

DOI: 10.35401/2500-0268-2019-16-4-32-39

**Е.П. Голубинская\*, Т.Г. Филоненко, Ю.А. Ермола, А.В. Кубышкин,  
М.А. Кальфа, Т.В. Крамарь, А.В. Геращенко**

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СУРФАКТАНТ-АССОЦИИРОВАННОГО БЕЛКА А ПРИ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия

✉ \* Е.П. Голубинская, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Республика Крым, г. Симферополь, пр. Академика Вернадского, 4, e-mail: missive@mail.ru

<b>Введение</b>	Несмотря на прогресс и развитие научных направлений в различных сферах медицины, проблема туберкулеза и его морфологических проявлений остается актуальной и до конца не раскрытой в связи со сложным патогенезом, наличием разнообразных клинических форм, лечебным патоморфозом, торпидностью к терапии, наличием рецидивов. Известно, что особое место в системе местной защиты легких занимает система сурфактанта.
<b>Цель</b>	Изучить состояние сурфактантного белка А в очагах специфической деструкции и в окружающей интактной легочной ткани для оценки ее функционального состояния, степени дыхательной недостаточности и возможной диссеминации туберкулезного воспаления.
<b>Материал и методы</b>	Анализ 163 фрагментов легких умерших либо прооперированных по поводу кавернозного туберкулеза легких, с активным бактериовыделением – 89 фрагментов, с клиническим абациллированием – 74.
<b>Результаты</b>	Проведенное морфологическое исследование выявило стереотипную динамическую депрессию сурфактант-ассоциированного белка А во всех исследуемых образцах, как в участках кавернозной деструкции и перикавернозной зоны, так и в интактной легочной ткани. Максимальная выраженность иммуногистохимической экспрессии данного сурфактантного белка фиксировалась в альвеолярных макрофагах, что свидетельствовало об интенсивной рециркуляции и утилизации компонентов сурфактанта.
<b>Заключение</b>	Минимизация продукции компонентов сурфактанта и его активная утилизация в интактной легочной ткани приводит к коллабированию альвеол с последующим прогрессированием дыхательной недостаточности.
<b>Ключевые слова:</b>	туберкулез легких, сурфактант-ассоциированные белки, иммуногистохимия.
<b>Цитировать:</b>	Голубинская Е.П., Филоненко Т.Г., Ермола Ю.А., Кубышкин А.В., Кальфа М.А., Крамарь Т.В., Геращенко А.В. Иммуногистохимическая оценка сурфактант-ассоциированного белка при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких. Инновационная медицина Кубани. 2019;16(4):32-39. DOI: 10.35401/2500-0268-2019-16-4-32-39
<b>ORCID ID</b>	Е.П. Голубинская, <a href="https://0000-0003-3917-924X">https://0000-0003-3917-924X</a> Т.Г. Филоненко, <a href="https://0000-0002-4674-7391">https://0000-0002-4674-7391</a> Ю.А. Ермола, <a href="https://0000-0003-4474-3714">https://0000-0003-4474-3714</a> А.В. Кубышкин, <a href="https://0000-0002-1309-4005">https://0000-0002-1309-4005</a> М.А. Кальфа, <a href="https://0000-0002-7179-3402">https://0000-0002-7179-3402</a> Т.В. Крамарь, <a href="https://0000-0003-2632-0451">https://0000-0003-2632-0451</a> А.В. Геращенко, <a href="https://0000-0001-5076-2570">https://0000-0001-5076-2570</a>

**E.P. Golubinskaya\*, T.G. Filonenko, Y.A. Ermola, A.V. Kubishkin,  
M.A. Kalfa, T.V. Kramar, A.V. Geraschenko**

## IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF SURFACTANT-ASSOCIATED PROTEIN IN FIBROSIS-CAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

✉ \* E.P. Golubinskaya, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, 4, Prospekt Vernadskogo, Simferopol, Republic of Crimea, 295007, e-mail: missive@mail.ru.

<b>Background</b>	Despite the progress and development of scientific directions in various fields of medicine, the problem of tuberculosis and its morphological manifestations remains relevant and is not fully disclosed due to complex pathogenesis, the presence of various clinical forms, therapeutic pathomorphosis, torpid to therapy, the presence of relapses. It is known that a surfactant system occupies a special place in the system of local lung protection.
<b>Aim</b>	To study the condition of surfactant-associated protein A in the foci of specific destruction and in the surrounding intact lung tissue to assess its functional status, degree of respiratory failure and possible dissemination of tuberculous inflammation.

