

УДК: 616-002.592-07: 612.017.1

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

ЧАСТОТА ВИЯВЛЕННЯ ТА КІЛЬКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ Т-ЛІМФОЦИТІВ У ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ З ТУБЕРКУЛЬОМОЮ ЗА РІЗНОЇ АКТИВНОСТІ СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ

ДУ «Національний інститут фізизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

У статті наведені дані щодо представленості та кількісної характеристики основних субпопуляцій Т-лімфоцитів у легеневій тканині при хронічному перебігу легеневого туберкульозу у формі туберкульозу (Тб). Метою дослідження було визначення особливостей локалізації та відносної кількості CD4+ та CD8+ Т лімфоцитів у легеневій тканині з туберкульозом за різної активності специфічного запалення. За результатами традиційного гістологічного дослідження були сформовані 2 групи: 18 випадків із морфологічно високим ступенем активності специфічного запалення (основна група) та 16 випадків – з помірно-низьким ступенем активності (група порівняння) для подальшого імуногістохімічного (ІГХ) дослідження. ІГХ дослідження проводилося на автостейнері AUTOSTAINER 360-2D, з системою Ultra Vision Quanto HRP DAB для візуалізації продуктів реакції. Використані мишаче моноклональне антитіло (мкАТ) CD4 та кроляче мкАТ CD8. При мікроскопічному дослідженні визначали локалізацію CD позитивних клітини у грануляційному та фіброзному шарах капсули Тб, у лімфоїдних скупченнях та в гранульомах різної локалізації. Встановлено, що CD4+ та CD8+ клітини є постійним клітинним компонентом усіх гістологічних структур легеневої тканини у випадках Тб легень, незалежно від ступеня активності специфічного запального процесу. Виявлена вірогідно більша кількість CD4+ клітин у грануляційному шарі Тб, а CD8+ клітин – у фіброзному шарі капсули Тб при морфологічно високому ступені активності специфічного запального процесу ($p < 0,05$). У лімфоїдних скупченнях при морфологічно високій активності запального процесу визначена вірогідно більша кількість CD4+ лімфоцитів порівняно до CD8+ клітин ($p < 0,001$). У гранульомах спостерігалася вірогідно більша відносна кількість CD4+ клітин у групі з помірно-низьким ступенем активності специфічного запалення ($p < 0,05$). Значення імунорегуляторного індексу CD 4+/CD 8+ клітини суттєво не змінювалося у різних структурах легеневої тканини з туберкульозом при різному ступені активності специфічного запалення, та загалом його величина суттєво не відрізнялася від нормального значення.

Ключові слова: туберкульоз легень, імуногістохімічне дослідження, CD4+ та CD8+ Т лімфоцити.

Робота виконана в межах НДР «Дослідити місцеві імуноморфологічні реакції легеневої тканини хворих при хронічному туберкульозному запаленні» (№ державної реєстрації 0116U000187).

Вступ

Відомо, що в патогенезі туберкульозу стан імунної системи, її системна та місцеві реакції мають ключове значення, зокрема при вторинному туберкульозі легень [10,11,12]. У розвитку імунітету проти туберкульозної інфекції приймають участь антиген-презентуючі клітини (моноцити/макрофаги), дендритні клітини та різні субпопуляції Т-лімфоцитів. На сьогоднішній день представлені численні публікації щодо ролі лімфоцитів та макрофагів у формуванні протитуберкульозного імунітету за їх вмістом у периферичній крові хворих на різні форми легеневого туберкульозу. Зокрема, встановлено, що зміни рівня співвідношення різних субпопуляцій Т-лімфоцитів є важливим маркером формування імунної недостатності, у тому числі – порушень антиген-специфічної системної відповіді при туберкульозі [4,5]. Але у науковій літературі наразі недостатньо інформації щодо експресії різних субпопуляцій Т-лімфоцитів в ураженій туберкульозом легеневій тканині, зокрема, у вогнищах туберкульозного запалення та інших структурах легень при туберкульозах (Тб) легень з урахуванням ступеня активності специфічного процесу.

