

М. М. Островський, І. О. Савеліхіна

ВПЛИВ БАЗОВОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ III СТАДІЇ НА ПРОЦЕСИ МОРФОЛОГІЧНОЇ ПЕРЕБУДОВИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ БРОНХІВ

ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"

ВЛИЯНИЕ БАЗИСНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ III СТАДИИ НА ПРОЦЕССЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ БРОНХОВ

Н. Н. Островский, И. А. Савелихина

Резюме

Цель исследования: изучить морфологические особенности течения ХОЗЛ III стадии в процессе комплексного лечения больных с использованием препарата рофлумиласт.

Объект исследования: 9 больных ХОЗЛ III стадии, которым в динамике лечения на протяжении 30, 90, и 180 дней была проведена фибробронхоскопия (ФБС) с биопсией слизистой оболочки бронхов и последующим патогистологическим и электронномикроскопическим исследованием материала. Исследования проводили до начала и в динамике лечения с использованием общепринятых схем терапии (согласно стандартам, предусмотренным приказом Минздрава Украины № 128 от 19.03.2007) и препарата рофлумиласт 500 мкг 1 раз в сутки.

Результаты. При ХОЗЛ III стадии имеет место повреждение слизистой оболочки бронхов со значительным разрастанием соединительной ткани в ее собственной пластинке, дегенеративными повреждениями эпителия бронхов. Прием на фоне базового лечения рофлумиласта в течение 30 дней сопровождается лишь частичным улучшением признаков морфо-функционального состояния как клеток эпителиального покрова бронхов, так и подлежащей соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки. По результатам исследований после 90-дневного курса лечения рофлумиластом в составе базисной терапии пациентов с ХОЗЛ III стадии были отмечены положительные изменения патогистологической картины слизистой оболочки бронхов — нормализация состояния фибробластов собственной пластинки слизистой оболочки бронхов, восстановление ресничного аппарата эпителиоцитов, отмечена умеренная фагоцитарная активность макрофагов. Указанная положительная динамика нарастала до 180-го дня применения препарата рофлумиласт на фоне базисной терапии, наблюдалось увеличение эпителиальных клеток с ресничным покрытием, нормализация строения фибробластов в собственной пластинке слизистой оболочки бронхов, укрепление межклеточных контактов по сравнению с предыдущими сроками лечения.

Ключевые слова: хроническое обструктивное заболевание легких, ремоделирование дыхательных путей, факторы защиты слизистых оболочек, рофлумиласт.

Укр. пульмонол. журнал. 2013, № 4, С. 29–35.

Островський Микола Миколайович
ДВНЗ: "Івано-Франківський національний медичний університет"
Завідувач кафедри фтизіатрії і пульмонології з курсом професійних хвороб
Доктор медичних наук, професор
117а, вул. Чорновола, кв.1, Івано-Франківськ, 76005
Тел.: 380679796690, факс: 380342712062,
dr.ostrovskiy@rambler.ru

EFFECT OF MAINTANCE TREATMENT OF STAGE III CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE PATIENTS ON MORPHOLOGICAL REMODELING IN MUCOUS MEMBRANE OF BRONCHI

M. M. Ostrovskyy, I. O. Savelikhina

Abstract

Objective: to study the morphological peculiarities of bronchial tree in COPD stage III patients during the course of complex treatment, which includes roflumilast.

Object and methods. Fiberoptic bronchoscopy with biopsy followed by histopathological and electronic microscopy examination of samples was performed in 9 stage III COPD patients, receiving study therapy for 30, 90 and 180 days. All diagnostic tests were performed prior to and at the end of treatment with roflumilast 500 mcg once daily in addition to conventional regimen (according to the standards of care, outlined by order of the Ministry of Health of Ukraine № 128 from 19.03.2007).

Results. In stage III of COPD a damage of bronchial mucosa with a significant growth of connective tissue in lamina propria and degenerative lesions of the bronchial epithelium are observed. Treatment with roflumilast for 30 days was associated with only partial morphological improvement both in of bronchial epithelial cells and lamina propria connective tissue. After 90-day treatment with roflumilast the following improvements of pathohistological pattern of the bronchial mucosa were observed: normalization of lamina propria fibroblasts, recovery of ciliary apparatus of epithelial cells and moderate macrophages phagocytic activity. After 180-day roflumilast treatment the number of ciliary epithelial cells have increased and normalization of the structure of fibroblasts in the lamina propria of bronchial mucosa, as well as a strengthening of cell-to-cell contacts in comparison with shorter therapy duration groups, have been observed.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, airway remodeling, mucosal protective factors, roflumilast.

Ukr. Pulmonol. J. 2013; 4: 29–35.

Mykola M. Ostrovskyy
Ivano-Frankivsk National Medical University
Head of Chair of Phthysiology and Pulmonology with courses of occupational diseases
MD, professor
117a/1, Chornovola str., Ivano-Frankivsk, 76005, Ukraine
Tel.: 380679796690, fax: 380342712062,
dr.ostrovskiy@rambler.ru

На даний час хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) залишаються не лише медичною, а й глобальною соціально-економічною проблемою, в тому числі і в Україні.

