту та/або бронхіту не спостерігали, в стінці бронхіол найбільш часто виявляли дифузну слабку інфільтрацію з моноцитів.

ІГХ дослідження дозволило уточнити кількісні особливості та локалізацію клітин макрофагального ряду в різних структурах тканини легень при стиханні специфічного запалення.

В структурі Т експресія некротичного вмісту практично не відрізнялася від такої при активному запальному процесі. Як вже згадувалося, грануляційний шар капсули був представлений нерівномірно, осередково, в останніх спостерігали багато типових макрофагів та епітеліоїдних клітин приблизно в однаковому кількісному співвідношенні, нерідко серед цих клітин виявлялися гігантські багатоядерні клітини. Усі ці клітини характеризувалися високим рівнем експресії CD68+. В 6 випадках (37,5%) грануляційний шар був відсутнім. В усіх спостереженнях з помірно-низькою активністю був добре представлений фіброзний шар капсули Т, серед сполучнотканинних волокон виявляли дифузну розсіяні моноцити з помірною експресією CD68+ та у меншій кількості – типові макрофаги, помірно-низький рівень експресії. Останні могли формувати невеличкі скупчення. У 8 випадках (50%) у цьому шарі виявлені одиночні дрібні макрофагальні гранульоми без некрозу або розсіяні гігантські багатоядерні клітини.

При згасанні активності запального процесу відмічено загалом суттєво меншу, порівняно до випадків з високою активністю, кількість невеличких скупчень малих лімфоцитів, прилеглих до капсули Т, які

Таблиця

**Особливості розподілу клітин макрофагального ряду та рівня експресії CD68+ при туберкульозах легень з різною активністю специфічного запалення**

Гістоструктура легеневої тканини	Клітини макрофагального ряду	Ступінь активності специфічного запального процесу	
		Високий	Помірно-низький
		Відносний рівень експресії CD68+	
Капсула туберкульозу			
Межа з некротичним вмістом та грануляційний шар	типів макрофаги	високий	нерівномірний, помірний
	епітеліодні клітини	високий	помірний
	гігантські багато-ядерні клітини	нерівномірна	низький
Фіброзний шар	типів макрофаги	нерівномірний, низький	низький
	моноцити	високий	помірно-низький
Перифокальна легенева тканина			
Мало змінені альвеоли	типів макрофаги (одиначні або невеличкі скупчення)	високий	помірний
Макрофагальні гранульози		часто зустрічаються	помірна кількість
Бронхи, бронхіоли	типів макрофаги	помірний	низький або відсутній
	моноцити	високий	помірно-низький

мали включення клітин макрофагального ряду, подібно до випадків з активним процесом. У 2 випадках лімфоїдноклітинні скупчення не виявлені.

**Перифокальні ділянки легеневої тканини.** Незважаючи на відсутність ексудату в альвеолах, в альвеолярних просвітах збережених альвеол практично в усіх випадках (100%) спостерігали нерівномірну помірну CD68+ експресію розсіяних типових макрофагів та осередки їх невеличких скупчень (3–8 клітин) в різній кількості. Кількість таких клітин закономірно зростала у ділянках ателектазу, які спостерігали рідко, у 4 випадках (23,5%) групи дослідження.

Поза Т виявляли туберкульозні вогнища на пізніх стадіях розвитку, розмірами менше 1 см, за структурою аналогічних тим, що виявлені й при активному запальному процесі. Але такі спостереження загалом були більш рідкі, порівняно з активним запальним процесом, усього 4 випадки (23,5%). Спостерігали більш виразний фіброзний шар навколо осередку некрозу, з формуванням прилеглих осередків фіброзу. Ще в 3-х випадках (18%) туберкульозні вогнища склалися зі скупчень відносно невеличких, переважно макрофагальних, гранулом (до 8–10 в одному осередку). Такі гранульози містили

включення гігантських клітин, не мали некротичних змін та характеризувалися розвитком сполучнотканинної капсули, з вогнищевою гіалінізацією колагенових волокон.

Туберкульозні гранульози спостерігали лише у 8 з 17 випадків (47%), тобто значно рідше ніж при Т легень з прогресуванням туберкульозного запалення. Зазвичай виявляли чітко окреслені дрібні, переважно макрофагальні, гранульози без некротичних змін, які характеризувалися високим рівнем експресії CD68+. В 3-х випадках спостерігали скупчення гранулом вищезазначеного клітинного складу, які ми розцінювали як вогнища специфічних запально-клітинних інфільтратів (вони описані вище), в інших 5-х випадках гранульози вільно розміщувалися серед мало змінених альвеол.

