

In the studded layer, in comparison with the intact epidermis of the corresponding region, in most cases there was a decrease in the number of cellular rows, which led to a decrease in the overall thickness of the epidermis. Above the studded layer in all observations, the stratum corneum scales, which form the most superficial stratum corneum, which correspond to practically complete maturation of the envelope epithelium at this stage of the reparative process, were determined. Like a studded, the horny layer often had a somewhat less thickness compared to a similar layer of an intact epidermis.

Determination of the proliferative activity of cellular elements in the area of the formed scar by the universal marker of proliferative activity Ki-67 did not allow to detect significant differences in the mitotic activity of cells of the basal layer of the envelope epithelium, and the intra nuclear expression of this marker was in approximately 30% of cells.

At the same time, directly into the cellular elements of the formed scar – fibroblasts, positive expression of this marker was practically not detected, which indirectly may indicate a maturing of the latter in specialized fibroblasts, the main function of which is collagen synthesis. This way it was the increase of the amount of collagen fibers. The positive reaction to Ki-67 was not noted in cell of walls of blood microvessels.

*Conclusions.* Thus, it was not noticeable changes in the intact derma surrounding forming scar. The most stereotypic changes were circulatory disorders in the form of hypertrophy of small venous vessels, small perivascular hemorrhages, and cellular reactions in the form small-lobe clumps of lymphocytes and plasma cells.

**Key words:** skin scars, immunohistochemical investigation, bruceogenic cysts.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.  
Стаття надійшла 20.04.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-2-144-319-324

УДК 616-002.592-097:612.215.3:576.852.211

*Кузовкова С. Д., Лускина И. В., Загаба Л. М.*

## **ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ M. TUBERCULOSIS И CD68+ КЛЕТОК В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ С ТУБЕРКУЛЕМОЙ**

**ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии  
им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины» (г. Киев)**

**kuzovkova@ifp.kiev.ua**

**Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами.** Работа выполнена в рамках НИР «Дослідити місцеві імуноморфологічні реакції легеневої тканини хворих при хронічному туберкульозному запаленні», № государственной регистрации 0116U000187, 2016-2018 гг. Одним из заданий НИР было – определить относительное количество и преимущественную локализацию микобактериальных антигенов в легочной ткани при туберкулемах легких с разной степенью активности туберкулезного воспалительного процесса.

**Вступление.** По разнообразию и особенностям патогенеза болезни туберкулемы (Тб) до сих пор остаются сложной и недостаточно изученной формой туберкулеза легких. В частности, до настоящего времени не определены влияние изменений эпидемиологической ситуации по туберкулезу на особенности клинического течения и своеобразии морфологических проявлений Тб [1]. Кроме того, проблема связана со значительным удельным весом случаев Тб в структуре современного легочного туберкулеза в странах постсоветского пространства, их возрастающей частотой и потенциальной опасностью к прогрессированию [2,3].

Туберкулема – это особая форма-фаза туберкулеза легких, характеризующаяся наличием в легком округлого образования, представляющего собой очаг инкапсулированного казеоза, величиной более 1 см. Чаще всего Тб легкого является результатом инволюции очага казеозной пневмонии, который впоследствии инкапсулируется [2].

Удельный вес Тб в структуре туберкулеза легких составляет более 10 %, отмечается рост данного показателя. В структуре химиорезистентного туберкулеза Тб

составляют 3,5-9,8 %. По результатам резекционного материала доля Тб достигает 18,3 % [2]. Условием развития хронической инфекции, к которой, безусловно, относится такая форма туберкулеза как туберкулема, является длительная персистенция возбудителя в организме человека, которая может быть связана как с особенностями самой микобактерии туберкулеза (МБТ), так и с нарушениями, вероятнее всего, местного иммунитета макроорганизма. Известно, что возбудитель туберкулеза обладает разнообразным спектром форм существования, чрезвычайно широкой вариабельностью морфологии (полиморфизмом) и широким диапазоном изменчивости биологических свойств (плеоморфизмом). Все эти свойства в конечном результате, приводят к успешному выживанию бактерии в макроорганизме и развитию хронических форм туберкулеза [4].

Установлено, что макрофаги (Мф) принимают самое непосредственное активное участие в защите организма человека от микобактерий. Они вовлечены в ранний неспецифический воспалительный ответ на инфекцию, в формирование специфического иммунного ответа, участвуют в клеточно-опосредованном иммунном ответе [5], что обуславливает их ключевую роль в уничтожении инфекции или, наоборот, в ее развитии.