Велике занепокоєння викликає не лише поширення захворюваності, але й збільшення числа хворих із його незворотніми ускладненнями — ремоделюванням бронхів, емфіземою легень, пневмосклерозом, легенеvim серцем, які часто є не лише причиною смерті пацієнтів, а й факторами різкого збільшення фармакоеконімічних витрат у всьому світі.

У патогенезі ХОЗЛ імунно-запальні зміни пов'язані з тканинним відновленням та реконструктивними процесами, які збільшують генерацію слизу і викликають емфізематозне руйнування газообмінної поверхні легень [1–3]. Фібротичні процеси в легенях характеризуються запальною реакцією, яка включає макрофаги, нейтрофіли, лімфоцити і опасисті клітини [1–3]. Крім цього, в патогенезі ХОЗЛ мають значення дисбаланс протеолітичних ферментів, антипротеїназ і оксидативний стрес [1].

У запальний процес, що лежить в основі розвитку і прогресування ХОЗЛ, залучаються всі структури легеневої тканини: центральні та периферійні повітроносні шляхи, альвеолярна тканина, легеневі судини [1–3]. Морфологічні зміни центральних відділів дихальних шляхів характеризуються метаплазією епітелію, загибеллю війок епітелію, збільшенням маси гладкої мускулатури в стінці дихальних шляхів [1–3]. Все це призводить до збільшення продукції слизу, появи мокротиння, порушення дренажної функції бронхів. Особливістю ураження периферійних дихальних шляхів є звуження бронхів у результаті їх фіброзу [6–8].

На нашу думку, дуже важливо при виборі схеми лікування пацієнтів із ХОЗЛ володіти глибокими знаннями всіх його патогенетичних ланок, власне тому, наш вибір зупинився на аналізі морфологічної перебудови слизових оболонок у хворих на ХОЗЛ III стадії у фазі ремісії під впливом базової терапії у поєднанні з рофлуміластом.

Матеріал та методи дослідження

Для вивчення ефективності використання запропонованих нами програм лікування та їх впливу на процеси морфологічної перебудови 9 хворих на ХОЗЛ III стадії в фазі ремісії в динаміці лікування термінами 30, 90, та 180 діб було виконано біопсії слизової оболонки бронхів із подальшим патогістологічним та електронномікроскопічним дослідженням матеріалу. Верифікацію діагнозу та його формулювання проводили згідно наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія" [4]. Дослідження проводили до початку та в динаміці лікування з використанням загальноприйнятих схем терапії (згідно зі стандартами, передбаченими наказом МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р.) та препарату рофлуміласт 1 таблетка 500 мкг 1 раз на добу [4–5]. Базова терапія включала: пролонговані інгаляційні бронхолітики, інгаляційні та ситемні глюкокортикостероїди, за потреби короткодійні бронхолітики.

Матеріалом дослідження були бронхіальні біоптати, які отримували на рівні біфуркації верхньодолевих

бронхів до сегментарних під час фібробронхоскопії. Взяття шматочків тканини бронхіального дерева проводилося за загальноприйнятими правилами, дотримуючися швидкості висікання та атравматичності його різання на шматочки. Бронхіальні біоптати фіксували в 1 % розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з рН — 7,4. Матеріал нарізали на кубики, об'ємом 1 мм² та фіксували протягом 1,5–2 год із триразовою зміною розчину осмію. Після фіксації тканинні блоки відмивали від фіксатора 0,1М фосфатним буфером із наступним зневодненням в етиловому спирті наростаючої міцності (30°, 50°, 70°, 90°, 100°) по 10 хв із триразовою зміною в кожній із порцій. На етапі обезводнення в 70° спирті проводили контрастування тканинних блоків у 2 % розчині ураніацетату, приготованому на 70° спирті. Після закінчення дегідратації матеріал пропускали через абсолютний спирт із абсолютним ацетоном (10 хв) та через абсолютний ацетон (10 хв). У подальшому — через розведення ацетону з епоксидними смолами (3:1–30 хв; 1:1–1 год); потім матеріал знаходився 1 год у чистій смолі. Далі шматочки матеріалу поміщали в желатинові капсули та заливали смолою з наступною полімеризацією при температурі 60°C протягом доби. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, зафарбовували 1 % розчином метиленового синього для світлооптичного вивчення та орієнтації обраної ділянки для наступного електронно-мікроскопічного дослідження. Отримані на ультрамікротомі TeslaBS-490A зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К при прискорюючій напрузі 75 кВ із наступним фотографуванням при збільшенні від 2000 до 16000 раз. Зрізи з парафінових блоків біоптатів забарвлювали гематоксиліном і еозином згідно загальноприйнятих патогістологічних методів (Меркулов, 1969).

