

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616-091.8-811

© Коллектив авторов, 2019

Е.П. Голубинская, Т.Г. Филоненко, Ю.А. Ермола, А.В. Кубышкин, М.А. Кальфа

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СУРФАКТАНТ-АССОЦИИРОВАННЫХ БЕЛКОВ SP-B И SP-C ПРИ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь

Туберкулез остается одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических проблем. В настоящее время около трети населения мира инфицированы микобактерией туберкулеза. Среди причин смерти от инфекционных заболеваний туберкулез составляет более 80%.

Известно, что особое место в системе местной защиты легких занимает сурфактант. Белки сурфактанта играют важнейшую роль в регуляции метаболизма фосфолипидов, организации структуры сурфактантных мембран, реакциях иммунитета. В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение состояния сурфактантных белков, находящихся в очагах специфической деструкции и в окружающей интактной легочной ткани для оценки ее функционального состояния, степени дыхательной недостаточности и возможной диссеминации туберкулезного воспаления.

Материалом для исследования послужили фрагменты легких умерших или прооперированных по поводу кавернозного туберкулеза легких (n=163) с активным бактериовыделением (n=89) и с клиническим абациллированием (n=74).

Установлено, что во всех исследуемых образцах как в участках кавернозной деструкции и перикавернозной зоны, так и в интактной легочной ткани выявилась динамическая депрессия сурфактант-ассоциированных белков В и С. Максимальная выраженность иммуногистохимической экспрессии фиксировалась в альвеолярных макрофагах, что свидетельствовало об интенсивной рециркуляции и утилизации компонентов сурфактанта. В интактной легочной ткани значительно снижалось количество SP-C. При этом в очаге кавернозной деструкции и перикавернозной зоне данный апопротеин тотально исчезал. Таким образом, снижение продукции компонентов сурфактанта приводит к дезорганизации альвеол с последующим их коллапсированием и развитием дыхательной недостаточности.

Ключевые слова: сурфактантассоциированные белки, иммуногистохимия, туберкулез легких.

Е.Р. Golubinskaya, T.G. Filonenko, Yu.A. Ermola, A.V. Kubyshkin, M.A. Kalfa

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF SURFACTANT-ASSOCIATED PROTEINS SP-B AND SP-C AT FIBRO-CAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS

Tuberculosis remains one of the most pressing medical and socioeconomic problems. Currently, about a third of the world's population is infected with Mycobacterium tuberculosis. Among the causes of death from infectious diseases, tuberculosis is more than 80%.

Surfactant is known to have a special place in the local lung protection system. Surfactant proteins play the most important role in the regulation of phospholipid metabolism, in the organization of the structure of surfactant membranes, in immunity reactions. In this regard, the purpose of our study was to study the state of surfactant proteins in the foci of specific destruction and in the surrounding intact lung tissue to assess its functional state, the degree of respiratory failure and possible dissemination of tuberculous inflammation.

The material for the study was fragments of the lungs of the dead or operated on for cavernous pulmonary tuberculosis (n = 163) with active bacteria excretion (n = 89) and with clinical abacillation (n = 74).

It was established that in all the studied samples, both in the areas of cavernous destruction and pericavernous zone, and in the intact lung tissue, dynamic depression of surfactant-associated proteins B and C was detected. The maximum expression of immunohistochemical expression was recorded in the alveolar macrophages, which indicated intensive recycling and utilization of the components of the surfactant. In intact lung tissue, the amount of SP-C was significantly reduced. At the same time, in the focus of the cavernous destruction and the pericavernous zone, this apoprotein totally disappeared. Thus, a decrease in the production of surfactant components leads to disorganization of the alveoli with their subsequent collapse and the development of respiratory failure.

Key words: surfactant-associated proteins, immunohistochemistry, pulmonary tuberculosis.

Туберкулез остается одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических проблем. В настоящее время около трети населения мира инфицированы микобактерией туберкулеза. Ежегодно регистрируются 8,8 млн. новых случаев заболевания и около 2 млн. человек умирают от него. Среди причин смерти от инфекционных заболеваний туберкулез составляет более 80% [1]. Высокие показатели заболеваемости и летальности, поздняя клиническая манифестация, вариативность клинко-морфологических форм, рецидивирующее течение, длительное лечение – все это лишь малая часть нерешенных задач, связанных с туберкулезным процессом [1,2].