В ряде исследований последних лет установлена важная роль пенистых макрофагов (ПМ), как в клеточном феномене персистенции микобактерий туберкулеза, так и в распространении туберкулезной инфекции. Доказано, что пенистые макрофаги утрачивают исходно присущую макрофагам фагоцитарную и бактерицидную активность, что позволяет МБТ пребывать в неактивном (дормантном) состоянии в этих

клетках. При этом липидные включения ПМ служат источником питательных веществ для МБТ [6].

Наличие и количество ПМ в легочной ткани во многом определяют риск прогрессирования заболевания в дальнейшем, в частности, их выраженное скопление в альвеолах может быть предвестником новой вспышки активности специфического процесса [7].

Иммуногистохимический (ИГХ) метод позволяет выявлять микобактериальные антигены (АГ МБТ) в различных клетках, в том числе и макрофагах, а также внеклеточно. Таким образом, возможно определять конкретные тканевые клеточные реакции на присутствие возбудителя или его антигенных детерминант [8].

Недавно было установлено, что антигены микобактерий туберкулеза обнаруживаются в цитоплазме CD68 + клеток, то есть, в пораженных тканях можно определять не только целые структуры бактерий, но и их фрагменты или даже их мельчайшие частички (клеточный детрит) [9].

Тем не менее, динамика и биологическое значение микобактериальных антигенов при длительном развитии туберкулезной инфекции в легочной ткани исследованы недостаточно [10]. Нет убедительных данных об их представленности и локализации при разной степени активности специфического воспаления, а также в условиях развития разных форм-фаз туберкулеза легких.

**Целью исследования** был анализ и сопоставление характера экспрессии микобактериальных антигенов и CD68 + клеток в различных структурах легочной ткани с туберкулезом при разной активности туберкулезного воспаления.

**Объект и методы исследований.** Материалом исследования послужили 34 резектата легких с наличием в них Тб. Предварительное гистологическое исследование проводили по традиционному окрашенному гематоксилином и эозином срезам ткани и на основе ряда ранее установленных морфологических признаков определяли степень активности специфического воспалительного процесса в каждом случае [11]. С учетом морфологической степени активности туберкулезного воспаления были сформированы 2 группы исследования. 1 группу составили 19 случаев с высокой степенью активности, 2-ю группу – 15 случаев с низкой степенью активности воспалительного процесса.

ИГХ исследование выполняли, используя последовательные серийные срезы парафиновых блоков каждого фрагмента (кусочка) легочной ткани с Тб. Были использованы два антитела (АТ), моноклональное АТ CD68 (Macrophage marker) Ab-3 (Clone KP1) производства компании Thermo Fisher Scientific (США) и поликлональное АТ к M. Tuberculosis (Mycobacterium tuberculosis Antibody PA1-7231) производства компании Pierce (США). ИГХ-окраску выполняли автоматическим способом, использован AUTOSTAINER 360-2D производства компании Thermo Fisher Scientific, система визуализации UltraVision Quanto. В качестве контроля служили серийные срезы этих же случаев, без добавления соответствующего АТ в процессе обработки.

Гистологическое исследование включало капсулу Тб, прилежащие к Тб участки легочной ткани, а имен-

но, зоны дистелектаза, визуально не измененные альвеолы, туберкулезные очаги, участки специфической пневмонии.

Микроскопирование препаратов осуществляли на световом микроскопе Olympus BX51, рабочие увеличения x200, x400. Количество иммунопозитивных CD68 клеток и АГ МБТ-содержащих клеток оценивали по условно принятой шкале: «мало» – 1-5 клеток; «умеренное количество» – 6-15 клеток; «много» – более 16 клеток в одном поле зрения при рабочем увеличении x400.

Полученные данные статистически обработаны методом вариационной статистики с использованием математических и статистических функций программы Microsoft Excel 2007. Статистическую значимость различий частоты встречаемости признаков оценивали с помощью критерия Пирсона  $\chi^2$ , а проверку наличия связи между переменными с помощью таблиц сопряжения [12].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты ИГХ исследования показали, что CD68+ клетки являются постоянным клеточным компонентом всех гистологических структур легочной ткани с Тб, независимо от степени активности специфического воспалительного процесса. Наибольшая частота выявления CD68+ макрофагов, округлых, достаточно крупных клеток, наблюдалась в грануляционном слое Тб, а вне Тб типичные Мф в значительном количестве наблюдались в просветах альвеол, в участках специфической пневмонии и туберкулезных очагах (**таблица 1**).