CD4+ клітини, або Т-хелпери, складають одну з найважливіших субпопуляцій Т-лімфоцитів, оскільки можуть сприяти розвитку як прозапаль-

ної (Th1), так і протизапальної (Th2) клітинної імунної відповіді. Відомо, що вони продукують IFN- γ і IL-2, які забезпечують розвиток клітинного імунного відгуку (Th1). Також Т-хелпери виробляють інтерлейкіни IL-4, IL-5, IL-10 та IL-13, які відповідають за розвиток гуморального відгуку (Th2) [6]. Таким чином, від кількості та функціонального стану Т-хелперів залежить спрямованість імунного відгуку та особливості проявів імунопатології [2]. До того ж, CD4+ клітини мають принципове значення для контролю мікобактеріальної інфекції у тому сенсі, що вони безпосередньо забезпечують своєчасне повноцінне формування гранульом та цілісність останніх [14]. При дослідженні легень людини, резектованих з приводу хіміорезистентного фіброзно-кавернозного туберкульозу, було визначено, що на внутрішній поверхні каверн майже відсутні CD4+ та CD8+ Т-клітини, тобто у цій зоні не відбувається прямий контакт цих клітин з макрофагами, що опосередковано сприяє росту і розповсюдженню *M. Tuberculosis* (МБТ) [13]. З інших наукових праць відомо, що відсутність або неактивний функціональний стан CD8+ лімфоцитів підвищує чутливість макроорганізму до мікобактеріальної інфекції, хоча CD8+ клітини не настільки критичні щодо розвитку імунної відповіді порівняно з CD4+ лімфоцитами. Отримані дані, що при недостатності або відсутності CD8+ лім-

фоцитів порушується функціонування гранульоми як відповідальної ланки контролю за інфекцією [15].

Ось чому є актуальним питання щодо вивчення зустрічальності та кількісної характеристики основних субпопуляцій Т-лімфоцитів (CD4+ та CD8+ клітин) у легеневій тканині, зокрема, за хронічного перебігу легеневого туберкульозу у формі туберкульому. Такі відомості розширюють сучасні уявлення щодо імунопатології туберкульозу, у тому числі – залежно від форми-фази легеневого туберкульозу.

Мета роботи

Установити особливості локалізації та відносну кількість CD4+ та CD8+ Т лімфоцитів у легеневій тканині з туберкульомою за різної активності специфічного запалення.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для гістологічного та імуногістохімічного досліджень слугували 34 резектати легень з туберкульомами від хворих, яким було здійснене хірургічне лікування у клініці ДУ “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України”. Сформовані 2 групи дослідження: 18 випадків із морфологічно визначеним високим ступенем активності специфічного запалення (основна група) та 16 випадків – з помірно-низьким ступенем активності (група порівняння). Морфологічне визначення ступеня активності специфічного запалення у легеневій тканині проводили за раніше розробленою робочою класифікацією [1]. Для цього досліджували гістологічні препарати легеневої тканини, забарвлені за традиційною методикою гематоксилін-еозином.

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили за серійними парафіновими зрізами тканини товщиною 5–6 мкм. Дослідження проводилося на автостейнері AUTOSTAINER 360-2D виробництва компанії Thermo Fisher Scientific (США), для візуалізації продуктів гістохімічної реакції застосовували систему Ultra Vision Quanto HRP DAB. У роботі використані мишаче моноклональне антитіло (мкАТ) CD4 (клон 4B12, епітоп не визначений), робоче розведення 1:20 та кроляче мкАТ CD8 (клон SP16, епітоп С-кінцевої частини), робоче розведення 1:300 (Thermo Fisher Scientific (США)).

Морфометричні дослідження проводилися з використанням мікроскопів Olympus BX51 та Olympus BX41. Локалізацію клітин, мічених мкАТ, визначали методом світлової мікроскопії при робочому збільшенні мікроскопу x400, з переглядом до 30–40 полів зору мікроскопу в одному зразку. За допомогою цифрової фотокамери робили мікрофотографії усіх відібраних полів зору з використанням програми QuickPHOTO MICRO 2.3 У мікрофотографіях підраховували як CD позитивні клітини, так і CD негативні лімфоцити. CD позитивні клітини підраховували у 5 полях зору грануляційного та фіброзного шарів Тб, у 5-ти ділянках лімфоїдних скупчень біля Тб та на відстані від неї, в гранульомах з різною локалізацією.