<b>Material and Methods</b>	An analysis of 163 lung fragments of the dead or operated on for cavernous pulmonary tuberculosis with active bacterial excretion of 89 fragments and with clinical abacilation – 74 was carried out.
<b>Results</b>	A morphological study revealed stereotypical dynamic depression of surfactant-associated protein A in all the samples studied, both in the areas of cavernous destruction and pericavernous zone, and in intact lung tissue. The maximum intensivity of the immunohistochemical expression of this surfactant protein was recorded in the alveolar macrophages, which indicated intensive recycling and utilization of the components of the surfactant.
<b>Conclusion</b>	Minimizing the production of surfactant components and its active utilization in intact lung tissue leads to a collapse of the alveoli with subsequent progression of respiratory failure.
<b>Keywords:</b>	pulmonary tuberculosis, surfactant-associated proteins, immunohistochemistry.
<b>Cite this article as:</b>	Golubinskaya E.P., Filonenko T.G., Ermola Y.A., Kubishkin A.V., Kalfa M.A., Kramar T.V., Geraschenko A.V. Immunohistochemical evaluation of surfactant-associated protein in fibrosis-cavernous pulmonary tuberculosis. <i>Innovative Medicine of Kuban</i> . 2019;16(4):32-39. DOI: 10.35401/2500-0268-2019-16-4-32-39
<b>ORCID ID</b>	E.P. Golubinskaya, <a href="https://0000-0003-3917-924X">https://0000-0003-3917-924X</a> T.G. Filonenko, <a href="https://0000-0002-4674-7391">https://0000-0002-4674-7391</a> Y.A. Ermola, <a href="https://0000-0003-4474-3714">https://0000-0003-4474-3714</a> A.V. Kubishkin, <a href="https://0000-0002-1309-4005">https://0000-0002-1309-4005</a> M.A. Kalfa, <a href="https://0000-0002-7179-3402">https://0000-0002-7179-3402</a> T.V. Kramar, <a href="https://0000-0003-2632-0451">https://0000-0003-2632-0451</a> A.V. Geraschenko, <a href="https://0000-0001-5076-2570">https://0000-0001-5076-2570</a>

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на прогресс и развитие научных направлений в различных сферах медицины, проблема туберкулеза и его морфологических проявлений остается одной из актуальных и до конца не раскрытых в патоморфологии и фтизиатрии в связи со сложным патогенезом, наличием разнообразных клинических форм, лечебным патоморфозом, торпидностью к терапии, наличием рецидивов [1, 2].

Лечение туберкулеза, как правило, бывает длительным и не всегда эффективным, приводящим к прогрессированию воспалительного процесса и формированию фиброзно-кавернозных форм, требующих оперативного лечения. Одной из причин безуспешного лечения данной инфекции, по общепринятому мнению, является недостаточная эффективность защитных механизмов макроорганизма [3, 4].

Известно, что особое место в системе местной защиты легких занимает сурфактант, важнейшей функцией которого является обеспечение механики дыхания. Однако в последние два десятилетия были выявлены не менее важные свойства сурфактантной системы, а именно – барьерная функция и свойства врожденного и адаптивного иммунитета. Дисбаланс нативного иммунитета при прогрессировании специфического воспаления является звеном клеточного и гуморального механизмов с формированием «порочного круга». Таким образом, сурфактантная система является одной из ключевых в развитии распространенных легочных форм вторичного туберкулеза [5-7].

Легочный сурфактант – это высокоспециализированный поверхностно-активный материал, состоящий в основном из фосфолипидов, нейтральных жиров (холестерол и свободные жирные кислоты) и белков. Особую роль при этом играют сурфактант-ассоциированные белки, которые действуют в качестве первой линии

защиты против некоторых микроорганизмов и вирусов. Белковый компонент сурфактанта представлен гидрофильными (SP-A и SP-D) и гидрофобными (SP-B и SP-C) видами апопротеинов, синтезируемыми альвеолоцитами II типа (A2), нереснитчатыми бронхиолярными эпителиальными клетками и клетками Клара.

Сурфактантный белок А (SP-A, Surfactant Protein A) является основным протеином лёгочного сурфактанта, обладающим выраженными иммуномодулирующими свойствами. SP-A функционирует как в качестве опсонизирующего агента, так и в качестве иммуномодулятора. Опсонизация и агрегация патогенных микроорганизмов белком SP-A способствует их последующему фагоцитозу и киллингу [8-10]. Среди регуляторных функций – способность стимулировать хемотаксис макрофагов, влиять на пролиферацию клеток иммунного ответа и на продукцию провоспалительных цитокинов, повышать выработку реактивных оксидантов, регулировать продукцию оксида азота, повышать фагоцитоз клеток, подвергшихся апоптозу, и стимулировать фагоцитоз [11-13]. Кроме того, SP-A могут инактивировать аллергены и снижать аллерген-индуцированную активность лимфоцитов, а также способствовать высвобождению гистамина, цитокинов, иммуноглобулинов и свободных радикалов иммунными клетками [14-16].

## ЦЕЛЬ

Изучение характеристик SP-A для оценки его функционального состояния, степени дыхательной недостаточности и возможной диссеминации туберкулезного воспаления.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили фрагменты легких умерших либо прооперированных по поводу фиброзно-кавернозного туберкулеза (ФКТ)

**Таблица 1**  
**Критерии полуколичественной оценки интенсивности экспрессии SP-A**  
**Table 1**  
**Criteria for semi-quantitative evaluation of SP-A expression intensity**

Окраска	Степень реакции	Оценка, балл
Отсутствует	Отсутствует	0
Красные полоски по краю цитоплазмы (прерывистый мембранный контур) и слабая интенсивность окраски цитоплазмы	Слабая (низкий уровень экспрессии)	1
Красные зёрна в цитоплазме (dott-like экспрессия), прерывистая полоска, выстилающая поверхность альвеолы	Умеренная (средний уровень экспрессии)	2
Диффузная красная цитоплазматическая окраска и равномерная полоска, выстилающая поверхность альвеолы	Выраженная (высокий уровень экспрессии)	3

легких ( $n = 163$ ). Все пациенты были разделены на 2 основные группы: 84 пациента с верифицированным активным бактериовыделением (МБТ+) и 79 больных с клиническим абациллированием (МБТ-).