Результати та їх обговорення

У бронхіальних біоптатах, отриманих від хворих на ХОЗЛ III стадії, до призначення препарату рофлуміласт виявлені значні порушення компонентів слизової оболонки — епітеліального вистелення і сполучної тканини власної пластинки. У псевдобагатошаровому епітелії слизової оболонки бронха спостерігали потовщення базальної мембрани. Товщина епітелію по периметру була неоднаковою. Ділянки з низьким епітелієм перемежувалися з плоским і повною відсутністю епітеліоцитів і оголенням базальної мембрани. В епітеліальному пласті важко було виокремити базальні і вставні клітини. Келихоподібні клітини практично не визначалися. На поверхні епітелію в збережених ділянках війки не простежувалися і локалізувалися грудочки слизу.

У власній пластинці слизової оболонки бронха спостерігали велику кількість потужних пучків колагенових волокон. Клітинна популяція була представлена великою кількістю міофібробластів, які визначалися неправильно з гострими відростками формою, базофільною цитоплазмою, великим округлим ядром із гіперхромним хроматином. Міофібробласти схильні до скупчення в глибоких зонах власної пластинки. Поміж ними багато макрофагів, часто з гранулами в цитоплазмі, і лімфоцитів. Фібробластів мало. Запальна поліморфноклітинна інфільтрація була неоднаковою в полі зору. Просвіт кро-

воносних судин розширений, часто вміщав формені елементи крові, їхня стінка потоншена. У судинах гемомікроциркуляторного русла стази. Часто клітинна інфільтрація переважала в навколосудинних ділянках. В одному випадку виявили проліферацію епітелію з утворенням мікроскладок поверхневого епітелію з підлеглою власною пластинкою.

Електронномікроскопічна картина характеризувалася ознаками хронічного запального процесу. В епітеліоцитах, які траплялися в зрізі, часто спостерігали картину некрозу. Плазмолема епітеліоцита не контурувалася і її вміст зливався з аморфною речовиною підлеглої сполучної тканини. У цитоплазмі численні прозорі вакуолі, рештки органел, аморфні структури. На поперечному зрізі спостерігали розширення і ослаблення міжклітинних контактів із розширенням міжклітинних просторів. В одному полі зору спостерігали переріз клітин у їхній ядерній і без'ядерній частинах. Окремі ядра містили ядерця. Цитоплазма однорідна, органели важко ідентифікувати. Келихоподібні клітини часто в некробіотичному стані з каріопікнотичним ядром. В їхньому оточенні епітеліоцити глибоко пошкоджені. У фібробластих підлеглої сполучної тканини ядро велике, хроматин помірно і рівномірно конденсований по всьому ядру. У цитоплазмі ідентифікуються мітохондрії, ендоплазматична сітка, а за межами клітини — продукти фібрилогенезу — про- і мікрофібрили, елементи аморфної речовини. Такі фібробласти трапляються не часто.

Більш поширеними в сполучній тканині є міофібробласти. Ці клітини локалізуються у вигляді груп із кількох клітин. Тіла клітин видовженої веретеноподібної форми, ядра видовжені з периферійною конденсацією хроматину. У цитоплазмі ідентифікуються численні мікрофіламенти, поодинокі мітохондрії. В оточенні клітин спостерігаються товсті пучки колагенових волокон, орієнтовані в різних напрямках.

Хочеться особливо відмітити, що в патогенезі ХОЗЛ міофібробласти мають велике значення, вони експресують α -актин гладких м'язів і компоненти позаклітинного матриксу [6]. Ці клітини репрезентують клінічні кроки в розвитку незворотного фіброзу легень [7]. Вони є первинними "ефекторними" клітинами в тканинному ремоделюванні і фіброзі [8]. Міофібробласти характеризуються наявністю добре розвиненого скорочувального апарату і формуванням актинових волокон. Це механічно активні клітини, які ремоделюють позаклітинний матрикс при фіброзному пошкодженні [9]. Індукувати фібробласти у міофібробласти має здатність трансформуючий фактор росту (TGF)- β 1 чи ендотелін-1. Цей цитокін секретується макрофагами [10]. Молекулярний механізм легеневого фіброзу через міофібробластну диференціацію є складним і опосередковується TGF- β /Smad шляхом [11]. Є відомості про те, що дисрегуляція міофіброblastів пов'язана з прооксидантними зрушеннями окисно-відновного гомеостазу [12].

Міофібробласти створюють мікрооточення — позаклітинний матрикс, який відіграє важливу роль у фізіологічних умовах і в патологічному процесі розвитку фіброзу [13]. Склад позаклітинного матриксу має важливу роль у визначенні структури стінки дихальних шляхів

при ХОЗЛ. R. Annoni et al. вивчили фракції еластичних волокон, колагену I, III і IV типу, версікану, декоріну, біглікану, фібронектину і тенасцину в різних ділянках великих і малих дихальних шляхів і легеневої паренхіми у хворих на ХОЗЛ, у курців без ХОЗЛ і в некурящих суб'єктів і встановили, що вміст колагену I типу був нижче у великих і дрібних бронхах у хворих на ХОЗЛ і в малих дихальних шляхах у пацієнтів без ХОЗЛ і в тих, хто не курять [14]. Були виявлені позитивні кореляційні зв'язки між вмістом еластичних волокон і фібронектину [14]. Зміни основних компонентів позаклітинного матриксу широко поширені у всіх відділах легень пацієнтів із ХОЗЛ, що може призвести до стійкої обструкції дихальних шляхів.

