

М. М. Островський, М. О. Кулинич-Міських
НОВІ ПЕРСПЕКТИВИ МОДИФІКАЦІЇ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО
ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ: ВПЛИВ ТІОТРОПІУ
БРОМІДУ НА ОКРЕМІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ НЕОКОЛАГЕНОГЕНЕЗУ
ТА ЛОКАЛЬНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ БРОНХІАЛЬНОГО ДЕРЕВА

Івано-Франківський державний медичний університет

Незважаючи на велику кількість наукових досліджень, що торкаються проблеми хронічного обструктивного захворювання легень, сучасне розуміння етапів формування і прогресування цієї патології залишається недостатньо вивченими [4, 5, 7]. Функціонування імунної системи, сурфактанта легень, локальних бар'єрних факторів захисту слизових оболонок бронхіального дерева при даній недугі тісно пов'язані між собою за рахунок антигенпрезентуючих клітин [7, 10]. Періодична активація бронхообструкції та запального процесу, тобто генерація фази загострення хронічного обструктивного захворювання легень, пов'язується із дефектом роботи макрофагальних клітин, Т-лімфоцитів хелперів, дефіцитом ендогенних інтерферонів, секреторного імуноглобуліну А (sIgA) та лізоциму [7, 8, 10]. Особливої уваги, в описаних нами вище умовах, заслуговують розлади локального імунного захисту, активності макрофагальних клітин на фоні патологічного метаболізму та синтезу сполучнотканинного матриксу та оксидантного стресу, що створює передумови до активації незворотних патогенетичних механізмів ремоделювання бронхів, а відтак і прогресування хронічного обструктивного захворювання легень [2]. Власне тому, ми вважаємо, що стрімка еволюція легеневої патології та невпинний розвиток фармакологічної індустрії зумовлюють необхідність подальшого проведення сучасних досліджень взаємодії саногенетичних систем захисту макроорганізму в умовах, як агресії патологічних екзо- та ендогенних факторів, так і адаптації до них.

Отже, питання профілактики та розробка критеріїв ранньої діагностики і ефективності лікування даної патології набуває особливої ваги та державного значення. В зв'язку з цим, нам видається актуальним приділити увагу низці не досліджених вагомих аспектів формування, перебігу та прогресування патологічного процесу при хронічному обструктивному захворюванні легень та в цьому контексті розглянути можливість медикаментозної патогенетично обґрунтованої корекції виявлених порушень за допомогою використання селективного M_3 -холінолітика — тіотропіуму броміду.

Метою даного дослідження є оцінка динаміки системи інтерферонів та колагену-IV в бронхоальвеолярному вмісті при лікуванні хронічного обструктивного захворювання легень із використанням препарату тіотропіуму броміду.

Матеріал та методи. Обстежено 60 хворих на ХОЗЛ II стадії. Верифікацію діагнозу та його формулювання проводили згідно матеріалів наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмо-

нологія" [3]. Дослідження проводили до початку та на 30 і 60 день лікування із використанням загальноприйнятих схем терапії (згідно зі стандартами передбаченими наказом МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р.) у поєднанні з препаратом тіотропіум бромід. Для вивчення ефективності використання запропонованих нами програм лікування ХОЗЛ II стадії всі обстежені були розподілені на групи в залежності від призначеного їм лікування. I-а група порівняння складалася з 20 хворих, котрі лікувалися за загальноприйнятими методиками, без використання холінолітика тривалої дії. II-а група — 40 хворих, котрі додатково отримували препарат тіотропіум бромід: інгаляційно 18 мкг 1 раз на добу, курсом 30 днів. III-я група — 21 хворий, котрі додатково отримували препарат тіотропіум бромід: інгаляційно 18 мкг, 1 раз на добу, курсом 60 днів. Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб (ПЗО) без наявних ознак захворювань респіраторно-вентиляційного тракту та іншої патології внутрішніх органів.

