

*C. meneghiniana*, *Melosira granulata*, *M. varians*, *Pediastrum duplex*, *Navicula elegans*, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae*, *A. scheremetievi*, *Oscillatoria limnetica*, *Cymbella turgida*. За показниками біомаси фітопланктону водосховище відносить до середньокормних і має потенціальні можливості розвитку кормової бази для зариблення рибами-фітопланктофагами (білий товстолобик). У видовому складі фітопланктону переважають  $\beta$ -сапробні види, що свідчить про помірне забруднення водойми органічними речовинами.

#### Список використаних джерел:

1. Арсан О.М. Методы гидроэкологических исследований поверхностных вод // – Київ, 2006. – 408 с.
2. Галазий Г.И. Формирование природных условий и жизни Братского водохранилища // Москва, 1970. – С. 26–159.
3. Гидробиология водоемов-охладителей тепловых и атомных электростанций Украины // Протасов А.А., Сергеева О.А., Кошелева С.И. и др.; отв. ред. М.Ф. Поливанная; АН УССР. Ин-т гидробиологии. – Київ, 1991. – 192 с.
4. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями // В.Д. Романенко, В.М. Жукинський, О.П. Оксіюк та ін. – Київ, 1998. – 28 с.
5. Тарасенко Л.В. Фітопланктон Іваньковського водохранилища в зоні впливу теплих вод Конаковської ГРЭС В 1973 г. // Москва, 1977 – С. 33–42.
6. Топачевский А.В., Масюк Н.П. Пресноводные водоросли Украинской ССР // Київ, 1984. – 333 с.
7. Федоненко Е.В., Есипова Н.Б., Маренков О.Н., Сазанова Н.Н. Гидроэкологическое состояние малых рыбохозяйственных водоемов // Краснодар, 2014. – С. 32–35.

#### Мельник О.О.

*молодший науковий співробітник, здобувач;*

#### Кузовкова С.Д.

*кандидат медичних наук, старший науковий співробітник;*

#### Загаба Л.М.

*кандидат медичних наук, науковий співробітник;*

#### Мельник О.Л.

*молодший науковий співробітник,*

*Науковий керівник: Ліскіна І.В.*

*доктор медичних наук, старший науковий співробітник,*

*Державна установа*

*«Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського*

*Національної академії медичних наук України»*

### ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ В-ЛІМФОЦИТІВ У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ЛЮДИНИ ПРИ ЇЇ ТУБЕРКУЛЬОЗНОМУ УРАЖЕННІ У ФОРМІ ТУБЕРКУЛЬОМИ

У наш час туберкульоз (Т) залишається однією із найбільш розповсюджених форм туберкульозу легень людини [1; 3; 4; 8]. Існування такої

форми туберкульозу дозволяє розглядати її як вогнище латентної інфекції із можливістю до прогресування, та, в подальшому, розвитку більш важкої форми туберкульозу легень [2; 7].

Більшість сучасних наукових праць присвячені вивченню розвитку туберкульозної гранульоми, а разом з тим – і ролі окремих типів клітин, залучених до клітинних реакцій місцевого імунітету в легенях. Вже встановлено, що основними ефекторними клітинами в реалізації імунної відповіді на появу мікобактерій є макрофаги та лімфоцити.

Лімфоцити – клітини діаметром 8-10 мкм, з базофільною цитоплазмою, що вузьким ободочком або у вигляді серпа оточує ядро. Ядро клітин щільне, займає майже весь об'єм, округлої форми. Їх вважають головними клітинами імунної системи. Вони координують та здійснюють імунну відповідь за рахунок продукції запальних цитокінів та антигенспецифічних рецепторів, відповідають за формування специфічного імунітету, здійснюють функцію імунного нагляду в організмі, забезпечують захист від усіх чужорідних речовин та біологічних об'єктів, зберігаючи генетичну сталість внутрішнього середовища. Розрізняють В-, Т- і НК-лімфоцити [5].