Статистична обробка проводилася з використанням параметричних й непараметричних критеріїв. Обраховувалися й визначалися: середня арифметична показника та стандартна похибка середнього. Порівняння середніх групових значень та оцінка достовірності відмінностей проводилися методами варіаційної та рангової статистики із застосуванням t-критерію Стьюдента-Фішера [3]. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За результатами ІГХ дослідження встановлено, що CD4+ та CD8+клітини є постійним клітинним компонентом усіх гістологічних структур легеневої тканини у випадках Тб легень, незалежно від ступеня активності специфічного запального процесу. Найбільша частота виявлення значених субпопуляцій Т лімфоцитів спостерігалася в грануляційному та фіброзному шарах капсули Тб та у лімфоїдних скупченнях, у діапазоні від 77,8 % до 100,0 % випадків. Встановлено, що гранульоми, у складі яких були присутні CD4+ та CD8+клітини, виявлені у легеневій тканині приблизно в половині випадків обох груп. Визначена відносна кількість CD 4+ та CD 8+ Т лімфоцитів у різних ділянках легеневої тканини з туберкульомою легень за різної активності специфічного запального процесу, отримані дані наведені в таблиці 1. Відносну кількість клітин розраховували як відсоток мкАТ-позитивних клітин до усіх наявних лімфоїдних клітин у полі зору, що вивчалася.

*Таблиця 1
Відносний кількісний розподіл субпопуляцій Т лімфоцитів у легеневій тканині з туберкульомою за різної активності специфічного запалення (% , P ± δ)*

Гістологічна структура	Відносна кількість CD 4+		Відносна кількість CD 8+	
	Основна група (n = 18)	Група порівняння (n = 16)	Основна група (n = 18)	Група порівняння (n = 16)
Грануляційний шар капсули Тб	37,9 ± 3,9 *	28,3 ± 2,5 *	32,5 ± 3,1	29,4 ± 2,0
Фіброзний шар капсули Тб	36,5 ± 4,4	27,7 ± 2,3	31,0 ± 2,3 *	24,2 ± 2,4 *
Лімфоїдні скупчення	30,3 ± 2,5 **	27,1 ± 2,1 **	13,0 ± 1,1 **	14,7 ± 1,5 **
Гранульоми	35,8 ± 4,3 *	48,4 ± 4,7 *	29,6 ± 2,3	34,0 ± 3,0

Примітки: 1. * – вірогідність різниці відповідного показника між основною групою та групою порівняння статистично підтверджена ($p < 0,05$); 2. ** – вірогідність різниці відповідного показника між основними субпопуляціями Т лімфоцитів обох груп дослідження статистично підтверджена ($p < 0,001$).

У некротичному вмісті туберкульозних обох груп зустрічалися лише поодинокі CD4+ та CD8+клітини.

Встановлено, що вірогідно більша кількість CD4+ клітин визначалася у грануляційному шарі Тб основної групи дослідження (рисунок). Відносна кількість CD8+клітин в грануляційному шарі Тб також була дещо більшою в основній групі порівняно до групи порівняння. Переважання відносної кількості CD4+ клітин в грануляційному шарі Тб основної групи, на нашу думку, свідчить про активну участь імунних реакцій в ураженій легеневій тканині саме за участю CD4+ клітин, на тлі фази загострення хронічного запалення. Зменшення кількості CD4+ клітин у грануляційному шарі Тб контрольної групи, можливо припустити, пов'язане зі зниженням активності специфічних запальних процесів, та, відповідно, зменшення потреби у значній продукції як цитокінів, так і в імунних реакціях клітинного типу.

При визначенні характеру розташування CD позитивних клітин встановлено, що в грануляційному шарі Тб CD4+ клітини були дифузно розсіяні, тоді як CD8+клітини мали тенденцію до дифузно-вогнищового розташування.