Матеріалом дослідження був бронхоальвеолярний змив, який отримували з урахуванням локалізації запального ураження легень при проведенні фібробронхоскопії (ФБС) за методикою Clements (1967 р.) у модифікації Ramires (1980 р.). Вміст колагену-IV досліджували в бронхоальвеолярній рідині методом імуноферментного аналізу на аналізаторі "StatFax 303 Plus" за допомогою реагентів «Biotrin Collagen IV EIA». Рівень IFN- γ визначали методом імуноферментного аналізу на аналізаторі "StatFax 303 Plus" за допомогою реагентів "ПроКон" (ТЗОВ "Протеїновий контур", Росія) в бронхоальвеолярній рідині, яку отримували при проведенні фібробронхоскопії за означеною вище методикою.

Результати та їх обговорення

Аналіз даних фібробронхоскопії до початку лікування у 60 пацієнтів із ХОЗЛ II стадії встановив, що переважно ідентифікувалося яскраво виражене катаральне запалення — у 48,8 % хворих та гнійне запалення у 28,8 % обстежених. Інколи зустрічалося помірне катаральне запалення у 12,8 % пацієнтів, а у 6,4 % обстежених встановлено наявність атрофії слизової оболонки бронхів; структура слизової оболонки бронхів була близькою до нормальної у 3,2 % хворих. При проведенні 20 хворим I-ої групи на 30 добу повторної фібробронхоскопії переважно ($p < 0,05$) ідентифікувалося помірне катаральне запалення у 60,0 %, а також зустрічалася виражена катаральна форма запалення у 40,0 % пацієнтів.

Окремо хочемо відзначити отримані нами дані при проведенні 20 пацієнтам II-ої групи дослідження фібробронхоскопії на 30 день від початку лікування. Ми встановили достовірне зменшення ($p < 0,05$) частки вираженої катаральної форми запалення до 31,3 % у осіб II-ої групи дослідження, що було відповідно у 1,9 рази меншим, ніж серед пацієнтів, які отримували базові схеми терапії.

Натомість, серед обстежених II-ої групи дослідження зросла частка помірного катарального запалення, відповідно до 68,8 % ($p < 0,05$). У той же час при проведенні фібробронхоскопії пацієнтам III групи на 60 день від початку лікування частка помірного катарального запалення зросла до 82,6 % ($p < 0,05$), а частка вираженої катаральної форми запалення склала лише 17,4 % ($p < 0,05$).

Отримані нами результати свідчать про вищу якість комплексного лікування хворих на ХОЗЛ II стадії із використанням препарату тіотропію бромід в співставленні із групою, де він не застосовувався. Використання препарату тіотропію бромід при лікуванні хворих на ХОЗЛ II стадії проявилось також швидшим регресом клінічної симптоматики патології, позитивнішими змінами даних спірографії та лабораторної динаміки.

Проведені дослідження показали, що у здорових осіб рівень у бронхоальвеолярному вмісті колагену-IV становив: $(9,87 \pm 0,52)$ нг/мл, а IFN- γ $(1,28 \pm 0,11)$ пг/мл. На час госпіталізації хворих із ХОЗЛ II стадії спостерігалось значне достовірне підвищення у бронхоальвеолярній рідині рівнів колагену-IV — до $(60,71 \pm 1,18)$ нг/мл ($p < 0,05$) на тлі депресії IFN- γ до $(0,56 \pm 0,07)$ пг/мл ($p < 0,05$).

При обстеженні пацієнтів I групи на 30 добу нами встановлено, що вміст колагену-IV у бронхоальвеолярній рідині зменшився лише на 10,29 % ($p < 0,05$). Дослідження показників колагену-IV у II групі хворих на ХОЗЛ II стадії на 30 добу використання препарату тіотропію бромід показало зменшення його вмісту від вихідних значень на 29,4 % ($p < 0,05$). Справжнім якісним проривом динаміки рівнів колагену-IV в бронхоальвеолярному вмісті були отримані нами дані у осіб III групи, які отримували протягом 60 діб тіотропію бромід. На момент завершення спостереження над ними концентрація колагену-IV у бронхоальвеолярній рідині мала максимальну тенденцію до нормалізації й склала $(24,72 \pm 1,15)$ нг/мл, зменшив-

шись від вихідного рівня у 2,44 рази ($p < 0,05$). Обстеження ж нами 12 пацієнтів I групи порівняння на 60 добу встановило навіть деяке збільшення вмісту колагену-IV у бронхоальвеолярній рідині, порівняно із даними отриманими на 30 добу (табл. 1).