В капсуле Тб при морфологически высокой степени активности туберкулезного процесса (1 группа) CD68+ Мф выявлены во всех наблюдениях, а во 2 группе, при низкой степени активности специфического воспалительного процесса, – в (93,3 ± 6,4) % случаев. Частота случаев, когда в капсуле Тб 1 группы было выявлено «много» и «умеренное количество» CD68+ клеток, достоверно превышала аналогичный показатель 2 группы,  $p < 0,05$ . В зоне дистелектаза возле Тб в 1 группе макрофаги выявлены в (89,5 ± 7,0) % случаев, а во 2-й – в (73,3 ± 11,4) % случаев, однако, частота случаев когда в этой зоне было выявлено по 10–15 клеток и более, в 1 группе достоверно превышала соответствующий показатель 2 группы,  $p < 0,001$ . Внутри альвеол CD68+ макрофаги присутствовали во всех случаях обеих групп. В туберкулезных очагах CD68+ клетки, как правило, формировали внутренний слой, окружающий фокус некроза. В 1 группе они обнаружены в (52,6 ± 11,5) % случаев, а во 2 группе – в (46,7 ± 12,9) % случаев. И в альвеолах, и в туберкулезных очагах частота случаев, когда CD68+ макрофаги присутствовали в большом и умеренном количестве в 1 группе, была достоверно больше чем во 2 группе, по  $p < 0,05$ . В очагах специфической пневмонии 1 группы CD68+ клетки присутствовали в 8, (42,1 ± 11,3) % случаев, а во 2 группе участки специфической пневмонии отсутствовали.

Таким образом, установлено, что при снижении степени активности туберкулезного воспалительного процесса отмечается достоверное уменьшение относительного количества CD68+ макрофагов в капсуле Тб, зонах дистелектазов возле капсулы Тб, альвеолярных пространствах и туберкулезных очагах.

ИГХ исследование с применением АТ к микобактериям туберкулеза позволило выявить наличие и локализацию микобактериальных антигенов как вну-

Таблиця 1.

**Частота выявления относительного количества CD68 позитивных клеток и макрофагов с АГ МБТ в структурах легочной ткани при разной активности специфического воспаления, абс., (n = 34)**

Гистологическая структура	Относительное количество иммунопозитивных клеток						Всего	
	«Мало»		«Умеренное количество»		«Много»		CD68	АГ МБТ
	CD68	АГ МБТ	CD68	АГ МБТ	CD68	АГ МБТ		
Капсула Тб								
1 гр	1	1	6*	5***	12*	13***	19	19
2 гр	6	11	6	1	3	1	15	13
Зона дистелектаза								
1 гр	0	4	7***	5**	10***	7**	17	16
2 гр	5	7	3	1	2	1	10	9
Альвеолы								
1 гр	0	1	7*	6**	12*	12**	19	19
2 гр	5	8	8	6	2	1	15	15
Туберкулезные отсева								
1 гр	0	2	6*	5	4*	2	10	9
2 гр	4	7	2	0	1	0	7	7
Очаги специфической пневмонии								
1 гр	0	0	1	1	7	7	8	8

**Примечания:** \* – достоверность различий соответствующих показателей 1 и 2 групп,  $p < 0,05$ ; \*\* – достоверность различий соответствующих показателей 1 и 2 групп,  $p < 0,01$ ; \*\*\* – достоверность различий соответствующих показателей 1 и 2 групп,  $p < 0,001$ .

триклеточно (в макрофагах), в различных структурах легочной ткани, так и внеклеточно. В капсуле Тб 1 группы Мф с АГ МБТ выявлены во всех наблюдениях, а во 2 группе – в (86,7 ± 8,8) % случаев. Частота случаев, когда в капсуле Тб 1 группы было выявлено «много» и «умеренное количество» таких макрофагов, достоверно превышала аналогичный показатель 2 группы,  $p < 0,001$ . В зоне дистелектаза возле Тб в 1 группе инфицированные макрофаги выявлены в 16 (84,2 ± 8,4) % случаев, а во 2-й – в 9 (60,0 ± 12,6) % случаев, и частота случаев, когда в этой зоне было выявлено «много» и «умеренное количество» АГ МБТ позитивных клеток в 1 группе достоверно превышала соответствующий показатель 2 группы,  $p < 0,01$ . Внутри альвеол макрофаги с АГ МБТ присутствовали во всех случаях обеих групп, и также частота случаев, когда АГ МБТ позитивных клеток в альвеолах было «много» и «умеренное количество», в 1 группе была достоверно больше соответствующего значения во 2 группе,  $p < 0,01$ . В туберкулезных очагах инфицированные макрофаги присутствовали в 1 группе в 9 (47,4 ± 11,5) % случаев, во 2 – в 7 (46,7 ± 12,9) % случаев, причем в большинстве случаев 1 группы их было «много» и «умеренное количество», а во 2 группе во всех случаях их количество было незначительным. В очагах специфической пневмонии в 1 группе клетки с АГ МБТ+ присутствовали в 8, (42,1 ± 11,3) % случаев, во 2 группе участки специфической пневмонии отсутствовали.