Основную роль неадекватного функционирования иммунитета при прогрессировании специфического воспаления играет дисрегуляция клеточных и гуморальных механизмов с формированием патогенетического «порочного круга». Одним из ключевых механизмов в развитии «порочного круга» играет сурфактантная система [3].

Сурфактант представляет собой белково-липидный комплекс и состоит из 80% фосфолипидов, 8% нейтральных жиров (холестерол и свободные жирные кислоты) и 12% белков. Сурфактантассоциированные белки (САБ) SP-A, SP-B, SP-C и SP-D участвуют в регуляции метаболизма фосфолипидов, орга-

низации структуры сурфактантных мембран, реакциях иммунитета [3,4].

SP-B (8кДа) и SP-C (4кДа) – это низкомолекулярные гидрофобные белки, которые в органических растворителях остаются связанными с фосфолипидами, синтезируются альвеолоцитами II типа (A2), нереснитчатыми бронхиолярными эпителиальными клетками и клетками Клара. Белок SP-B осуществляет фиксацию фосфолипидов мономолекулярной пленки сурфактанта на границе раздела двух фаз воздух – жидкость. Белок SP-C участвует в формировании тубулярного миелина и способствует созданию сурфактантного монослоя, препятствуя коллапсу альвеол [5]. Что касается роли данного белка в процессе дыхания, то экспериментальные исследования показали, что его отсутствие приводит к выраженным дыхательным патологиям и он необходим для нормального поддержания дыхания длительное время.

Следует отметить, что большинство исследований роли сурфактанта в развитии бронхолегочной патологии основаны на анализе экспериментальных данных, иммунологических реакций *in vivo* и *in vitro* и не отражают морфологической специфики деструктивных форм туберкулеза [6,7].

Целью нашего исследования явилось изучение сурфактантных апопротеинов в очаге специфической деструкции и в интактной легочной ткани для оценки ее функционального состояния, степени дыхательной недостаточности и возможной диссеминации туберкулезного воспаления.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили фрагменты легких умерших или прооперированных по поводу фиброзно-кавернозного туберкулеза (ФКТ) легких (n=163). Все пациенты были подразделены на 2 основные группы. 1-я группа – 84 пациента

с ФКТ легких с активным бактериовыделением (МБТ+); 2-я группа – 79 пациентов с ФКТ легких без бактериовыделения (МБТ–).

В качестве контрольной группы для сравнения морфологических показателей были использованы фрагменты легких 30 больных, умерших от патологии, не связанной с заболеваниями легких (инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения).

Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 18 до 65 лет, отрицательные клинико-лабораторные данные наличия коморбидной патологии (вирусные гепатиты В, С и ВИЧ), обострения хронических заболеваний других органов и систем, информированное согласие.

Для стандартного гистологического 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 [9]. Кроме того, для определения кислотоустойчивых микобактерий проводилось гистохимическое исследование по методу Циля–Нельсена.

Для оценки состояния сурфактантассоциированных белков (САБ) проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с использованием маркеров SP-B (AB 3436; ChemiconIntern.Inc., USA; rabbitanti-human; 1:2000) и SP-C (AB 3428; ChemiconIntern.Inc., USA; rabbitanti-human; 1:500). Система визуализации – Strept ABCComplex/APDakoCytomation [10].

В связи с наличием экспрессии САБ как внутри различных клеточных элементов, так и на внутренней поверхности альвеол и бронхиол проводили оценку интенсивности реакции полуколичественным методом с учетом локализации (табл. 1).

Таблица 1

Оценка интенсивности экспрессии сурфактантассоциированных белков		
Окраска образцов	Степень реакции	Оценка, балл
Отсутствует	Отсутствует	0
Красные полосы 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

Анализ препаратов и запись цифровых изображений проводили на микроскопе OLYMPUS CX41, оборудованном цифровой камерой OLYMPUS C 5050Z при увеличении объектива 20× (числовая апертура – 0,65; рабочее расстояние – 0,6 мм). Морфометриче-

скую обработку полученных данных проводили с помощью лицензионного программного обеспечения ImageJ.