Для ХОЗЛ II стадії показовим є встановлений нами дефіцит IFN- γ в бронхоальвеолярному вмісті, значення якого були у 2,29 рази менші, ніж у осіб контрольної групи (табл. 2). На 30 добу нами встановлено, що вміст IFN- γ у бронхоальвеолярній рідині хворих I групи зріс лише на 10,29 % ($p > 0,05$). Детекція показників IFN- γ у II групі хворих на ХОЗЛ II стадії на 30 добу використання препарату тіотропію бромід показала збільшення його вмісту від вихідних значень на 42,27 % ($p < 0,05$). Як і у випадку з рівнями колагену-IV максимально сприятливою була динаміка рівнів IFN- γ бронхоальвеолярного вмісту у осіб III групи, які отримували протягом 60 діб тіотропію бромід. На момент завершення спостереження над ними концентрація IFN- γ у бронхоальвеолярній рідині мала максимальну тенденцію до нормалізації й склала $(1,16 \pm 0,08)$ пг/мл, зрісши від вихідного рівня у 2 рази ($p < 0,05$). Проте, на відміну від осіб, що приймали препарат тіотропію бромід, обстеження нами 12 пацієнтів I групи на 60 добу встановило відсутність позитивної достовірної динаміки вмісту IFN- γ у бронхоальвеолярній рідині, порівняно із даними отриманими на 30 добу (табл. 2).

Тенденція до відновлення локальних рівнів IFN- γ у пацієнтів із ХОЗЛ II стадії, лікованих із використанням препарату тіотропію бромід, нам видається вартою окремої уваги, оскільки вона обґрунтовує цілий каскад саногенетичних механізмів розрішення патологічних змін запального процесу бронхіального дерева. На сьогодні інтерферони виокремлені в особливий клас цитокінів, які раніше розглядалися виключно як противірусні фактори, проте згодом у них була виявлена й протипухлинна та імуномодуюча активності [1]. Антибактеріальна властивість інтерферонів зумовлюється

Таблиця 1

Показники колагену-IV (нг/мл) у бронхоальвеолярному вмісті хворих на ХОЗЛ II стадії в процесі лікування із використанням тіотропію бромід

Група дослідження	Показники колагену-IV у бронхоальвеолярному вмісті			P
	до лікування	на 30 добу лікування	на 60 добу лікування	
I, n=20	$60,21 \pm 1,08$	$55,21 \pm 1,12$	$57,08 \pm 1,27$	$< 0,05$
II, n=40	$62,86 \pm 1,25$	$44,36 \pm 1,19$	—	$< 0,05$
III, n=21	$59,07 \pm 1,33$	—	$24,72 \pm 1,15$	$< 0,05$
ПЗО, n=15	$9,87 \pm 0,52$	—	—	

Таблиця 2

Показники IFN- γ (пг/мл) у бронхоальвеолярному вмісті хворих на ХОЗЛ II стадії в процесі лікування із використанням тіотропію бромід

Група дослідження	Показники IFN- γ у бронхоальвеолярному вмісті			P
	до лікування	на 30 добу лікування	на 60 добу лікування	
I, n=20	$0,59 \pm 0,06$	$0,68 \pm 0,12$	$0,71 \pm 0,07$	$> 0,05$
II, n=40	$0,56 \pm 0,05$	$0,97 \pm 0,07$	—	$> 0,05$
III, n=21	$0,58 \pm 0,03$	—	$1,16 \pm 0,08$	$> 0,05$
ПЗО, n=15	$1,28 \pm 0,11$	—	—	