**Висновки.** Підсумовуючи отримані результати, можна зробити наступні узагальнення. Основними ділянками локалізації **типових** макрофагів з високим рівнем експресії CD68+ в самій туберкульозі є межа її некротичного вмісту з капсулою та грануляційний шар Т, а також гранульози, які можуть бути присутні в капсулі. Поза туберкульозу типові

макрофаги дифузно розсіяні в просторах збережених альвеол, або ж формують невеличкі скупчення, причому переважно в сусідніх альвеолах. Іншою характерною ознакою є наявність дрібних макрофагальних гранулом без некротичних змін, які можуть локалізуватися в специфічних запально-клітинних скупченнях, серед осередків фіброзу та зрідка – перибронхіально. При наявності туберкульозних вогнищ тривалого розвитку численні типові макрофаги та епітеліодні клітини формують внутрішній шар, який обмежує осередок некрозу, тоді як гігантські багатоядерні клітини переважають у зовнішньому фіброзному шарі, який оточує вогнище. Виявлені кількісні розбіжності рівня експресії CD68+ клітин макрофагального ряду залежно від характеру активності специфічного запального процесу представлені в **таблиці**.

**Перспективи подальших досліджень.** З метою поглиблення уявлень щодо особливостей місцевих імунних клітинних реакцій легеневої тканини при туберкульозному ураженні є доцільним комплексне імуногістохімічне дослідження з використанням панелі специфічних маркерів до основних клітин-учасників клітинних реакцій.

**Література**

1. Авербах М. М. Туберкулёзная гранулема. Современный взгляд на иммуногенез и клеточный состав / М. М. Авербах // Туберкулёз и болезни легких. – 2010. – №6. – С. 3–9.

2. Филоненко Т. Г. Локализация макрофагов при фиброзно-кавернозном туберкулёзе с активным бактериовыделением / Т. Г. Филоненко // Патология. – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 45–48.
3. Gordon S. Monocyte and macrophage heterogeneity / S. Gordon, P. R. Taylor // Nat. Rev. Immunol. – 2005. – Vol. 5. – P. 953–964.
4. Kaisho T. Critical roles of Toll-like receptors in host defense / T. Kaisho, S. Akira // Crit Rev Immunol. – 2000. – Vol. 20. – P. 393–405.
5. Guirado E. Macrophages in Tuberculosis: Friend or Foe / E. Guirado, L. S. Schlesinger, G. Kaplan // Semin Immunopathol. – 2013. – Vol. 35, № 5. – P. 563–583. doi:10. 1007/s00281-013-0388-2.
6. Macrophage specificity of three anti-CD68 monoclonal antibodies (KP1, EBM11, and PGM1) widely used for immunohistochemistry and flow cytometry / E. Kunisch, R. Fuhrmann [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2004. – Vol. 63. – P. 774–784.
7. Mosser D. M. The many faces of macrophage activation / D. M. Mosser // J. Leukoc. Biol. – 2003. – Vol. 73. – P. 209–212.
8. The Tuberculous Granuloma: An Unsuccessful Host Defence Mechanism Providing a Safety Shelter for the Bacteria? / M. S. Miranda, A. Breiman [et al.] // Clinical and Developmental Immunology. – 2012; 2012:139127. doi: 10. 1155/2012/139127. Режим доступу: <http://dx. doi. org/10. 1155/2012/139127>.
9. Van F. R. Quantitative study on the production and kinetics of mononuclear phagocytes during an acute inflammatory reaction / F. R. Van, Dulk M. C Diesselhoff-den, H. Mattie // J. Exp. Med. – 1973. – Vol. 138, № 6. – P. 1314–1330.

УДК 616-002. 592:611. 24:616. 091. 8

### **РОЗПОДІЛ МАКРОФАГІВ У ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОМАХ ЛЕГЕНЬ З РІЗНОЮ АКТИВНІСТЮ СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ** **Ліскіна І. В., Мельник О. О.**

**Резюме.** Проведене гістологічне дослідження з використанням імуногістохімічного методу для ідентифікації макрофагів різного типу дозволило встановити відносну кількість та особливості їх локалізації в легеневій тканині в умовах різної активності туберкульозного запального процесу при туберкульомах (Т) легень. Скупчення типових макрофагів характерні на межі некротичного вмісту Т та в її грануляційному шарі, поза Т вони виявляються в туберкульозних вогнищах, розсіяні в альвеолярних просторах, та входять до складу гранулом. Загалом при активному запаленні виявляється більша їх кількість, особливо в альвеолярних просторах. Епітеліоїдні клітини переважають в грануляційному шарі капсули. Гігантські багатоядерні клітини виявляються серед скупчень типових макрофагів та в фіброзних розростаннях. Найбільша кількість моноцитів локалізується в капсулі Т та у стінках бронхів/бронхіол при активному запаленні.