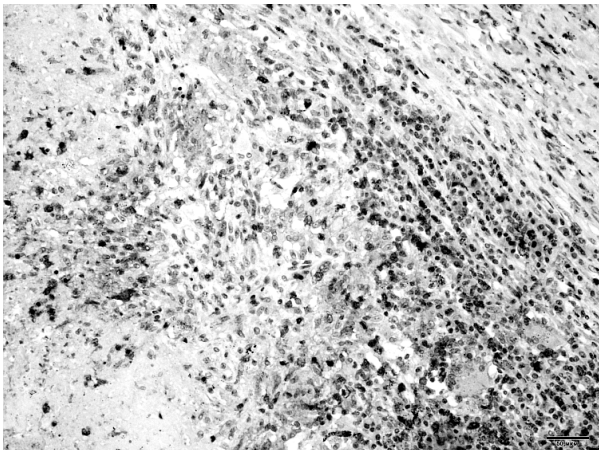


Рисунок – Грануляційний шар капсули туберкульозу з морфологічними ознаками високого ступеня активності специфічного запального процесу. Визначається дифузна інфільтрація CD4+ лімфоцитами (коричнево-помаранчеве забарвлення). Дозабарвлення гематоксилином. Зб.: x100.

У фіброзному шарі Тб виявляли CD8+клітини у вірогідно більшій кількості в основній групі, подібна тенденція встановлена і для CD4+ клітин.

У лімфоїдних скупченнях експресія CD4+та

CD8+клітин мала дифузний характер, причому ці клітини розташовувалися по периферії цих структур. Відносна кількість CD4+ та CD8+клітин була невеликою і суттєвої різниці між показниками груп спостереження не визначено. Водночас, в групі з високим ступенем активності в цих структурах вірогідно більше визначалась експресія CD4+ проти CD8+клітин ($p < 0,001$) порівняно до групи з помірно-низьким ступенем активності запального процесу.

Встановлено, що в гранульомах, незалежно від їх розташування, спостерігалася вірогідно більша кількість CD4+ клітин у групі порівняння ($p < 0,05$) проти основної групи дослідження. Також визначена тенденція щодо відносного збільшення експресії CD8+ клітин у групі з помірно-низьким ступенем активності. В нещодавніх наукових дослідженнях було встановлено, що загалом у складі гранульом кількісно переважають різні субпопуляції CD 4+ клітин, тоді як CD8+ клітини представлені у меншій кількості. Зростання відносної кількості CD4+ клітин при зниженні активності хронічного специфічного запального процесу можна частково пояснити акумуляцією CD4+FoxP3+ Treg клітин та неактивним станом інших ефекторних CD4+ клітин в цих структурах [8]. З іншого боку, згідно до наших результатів, кількісна частка CD8+ клітин гранульом суттєво не змінювалася. Таке спостереження можна пов'язати як зі збереженням активності цих клітин щодо складних механізмів елімінації збудника або ж посилення ними контролю щодо реплікації *M. Tuberculosis* у макрофагах гранульоми, так і з непереривною продукцією частиною цих клітин IFN- γ [7]. Також не можна виключати із уваги можливість продукції CD8+ клітинами грануліну – речовини з мікобактеріостатичним ефектом, наслідком чого було стихання активності запального процесу.

Характер розташування у гранульомах CD4+та CD8+клітин був дифузним, але загалом вони формували своєрідну капсулу (клітинний шар) по периферії гранульом, тоді як центральну частину займали клітини макрофагального ряду, з або без присутності некротичних змін.

Розраховували також співвідношення CD4+/CD8+ Т лімфоцитів (імунорегуляторний індекс) у досліджуваних гістологічних структурах (таблиця 2).