В контрольную группу отобрали фрагменты легких 30 больных, умерших от патологии, не связанной с заболеваниями респираторной системы (инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения).

Для обзорного микроскопического исследования фрагменты стенки каверны, перикавернозной зоны и макроскопически интактной лёгочной ткани фиксировались в 10% нейтральном формалине с последующей парафинизацией и изготовлением серийных срезов толщиной 4-5 мм. Визуализация патологических изменений осуществлялась путем окраски гематоксилином и эозином [17].

С целью визуализации кислотоустойчивых микробактерий и определения их локализации в легочной ткани проводилось гистологическое исследование по методу Циль-Нильсена.

Детекция SP-A осуществлялась иммуногистохимическим (ИГХ) методом с использованием маркера SP-A (AB 3420; Chemicon Intern. Inc., USA; rabbit anti-human, 1:250). Система визуализации StreptAB Complex/AP Dako Cytomation [18]. Для объективизации степени реакции как внутри различных клеточных элементов, так и на внутренней поверхности альвеол и бронхиол проводили оценку интенсивности экспрессии полуколичественным методом с учетом локализации (табл.1).

Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли цифровой камерой OLYMPUS C 5050Z установленной на микроскопе OLYMPUS CX41 с видеоокулярном DCM-130E SCOPE; числовая апертура (NA) – 0,65; рабочее расстояние (W.D.) – 0,6 мм. Морфометрическая обработка полученных данных проводилась с помощью лицензионного программного обеспечения Image J.

Статистическая обработка полученных данных проведена методами вариационной статистики с использованием непараметрических критериев при помощи программного пакета Statistica for Microsoft Windows, version 10.0., Stat Soft Inc., США. Статистический анализ включал построение вариационных рядов количественных данных; вычисление среднего арифметического значения, среднеквадратического отклонения, ошибки средней величины, коэффициента вариации и величины отклонения показателя от контроля и межгрупповых значений. Достоверность различий сравниваемых величин определялась при помощи непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости различий между группами был принят равным  $p = 0,05$ . Описательная статистика представлена как  $M \pm SE$ , где  $M$  – среднее значение,  $SE$  – стандартная ошибка.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В срезах ткани легких контрольной группы лиц цитоплазматическая экспрессия SP-A обнаруживается в виде полосок по апикальной поверхности цитоплазмы клеток и/или диффузной красной окраски различной интенсивности, локализуясь во всех обнаруживаемых А2, и в эпителии бронхов. Нужно отметить, что чем выше степень функциональной активности этих клеток, тем более выражена интенсивность диффузной окраски в цитоплазме. Второй клеточной популяцией, экспрессирующей SP-A, являются альвеолярные макрофаги, так как функционально обеспечивают утилизацию и элиминацию сурфактанта (рис. 1Б). В ряде случаев нам удавалось обнаружить спиралевидные или решетчатые красноватые образования, локализованные в просвете альвеол и респираторных бронхиол. Такие скопления были идентифицированы нами, как отработанный сурфактант (рис. 1А).

Оценка экспрессии SP-A у пациентов с верифицированным диагнозом свидетельствует о том, что максимальная выраженность экспрессии определя-