Статистическая обработка полученных данных проведена методами вариационной статистики с использованием непараметриче-

ских критериев при помощи программного пакета Statistica for Microsoft Windows, version 10.0., StatSoft 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 $M \pm SE$, где M – среднее значение, SE – стандартная ошибка.

Результаты

При анализе ИГХ-реакций с белком SP-B во фрагментах легочной ткани контрольной группы экспрессия наблюдалась практически во всех альвеолоцитах 2-го типа (A2), локализующихся на альвеолярной стенке. При этом большинство A2 имели выраженную позитивную реакцию, т.е. преобладали клетки, активно синтезирующие компоненты сурфактанта и обеспечивающие стабильность легочной альвеолы в процессе дыхания (табл.2). Кроме того, фиксировалась слабо позитивная реакция в цитоплазме альвеолярных макрофагов (AM),

локализующихся как в нишах альвеолярной выстилки, так и в просвете альвеол (рис.1А). Иногда встречалась слабая позитивная экспрессия SP-B в мерцательном эпителии бронхов, что, по-видимому, свидетельствует об элиминации отработанного сурфактанта бронхиальным путем при выдохе.

Таблица 2
Оценка интенсивности экспрессии сурфактантассоциированных белков В и С в контрольной группе

Локализация	SP-B ($M \pm SE$)	SP-C ($M \pm SE$)
Бронхиальный эпителий	1,03±0,18	0,00
Альвеолоциты 2-го типа	2,93±0,25	1,93±0,20
Альвеолярные макрофаги	2,00±0,06	1,00±0,26

Экспрессия SP-C характеризуется умеренно выраженной позитивной реакцией, так как только небольшое количество A2 имеет яркую диффузную цитоплазматическую красную окраску. Большинство их имеет в цитоплазме небольшое количество гранул SP-C, располагающихся в виде зерен в цитоплазме. В AM отмечается слабая экспрессия белка (рис. 1В).

При оценке интенсивности экспрессии SP-B и SP-C непосредственно в очаге кавернозной деформации как в случаях с МБТ+, так и при МБТ- в зонах казеозного некроза, специфической грануляционной и фиброзной ткани регистрировалась отрицательная реакция (0 баллов) (табл. 3).

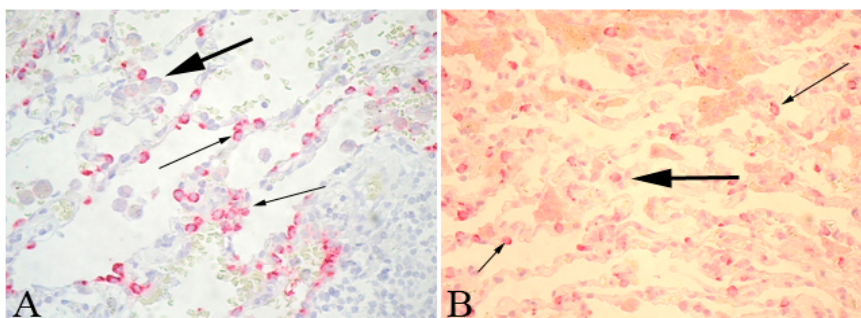


Рис. 1. Контрольная группа. ИГХ-исследование. Ув.×200:

А – выраженная экспрессия SP-B в A2 (светлая стрелка), слабая – в AM (стрелка отмечена жирным шрифтом). В – умеренно выраженная экспрессия SP-C, локализующаяся в A2 (светлая стрелка), слабая – в AM (стрелка отмечена жирным шрифтом)

Таблица 3
Интенсивность экспрессии SP-B и SP-C при ФКТ легких в зависимости от активности бактериовыделения

Локализация	SP-B		SP-C	
	МБТ+($M \pm SE$)	МБТ–($M \pm SE$)	МБТ+($M \pm SE$)	МБТ–($M \pm SE$)
Пиогенный слой	0,00	0,00	0,01±0,012	0,00
Грануляционный слой	0,00	0,00	0,00	0,01±0,012
Зона фиброза	0,00	0,00	0,00	0,00
Зона дистелектаза	2,90±0,03*	2,92±0,03*	0,95±0,02*	0,95±0,02*
Зона эмфиземы	0,93±0,03*	0,95±0,02*	0,00	0,00
Зона дренирующего бронха	0,06±0,03*	0,05±0,02*	0,01±0,012	0,01±0,012
Альвеолоциты 2-го типа	0,95±0,02*	0,96±0,02*	0,95±0,02*	0,95±0,03*
Альвеолярные макрофаги	1,06±0,03*	1,06±0,03**	0,00*	0,00*

* $p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе. ** $p \leq 0,05$ по отношению к МБТ+.