Таблиця 2
Співвідношення субпопуляцій Т-лімфоцитів у легеневій тканині при туберкульозі легень з різною активністю специфічного запалення (%), $P \pm \delta$

Гістологічна структура	Співвідношення CD 4+/ CD 8+ клітин	
	основна група (n = 18)	група порівняння (n = 16)
Грануляційний шар Тб	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
Фіброзний шар Тб	1,13 ± 0,12	1,37 ± 0,21
Лімфоїдні скупчення	2,57 ± 0,21	2,31 ± 0,21
Гранульоми	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,2

Розрахунки імунорегуляторного індексу не виявили значних коливань та вірогідних відмінностей показника між обома групами дослідження. У грануляційному шарі Тб на межі із внутріш-

нім вмістом співвідношення CD4+/CD8+ Т лімфоцитів у обох групах дослідження становило 1,2 ± 0,1 та 1,1 ± 0,1 відповідно, що, можливо, пов'язане із відносною рівновагою Т-хелперної

та цитотоксичної клітинних реакцій у цій зоні. У фіброзному шарі капсули Тб величина співвідношення CD4+/CD8+ Т лімфоцитів було дещо більшою у групі з помірно-низьким ступенем активності запального процесу, порівняно до групи з високим ступенем активності – $1,37 \pm 0,21$ та $1,13 \pm 0,12$ відповідно. У лімфоїдних скупченнях обох груп величина імунорегуляторного індексу була найбільшою й складала $2,57 \pm 0,21$ в основній групі та $2,31 \pm 0,21$ – у групі порівняння, тобто відносна кількість CD4+-клітин більше ніж у 2 рази перевищувала кількість CD8+ клітин, причому зростання індексу відбувалось за рахунок зниження саме відносної кількості CD8+ клітин у цих структурах. У гранульомах значення імунорегуляторного індексу складало $1,3 \pm 0,2$ у групі з високим ступенем активності специфічного запального процесу та $1,5 \pm 0,2$ – у групі з помірно-низькою активністю. Отримані нами величини імунорегуляторного індексу були цілком зіставними зі значеннями цього індексу у дорослих здорових осіб у дослідженні, коли автори вивчали клітинний склад периферичної крові з розрахунком імунорегуляторного індексу. За їх результатами, рівень відношення CD4+/CD8+ варіював у межах 0,75–2,30 [9]. Отримані нами показники імунорегуляторного індексу, можливо, обумовлені тим, що специфічне запалення при Тб має локальний характер, внутрішній некротичний вміст Тб зазвичай відокремлений фіброзною капсулою від оточуючих тканин, що не викликає суттєвих патологічних зрушень рівня співвідношення CD4+/CD8+ характерних для інтоксикації, імунодефіцитних чи імунодепресивних станів. Тобто, отримані нами рівні показника імунорегуляторного індексу є свідченням, що туберкульозне ураження у вигляді Тб не супроводжується патологічними зрушеннями місцевого імунітету.

Висновки

Узагальнюючи результати проведеного дослідження, можна зробити наступні висновки. Імуногістохімічне дослідження продемонструвало, що CD4+ та CD8+ клітини є постійним клітинним компонентом усіх гістологічних структур легеневої тканини у випадках туберкульозу легень, незалежно від ступеня активності хронічного специфічного запального процесу.

Вірогідно більша кількість CD4+ клітин визначалася в грануляційному шарі туберкульозу, а у фіброзному шарі – CD8+клітин при морфологічно високому ступені активності специфічного запального процесу ($p < 0,05$).

Встановлено, що у лімфоїдних скупченнях вірогідно більша кількість CD4+ Т лімфоцитів порівняно до CD8+ клітин була при морфологічно високому ступені активності специфічного запального процесу ($p < 0,001$).

У гранульомах спостерігалася вірогідно більша відносна кількість CD4+ клітин у групі з помі-

рно-низьким ступенем активності специфічного запалення ($p < 0,05$).

Значення імунорегуляторного індексу CD 4+/CD 8+ клітин суттєво не змінювалося при різному ступені активності специфічного запалення у різних структурах легеневої тканини з туберкульозом та загалом його величина суттєво не відрізнялася від нормального значення.

Перспективи подальших розробок

Враховуючи виявлені особливості розподілу та відносної кількості основних субпопуляцій Т-лімфоцитів, надалі можна вважати доцільним продовження досліджень із вивчення інших субпопуляцій імунокомпетентних клітин при туберкульозному ураженні легень, проведення комплексного аналізу взаємного впливу таких клітин та їх взаємодії з мікобактеріями туберкульозу або ж з їх окремими антигенами на тканинному рівні з метою розширення наших уявлень щодо окремих ланок місцевих імунологічних реакцій в перебігу легеневого туберкульозу.