У власній пластинці слизової оболонки колагенові волокна утворюють товсті покручені пучки. Між волокнами ідентифікуються міофібробласти з видовженими відростками. Їхні ядра мають інвагінації і випини, периферійну конденсацію хроматину, вузький ободок цитоплазми. В аморфній речовині спостерігаються еластичні волокна. Їх вирізняє гомогенність у частині, ближній до міофібробласти. Між відростками міофібробласти — ділянки лізису аморфної речовини.

У запальному інфільтраті достатньо багато макрофагів. Саме присутність макрофагів при хронічному запаленні у хворих із ХОЗЛ свідчить, на думку Р. К. Jeffery (2001), про специфічність морфологічних змін, характеризуючих ХОЗЛ, порівняно з запальними проявами при астмі [15].

В ядрі макрофагів нами виявлялася периферійна конденсація хроматину. Плазмолема не має чіткості контурів. Від тіла відходять численні покручені відростки і тому біля клітини багато їхніх фрагментів. У цитоплазмі — великі фагосоми, частина із них — гігантські. Їхнім вмістом є фрагменти мембранних органел і ущільнений осміофільний матеріал. В інших ділянках цитоплазма гомогенна, ледь простежуються поодинокі органели (цистерни ендоплазматичної сітки, мітохондрії з укороченими кристами). Навколо макрофага основна (аморфна) речовина пухкої сполучної тканини у стані набряку.

Привертає увагу, що серед клітин запального інфільтрату в сполучній тканині мало плазмоцитів. Плазмоцити виявляють значні деструктивні зміни. В їхніх ядрах часто спостерігається набряк із ексцентричним зміщенням хроматину. У цитоплазмі дегрануляція шорсткої ендоплазматичної сітки, поодинокі мітохондрії, первинні лізосоми, рідко ідентифікуються вторинні — фагосоми і третинні — остаточні тільця. Плазмолема контурується нечітко.

У багатьох кровоносних капілярах у розширеному просвіті стаз формених елементів крові, переважно еритроцитів. Базальна мембрана потовщена і місцями зруйнована. В ядрі ендотеліоцита має місце периферійна конденсація хроматину. У периферійній зоні цитоплазми ендотеліоцитів ідентифікувати органели важко, але визначаються мітохондрії і фагосоми. Довкола капілярів виявили значні нашарування колагенових волокон. В оточенні капіляра простежуються міофібробласти та їхні відростки, пучки колагенових волокон, які мають різний напрямок і ступінь зрілості.

Інколи потовщення базальної мембрани і оточення капіляра колагеновими волокнами досягає значної

виразності. Капіляри мають щільний просвіт і “замуровані” в пучки сполучної тканини, які мають циркулярну локалізацію. Ендотеліоцити стінки капіляра містять пікнотичне ядро і стоншену електроннощільну цитоплазму.

У деяких капілярах просвіт вільний від формених елементів, але ендотеліоцити знаходяться в стані деструкції. Їхня цитоплазма електроннощільна, містить вакуолі. Базальна мембрана ідентифікується лише на окремих ділянках. Капіляри оточені колагеновими волокнами, які розташовуються щільними пластинками. Біля ядровмісної зони ендотеліоцита колагенові волокна мають сітчастий вигляд і менш густі і щільні. У власній пластинці слизової оболонки виражений фіброз, присутні міофібробласти і потужні пучки колагенових волокон.

Таким чином, у хворих на ХОЗЛ III ступеня тяжкості у фазі ремісії в патогістологічній картині спостерігається дегенеративні пошкодження епітелію бронхів, відсутність війок на апікальній поверхні.

У динаміці лікування через 1 місяць прийому базового лікування ХОЗЛ III стадії з включенням рофлуміласту, у слизовій оболонці бронхів окреслюються позитивні зміни. В епітелії спостерігаються ділянки, де ядра епітеліоцитів розташовуються більш упорядковано, а на апікальній поверхні простежується тонка прозора, ледь рожева смужка, яка свідчить за наявність тут війок. Базальна мембрана епітелію залишається потовщеною. У сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки поліморфноклітинна інфільтрація виражена в меншому ступені, ніж до лікування. Трапляються інфільтрати з просвітленням у центрі. Пучки колагенових волокон стоншуються. Між ними виявляються міофібробласти у вигляді невеликих груп.