Выполнен сравнительный анализ относительного количества CD68+ клеток и макрофагов с АГ МБТ в легочной ткани с Тб, результаты по случаям количественных совпадений представлены в **таблице 2**.

В капсуле Тб относительное количество CD68+ макрофагов и макрофагов с наличием АГ МБТ в 1 группе совпадало в 12, (63,2 ± 11,1) % случаях, по количеству: «умеренное количество» – 2, «много» – 10. Во 2 группе выявлено 6 совпадений, (40,0 ± 12,6) % случаев, все градации «мало».

В зоне дистелектаза возле Тб в 1 группе всего было 12 совпадений относительного количества CD68+ макрофагов и клеток с АГ МБТ, (63,2 ± 11,1) % случаев, а во 2 группе такие наблюдения отмечены в 4, (26,7 ± 11,1) % случаях, различие достоверно ( $\chi^2_{\text{расчет}} = 4,4803$ ,  $p < 0,05$ ). В этой же зоне легкого совпадений по отдельным градациям, в частности, по градации «много» в 1 группе было 7, (36,8 ± 11,1) %, тогда как во 2 группе – только 1, (6,7 ± 6,4) % подобное наблюдение, что достоверно

но меньше соответствующего показателя 1 группы ( $\chi^2_{\text{расчет}} = 4,2419$ ,  $p < 0,05$ ).

При изучении туберкулезных очагов, которые представляли собой участки казеозного некроза, окруженные грануляционным и соединительнотканым слоями, макрофаги обнаруживались преимущественно в специфических грануляциях. Случаев количественного совпадения CD68+ макрофагов и типичных макрофагов с наличием АГ МБТ в 1 группе было 8, (42,1 ± 11,3) % : «умеренное количество» – 6 и

Таблиця 2.

**Частота случаев обнаружения одинакового относительного количества CD68+ клеток и макрофагов с антигенами МБТ в структурах легочной ткани при разной активности специфического воспаления, (M ± m) %, (1 группа, n=19, 2 группа, n=15)**

Гистологическая структура	Относительное количество иммунопозитивных клеток			Всего
	«Мало»	«Умеренное количество»	«Много»	
Капсула Т				
1 гр	0	10,5 ± 7,0	52,6 ± 11,5	63,2 ± 11,1
2 гр	40,0 ± 12,6	0	0	40,0 ± 12,6
Альвеолы				
1 гр	0	26,3 ± 10,1	68,4 ± 10,7**	94,7 ± 5,1
2 гр	33,3 ± 12,2	33,3 ± 12,2	13,3 ± 8,8**	80,0 ± 10,3
Зона дистелектаза				
1 гр	5,3 ± 5,1	21,1 ± 9,4	36,8 ± 11,1*	63,2 ± 11,1*
2 гр	20,0 ± 10,3	0	6,7 ± 6,4*	26,7 ± 11,1*
Туберкулезные отсева				
1 гр	0	31,6 ± 10,7	10,5 ± 7,0	42,1 ± 11,3
2 гр	26,7 ± 11,4	0	0	26,7 ± 11,4
Очаги специфической пневмонии				
1 гр	0	10,5 ± 7,0	36,8 ± 9,4	47,4 ± 11,5

**Примечания:** \* – достоверность различий соответствующих показателей 1 и 2 групп,  $p < 0,05$ ; \*\* – достоверность различий соответствующих показателей 1 и 2 групп,  $p < 0,01$ .