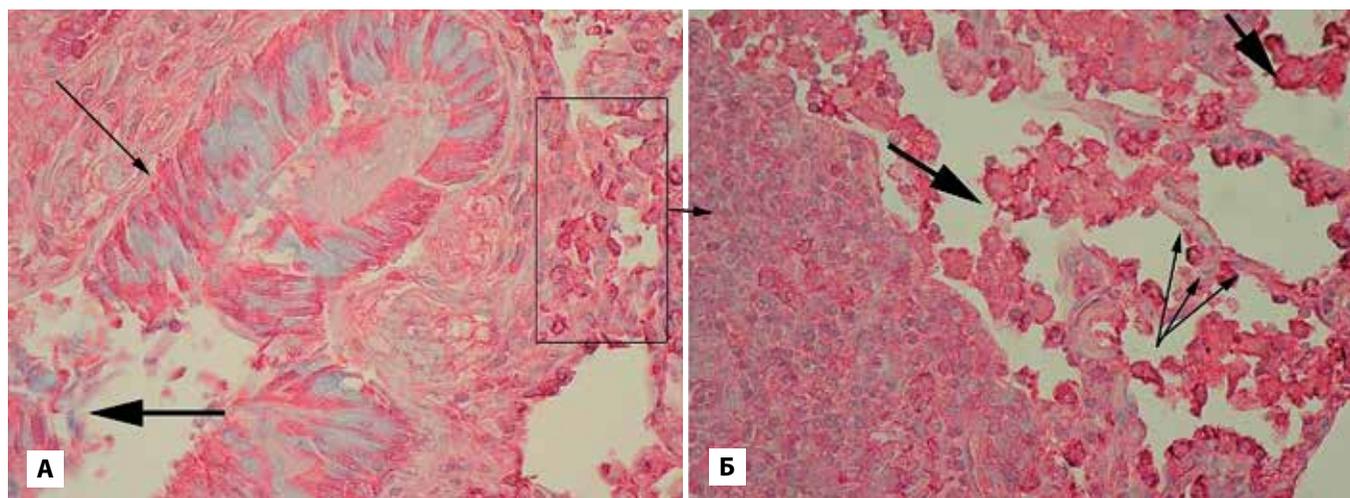


Рис. 1. Контрольная группа. Иммуногистохимическое исследование с маркером SP-A

А – Высокий уровень экспрессии в эпителии терминальной бронхиолы (тонкая стрелка). Отработанный сурфактант в просвете в виде спиралевидных образований (толстая стрелка).  $\times 100$

Б – Высокий уровень экспрессии в альвеолоцитах II типа (тонкая стрелка) и альвеолярных макрофагах (толстая стрелка).  $\times 400$

Fig. 1. Control group. IGC. SP-A

A – High level of expression in terminal bronchiola epithelium (thin arrow). Spent surfactant in the lumen in the form of spiral formations (thick arrow).  $\times 100$

B – High level of expression in type II alveolocytes (thin arrow) and alveolar macrophages (thick arrow).  $\times 400$

лась в зоне казеозного некроза группы ФКТ - МБТ + (2,90 $\pm$ 0,30), среди свободно лежащего в просвете, либо фиксированного к подлежащему слою специфической грануляционной ткани, лейкоцитарно-некротического детрита. Данный показатель статистически значимо ( $p < 0,05$ ) отличался от контрольной группы (0,00) и ФКТ - МБТ - (0,06 $\pm$ 0,25) (табл. 2).

В зоне специфических грануляций, характеризующейся разрастанием неполноценных капилляров и вы-

раженной диффузной воспалительной инфильтрацией, регистрировалось наличие немногочисленных макрофагов с зернистыми включениями интенсивно красного цвета в цитоплазме (рис. 2А). При этом в группе пациентов с клиническим абациллированием (МБТ-) на фоне отсутствующего пиогенного слоя, количество таких макрофагов динамически увеличивалось по мере приближения к полости каверны. В пенистых макрофагах, определенных, как клетки с дормантными ми-

**Таблица 2**  
Показатель интенсивности экспрессии сурфактант-ассоциированного белка SP-A у пациентов основной и контрольной группы

**Table 2**  
Rate of expression intensity of surfactant-associated SP-A protein in patients of the main and control groups

Локализация	SP-A		
	Контрольная группа (M $\pm$ SE)	МБТ+ (M $\pm$ SE)	МБТ- (M $\pm$ SE)
Пиогенный слой	0,00	2,90 $\pm$ 0,03*	0,06 $\pm$ 0,03**
Грануляционный слой	0,00	2,82 $\pm$ 0,04*	2,81 $\pm$ 0,04*
Зона фиброза	0,00	1,17 $\pm$ 0,04*	1,05 $\pm$ 0,04**
Зона дистелектаза	0,00	2,90 $\pm$ 0,03*	2,27 $\pm$ 0,06**
Зона эмфиземы	0,00	1,07 $\pm$ 0,03*	0,99 $\pm$ 0,05**
Зона дренирующего бронха	1,03 $\pm$ 0,32	1,94 $\pm$ 0,03*	1,09 $\pm$ 0,03**
Альвеолоциты 2 типа	1,06 $\pm$ 0,25	1,92 $\pm$ 0,03*	1,07 $\pm$ 0,04**
Альвеолярные макрофаги	1,07 $\pm$ 0,25	1,96 $\pm$ 0,03*	2,03 $\pm$ 0,04*

Примечание: \*-  $p \leq 0,05$  по отношению к контрольной группе

\*\* -  $p \leq 0,05$  достоверность межгрупповых отличий МБТ+ и МБТ-

Note: \*-  $p \leq 0,05$  with respect to the control group

\*\* -  $p \leq 0,05$  validity of inter-group differences between MBT+ and MBT -