При активном ФКТ экспрессия SP-B в зоне дренирующего бронха была отрицательная, но в зоне дистелектаза вблизи фиброзной стенки каверны отмечался высокий ее уровень

(2,90±0,30), что свидетельствует о пролиферации A2 и скоплениях AM в дистелектатических альвеолах. Аналогичный характер реакции в A2, экспрессирующих SP-C (0,95±0,21) (рис. 2А, В).

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 легочных тканей демонстрировали негативную экспрессию (рис. 2С, D).

В участках эмфиземы вдали от каверны экспрессия SP-B во всех наблюдениях независимо от активности его бактериовыделения

резко снижалась и приобретала прерывистый контур. Количество эпителиоцитов, синтезирующих данный белок, резко уменьшалось. Данные особенности свидетельствуют о повреждении A2 и снижении функции сурфактанта вследствие прогрессирующего и, по всей видимости, необратимого перерастяжения альвеол. При этом экспрессия SP-C в указанной зоне отсутствует (0 баллов) или определяется в единичных A2-клетках, или тотально исчезает.

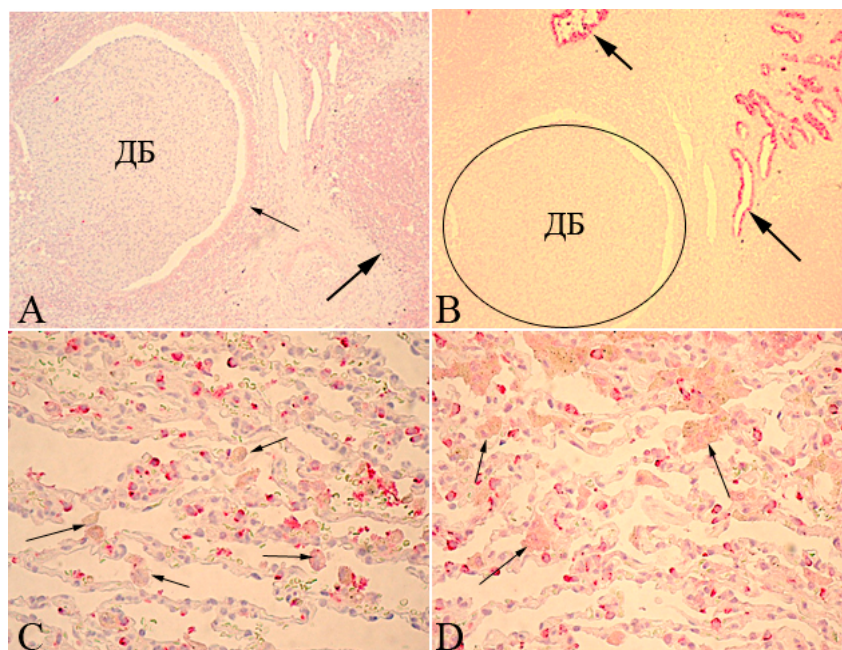


Рис. 2. ФКТ-МБТ+. Зона дренирующего бронха (ДБ). ИГХ-исследование. Ув. 100:

А – слабая экспрессия SP-B в эпителии бронха (светлая стрелка), выраженная экспрессия в прилегающей зоне дистелектаза (стрелка отмечена жирным шрифтом); В – отрицательная реакция SP-C в эпителии бронха и некротических массах ДБ (круг) и высокий уровень экспрессии в прилегающей зоне дистелектаза (стрелка отмечена жирным шрифтом); С – высокая цитоплазматическая экспрессия SP-B в A2 красного цвета, отрицательная реакция – в АМ (стрелка); D – выраженная цитоплазматическая экспрессия SP-C в A2 красного цвета, отрицательная реакция – в АМ (стрелка)

Обсуждение

Многочисленные исследования сурфактанта легких направлены на изучение его метаболизма, физико-химических свойств, роли в физиологических условиях и при различных патологических состояниях легких. Имеется большое количество научных работ, доказывающих роль дефицита сурфактанта при развитии различной патологии дыхательной системы. Однако большинство из них основаны на изучении количественных показателей САБ в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и не отражают характер межклеточных взаимодействий. Часть исследований проводилась на образцах тканей экспериментальных животных, что не всегда позволяет экстраполировать полученные результаты на пациентов с вторичными, в том числе и деструктивными формами туберкулеза [11].