підвищенням фагоцитарної активності, збільшенням продукції імуноглобулінів та посиленням цитотоксичності природних кілерів [1]. Система інтерферону не має ні спеціалізованих клітин, ні спеціалізованих органів, проте, найбільшими продуцентами інтерферону є імункомпетентні клітини. При стимуляції клітин індуктором (інфекційним агентом) відбувається активація генів, що кодують білки інтерферону, й трансляція-продукція цих білків [1]. Таким чином, клітини починають продукцію інтерферону, який, з однієї сторони, інгібує розмноження інфекційних агентів, а з іншої — посилює експресію молекул головного комплексу гістосумісності I типу на поверхні альтерованих клітин і викликає активацію NK-клітин, які розпочинають цитоліз пошкоджених клітин і продукують IFN- γ , що скеровує розвиток імунної відповіді за Т-хелпер-1 типом [1]. Активовані контактом з антигеном та IFN- γ макрофаги продукують IL-12, який стимулює диференціацію незрілих CD4 лімфоцитів у Т-хелпери I-го типу, котрі після презентації їм антигену активуються й продукують цілий ряд цитокінів (IL-2, TNF- α , IFN- γ) [1]. Наслідком дії перерахованих трансмітерів є активація цитотоксичних CD8 лімфоцитів, які забезпечують цитоліз відповідних клітин-мішеней, що завершується елімінацією збудників і санацією запального процесу бронхів [1].

Не менш важливим є отриманий нами в процесі лікування з використанням препарату тіотропію бромід хворих на ХОЗЛ II стадії результат щодо зменшення вмісту колагену-IV у бронхоальвеолярній рідині. Щоб зрозуміти значення цього ефекту, необхідно зупинитися на питаннях ролі та локалізації колагену в організмі людини. Відомо, що між епітеліальною оболонкою і підлеглою сполучною тканиною наявним є особливий шар, який безпосередньо розташовується біля основи епітеліальних клітин і називається базальною мембраною [1]. Класична базальна мембрана (товщиною 40–120 нм) складається з двох шарів різного походження [6, 9, 11]. Першим шаром базальної мембрани є базальна пластинка — окремий гомогенний електроннощільний пласт товщиною 50–100 нм, який розміщується безпосередньо над «войлокоподібною» сіткою ретикулярних волокон, що власне й складають другий шар [6]. Було встановлено, що базальна пластинка завжди повторює контури базальної поверхні епітелію і відокремлена від неї відстанню 40 нм. Базальні пластинки зустрічаються зв'язаними з нервовими і м'язовими волокнами, а не тільки з епітелієм [6].

Базальна мембрана виконує дві головні функції: еластичного каркасу та бар'єру для фільтрації і дифузії речовин (низькомолекулярних сполук, міжклітинної рідини) [9]. Для неї є характерною унікальна форма колагену — тип IV. Дані структури синтезуються фібробластами. Окрім цього, споріднені фібробластам клітини, такі, як остеокласти та хондробласти, й самі теж здатні синтезувати колаген [11].

На сьогодні відомо десять типів колагену, різних по складу α -ланцюгів і ряду функцій. Найбільш вивченим є: I тип — власне сполучна тканина (пухка і щільна) та кісткова тканина, II тип — гіаліновий хрящ, III тип — шкіра плоду, артерії, IV тип — базальна мембрана, V — VI тип колагену бере участь в осифікації, хондропротекції. IX — X тип — можливо відіграє роль у дозріванні власне сполучної тканини [6, 9, 11].

У всіх типах колагену, окрім I, три α -ланцюги є ідентичними [11]. Проте колаген базальної мембрани (IV тип) — містить значно більше вуглеводних бокових ланцюгів, а також більше гідроксиліну та гідроксипроліну [11]. Наявність гідроксиліну забезпечує стійкість колагенових волокон базальної мембрани завдяки поперечному зшиванню молекул колагену. Молекула гідроксиліну сприяє приєднанню коротких вуглеводних залишків — галактози й глюкози.