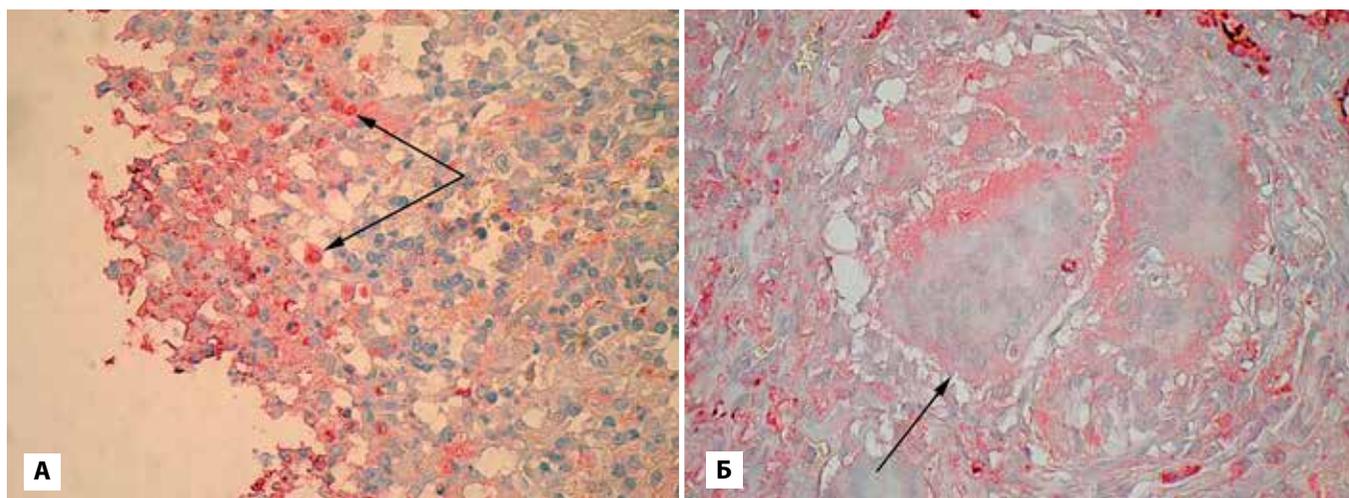


Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование с маркером SP-A

А – МБТ+. Единичные макрофаги с позитивной экспрессией SP-A в зоне специфической грануляционной ткани (стрелка). × 200

Б – МБТ-. Перикавернозная зона. Гранулема с отрицательной реакцией в гигантских многоядерных клетках Пирогова-Лангханса (стрелка). × 400

Fig. 2. IGC. SP-A.

А – MBT+. Single macrophages with positive SP-A expression in specific granulation tissue (arrow). × 200

Б – MBT-. Pericavernous zone. Granulema with negative reaction in giant multi-nucleate cells Pyrogov-Langhans (arrow). × 400

кобактериями (ярко-красного цвета внутриклеточные фрагменты кислотоустойчивых бактерий, визуализированные методом Циль-Нильсена), а также гигантских многоядерных клетках Пирогова-Лангханса во всех зонах фиксировалась негативная экспрессия (рис. 2Б).

Наблюдался фиброзный слой каверны со слабо выраженным диффузным фоновым окрашиванием красного цвета без фиксации в каких-либо клеточных элементах. Данный характер экспрессии регистриро-

вался во всех наблюдениях, независимо от активности бактериовыделения, что, вероятнее всего, связано с тотальной фиброзной трансформацией легочной паренхимы за счет гистологически подтвержденного (окраска пикрофуксином по Ван-Гизону) разрастания коллагеновых волокон с целью отграничения очага специфического воспаления при туберкулезе.

В перикавернозной зоне, независимо от экскреции МТБ в окружающую среду, визуализировались ин-

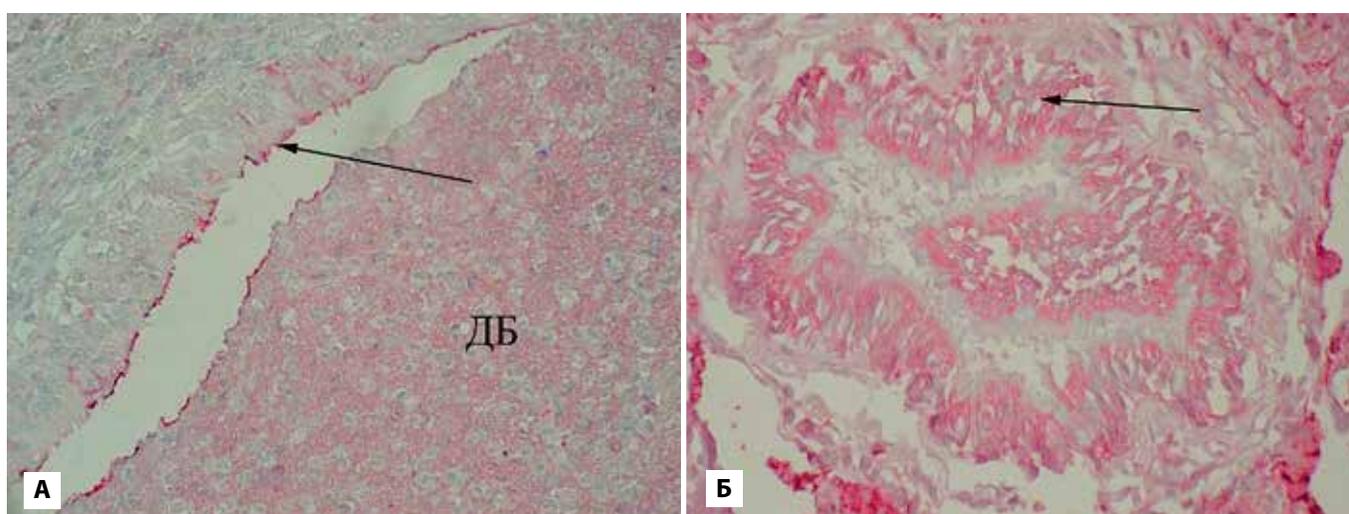


Рис. 3. МБТ+. Иммуногистохимическое исследование с маркером SP-A

А – Слабая степень экспрессии в виде линейной выстилки эпителия (стрелка) дренирующего бронха (ДБ). ×400

Б – высокая степень экспрессии SP-A в мерцательном эпителии бронхов (стрелка) и окружающей ткани. × 400

Fig. 3. MBT+. IGC with SP-A marker.