При дослідженні в електронному мікроскопі в епітеліоцитах спостерігається деяке покращення стану їхньої цитоплазми. Так, в ядрах епітеліоцитів визначаються випини та інвагінації, що збільшує його поверхню. Хроматин конденсований помірно, переважно, біля каріолеми. Такі зміни можуть вказувати на посилений синтез білка. Міжклітинні простори розширені, у них простежуються окремі десмосомальні контакти. У цитоплазмі ідентифікуються мітохондрії з електроннощільним матриксом та дрібні вакуолі. На апікальній поверхні наявні короткі війки.

У власній пластинці слизової оболонки бронха клітинний компонент представлений фібробластами, макрофагами і міофібробластами. Фібробласти мають чіткі обриси плазмолемі. Ядро видовженої овальної форми з еухроматином. У цитоплазмі визначаються мітохондрії і елементи ендоплазматичної сітки в невеликій кількості. Зовні від клітини аморфна речовина. Макрофаги виглядають, як великі клітини з бобоподібним ядром. Каріолема чітка. У каріоплазмі переважає еухроматин із невеликими грудочками гетерохроматину. У цитоплазмі ідентифікуються лізосоми, невеликі фагосоми, мітохондрії, цистерни гранулярної і вакуолі агранулярної ендоплазматичної сітки, достатньо великий за розмірами пластинчастий комплекс Гольджі. Міофібробластів стало менше. Вони розташовуються невеликими групами або поодинокі, мають зірчасту форму з короткими відростками. Ядро посідає майже все тіло клітини, не має

округлих контурів. В ядрах хроматин локалізується у вигляді дрібних грудочок з периферійною конденсацією. Цитоплазма темна, заповнена електроннощільним матеріалом. Подібне ущільнення цитоплазми свідчить про дегенеративні зміни (початкові прояви некрозу). Макрофаги часто спрямовують свої псевдоподії до міофібробласта. У цитоплазмі макрофагів визначаються первинні лізосоми, вакуолі, автофагосоми.

Просвіти капілярів вільні від формених елементів крові, але можна спостерігати також нечисленні капіляри зі стазом і дистрофічними ендотеліоцитами в стінці і потовщенням базальної мембрани. В їхньому оточенні пучки колагенових волокон, менш потужні, ніж до лікування.

Таким чином, на кінець першого місяця проведеного лікування в слизовій оболонці бронха спостерігаються певні позитивні зміни, порівняно зі станом до призначення рофлуміласту. Основними ознаками покращення в морфо-функціональному стані епітеліоцитів можна вважати: помірну гіпертрофію ядра, зменшення вакуолізації цитоплазми, появу на апікальній плазмолемі війок.

У клітинах власної пластинки слизової оболонки зменшуються ознаки дистрофічного і деструктивного процесів. У фібробластах ідентифікуються структурні компоненти гранулярної ендоплазматичної сітки, які виконують синтез колагенових волокон. Макрофаги виявляють помірну фагоцитарну активність, в ядрі наявний еухроматин, характерний для робочого функціонально активного стану клітини. Зменшилася кількість міофібробластів, а частина з них виявляла ознаки деструкції. В окремих капілярах зберігалися зміни, які виявлялися напочатку спостереження — дистрофія ендотеліоцитів, потовщення їхньої базальної мембрани.

Через три місяці після призначення препарату рофлуміласт додатково до базової терапії пацієнтів із ХОЗЛ III стадії в слизовій оболонці бронхів визначаються подальші динамічні зміни. На більш довгих ділянках виявляються ознаки нормалізації епітелію, ядра епітеліоцитів мають більш виражене впорядкування, характерне для цього псевдобагатошарового циліндричного епітелію. Епітеліоцити на апікальній поверхні містять тонку прозору смужку, де розташовуються війки. Базальна мембрана епітелію потовщена.

Власна пластинка слизової оболонки виявляє помірну дифузну поліморфноклітинну інфільтрацію. Запальні інфільтрати не виявляються. Колагенові волокна тонкі без схильності до утворення потужних пучків. Між ними виявляються міофібробласти.

У цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки набряк зменшується. Їхні ядра округлі. У каріоплазмі переважає еухроматин, що засвідчує функціональний стан ядра. Ядра містять одне ядрце, в якому простежуються фібрилярний і в меншому ступені гранулярний компоненти. Цитоплазма багата на органели — мітохондрії, вакуолі, гранулярна і гладка ендоплазматичні сітки, трапляються лізосоми. Міжклітинні простори розширені, міжклітинні контакти ослаблені. Розташування і форма війок не завжди видається нормальною. Міжклітинний простір розширений і заповнений аморфним матеріалом.

У сполучній тканині слизової оболонки бронха спостерігаються фібробласти, макрофаги і міофібробласти, оточені, переважно основною речовиною. Фібробласти мають чіткі обриси плазмолем, ядра з еухроматином, ядерця звичайної нормальної будови. Їхні мітохондрії мають різні розміри, локальні пошкодження крист, цистерни ендоплазматичної сітки в невеликій кількості, дрібні вакуолі. Біля клітин локалізується дрібнофібрилярний матеріал, на фоні якого розрізняються більш крупні структури — протофібрили і тонкі колагенові волокна. У каріоплазмі макрофагів визначається еухроматин і невеликі грудочки гетерохроматину. У цитоплазмі ідентифікується велика кількість різних вакуоль — великих і малих прозорих, фагосоми, мітохондрії на стадії утворення мієліноподібних тілець, мієліноподібні фігури.