В-лімфоцити диференціюються в кістковому мозку та є попередниками плазмоцитів – антитіло-продуцентів. Популяція В-лімфоцитів порівняно недовговічна. Клітини існують не більше 10 днів (якщо не активуються), тоді як активовані В-лімфоцити є клітинами тривалої пам'яті щодо антигену, який раніше спричинив їх активацію та при повторному контакті з відомим антигеном виробляють імуноглобуліни. В-лімфоцити забезпечують гуморальний імунітет, беруть участь у всіх реакціях гіперчутливості негайного типу, у всіх антитіло-опосередкованих формах імунітету [5].

Тоді як роль клітинного імунітету в розвитку захисної імунної відповіді на мікобактерії туберкульозу добре досліджена, значення В-клітин в цьому процесі не до кінця з'ясоване [9]. В-лімфоцити формують досить крупні агрегати у тканині легень людей при туберкульозі. В експерименті було показано, що В-клітини можуть регулювати характер гранульоматозної реакції та продукцію цитокінів, імуноглобулінів, а також впливати на Т-клітинну відповідь [9; 12; 14]. Також було встановлено, що В-клітини беруть участь в активації макрофагів [14].

Знання про особливості імунних реакцій, опосередкованих В-клітинами, можуть сприяти розробці нових стратегій, включаючи розробку ефективних вакцин, для кращого контролю за туберкульозом [9].

Метою роботи було дослідити особливості локалізації та визначити відносну кількість В-лімфоцитів у різних гістологічних структурах тканини легень людини при їх туберкульозному ураженні у формі Т.

З парафінових блоків виготовляли зрізи тканини легень товщиною 4-5 мкм на мікротомі Shandon Finesse 325 (Thermo Scientific, Велика Британія), які розміщували на спеціальні поліадгезивні скельця [6].

Імуногістохімічне дослідження проводилося з використанням автостейнеру AUTOSTAINER 360-2D виробництва компанії Thermo Fisher Scientific (США) та реактивів компанії Thermo Fisher Scientific, у тому числі – мишачого моноклонального антитіла CD20, клон L26, цитоплазматичний домен, що експресується на клітинній мембрані та в цитоплазмі В-лімфоцитів;

робоче розведення 1:350. Застосована система візуалізації UltraVision Quanto, нова високочутлива система візуалізації на основі комбінації ферменту і мікрополімеру, виробництва компанії LabVision, яка дозволила використовувати вищезазначене розведення, тоді як рекомендованим для цього антитіла є розведення 1:250. У якості контролю слугували серійні зрізи цих же випадків, але без додавання в процесі фарбування антитіла.

CD20, або В-лімфоцитарний антиген CD20 – це фосфопротеїн, що виявляється на поверхні попередників та зрілих формах В-клітин, але не визначається в стовбурових клітинах, нормальних плазмocyтах та інших клітинах [10; 11]. Плазмобласти і активовані плазмocyти можуть експресувати CD20 [13]. Клон L26 найбільш часто використовується при отриманні антитіл до В лімфоцитів.

Дослідження включало тканини легень 34 випадків операційного матеріалу з діагнозом «туберкульоз легень» та з морфологічно визначеними різними ступенями активності специфічного запалення. Усі випадки були розподілені на дві групи – з високим (18 випадків, 1-а група) та помірно-низьким (16 випадків, 2-а група) ступенями активності. Вивчали лімфоїдно-клітинні скупчення біля Т та на відстані, капсулу туберкульозних вогнищ і гранульоми. Інтенсивність реакції оцінювали шляхом підрахунку клітин з позитивним забарвленням за 5 мікрофотографіями, отриманих при мікроскопічному дослідженні на мікроскопі OLYMPUS BX41 при збільшенні  $\times 400$ .