**Частота случаев преобладания относительного количества CD68+ клеток по сравнению с макрофагами с АГ МБТ в структурах легочной ткани при разной активности специфического воспаления, (M ± m) %, (1 группа, n=19, 2 группа, n=15)**

Гистологическая структура	I	II	III	Всего
Капсула Т				
1 гр	0	5,3 ± 5,1	31,6 ± 10,7	36,8 ± 11,1
2 гр	33,3 ± 12,2	13,3 ± 8,8	0	46,7 ± 12,9
Альвеолы				
1 гр	5,3 ± 5,1	0	0	5,3 ± 5,1
2 гр	13,3 ± 8,8	6,7 ± 6,4	0	20,0 ± 10,3
Зона дистелектаза				
1 гр	10,5 ± 7,0	5,3 ± 5,1	5,3 ± 5,1	21,1 ± 9,4
2 гр	20,0 ± 10,3	6,7 ± 6,4	0	26,7 ± 11,4
Туберкулезные очаги				
1 гр	0	10,5 ± 7,0	0	10,5 ± 7,0
2 гр	13,3 ± 8,8	6,7 ± 6,4	0	20,0 ± 10,3

**Примечания:** I – «умеренное количество» CD68+ клеток и «мало» макрофагов с АГ МБТ; II – «много» CD68+ клеток и «мало» макрофагов с АГ МБТ; III – «много» CD68+ клеток и «умеренное количество» макрофагов с АГ МБТ.

«много» – 2, во второй группе – 4, (26,7 ± 11,1) %, все они соответствовали градации «мало».

В прилежащей к Тб легочной паренхиме только в 1 группе были выявлены различной величины фокусы специфической пневмонии, на разных стадиях ее развития, преимущественно продуктивного характера. Всего было 8 наблюдений (42,1 ± 11,3) %, и во всех этих случаях установлено совпадение относительного количества CD68+ макрофагов и типичных макрофагов с наличием АГ МБТ: «умеренное количество» – 2, «много» – 7.

Нами установлено, что в сохранных альвеолах возле Тб и на некотором удалении во всех случаях обеих групп присутствовали многочисленные вакуолизованные клетки, так называемые пенистые макрофаги. В альвеолах 1 группы относительное количество CD68+ клеток, в том числе – ПМ с АГ МБТ совпало в 18, (94,7 ± 5,1) % случаях: «умеренное количество» – 5, «много» – 13. Во 2 группе количество совпадений было 12, (80,0 ± 10,3) %: «мало» – 5 случаев, «умеренное количество» – 5, «много» – 2. Как видно из **таблицы 2**, среди случаев 1 группы преобладает градация «много», что достоверно больше по сравнению с соответствующим показателем 2 группы ( $\chi^2_{\text{расчет}} = 10,3178$ ,  $p < 0,01$ ).

Совпадение относительного количества выявленных CD68+ клеток и макрофагов с экспрессией АГ МБТ позволяет предположить, что подавляющее большинство обнаруженных в препаратах CD68+ макрофагов содержат на поверхности своей мембраны или внутриклеточно антигены микобактерий туберкулеза. Также установлено, что в препаратах 1 группы, практически во всех структурах легочной ткани при оценке количества иммунопозитивных клеток преобладает градация «много», а во 2 группе – градация «мало».

Проведен статистический анализ суммарных показателей обеих групп. Установлено, что частота совпадений относительного количества клеток с АГ МБТ и CD68+ макрофагов во всех структурах легочной ткани с Тб суммарно 1 группы достоверно превышает соответствующий показатель 2 группы ( $\chi^2_{\text{расчет}} = 9,4877$ ,  $p < 0,05$ ).

Указанный факт свидетельствует о том, что при морфологически высокой степени активности воспалительного процесса во всех участках пораженной легочной ткани преобладают именно инфицированные Мф. Основная функциональная активность таких макрофагов связана с фагоцитозом МБТ и их фрагментов. Тогда как при снижении активности воспаления, вероятно в ткани представлены Мф с различной функциональной активностью.

Проанализирована частота случаев, когда относительное количество CD68+ клеток превышало количество макрофагов с экспрессией АГ МБТ в соответствующих структурах легочной ткани, результаты представлены в **таблице 3**.

Согласно показателям **таблицы 3**, в капсуле туберкулемы 1 группы количество CD68+ клеток превышало количество инфицированных макрофагов в 7, (36,8 ± 11,1) % случаев, и во 2 группе почти в половине случаев – 7, (46,7 ± 12,9) %.

Во 2 группе в целом выявлено небольшое количество CD68+ макрофагов в разных структурах легочной ткани, во всех наблюдениях преобладала количественная градация – «мало».

В обеих группах в альвеолярных пространствах и туберкулезных очагах в незначительном количестве случаев наблюдалось преобладание по количеству CD68+ клеток над макрофагами с АГ МБТ, соответственно 1 (5,3 ± 5,1) % и 2 (10,5 ± 7,0) % случаях 1 группы и по 3, (20,0 ± 10,3) % случаев 2 группы.