У міофібробластах, які мають зірчасту форму з короткими відростками, ядро займає майже все тіло клітини, хроматин має грудчасту консистенцію та периферійну конденсацію. В електроннощільній цитоплазмі спостерігаються набухлі мітохондрії з розрідженими кристами і просвітленням усередині. Подібне ущільнення цитоплазми свідчить за дегенеративні зміни.

Таким чином, на кінець третього місяця проведеного курсу лікування в слизовій оболонці бронха спостерігаються подальші позитивні зміни. Основними ознаками покращення в морфо-функціональному стані епітеліоцитів можна вважати збільшення на апікальній плазмолемі війок. Морфо-функціональний стан фібробластів власної пластинки слизової оболонки нормалізується. Макрофаги виявляють помірну фагоцитарну активність, в ядрі наявний еухроматин, характерний для робочого функціонально активного стану клітини. Збільшилася кількість міофібробластів у стані деструкції.

Проведення 6-місячного курсу терапії з використанням рофлуміласту принесло свої позитивні результати. У патогістологічній картині слизової оболонки бронха вперше намітилися позитивні зміни як в епітеліальній тканині, так і в сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки.

Мікроскопічно у ділянках внутрішньої поверхні бронха в нормовувався епітелій і в ньому можна було розрізнити базальні, війчасті, високі вставні клітини, вкриті війками. Тобто місцями епітелій набував вигляду відновленого псевдобагатошарового війчастого (миготливого) епітелію. Війчасті клітини мали, переважно, кубічну форму і тісно прилягали до базальної мембрани. Остання мала неоднакову товщину. Ядра епітеліоцитів забарвлювалися інтенсивно базофільно, характерним для них був еухроматин. Однак складається враження відсутності келихоподібних клітин.

У сполучній тканині власної пластинки також окреслилися позитивні зрушення. Зменшилася і місцями зникла поліморфноклітинна інфільтрація. Пучки колагенових волокон тонкі, між ними клітини фібробластичного і макрофагального ряду. Фібробласти мали вигляд видовжених клітин із видовженими ядрами. Міофібробласти локалізувалися поодиноці або невеликими групами. Вони були маловідростчастими з базофільною цитоплазмою. Подекуди траплялися мастоцити з гранулами в незнач-

ній кількості. В останній час велику увагу мастоцитам приділили Gh. Ninietal. (2012). Автори встановили, що мастоцити присутні у власній пластинці слизової оболонки бронха до і після лікування ХОЗЛ, але до лікування 90 % мастоцитів виявляли ознаки дегрануляції. Мастоцити в стані дегрануляції після лікування спостерігалися в центрі запального вогнища інфільтрації і це пояснює їхню участь у клітинній імунній відповіді. Після лікування кількість мастоцитів зменшувалася. Серед них траплялися гранульовані і дегранульовані клітини. Їхні гранули були незрілими. Макрофаги, переважно, відносилися до зрілих макрофагів і рідко до моноцитодібних. Кровоносні судини мікрогемоециркуляторного русла мали звичайну картину будови їхньої стінки без формених елементів у просвіті з усіма нормальними дефініціями стінки мікрогемосудин.

В електронномікроскопічній картині стінки бронха відбулося багато змін. У першу чергу, це стосується клітин покривного епітелію. Епітеліоцити виявлялися у більшій кількості, ніж у попередній термін і до лікування рофлуміластом, на своїй апікальній поверхні мали війки. Війки не мали великої густини, але мали всі ознаки нормальної будови. В їхній основі спостерігалися базальні тілця, які переходили у вільні випинання з аксонемою всередині, вкриті плазмолемою. У цитоплазмі війчастих епітеліоцитів містяться мітохондрії різної будови — від дрібних темних до більших з визначеними кристами і подекуди просвітленим матриксом. Вакуолі практично відсутні. Міжклітинні контакти зміцнювалися і клітини знаходилися близько одна до одної, з'єднані між собою простими контактами і з інвагінаціями типу "замка".

У сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки часто визначаються фібробласти нормальної будови. Форма цих клітин видовжена. Ядро округле з неглибокими інвагінаціями. В ядрі в рівній мірі представлений еухроматин і помірно конденсований гетерохроматин. Каріолема контурується чітко. У цитоплазмі спостерігаються мітохондрії, в яких чітко ідентифікуються кристи і матрикс. Часто біля мітохондрій локалізуються цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. Гранулярна ендоплазматична сітка представлена численними плоскими цистернами. В аморфній речовині навколо фібробласта виокремлюються елементи новостворених, молодих колагенових волокон.