Колаген IV синтезується у формі попередника — проколагену. Синтез α -ланцюгів проколагену відбувається за допомогою полірибосом гранулярної ендоплазматичної сітки [9]. Синтезовані ланцюги є довшими на 13 нм. Протягом 3 хв. у ланцюгу, що синтезується, відбувається гідроксилювання певного числа включених пролінових і лізинових залишків, а синтез цілого ланцюга триває від 5 до 6 хв. На клітинній поверхні фібробласта залишкові хвостові ділянки α -ланцюгів відщеплюються посередництвом ферменту пептидази, таким чином молекула проколагену перетворюється на молекулу тропоколагену, яка далі трансформується у колагенові фібрили [6, 9, 11]. Проте, колаген IV типу не втрачає залишкові пептиди після секреції фібробластами. Ці пептиди сприяють утворенню довгих фібрил шляхом латеральної конденсації „бік у бік” [16]. Спочатку відбувається з'єднання двох ланцюгів С-кінцевими відділами з утворенням димерів, які N-кінцями асоціюють з трьома іншими молекулами, й так вони розповсюджуються у ширину [6]. Результатом такої асоціації є рухома багаточасова структура, стабілізована дисульфідними й іншими ковалентними зв'язками [6]. У склад базальної мембрани, окрім колагену IV типу, входить гепарансульфатний протеоглікан (перлекан), глікопротеїни (ламелінін і ентактин) [6].

Таким чином, на нашу думку, підвищення вмісту колагену-IV у бронхоальвеолярній рідині при ХОЗЛ є свідченням збільшення активності фібробластів (на тлі порушень мікроциркуляції, активації перекисного окислення ліпідів та явищ гіпоксії), а значить й демонструє вираженість явищ потовщення базальних мембран, а відтак і порушення процесів як обміну у власних біологічних системах, так і дисоціацію ряду лікарських форм, особливо інгаляційних. Зменшення ж вмісту колагену-IV під впливом лікування з використанням препарату тіотропію бромід є промінім свідченням фізіологічного скерування процесів репарації, інгібіції явищ неокіагенезу в бронхах та реалізації на цьому підґрунті каскаду ефектів інгібіції ремоделювання.

Висновки

1. Верифікація ХОЗЛ II стадії, порівняно із практично здоровими особами, супроводжується депресією рівнів IFN- γ (в 2,29 рази, $p < 0,05$) при збільшенні показників колагену-IV (в 6,15 рази, $p < 0,05$) в бронхоальвеолярному вмісті.

2. Використання препарату тіотропію броміду в базовому лікуванні ХОЗЛ II стадії забезпечує достовірне зменшення рівнів колагену-IV в бронхоальвеолярному вмісті, яке залежить від тривалості використання тіотропію і є проявом антисклеротичної активності даного фактору.

3. Використання препарату тіотропію броміду в базовому лікуванні ХОЗЛ II стадії поряд із стабілізацією клініко-лабораторних показників супроводжується відновленням рівнів IFN- γ в бронхоальвеолярному вмісті,

яке наростає при збільшенні тривалості прийому тіотропію і сприяє елімінації антигенного навантаження і фізіологічно скерованій санації запального процесу бронхів.