В нашем морфологическом исследовании экспрессии сурфактантных белков В и С

во фрагментах легких пациентов с ФКТ было установлено достоверное снижение их общего уровня в сравнении с контрольными образцами легких людей, умерших от патологии, не связанной с дыхательной системой. Кроме того, зафиксированы межгрупповые различия очагового характера SP-B, проявляющиеся по мере удаленности от очага кавернозной деформации и в зависимости от активности бактериовыделения.

Непосредственно в стенке каверны установлена максимальная экспрессия SP-B в зоне казеозного некроза у пациентов группы ФКТ-МБТ+. Данная реакция, возможно, является следствием остаточной антигенной активности некротизированных A2 и АМ, активно участвующих в производстве и утилизации компонентов сурфактанта.

Последующая зональная супрессия интенсивности реакции от слоя специфической грануляционной ткани к фиброзному слою не

показывала достоверных межгрупповых отличий. При этом отличалась от контрольной группы за счет увеличения числа активных макрофагов, инфильтрирующих поля разрастания специфических грануляций. Важно отметить, что пенистые макрофаги и гигантские клетки Пирогова–Лангханса во всех случаях характеризовались негативной экспрессией, что является следствием перегруженности липидными включениями и гиперактивации белка макросиалина, проявляющихся при слиянии поздней эндосомы и лизосомы фагоцита [12].

Одним из принципиальных гистологических отличий ФКТ-МБТ+ от ФКТ-МБТ- является наличие дренирующего бронха, содержащего, как правило, казеозные массы с большим количеством микобактерий. В нашем исследовании установлена интенсификация экспрессии SP-B на поверхности мерцательного эпителия и в перибронхиальных макрофагах при активации бактериовыделения. Данная реакция может быть связана с активизацией опсонизирующим действием гистиоцитов в связи с массивным количеством микобактерий, которые располагаются не только в просвете бронха, но и в ближайшей перибронхиальной ткани [13]. Выраженной бактериальной диссеминацией объясняется появление позитивно окрашенных тканевых макрофагов, возможно, поляризующихся в провоспалительные макрофаги 1-го типа с высокой цитокиновой активностью, в том числе и продукции VEGF, для активации неоангиогенеза и ремоделирования межклеточного матрикса [14].

В целом в перикавернозной зоне независимо от активности бактериовыделения происходит перераспределение всех САБ в большей степени в перикавернозную зону. Скопление апопротеинов в участках дистелектаза может иметь двойственное значение. С одной стороны, причиной такой экспрессии является механическая конгломерация альвеолоцитов и АМ в связи с частичным коллабированием альвеол. С другой стороны, возможно, является результатом повышения

пролиферативной и синтетической активности А2 как компенсаторно-приспособительной реакции в ответ на глубокие деструктивные и выраженные воспалительные процессы, что связано с активацией иммуномодулирующей и противовоспалительной функций [15]. Усиление экспрессии в АМ свидетельствует об интенсивной утилизации компонентов сурфактанта, способного стимулировать макрофаги к фагоцитозу [16].

ИГХ-исследование гидрофобных апопротеинов SP-B и SP-C позволило установить стандартные реакции независимо от активности бактериовыделения, что проявлялось в их перераспределении в патологически измененные альвеолы, но сохраняющие способность газообмена в зоне дистелектаза. По нашему мнению, данный характер экспрессии подтверждает наличие компенсаторно-приспособительных реакций А2 с целью стабилизации монослоя сурфактанта и обеспечения стабильности альвеол [17]. Критичная депрессия SP-C, вплоть до тотального исчезновения при деструктивных и дистрофических процессах в легких, связана с максимально выраженной чувствительностью данного коллектина, что приводит к ускоренной деградации при туберкулезном процессе или является следствием высокой чувствительности к катаболическому разрушению в некротизированных, в том числе и в прооперированных тканях.