В зоне дистелектаза почти в одной четверти случаев – 4, (21,1 ± 9,4) % 1 группы и 4, (26,7 ± 11,4) % случаев 2 группы наблюдалось большее количество CD68+ клеток по сравнению с макрофагами с экспрессией АГ МБТ: в обеих группах преобладали по частоте встречаемости наблюдения варианта: CD68+ клеток «умеренное количество» и макрофагов с АГ МБТ – «мало».

Как показали наши предыдущие исследования, при туберкулемах легких подавляющее большинство макрофагов с высоким уровнем экспрессии АГ МБТ располагается в грануляционном слое Тб и мало измененных альвеолах, расположенных на удалении от капсулы туберкулемы [10], основными зонами локализации типичных макрофагов с высоким уровнем экспрессии CD68+ в самой Тб является также грануляционный слой капсулы, а вне Тб – альвеолярные пространства сохранных альвеол [13]. То есть, отмечено совпадение локализации скоплений клеток, содержащих микобактерии и/или их антигены с расположением типичных тканевых макрофагов.

Изучение серийных срезов легочной ткани с туберкулемой при разной степени активности туберкулезного воспаления показало, что, независимо от степени активности воспаления, практически все CD68+ макрофаги, которые находятся в альвеолах, содержат микобактериальные антигены. В грануляционном слое капсулы Тб в значительном количестве, в 7, (36,8 ± 11,1) % случаев 1 группы и в 7, (46,7 ± 12,9) % случаев 2 группы, количество CD68+ клеток превышало количество Мф с АГ МБТ. Вероятно, это свидетельствует о том, что этот слой капсулы Тб содержит Мф разных фенотипов, функциональная роль которых различна

[5]. Результати можна пояснити наступним образом. Відомо, що пул тканинних макрофагів крайне неодноріден. В наші часи виділяють, по меншій мірі, 4 типи макрофагів – тип I (класически активовані), тип II (врожденно активовані), альтернативно активовані та дезактивовані макрофаги. Всі вони в різній ступені представлені при туберкульозному запаленні. Високою бактерицидною активністю володіють перші два типи макрофагів, тоді як третій та четвертий типи асоціюються з протизапальною реакцією та процесами репарації [5]. Можливо передбачити, що в альвеолах скапливаються саме макрофаги I та II типів, враховуючи наявність в них АГ МБТ (по результатам нашого дослідження). Тоді як капсула туберкулеми, безсумнівно, є функціональною зоною обмеження активного запалення у вигляді казеозно-некротических мас, і своєрідним біологічним результатом тривалих процесів репарації. Тому, в ній присутні всі типи макрофагів (CD68+ клітини), які виконують різні морфо-функціональні завдання. Зокрема, макрофаги викликають фагоцитарну, антимікробну активність, переважно в ділянках капсули ТБ в безпосередній близькості до некрозу, а також беруть участь у стимуляції та формуванні зв'язуючої тканини, яка є важливою складовою капсули ТБ.

**Висновки.** Імуногістохімічне дослідження з використанням моноклонального антитіла CD68 і поліклонального антитіла до *M. tuberculosis* дозволи-

ло уточнити локалізацію та відносне число клітин макрофагального ряду (CD68-позитивних), в тому числі містять АГ МБТ, в різних структурах легочної тканини при туберкульозі легень з різною ступенем активності специфічного запального процесу.

Встановлено, що при морфологічно високій ступені активності туберкульозного запального процесу в капсулі туберкулеми, в сусідніх ділянках дистелектаза та в альвеолах переважають інфіковані макрофаги.

Зниження активності специфічного запального процесу характеризується достовірним зменшенням числа всіх імунопозитивних клітин – з микобактеріальними антигенами та CD68+ клітин в альвеолярних просторах, капсулі туберкулеми та зонах дистелектазів поруч з капсулою.

**Перспективи дальніших досліджень.** Перспективним напрямком дальніших наукових досліджень можна вважати вивчення особливостей експресії микобактеріальних антигенів в різних клітинах макрофагального ряду в порівнянні з присутністю інших імунокомпетентних клітин легочної тканини при різних формах-фазах туберкульозу легень. Це дозволить уточнити наявність микобактеріальної інфекції в різних клітинах тканин макроорганізму, так і імуноні клітинні реакції при тривалому присутстві микобактерій в тканині.