В зв'язку з тим, що системне запалення є основним пошкоджуючим механізмом при ХОЗЛ препарат рофлуміласт, основна терапевтична мішень якого — пригнічення фосфодіестерази-4, діє не лише на симптоми захворювання, а й на причину запального процесу.

Локалізація й поширеність ферменту фосфодіестерази-4 охоплюють наступні клітинні пули: нейтрофіли, макрофаги, Т-клітини (CD4+та CD8+), опасисті клітини, гладку мускулатуру дихальних шляхів, епітеліальні клітини дихального тракту, фібробласти, моноцити [16]. Окрім цього відомо, що рофлуміласт зв'язуючись із молекулою фосфодіестерази-4 попереджує розщеплення цАМФ, наслідком чого буде зменшення активації клітин запалення та його клінічних проявів при ХОЗЛ. Дані клініко-функціональні особливості дії рофлуміласту демонструє ряд досліджень [17–18].

Отримані нами позитивні зміни процесів морфологічної перебудови слизових оболонок бронхів у хворих на ХОЗЛ III стадії, які наростали при пролонгації прийому рофлуміласту в часовому інтервалі від 1 до 6 місяців ми пов'язуємо із плейотропними впливами даного середника: блокування проліферації лімфоцитів та гладком'язевих клітин, збільшення вироблення протизапальних медіаторів (IL-10, sTNF-R), інгібіцію гіперфункції лейкоцитів (фагоцитозу, генерації активних форм кисню), зменшення синтезу TNF- α , протеїназ (нейтрофільної еластази, металопротеїнази), синтезу слизу, апоптозу міоцитів.

Окремо хочемо наголосити, що описані нами морфологічні зміни слизової оболонки бронхів було досягнуто за відсутності фази загострення впродовж 6 місяців спостереження за хворими, в чому вбачаємо заслугу адекватного базового лікування.

Висновки

1. У хворих на ХОЗЛ III стадії у фазі ремісії мають місце значні дегенеративні пошкодження слизової оболонки бронхів із значним розростанням сполучної тканини в її власній пластинці з явищами вираженого фіброзу, присутністю фіброblastів і потужних пучків колагенових волокон, активацією міофіброblastів, які є первинними "ефекторними" клітинами прогресування тканинного ремоделювання і фіброзу.
2. Прийом рофлуміласту впродовж 30-днів на фоні базової терапії хворих на ХОЗЛ III стадії супроводжується лише частковим покращенням ознак

ЛІТЕРАТУРА

1. Фещенко, Ю. И. Ведущие специалисты проанализировали текущее состояние проблемы ХОЗЛ в Украине и наметили пути ее решения [Текст] / Ю. И. Фещенко, Л. А. Яшина // Здоров'я України. — 2010. — № 24 (253) — С. 31–33.
2. Фещенко, Ю. И. Актуальные вопросы хронического обструктивного заболевания легких [Текст] / Ю. И. Фещенко // Український пульмонологічний журнал. — 2010. — № 1. — С. 6.
3. Фещенко, Ю. И. ХОЗЛ в Украине: проблемы и пути решения [Текст] / Ю. И. Фещенко // Здоров'я України. — 2009. — № 9/1. — С. 3–4.
4. Наказ МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія".
5. Наказ МОЗ України № 3 від 6 січня 2011 р. "Про державну реєстрацію (перереєстрацію) лікарських засобів та внесення змін у реєстраційні матеріали".
6. Honda, E. Myofibroblasts: biochemical and proteomic approaches to fibrosis [Text] / E. Honda [et al.] // Tohoku J. Exp. Med. — 2013. — Vol. 230(2). — P. 67–73.
7. Lekkerkerker, A. N. Cellular players in lung fibrosis [Text] / A.N. Lekkerkerker [et al.] // Curr. Pharm. Des. — 2012. — Vol. 18(27). — P. 4093–4102.
8. Duffield, J. S. Host responses in tissue repair and fibrosis [Text] / J. S. Duffield [et al.] // Annu. Rev. Pathol. — 2013. — Vol. 8. — P. 241–276.
9. Sandbo, N. Actin cytoskeleton in myofibroblast differentiation: ultrastructure defining form and driving function [Text] / N. Sandbo, N. Dulin // Transl. Res. — 2011. — Vol. 158(4). — P. 181–196.
10. Khalil, N. The role of TGF- β in pulmonary fibrosis [Text] / N. Khalil, A.H. Greenberg // CibaFound. Symp. — 1991. — Vol. 157. — P.194–211.
11. Usuki, J. Sequential analysis of myofibroblast differentiation and transforming growth factor- β /Smad pathway activation in murine pulmonary fibrosis [Text] / J. Usuki [et al.] // J. Nippon. Med. Sch. — 2012. — 79(1). — P. 46–59.
12. Sampson, N. Therapeutic targeting of redox signaling in myofibroblast differentiation and age-related fibrotic disease [Text] / N. Sampson, P.