**Ключові слова:** туберкульома легень, активність туберкульозу, CD68+-макрофаги.

УДК 616-002. 592:611. 24:616. 091. 8

### **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОФАГОВ В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕМАХ ЛЕГКИХ С РАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ** **Лискина И. В., Мельник О. А.**

**Резюме.** Выполненное гистологическое исследование с применением иммуногистохимического метода для идентификации макрофагов разного типа позволило установить относительное количество и особенности их локализации в ткани легких с различной активностью туберкулезного воспалительного процесса при туберкулемах (Т) легких. Скопления типичных макрофагов характерны на границе некротического содержимого Т и в грануляционном слое, вне Т они обнаруживаются в туберкулезных очагах, рассеяны внутри сохранных альвеол, и входят в состав гранул. В целом, при активном воспалении отмечено большее их количество, чем при неактивном, особенно внутри альвеол. Эпителиоидные клетки преобладают в грануляционном слое капсулы. Гигантские многоядерные клетки локализуются среди скоплений типичных макрофагов и в фиброзных разрастаниях. Наибольшее количество моноцитов обнаруживается в капсуле Т и в стенках бронхов/бронхиол при активном воспалении.

**Ключевые слова:** туберкулема легких, активность туберкулеза, CD68+-макрофаги.

UDC 616-002. 592:611. 24:616. 091. 8

### **Distribution of Macrophages in the Lung Tissue at Pulmonary Tuberculomas with Different Activity of a Specific Inflammation on the Results of Immunohistochemical Study** **Liskina I. V., Melnyk O. A.**

**Abstract.** Tuberculosis remains one of the greatest threats to human health. Macrophages serve as the major host cell niche for the growth and survival of *M. Tuberculosis*. However, these cells are also responsible for activation of the protective immune responses, which are necessary to control or eliminate the infection.

Macrophages play an essential role in the formation of tissue tuberculous reactions. The macrophage population within these structures has a high turn-over rate and is diverse, including epithelioid cell, multinucleated giant cell and foamy cell phenotypes.

The aim of the work was to determine the localization of macrophages and tendencies of its quantitative distribution in the lung tissue at pulmonary tuberculomas (T) with different activity degree of specific inflammation.

The study was performed on serial sections of separate pieces of lung tissue on the material of 37 cases of surgically removed lung lobes or segments with the presence of T. Among them there were 20 cases with high degree activity of inflammation and 17 cases – with moderate or low degree of specific activity. The serial sections were staining with H&E and monoclonal antibody against CD68/Macrophage Marker Ab-3, (1:8000; KP1; Thermo Fisher).

The study revealed that the main locations of foamy or mature macrophages with high level of CD68+ expression include: border of necrotic masses and specific granulations in T, granulomas in capsule of T. Outside of T the foamy macrophages as a rule diffusely scattered in the alveoli or formed small clusters in the neighboring alveoli. Another specific sign is the presence of small non-necrotizing granulomas composed primarily of classic macrophages with a few lymphocytes and/or giant multinucleated cells and can to localize in specific granulation tissue, in fibrosis nodules and seldom in peribronchiolar spaces.

At presence of long-term tuberculous nodules the numerous classic macrophages and epithelioid macrophages formed it inner layer which limited necrotic focus, whereas many giant multinucleated cells are localized in the outer fibrotic layer. The last structure surrounds nodule. The quantitative differences of CD68+ expression level of different phenotypes of macrophages are found depending from activity degree of specific inflammation. The main of them – the quantity of typical macrophages, epithelioid cells and giant multinucleate cells in tuberculoma prevails at the high activity of specific inflammation as compared with low activity. The same quantitative relationships marked for monocytes in fibrous layer of tuberculoma. Outside tuberculoma at high activity of specific inflammation the foamy macrophages – dispersed or in small clusters in the alveoli revealed in larger amounts than in the moderate-low activity.

*Conclusion.* The quantitative relationships of different types of macrophages and it specific localization according to the activity degree of specific tuberculous inflammation in lung tissue with tuberculoma are elucidated.

**Keywords:** pulmonary tuberculoma, activity of tuberculosis, CD68+-macrophages.

*Рецензент – проф. Рекалова О. М.*

*Стаття надійшла 11. 12. 2014 р.*