### Література

1. Vinokurov II, Argunov AA, Nikolaev YuYa, Plotnikova NV. Kliniko-morfologicheskie osobennosti tuberkulema legkih v usloviyah krajnego severa. Probl. tuberkuleza i boleznej legkih. 2006 Avg;7:44-7. [in Russian].
2. Holodok OA, Grigorenko AA, Cheremkin MI. Tuberkulema legkogo kak forma tuberkuleznogo processa. Byul. fiziol. i patol. dyhaniya. 2014 Iyun';53:126-31. [in Russian].
3. Liskina IV, Mel'nik OA. Morfologicheskie osobennosti legochnoj tkani s tuberkulemoj v faze progressirovaniya specificheskogo vospaleniya. East European j. 2016 Fevr;2(6),2:153-60. [in Russian].
4. Dorozhkova IR. Vozbuditel' tuberkuleza: istoriya otkrytiya i izucheniya. Tuberkulez i bolezni legkih. 2012 Maj 03;3:3-14. [in Russian].
5. Guirado E, Schlesinger LS, Kaplan G. Macrophages in Tuberculosis: Friend or Foe [Internet]. Semin Immunopathol. 2013 September;35(5):563-83. DOI: 10.1007/s00281-013-0388-2
6. Dedieu L, Serveau-Avesque C, Kremer L, Canaan S. Mycobacterial lipolytic enzymes: a gold mine for tuberculosis research. Biochim. 2013 Jan;1:66-73.
7. Hunter RL. Pathology of post primary tuberculosis of the lung: an illustrated critical review. Tuberculosis (Edinb.). 2011 Nov;91(6):497-509.
8. Karimi S, Shamaei M, Pourabdollah M, Sadr M, Karbasi M, Kiani A, et al. Histopathological findings in immunohistological staining of the granulomatous tissue reaction associated with tuberculosis [Internet]. Tuberculosis Research and Treatment. 2014 Jan. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/858396>
9. Ihama Y, Hokama A, Hibiya K, Kishimoto K. Diagnosis of intestinal tuberculosis using a monoclonal antibody to Mycobacterium tuberculosis. World J. Gastroenterol. 2012 Dec 21;18(47):6974-80.
10. Kuzovkova SD, Liskina IV, Mel'nyk OO, Zagaba LM. Vy'znachennya lokalizaciyi ta karakteru ekspresiyi mikobakterial'ny'x anty'geniv vidnosno rizny'x struktur legenevoyi tkany'ny' pry' tuberkul'omax legen'. Visn. problem biologiyi i medy'cy'ny'. 2017 Apr 14;2(136):314-8. [in Ukrainian].
11. Liskina IV, Zagaba LM, Oleksinskaya OA. Kliniko-morfologicheskie osobennosti tuberkulema legkih s morfologicheskimi priznakami aktivnosti specificheskogo processa. Perspektivi medicini ta biologii. 2013 Grud 5;V(2):93-100. [in Russian].
12. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s ispol'zovaniem Excel. Kiyv: Morion; 2001. 408 s. [in Russian].
13. Liskina IV, Mel'nyk OO. Rozpodil makrofagiv u legenevij tkany'ni pry' tuberkul'omax legen' z riznoyu akty'vnistyju specy'fichnogo zapalennya za rezul'tatamy' imunogistoximichnogo doslidzhennya. Visn. probl. biologiyi i medy'cy'ny'. 2015 Sich 5;1(117):242-8. [in Ukrainian].

### ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ АНТИГЕНІВ *M. TUBERCULOSIS* ТА CD68+ КЛІТИН В ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ З ТУБЕРКУЛЬОМОЮ

Кузовкова С. Д., Ліскіна І. В., Загаба Л. М.

**Резюме.** З метою визначення імуногістохімічної експресії антигенів *M. Tuberculosis* та CD68+ клітин, а також характеру їх взаємин, в різних структурах легеневої тканини з туберкульозом проведено патогістологічне і імуногістохімічне дослідження резектатів легень 34 хворих, серед яких у 19 випадках було встановлено морфологічно високий ступінь а у 15 випадках – низький ступінь активності специфічного запалення.

Мікроскопічне дослідження препаратів здійснювали на світловому мікроскопі Olympus BX51, робочі збільшення x200, x400, використовували фотоцифрову морфометрію. Відносну кількість імунопозитивних

клітин, як щодо мікобактеріальних антигенів, так і клітин макрофагального ряду оцінювали за умовною прийнятою робочою шкалою.

Встановлено, що при морфологічно високому ступеню активності туберкульозного запалення у капсулі туберкульозом, сусідніх ділянках дистелектазу і в альвеолах переважають інфіковані макрофаги.