Туберкульозний процес у формі Т загалом характеризувався наявністю значної кількості лімфоїдноклітинних скупчень у тканині легень. Такі скупчення щільно прилягали до капсули Т зовні, виявлялися біля бронхіол та дрібних бронхів та зустрічалися поміж альвеол. Вони склалися переважно з В лімфоцитів, про що свідчило переважання у таких агрегатах саме CD20<sup>+</sup> клітин. У 1-ій групі відносна кількість CD20<sup>+</sup> клітин у таких скупченнях в середньому склала 84,3%, причому клітини мали дифузне розташування в усіх спостереженнях. У 6 (33,3%) випадках лімфоїдноклітинних скупчень біля Т CD20<sup>+</sup> клітини мали більш центральну локалізацію. У 2-ій групі відносна кількість CD20<sup>+</sup> клітин у лімфоїдноклітинних скупченнях склала в середньому 82,3% та вони також розташовувалися дифузно.

Інші особливості локалізації та відносна кількість В-лімфоцитів спостерігалися в гранульомах. При високому ступені активності, тобто в 1-ій групі спостережень, у гранульомах, розташованих у капсулі Т, CD20<sup>+</sup> клітини виявлені в 11 випадках (61,1%), із них у 7 випадках (63,6%) – вони розташовувалися по периферії гранульом й мали вогнищевий характер, в інших 4 випадках (36,4%) мали дифузну периферичну локалізацію. Тоді як при помірно-низькому ступені активності (2-а група) – CD20<sup>+</sup> клітини взагалі не виявлялися.

У гранульомах, розташованих поза капсулою Т, в 1-ій групі CD20<sup>+</sup> клітини були присутні в 14 випадках (77,8%), завжди у зовнішньому клітинному шарі: із них у 6 випадках (42,9%) – у вигляді вогнищевих скупчень, а у 8 випадках (57,1%) – дифузно. В 2-ій групі CD20<sup>+</sup> клітини виявлені в 11 випадках (68,8%), із них у 10 (90,9%) випадках – клітини розташовувалися по периферії у вигляді скупчень.

У капсулі туберкульозних вогнищ CD20<sup>+</sup> клітини в 1-й та 2-й групах спостережень виявлялися досить рідко, 27,8% та 31,3% відповідно, клітини

розташовувалися в основному у вигляді окремих скупчень на периферії зовнішнього клітинного шару.

Таким чином, найбільша відносна кількість В-клітин виявляється у лімфоїдноклітинних скупченнях, та їх кількість не залежить від ступеню активності запального процесу. В гранульомах, розташованих в капсулі Т, CD20<sup>+</sup> клітини виявлялися лише при високому ступені активності, а в гранульомах, розташованих поза Т – виявлялися в обох групах, характер розташування був дифузним або вогнищевим. У туберкульозних вогнищах CD20<sup>+</sup> клітини були присутні рідко в обох групах. Виявлені відмінності щодо наявності та відносної кількості В-лімфоцитів у гранульомах залежно від ступеня активності запального процесу опосередковано свідчать про безпосередню участь цих клітин у функціонуванні гранульом як прояву місцевої імунної реакції. Стабільність відносної кількості В клітин у лімфоїдноклітинних агрегаціях при різній активності запального процесу ймовірно пов'язана з їх гуморальною активністю, що є рисою хронічного перебігу туберкульозу легень.