А – Mild degree of expression in the form of linear epithelial lining (arrow) of the draining bronchus (DB). × 400

Б – High degree of SP-A expression in ciliated epithelium of bronchi (arrow) and surrounding. × 400

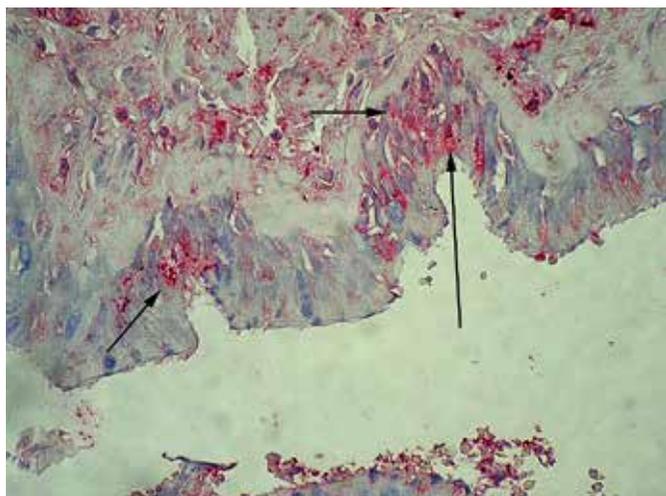


Рис. 4. МБТ. Иммуногистохимическое исследование с маркером SP-A. Dotted-like экспрессия в эпителии бронха.  $\times 100$

Fig. 4. MBT. IGC with SP-A marker. Dotted-like expression in bronchial epithelium.  $\times 100$

тенсивно окрашенные А2 и АМ, которые компактно группировались в частично коллабировавшихся альвеолярных просветах, располагаясь в два ряда на поверхности альвеолярной стенки.

В участках эмфизематозных изменений альвеол экспрессия SP-A – в виде непрерывной тонкой полоски красного цвета, выстилающей альвеолярную стенку. При этом редуцировано количество А2 с синтетической активностью компонентов сурфактанта и АМ, свободно лежащих в просвете альвеол, и, соответственно, их элиминирующих. В межальвеолярных перегородках регистрируется увеличение количества тканевых макрофагов с зернистыми включениями красного цвета в цитоплазме, что может быть результатом интенсификации фагоцитоза SP-A этими клетками с целью их последующей поляризации.

В области дренирующего бронха также определялись изменения экспрессии SP-A со значимыми межгрупповыми отличиями, в зависимости от активности бактериовыделения ( $p < 0,05$ ).

При ФКТ - МБТ + слабая степень экспрессии в виде линейной выстилки красного цвета локализуется на апикальной поверхности мерцательного эпителия дренирующего бронха и в бронхиальном экссудате ( $1,94 \pm 0,24$ ) (рис. 3А). В отдаленных от каверны бронхах с признаками неспецифического хронического бронхита – высокая интенсивность экспрессии SP-A ( $2,83 \pm 0,31$ ) в цитоплазме клеток мерцательного эпителия и в прилегающей к бронху эпителиальной выстилке альвеолы, в частности, в А2 и АМ (рис. 3Б).

В группе пациентов с ФКТ - МБТ - экспрессия SP-A ( $1,09 \pm 0,29$ ) определялась в виде мелкозернистых цитоплазматических включений (dotted-like) в атрофичных клетках реснитчатого эпителия, за счет выраженной гиперплазии бокаловидных клеток, про-

дуцирующих слизистый секрет в просвет бронха (рис. 4). Кроме того, фиксировалось наличие единичных позитивно окрашенных тканевых макрофагов в перибронхиальном пространстве.

Важно отметить, что позитивно окрашенные макрофаги во всех исследуемых зонах встречались в исключительных случаях и локализовались только в просвете альвеол. Тканевые макрофаги в межальвеолярных перегородках, перибронхиальной и интактной легочной ткани демонстрировали негативную экспрессию.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

История изучения сурфактанта началась еще в 70-е годы прошлого века. Многочисленные исследования позволили установить его физико-химические свойства, роли в физиологических условиях и при различных патологических состояниях легких. Имеется большое количество научных работ, доказывающих роль дефицита сурфактанта при развитии различной бронхолегочной патологии. Разработан широкий спектр препаратов заместительной сурфактантной терапии (ЗСТ) как нативного, так и синтетического происхождения, активно применяющихся для лечения дыхательных расстройств. Однако при туберкулезном процессе использование ЗСТ по-прежнему затруднительно. Наше исследование убедительно доказывает роль сурфактант-ассоциированного белка А не только в поддержании стабильности альвеолы, но и в процессе активации макрофагального звена локального иммунитета легких во время активного бактериовыделения, что косвенно свидетельствует о его опсонизирующем эффекте. Зафиксированы и межгрупповые различия локализационного характера SP-A, проявляющиеся по мере удаленности от очага кавернозной деформации, и в зависимости от активности бактериовыделения. При этом у всех пациентов с ФКТ определено достоверное снижение его общего уровня в сравнении с контрольными образцами легких людей, умерших от патологии, не связанной с дыхательной системой.