Выводы

Таким образом, при формировании деструктивных форм вторичного туберкулеза определяется комплексный дефицит и дисбаланс гомеостаза белков сурфактантной системы легких за счет стимуляции альвеолярных макрофагов, повышения опсонизации с последующим фагоцитозом *Mycobacteria tuberculosis*. Снижение продукции компонентов сурфактанта и активная его утилизация в интактной легочной ткани приводят к дезорганизации монослоя на внутренней поверхности альвеол, их коллабированию и прогрессии дыхательной недостаточности.

Сведения об авторах статьи:

Голубинская Елена Петровна – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: missive@mail.ru.

Филоненко Татьяна Григорьевна – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: tanya_fil@mail.ru.

Ермола Юлианна Аркадьевна – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: varyet@gmail.com.

Кубышкин Анатолий Владимирович – д.м.н., профессор зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: kubyshkin_av@mail.ru.

Кальфа Маргарита Алексеевна – ассистент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Адрес: г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: rita.kalfa@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chee Cynthia, B.E. The shorter multidrug-resistant tuberculosis treatment: are patients from South-East Asia eligible / B. E. Chee Cynthia // *Eur. Respir. J.* – 2017. – Vol. 50, № 2. – P. 170-175.
2. Ince L.M. Lung Physiology and Defense / L.M. Ince, M. Pariollaud, J.E. Gibbs // *Current Opinion in Physiology.* – 2018. – P. 346-467.
3. Pondman K.M. Pulmonary surfactant protein SP-D opsonises carbon nanotubes and augments their phagocytosis and subsequent pro-inflammatory immune response / Pondman K. M. [et al.] // *Nanoscale.* – 2017. – № 9(3). – P. 1097-1109.
4. Vieira F. Structure, genetics and function of the pulmonary associated surfactant proteins A and D: the extrapulmonary role of these c type lectins / Vieira F., [et al.] // *Annals of Anatomy.* – 2017. – P. 146-234.
5. Cabre E.J. Homo- and hetero-oligomerization of hydrophobic pulmonary surfactant proteins SP-B and SP-C in surfactant phospholipid membranes / Cabre E.J. [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2018. – P. 293-241.
6. Yang L. Surfactant protein B propeptide contains a saposin-like protein domain with antimicrobial activity at low pH / Yang L., [et al.] // *The Journal of Immunology.* – 2009. – № 184(2). – P. 975-983.
7. Jiramethee N. Pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia associated with surfactant protein C gene mutation / Jiramethee N. [et al.] // *Case Reports in Pulmonology.* – 2017. – P. 79-90.
8. Yanin V.L. 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»/ V.L.Yanin //, 2015. – P. 67.
9. Dabbs D.J. Diagnostic Immunohistochemistry, 2-nd ed. Elsevier / D.J. Dabbs // 2016.
10. Sorokina I.V. Features of t-lymphocyte expression and evaluation of the immunoregulatory index CD4 / CD8 in the focus of specific inflammation in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis / I.V. Sorokina, T.G. Filonenko // *Tavrichesky Medical Biological Journal.* – 2013. – № 16 (Pt 3). – P. 135-139.
11. Golubinskaya E.P. Dependence of sclerotic processes on macrophage activity in fibrous-cavernous tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, A.A. Zinchenko // *Synergy of Sciences.* – 2017. – № 8. – P. 527-532.
12. Sakamoto K. The pathology of mycobacterium tuberculosis infection / K. Sakamoto // *Veterinary Pathology.* – 2012. – № 49(3). – P. 423-439.
13. Golubinskaya E.P. 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 / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, A.A. Zinchenko // *Synergy of Sciences.* – 2017. – № 8. – P. 533-539.
14. Gordon S. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions / S. Gordon, A. Plüddemann, Estrada F. Martinez // *Immunol. Rev.* – 2014. – № 26. – P. 36-55.
15. Golubinskaya E.P. Morphological features of angiogenesis in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, M.A. Kalfa, Yu.A. Ermola // *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* – 2018. – № 8(1). – P. 16-19.
16. Golubinskaya E.P. Morphofunctional substantiation of targeted therapy with blocker myangiogenesis in fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.V. Kramar // *Materials of the international forum «Biotechnology: state and prospects of development».* – 2018. – P. 400-402.
17. Lock M.C. Mature surfactant protein-B expression by immunohistochemistry as a marker for surfactant system development in the fetal sheep lung. / Lock M.C., [et al.] // *Journal of Histochemistry&Cytochemistry.* – 2015. – № 63(11). – P. 866-878.