Перспективність подальших досліджень полягає у візуалізації морфологічних змін на клітинному та субклітинному рівнях, які б дозволили оцінити отримані нами дані стосовно ефектів базового лікування ХОЗЛ.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Возианов, А. Ф.* Цитокины: биологические и противоопухолевые свойства [Текст] / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак. — Київ: Наукова думка, 1998. — 320 с.
2. *Заяць, Л. М.* Вплив діоксиду сірки на поверхневу активність сурфактанта легень та ультраструктуру альвеолоцитів II типу [Текст] Л. М. Заяць // Фізіологічний журнал. — 2004. — Т. 50, № 1. — С. 52–56.
3. *Наказ МОЗ України № 128 від 19.03.2007* “Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю “Пульмонологія”.
4. *Фещенко, Ю. І.* Хронічні обструктивні захворювання легень: проблемні питання [Текст] / Ю. І. Фещенко // Нова медицина — 2005. — № 1. — С. 18–20.
5. *Фещенко, Ю. І.* Хронические обструктивные заболевания легких [Текст] / Ю. И. Фещенко, Л. А. Яшина, Н. Г. Горovenko. — К.: Морион, 2001. — 80 с.
6. *Хем, А.* Гистология [Текст] / А. Хем, Д. Кормак // Москва: Мир. — 1983. — Том 2. — С. 53–71.
7. *Чернушенко, Е. Ф.* Актуальные проблемы иммунологии во фтизиатрии и пульмонологии [Текст] / Е. Ф. Чернушенко // Матеріали III з'їзду фтизіатрів і пульмонологів України, Київ 25–28 травня 2003 р. — Укр. пульмонол. журн. — 2003. — № 2. — С. 94–95.
8. *Barnes, J. Peter.* Distribution of Receptor Targets in the Lung [Text] / J. Peter Barnes // The Proceedings of the American Thoracic Society. — 2004. — № 1. — P. 345–351.
9. *Kefalides, N. A.* Chemical properties of basement membranes [Text] / N. A. Kefalides // Intern. Rev. Exp. Pathol. — 1971. Ч № 10(1). — P. 17–20.
10. *Roitt, I.* Essential immunology [Text] / I. Roitt. — Oxford: Blackwell Scientific Publicatione, 2001. — 438 p.
11. *Ross, R.* Wound healing and collagen formation [Text] / R. Ross, N. B. Everett, R. Tyler // J. Cell Biol. — 1970. — № 4. — P. 645.

НОВІ ПЕРСПЕКТИВИ МОДИФІКАЦІЇ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ: ВПЛИВ ТІОТРОПІУ БРОМІДУ НА ОКРЕМІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ НЕОКОЛАГЕНОГЕНЕЗУ ТА ЛОКАЛЬНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ БРОНХІАЛЬНОГО ДЕРЕВА

М. М. Островський, М. О. Кулинич-Міський

Резюме

У роботі наведені дані щодо патогенетичних особливостей імунної відповіді та вмісту колагену-IV в процесі лікування хронічного обструктивного захворювання легень. Використання препарату тіотропію броміду в базовому лікуванні ХОЗЛ II стадії забезпечує достовірне зменшення рівнів колагену-IV в бронхоальвеолярному вмісті, яке залежить від тривалості використання тіотропію і є проявом антисклеротичної активності даного фактору. Використання препарату із стабілізацією клініко-лабораторних показників супроводжується відновленням рівнів IFN-γ в бронхоальвеолярному вмісті, яке наростає при збільшенні тривалості прийому тіотропію і сприяє елімінації антигенного навантаження і фізіологічно скерованій санації запального процесу бронхів.

NEW PROSPECTS OF MODIFYING OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE COURSE: INFLUENCE OF Tiotropium BROMIDE ON SEPARATE PATHOGENETIC LINKS OF NEOCOLLAGENESIS AND LOCAL IMMUNE DEFENCE OF A BRONCHIAL TREE

M. M. Ostrovskyi, M. O. Kulyunuch-Miskiv

Summary

Peculiarities of pathogenesis of immune response and the content of collagen-IV on the background of treatment in patients with chronic obstructive lung disease (COPD) have been presented. Tiotropium bromide in COPD stage II patients provided significant reduction of collagen-IV level in broncho-alveolar fluid, which depended on duration of tiotropium use. This effect reflected sclerosis-preventive action of this compound. In patients with stable clinical and laboratory indices tiotropium administration was associated with renewal of broncho-alveolar fluid IFN-γ level. Its concentration went higher with the increasing duration of tiotropium use, promoting elimination of antigen load and resolution of bronchial inflammation.