Непосредственно в стенке каверны установлена максимальная экспрессия SP-A в зоне казеозного некроза у пациентов ФКТ - МБТ + группы. Данная реакция, возможно, является следствием остаточной антигенной активности некротизированных А2 и АМ, принимающих активное участие в производстве, рециркуляции и утилизации компонентов сурфактанта.

Последующая зональная депрессия интенсивности реакции от слоя специфической грануляционной ткани к фиброзу не демонстрировала достоверных межгрупповых отличий. При этом значимо отличалась от контрольной группы за счет увеличения числа активных макрофагов, инфильтрирующих поля разрастания специфических грануляций. Важно от-

метить, что пенные макрофаги и гигантские клетки Пирогова-Лангханса во всех случаях характеризовались негативной экспрессией, что является следствием перегруженности липидными включениями и гиперактивации белка макросиалина, проявляющегося при слиянии поздней эндосомы и лизосомы фагоцита.

В нашем исследовании установлена интенсификация экспрессии SP-A на поверхности мерцательного эпителия и в перибронхиальных макрофагах при активации бактериовыделения. Данная реакция может быть связана с активизацией опсонизирующего действия гистиоцитов в связи с массивным количеством микобактерий, которые располагаются не только в просвете бронха, но и в ближайшей перибронхиальной ткани. Выраженной бактериальной инсеминацией объясняется появление и позитивно окрашенных тканевых макрофагов, возможно поляризуемых в провоспалительные макрофаги 1 типа с высокой цитокиновой активностью, в том числе с продукцией VEGF для активации неоангиогенеза и ремоделирования межклеточного матрикса.

В перикавернозной зоне, независимо от активности бактериовыделения, происходит перераспределение сурфактант-ассоциированного белка А, что может интерпретироваться, как механическое скопление альвеолоцитов и АМ в зоне дистелектаза. Кроме того, это свидетельствует о компенсаторной активации пролиферативной и синтетической активности А2 в ответ на грубую деструкцию и воспаление, что подтверждает индуктивный иммуномодулирующий и противовоспалительный эффекты сурфактанта. Интенсификация ИГХ реакций в АМ связана с активной утилизацией компонентов сурфактанта, способного стимулировать макрофаги к фагоцитозу.

Таким образом, при формировании деструктивных форм вторичного туберкулеза, в частности, при фиброзно-кавернозном туберкулезе определяется комплексный дефицит сурфактант-ассоциированного белка А, который приводит к дезорганизации монослоя сурфактанта на внутренней поверхности альвеол, их коллабириванию и прогрессии дыхательной недостаточности, что определяет необходимость применения ЗСТ всем пациентам, независимо от активности бактериовыделения, с целью стимуляции опсонизации альвеолярными макрофагами *Mycobacteria tuberculosis*.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Васильева И.А., Белиловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. Глобальные отчеты Всемирной организации здравоохранения по туберкулезу: формирование и интерпретация. Туберкулез и болезни легких. 2017. Т.95, №5. С.7-16. [Vasil'eva IA, Belilovskij EM, Borisov SE, Sterlikov SA. Global'nye otchety Vsemirnoj organizacii zdruvoohraneniya po tuberkulezu: formirovanie i interpretaciya. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2017;95(5):7-16. (In Russ.)].

2. Яблонский П.К., Вишневецкий Б.И., Соловьева Н.С., Маничева О.А., Догонадзе М.З., Мельникова Н.Н., Журавлев В.Ю. Лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* при различных локализациях заболевания. Инфекция и иммунитет. 2016. Т.6, №2. С. 133-140. [Yablonskij PK, Vishnevskij BI, Solov'eva NS, Manicheva OA, Dogonadze MZ, Mel'nikova NN, Zhuravlev VYu. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in different localizations of the disease. *Infekciya i immunitet*. 2016;6(2):133-140. (In Russ.)].

3. Kishore U, Greenhough TJ, Waters P, et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol. Immunol*. 2006;43:1293-1315.

4. Ince LM, Pariollaud M, Gibbs JE. Lung Physiology and Defense. *Current Opinion in Physiology*. 2018;5:9-15.

5. Kankavi O, Roberts MS. Detection of surfactant protein A (SP-A) and surfactant protein D (SP-D) in equine synovial fluid with immunoblotting. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2004;68(2):146-149.

6. Pondman KM, Paudyal B, Sim RB, et al. Pulmonary surfactant protein SP-D opsonises carbon nanotubes and augments their phagocytosis and subsequent pro-inflammatory immune response. *Nanoscale*. 2017;9(3):1097-1109. doi: 10.1039/c6nr08807d.

7. Vieira F, Kung JW, Bhatti F. Structure, genetics and function of the pulmonary associated surfactant proteins A and D: the extrapulmonary role of these C type lectins. *Annals of Anatomy*. 2017;211:184-201. doi: 10.1016/j.aanat.2017.03.002.

8. Cabre EJ, Martinez-Calle M, Prieto M, et al. Homo- and hetero-oligomerization of hydrophobic pulmonary surfactant proteins SP-B and SP-C in surfactant phospholipid membranes. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(24):9399-9411. doi: 10.1074/jbc.RA117.000222.