Література

1. Гістологічна діагностика ступеня активності туберкульозного запального процесу при туберкульозах легень : інформаційний лист / [І.В. Ліскіна та ін.] ; Нац. ін-т фтизіатрії і пульмонології. – К. : ДУ НІФП, 2010. – 4 с.
2. Горлова Е.Е. Патология иммунитета при туберкулезе (Обзор литературы) / Е.Е. Горлова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2010. – № 35. – С. 37–44.
3. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с.
4. Кисина Т.Е. Нарушения специфического иммунного ответа у больных туберкулезом легких / Т.Е. Кисина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 2 – 3. – С. 270–271.
5. Хасанова Р.Р. Реактивность лимфоцитов крови при туберкулезе легких / Р.Р. Хасанова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 35–40.
6. Хаитов Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г. Сидорович – М. : Медицина, 2000. – 432 с.
7. Bozzano F. Immunology of tuberculosis / F. Bozzano, F. Marras, A. De Maria // Mediterranean Journal of Hematology and Infection Diseases. – 2014. – Режим доступу : doi: 10.4084/MJHID.2014.027.
8. Brighenti S. Local immune responses in human tuberculosis: learning from the site of infection / S. Brighenti, J. Andersson // The Journal of Infectious Diseases. – 2012. – Vol. 205 (2). – P. 316–324.
9. Hussaina T. CD4+, CD8+, CD3+ cell counts and CD4+/CD8+ ratio among patients with mycobacterial diseases (leprosy, tuberculosis), HIV infections, and normal healthy adults: a comparative analysis of studies in different regions of India / T. Hussaina [et al.] // J. of Immunology and Immunochemistry. – 2015. – Vol. 36, № 4. – P. 420–443.
10. Dorhoi A. Pathology and immune reactivity: understanding multidimensionality in pulmonary tuberculosis / A. Dorhoi, S.H. Kaufmann // Semin Immunopathol. – 2016. – № 38 (2). – P. 153–166.
11. Hunter R.L. Pathology of post primary tuberculosis of the lung: an illustrated critical review / R. L. Hunter // Tuberculosis (Edinb.). – 2011. – Vol. 91, № 61. – P. 497–509.
12. Hunter R.L. Tuberculosis as a three-act play: A new paradigm for the pathogenesis of pulmonary tuberculosis / R. L. Hunter // Tuberculosis (Edinb.). – 2016. – Vol. 97. – P. 8–17.
13. Kaplan K. Mycobacterium tuberculosis growth at the cavity surface : a microenvironment with failed immunity / G. Kaplan [et al.] // Infect. Immun. – 2003. – № 71. – P. 7099–7108.
14. Miranda M.S. The tuberculous granuloma: an unsuccessful host defense mechanism providing a safety shelter for the bacteria? / M.S. Miranda [et al.] // Clinical and Developmental Immunol. – 2012. – Режим доступу : doi:10.1155/2012/139127.
15. Gideon H.P. Variability in tuberculosis granuloma T cell responses exists, but a balance of pro- and anti-inflammatory cytokines is associated with sterilization / H.P. Gideon [et al.] // PLoS One. – 2015. – Режим доступу : doi: 10.1371/journal.ppat.1004603.

Реферат

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Т-ЛИМФОЦИТОВ В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ С ТУБЕРКУЛЕМОЙ ПРИ РАЗНОЙ АКТИВНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Загаба Л.М., Кузовкова С.Д., Лискина И.В., Мельник О.А.

Ключевые слова: туберкулема легкого, иммуногистохимическое исследование, CD4+ и CD8+ Т лимфоциты.