Зниження активності специфічного запального процесу характеризується зменшенням кількості усіх імунопозитивних клітин – з мікобактеріальними антигенами і CD68+ клітин в альвеолярних просторах, капсулі туберкульозом і зонах дистелектазів біля капсули.

**Ключові слова:** туберкульоз легень, морфологічна активність запалення, імуністохімія.

### ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ M. TUBERCULOSIS И CD68+ КЛЕТОК В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ С ТУБЕРКУЛЕМОЙ

**Кузовкова С. Д., Лискина И. В., Загаба Л. М.**

**Резюме.** С целью определения иммуногистохимической экспрессии антигенов M. Tuberculosis и CD68+ клеток, а также характера их взаимосвязи в различных структурах легочной ткани с туберкулезом проведено патогистологическое и иммуногистохимическое исследование резектатов легких 34 больных, среди которых в 19 случаях была установлена морфологически высокая степень, а в 15 – низкая степень активности специфического воспаления.

Микроскопирование препаратов осуществляли на световом микроскопе Olympus BX51, рабочие увеличения x200, x400, использовали фотоцифровую морфометрию. Относительное количество иммунопозитивных клеток, как в отношении микобактериальных антигенов, так и клеток макрофагального ряда оценивали по условно принятой рабочей шкале.

Установлено, что при морфологически высокой степени активности туберкулезного воспаления в капсуле туберкулезы, в соседних участках дистелектаза и в альвеолах преобладают инфицированные макрофаги.

Снижение активности специфического воспалительного процесса характеризуется уменьшением количества всех иммунопозитивных клеток – с микобактериальными антигенами и CD68+ клеток в альвеолярных пространствах, капсуле туберкулезы и зонах дистелектазов возле капсулы.

**Ключевые слова:** туберкулеза легких, морфологическая активность воспаления, иммуногистохимия.

### PECULIARITIES OF EXPRESSION OF M. TUBERCULOSIS ANTIGENS AND CD68 + CELLS IN LUNG TISSUE WITH TUBERCULOMA

**Kuzovkova S. D., Liskina I. V., Zagaba L. M.**

**Abstract.** The main condition for the development of a chronic infection, such as pulmonary tuberculoma, is a long persistence of the pathogen in the human body, which can be associated with both the peculiarities of the mycobacterium tuberculosis itself and with impaired local immunity of the macro-organism. Well known that macrophages play the central role both in the host protective immune response and control of infection, and in the maintenance of chronic infection and its associated tissue damage and pathology. Macrophages take part in an early nonspecific inflammatory response to infection, in the formation of a specific immune response, participate in a cellular-mediated immune response, which determines their key role in the eradication of the infection or, conversely, in its development.

Immunohistochemical method of detecting mycobacterial antigens allows detects their presence in various cells, including macrophages, in tissue as well as extracellularly. Dynamics and biological significance of mycobacterial antigens in various structures of pulmonary tissue in postprimary tuberculosis of tuberculomas not been well studied.

*The aim of the study was the analysis and comparison of the expression pattern of mycobacterial antigens and CD68 + cells in various structures of lung tissue with tuberculoma at different activity of tuberculosis inflammation.*

The material of the study was 34 surgically resected lung segments or lobes with tuberculoma: 19 cases with the high degree and 15 cases with morphologically low degree of activity of specific inflammation. Immunohistochemical study was performed using AUTOSTAINER 360-2D system manufactured by Thermo Fisher Scientific (USA) and reagents its company with UltraVision Quanto imaging system. A polyclonal antibody to M. tuberculosis (Mycobacterium tuberculosis Antibody PA1-7231) manufactured by Pierce (USA) and monoclonal antibody CD68 (Macrophage marker) were used. Microscopic examination of the samples was performed using microscope Olympus BX51, magnifications x100, x400.

CD68+ cells and cells with MBT antigens were revealed mainly in capsule of tuberculoma, neighboring areas of distelectasis, and alveoli.

It was established that infected macrophages predominate in the capsule of tuberculoma, in the adjacent regions of the distelectase and in the alveoli at a morphologically high degree of activity of the tuberculous inflammatory process.

The lowering of the activity of a specific inflammatory process is characterized by both a decrease in the number of cells with the expression of mycobacterial antigens and the number of CD68+ cells in the capsule tuberculoma, alveolar spaces and sites of the distelectase near the capsule.

**Key words:** pulmonary tuberculoma, morphological activity, inflammation, immunohistochemistry.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.*

*Стаття надійшла 11.05.2018 року*