9. Yang L, Johansson J, Ridsdale R, et al. Surfactant protein B propeptide contains a saposin-like protein domain with antimicrobial activity at low pH. *The Journal of Immunology*. 2009;184(2):975-983. doi: 10.4049/jimmunol.0900650.

10. Augusto LA, Li J, Synguelakis M, et al. Interaction of pulmonary surfactant protein C with CD14 and lipopolysaccharide. *Infect. Immun*. 2003;71:61-67. doi: 10.1128/IAI.71.1.61-67.2003.

11. Jiramethee N, Erasmus D, Noguee L, et al. Pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia associated with surfactant protein C gene mutation. *Case Reports in Pulmonology*. 2017; 2017: 9541419. doi:10.1155/2017/9541419.

12. Golubinskaya EP, Filonenko TG, Zinchenko AA. [Dependence of sclerotic processes on macrophage activity in fibrous-cavernous tuberculosis] [Article in Russian] *Synergy of Sciences*. 2017;8:527-532.

13. Голубинская Е.П., Филоненко Т.Г., Зинченко А.А. Распределение количества альвеолярных макрофагов и особенности их функциональной активности в различных участках легочной ткани при фиброзно-кавернозном туберкулезе. *Синергия наук*. 2017. №8. С. 533-539. [Golubinskaya EP, Filonenko TG, Zinchenko AA. The distribution of the number of alveolar macrophages and the peculiarities of their functional activity in different parts of the lung tissue in case of fibro-cavernous tuberculosis. *Synergy of Sciences*. 2017;8:533-539. (In Russ.)].

14. Голубинская Е.П., Филоненко Т.Г., Кальфа М.А., Ермола Ю.А. Морфологические особенности ангиогенеза при фиброзно-кавернозном туберкулезе. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2018. Т.8. №1. С. 16-19. [Golubinskaya EP, Filonenko TG, Kalfa MA, Ermola YA. Morphological features of angiogenesis in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2018;8(1):16-19. (In Russ.)].

15. Голубинская Е.П., Крамарь Т.В. Морфофункциональное обоснование таргетной терапии блокаторами ангиогенеза при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких. Материалы международного форума «Биотехнология: состояние и перспективы развития». 2018, Май 23-25; Москва, Россия. С. 400-402. [Golubinskaya EP, Kramar TV. Morphofunctional substantiation of targeted therapy with blocker angiogenesis in fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis. Materials of the international forum "Biotechnology: state and prospects of development"; 2018, May 23-25; Moscow, Russia; 2018: 400-402. (In Russ.)].

16. Lock MC, McGillick EV, Orgeig S, et al. Mature surfactant protein-B expression by immunohistochemistry as a marker for surfactant system development in the fetal sheep lung. *Journal of Histochemistry&Cytochemistry*. 2015;63(11):866–878. doi: 10.1369/0022155415600201.

17. Yanin VL, Bondarenko OM, Sazonova NA. The educational-methodical manual for postgraduate full-time students to practical classes in the discipline "Methods of research in cytology and histology." Teaching guide - Khanty-Mansiysk: BU "Khanty - Mansiysk State Medical Academy", 2015.

18. Dabbs D.J. *Diagnostic Immunohistochemistry*. 2-nd ed. Elsevier. 2006.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Голубинская Елена Петровна**, к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: missive@mail.ru.

**Филоненко Татьяна Григорьевна**, к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: tanya\_fil@mail.ru.

**Ермола Юлианна Аркадьевна**, к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: varryet@gmail.com.

**Кубышкин Анатолий Владимирович**, профессор, д.м.н., заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: kubyshkin\_av@mail.ru.

**Кальфа Маргарита Алексеевна**, ассистент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: rita.kalfa@mail.ru.

**Герашенко Алина Витальевна**, ассистент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: sunlight\_a@inbox.ru.

**Крамарь Татьяна Вадимовна**, студент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского (Симферополь, Россия). E-mail: kramarva@gmail.com.

**Конфликт интересов отсутствует.**

*Статья поступила 10.11.2019 г.*

## AUTHOR CREDENTIALS

**Elena P. Golubinskaya**, Ph. D. in Medicine, Associate Professor of Pathological Anatomy with Sectional Course Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: missive@mail.ru.

**Tatyana G. Filonenko**, Ph. D. in Medicine, Associate Professor of Pathological Anatomy with Sectional Course Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: tanya\_fil@mail.ru.

**Yulianna A. Yermola**, Ph. D. in Medicine, Associate Professor of Pathological Anatomy with Sectional Course Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: varryet@gmail.com.

**Anatoly V. Kubyshkin**, Ph. D. in Medicine, Professor of General and Clinical Pathophysiology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: kubyshkin\_av@mail.ru.

**Margarita A. Kalfa**, Assistant of Pathological Anatomy with Sectional Course Department, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: rita.kalfa@mail.ru.

**Alina V. Gerashenko**, Assistant, Department of Pathological Anatomy with Sectional Course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: sunlight\_a@inbox.ru.

**Tatyana V. Kramar**, Student, Department of Pathological Anatomy with Sectional Course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Simferopol, Crimea Republic, Russia). E-mail: kramarva@gmail.com.

**Conflict of interest: none declared.**

*Accepted 10.11.2019*