В статье приведены данные о представленности и количественной характеристике основных субпопуляций Т лимфоцитов в легочной ткани при хроническом течении легочного туберкулеза в форме туберкулем (Тб). Целью исследования было определение особенностей локализации и относительно количества CD4 + и CD8 + Т лимфоцитов в легочной ткани с туберкулемой при разной активности специфического воспаления. По результатам традиционного гистологического исследования были сформированы 2 группы: 18 случаев с морфологически высокой степенью активности специфического воспаления (основная группа) и 16 случаев – с умеренно-низкой степенью активности (группа сравнения) для дальнейшего иммуногистохимического (ИГХ) исследования. ИГХ исследование проводилось на автостейнере AUTOSTAINER 360-2D с системой Ultra Vision Quanto HRP DAB для визуализации продуктов реакции. Использованы мышиное моноклональное антитело (мкАТ) CD4 и кроличье мкАТ CD8. При микроскопическом исследовании определяли локализацию CD положительных клеток в грануляционном и фиброзном слоях капсулы Тб, в лимфоидных скоплениях и в гранулемах с различной локализацией. Установлено, что CD4 + и CD8 + клетки являются постоянным клеточным компонентом всех гистологических структур легочной ткани в случаях Тб легких, независимо от степени активности специфического воспалительного процесса. Выявлено достоверно большее количество CD4 + клеток в грануляционном слое Тб, а CD8 + клеток – в фиброзном слое капсулы Тб при морфологически высокой степени активности специфического воспалительного процесса ($p < 0,05$). В лимфоидных скоплениях при морфологически высокой активности воспалительного процесса выявлено достоверно большее количество CD4 + лимфоцитов по сравнению с CD8 + клетками ($p < 0,001$). В гранулемах наблюдалось достоверно большее относительное количество CD4 + клеток в группе с умеренно-низкой степенью активности специфического воспаления ($p < 0,05$). Значение иммунорегуляторного индекса CD 4 + / CD 8 + клеток существенно не менялось в различных структурах легочной ткани с туберкулемой при разной степени активности специфического воспаления, и в целом его величина существенно не отличалась от нормального значения.

Summary

DETECTION RATE AND QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF T-LYMPHOCYTES IN LUNG TISSUE HAVING TUBERCULOMAS UNDER VARIOUS ACTIVITY OF SPECIFIC INFLAMMATORY PROCESS

Zagaba L.M., Kuzovkova S.D., Liskina I.V., Melnik O.A.

Key words: lung tuberculoma, immunohistochemical study, CD4 + and CD8 + T lymphocytes.

The article presents data on the incidence and quantitative characterization of the major subpopulations of T lymphocytes in lung tissue in chronic pulmonary tuberculosis in the form of tuberculoma (TB). The aim was to identify the characteristics of the localization and the relative amount of CD4 + and CD8 + T lymphocytes in lung tissue with tuberculoma under different intensity of specific inflammation. According to the results of the standard histological examination there were formed 2 groups: 18 cases with morphologically highly specific inflammation (test group) and 16 cases with a moderately low level of inflammation (control group) for further immunohistochemistry (IHC) studies. IHC study was conducted by using autostainer AUTOSTAINER 360-2D with Ultra Vision Quanto HRP DAB system for visualizing the reaction products. We used a murine monoclonal antibody (MAb) CD4 MAb and rabbit CD8. Microscopic examination revealed the localization of CD positive cells in the granulation and fibrous layers of TB capsule, in lymphoid aggregates and in granulomas with different localization. It has been established that the CD4 + and CD8 + cells are the permanent cell component in all histological structures of lung tissue in cases of pulmonary TB, regardless of the specific activity of the inflammatory process. We revealed significantly greater number of CD4 + cells in the granulation layer TB and CD8 + T cells in the layer of fibrous TB capsules under morphologically highly specific activity of the inflammatory process ($p < 0.05$). The lymphoid aggregates morphologically with high inflammatory activity showed significantly greater number of CD4 + lymphocytes as compared to CD8 + cells ($p < 0.001$). Granulomas were observed to have significantly higher relative number of CD4 + cells in the group with moderately low specific activity of inflammation ($p < 0.05$). The value of the immunoregulatory index CD 4 + / CD 8 + cells did not change significantly in the different structures of the lung tissue with tuberculoma with varying degrees of specific inflammatory activity, and in general, its value is not significantly different from the normal values.