REFERENCES

1. Chee Cynthia, B. E. The shorter multidrug-resistant tuberculosis treatment: are patients from South-East Asia eligible / B.E. Chee Cynthia // *Eur. Respir. J.* – 2017. – Vol. 50, № 2. – P.170-175.
2. Ince L.M. Lung Physiology and Defense / L.M. Ince, M. Pariollaud, J.E. Gibbs // *Current Opinion in Physiology.* – 2018. – P. 346-467.
3. Pondman K.M. Pulmonary surfactant protein SP-D opsonises carbon nanotubes and augments their phagocytosis and subsequent pro-inflammatory immune response / Pondman K.M. [et al.] // *Nanoscale.* – 2017. – № 9(3). – P. 1097-1109.
4. Vieira F. Structure, genetics and function of the pulmonary associated surfactant proteins A and D: the extrapulmonary role of these c type lectins / Vieira F., [et al.] // *Annals of Anatomy.* – 2017. – P. 146-234.
5. Cabre E.J. Homo- and hetero-oligomerization of hydrophobic pulmonary surfactant proteins SP-B and SP-C in surfactant phospholipid membranes / Cabre E.J. [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2018. – P. 293-241.
6. Yang L. Surfactant protein B propeptide contains a saposin-like protein domain with antimicrobial activity at low pH / Yang L., [et al.] // *The Journal of Immunology.* – 2009. – № 184(2). – P. 975-983.
7. Jiramethee N. Pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia associated with surfactant protein C gene mutation / Jiramethee N. [et al.] // *Case Reports in Pulmonology.* – 2017. – P. 79-90.
8. Yanin V.L. 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»/ V.L.Yanin //, 2015. – P. 67. (In Russ).
9. Dabbs D.J. Diagnostic Immunohistochemistry, 2-nd ed. Elsevier / D.J. Dabbs // 2016.
10. Sorokina I.V. Features of t-lymphocyte expression and evaluation of the immunoregulatory index CD4 / CD8 in the focus of specific inflammation in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis / I.V. Sorokina, T.G. Filonenko // *Tavrichesky Medical Biological Journal.* – 2013. – № 16 (Pt 3). – P. 135-139. (In Russ).
11. Golubinskaya E.P. Dependence of sclerotic processes on macrophage activity in fibrous-cavernous tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, A.A. Zinchenko // *Synergy of Sciences.* – 2017. – № 8. – P. 527-532. (In Russ).
12. Sakamoto K. The pathology of mycobacterium tuberculosis infection / K. Sakamoto // *Veterinary Pathology.* – 2012. – № 49(3). – P. 423-439.
13. Golubinskaya E.P. 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 / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, A.A. Zinchenko // *Synergy of Sciences.* – 2017. – № 8. – P.533-539. (In Russ).
14. Gordon S. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions / S. Gordon, A. Plüddemann, Estrada F. Martinez // *Immunol. Rev.* – 2014. – № 26. – P. 36-55.
15. Golubinskaya E.P. Morphological features of angiogenesis in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.G. Filonenko, M.A. Kalfa, Yu.A. Ermola // *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* – 2018. – № 8(1). – P.16-19. (In Russ).
16. Golubinskaya E.P. Morphofunctional substantiation of targeted therapy with blocker myangiogenesis in fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis / E.P. Golubinskaya, T.V. Kramar // *Materials of the international forum «Biotechnology: state and prospects of development».* – 2018. – P. 400-402. (In Russ).
17. Lock M.C. Mature surfactant protein-B expression by immunohistochemistry as a marker for surfactant system development in the fetal sheep lung. / Lock M.C., [et al.] // *Journal of Histochemistry&Cytochemistry.* – 2015. – № 63(11). – P. 866-878.