### Список використаних джерел:

1. Елипашев А. А. Прогностическое значение морфологических признаков активности туберкулезного воспаления у больных с ограниченными формами лекарственно-устойчивого туберкулеза легких / А. А. Елипашев, В. О. Никольский, А. С. Шпрыков // Архив патологии. – 2010. – № 4. – С. 40-43.
2. Казак Т. И. Морфологические различия очагов туберкулезного воспаления, отражающие иммунную реактивность организма / Т. И. Казак // Проблемы туберкулеза и болезни легких. – 2003. – № 3. – С. 36-40.
3. Кирюхина Л. Д. Функциональные нарушения внешнего дыхания у больных с туберкулезом легких / Л. Д. Кирюхина, П. В. Гаврилов [и др] // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 1. – С. 28-31.
4. Кузик П. В. Патоморфологічні особливості туберкулом легень (за даними аналізу операційного резекційного матеріалу) / П. В. Кузик // Патологія. – 2015. – № 1(33). – С. 99-101.
5. Леонова Е. В. Патофизиология системы крови. Учебное пособие / Е. В. Леонова, А. В. Чантурия, Ф. И. Висмонт. – Минск: БГМУ, 2009. – С. 58-67.
6. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – 4-е изд., доп. и перераб. – Казань, 2012. – 624 с., с ил.
7. Харитонов П. Ю. Клинико-морфологические особенности туберкулеза легких у коренных малочисленных народов Севера / П. Ю. Харитонов, А. Н. Евсеев // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2006. – № 9. – С. 66-67.
8. Холодок О. А. Морфологические аспекты активности туберкулом легкого / О. А. Холодок, М. И. Черемкин // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 49. – С. 51-54.
9. Kozakiewicz L. The role of B cells and humoral immunity in Mycobacterium tuberculosis infection / L. Kozakiewicz [et al] // Adv Exp Med Biol. – 2013. – Vol. 783. – P. 225–250.
10. Nadler L. M. A unique cell-surface antigen identifying lymphoid malignancies of B-cell origin / [Nadler L. M. [et al] // J Clin Invest. – Vol. 67. – 1981. – P. 134-140.
11. Pescovitz M. D. Rituximab, an Anti-CD20 Monoclonal Antibody: History and Mechanism of Action / M. D. Pescovitz // American Journal of Transplantation. – Vol. 6. – 2006. – P. 859-866.
12. Rao M. B in TB: B cells as mediators of clinically relevant immune responses in tuberculosis / [Rao M. [et al] // Clinical Infectious Diseases. – Vol. 61(S3). – 2015. – P. S225-34.

13. Robillard N. CD20 is associated with a small mature plasma cell morphology and t (11;14) in multiple myeloma / [Robillard N. [et al] // Blood. – Vol. 102, № 3. – 2003. – P. 1070-1071.

14. Torrado E. Differential and site specific impact of B cells in the protective immune response to Mycobacterium tuberculosis in the mouse / [Torrado E. [et al] // PLOS ONE. – Vol. 8, № 4. – 2013. – P. 1-11.

**Наум Е.А.**

*заведующий лабораторией физико-химических методов исследования,  
Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова*

## **ЛЕТНЯЯ И ОСЕННЯЯ ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ РАЗНЫХ ФЕНОТИПОВ МИДИЙ ОДЕССКОГО ПРИБРЕЖЬЯ ЧЁРНОГО МОРЯ**

Мидия *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) – активный фильтратор морской воды, важный компонент донных биоценозов и обрастаний; объект промысла и марикультуры.

По особенностям распределения фиолетового пигмента во внешнем призматическом слое раковин *M. galloprovincialis* выделяют три фенотипа:  $F_a$  – в призматическом слое фиолетовый пигмент отсутствует;  $F_b$  – пигмент окрашивает весь призматический слой;  $F_c$  – пигмент локализован в виде радиальных полос, чередующихся с непигментированными зонами. Генетическая природа окраски раковин как системы двух аллелей с кодоминированием, подтверждается соответствием выявленных и ожидаемых частот фенотипов по соотношению Харди-Вайнберга [1, с. 88-97].

Мидия, в том числе в Одесском районе северо-западной части Черного моря, изучается давно и разнопланово [2, с. 38-40; 3, с. 110-111; 4, с. 32-71; 5, с. 297-300].

Материалом послужили мидии, собранные в Одесском прибрежье в 2007-2014 гг. Пробы собирали дночерпателем Петерсена и учетной рамкой 10 см x 10 см. Всего собрано 85 проб и проанализировано 10306 экз. мидий.

На рис. 1-3 показаны летняя и осенняя динамика частоты всех трех фенотипов мидий по участкам района исследований.

Мидии фенотипа  $F_a$ . Практически на всех участках частота фенотипа в осеннее время превосходила таковую летнего периода (рис. 1). Наименьшие значения частоты зафиксированы летом (0,03) на взморье Григорьевского лимана и осенью (0,08) на Ланжероне и 16-ой станции Большого Фонтана.