морфо-функціонального стану як клітин епітеліального вистелення бронхів, так і підлеглої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки, що проявляється помірною гіпертрофією ядра, зменшенням вакуолізації цитоплазми, появою на апікальній плазмолемі війок, зменшенням кількості міофіброblastів.

3. Прийом препарату рофлуміласту терміном 90 днів поряд із базовим лікуванням хворих на ХОЗЛ III стадії забезпечує подальшу позитивну динаміку структурних морфологічних змін слизової оболонки бронхів: збільшення на апікальній плазмолемі війок, нормалізацію морфо-функціонального стану фіброblastів власної пластинки слизової оболонки, наростання деструктивних змін міофіброblastів, відновлення помірної фагоцитарної активності макрофагів.
4. Максимально позитивний вплив на процеси морфологічної реорганізації слизових оболонок бронхів нами ідентифіковано лише впродовж 180-денного прийому рофлуміласту поряд із базовим лікуванням пацієнтів із ХОЗЛ III стадії, що проявлялося частою візуалізацією фіброblastів нормальної будови, зменшенням поліморфноклітинної інфільтрації у сполучній тканині власної пластинки, лише епізодичною ідентифікацією маловідростчастих із базофільною цитоплазмою міофіброblastів, переважанням зрілих макрофагів над моноцитодіними, зміцненням міжклітинних контактів, нормалізацією судини мікрогеоциркуляторного русла.

REFERENCES

1. Feshchenko Yul, Yashina LA. Vedushchiye spetsialisty proanalizirovali tekushcheye sostoyaniye problemy KHOZL v Ukraine i nametili puti ee resheniya (Leading experts analyzed the current state of the problem of COPD in Ukraine and outlined ways to solve it). Zdorovya Ukrainy. 2010;24(253):31–33.
2. Feshchenko Yul. Aktualnyye voprosy khronicheskogo obstruktivnogo zabolevaniya legkikh (Actual issues of chronic obstructive pulmonary disease). Ukr. Pulmonol. Zhurnal. 2010;1:6.
3. Feshchenko Yul. KHOZL v Ukraine: problemy i puti resheniya (COPD in Ukraine: problems and ways of decision). Zdorovya Ukrainy. 2009;9/1:3–4.
4. Ministerstvo okhorony zdorovya Ukrainy. Pro zatverdzhennya klinichnykh protokoliv nadannya medychnoyi dopomogy za spetsialnistyu "Pulmonologiya". Nakaz № 128 vid 19.03.2007. Kyiv: Veles. 2007;146 s. (Ministry of health of Ukraine. Approval of clinical protocols for provision of medical care. Decree # 128 dated 19.03.2007).
5. Ministerstvo okhorony zdorovya Ukrainy. Pro derzhavnu reyestratsiyu (perereyestratsiyu) likarskykh zasobiv ta vnesennya zmin u reyestratsiyni materialy. Nakaz № 3 vid 06.01.2011. (Ministry of health of Ukraine. On state registration (re-registration) of medicinal products and changes in registration. Decree # 128 dated 19.03.2007).
6. Honda E, et al. Myofibroblasts: biochemical and proteomic approaches to fibrosis. Tohoku J. Exp. Med. 2013;230(2):67–73.
7. Lekkerkerker AN, et al. Cellular players in lung fibrosis. Curr. Pharm. Des. 2012;18(27):4093–4102.
8. Duffield JS, et al. Host responses in tissue repair and fibrosis. Annu. Rev. Pathol. 2013;8:241–276.
9. Sandbo N, Dulin N. Actin cytoskeleton in myofibroblast differentiation: ultrastructure defining form and driving function. Transl. Res. 2011;158(4):181–196.
10. Khalil N, Greenberg AH. The role of TGF- β in pulmonary fibrosis. CibaFound. Symp. 1991;157:194–211.
11. Usuki J, et al. Sequential analysis of myofibroblast differentiation and transforming growth factor- β /Smad pathway activation in murine pulmonary fibrosis. J. Nippon. Med. Sch. 2012;79(1):46–59.

- Berger, C. Zenzmaier // *Oxid. Med. Cell Longev.* — 2012. — 458276.
13. Klingberg, F. The myofibroblast matrix: implications for tissue repair and fibrosis [Text] / F. Klingberg, B. Hinz, E. S. White // *J. Pathol.* — 2013. — Vol. 229(2). — P.298–309.
 14. Annoni, R. Extracellular matrix composition in COPD [Text] / R. Annoni [et al.] // *Eur. Respir. J.* — 2012. — Vol. 40(6). — P. 1362–1373.
 15. Jeffery, P. K. Lymphocytes, chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease [Text] / P. K. Jeffery // In.: Chadwick D., Goode J. A., editors. *Chronic obstructive pulmonary disease: pathogenesis to treatment.* Chichester: John Wiley & Sons. — 2001. — P.149–168.
 16. Giembycz, M. A. Phosphodiesterase-4 Selective and Dual-Specificity Inhibitors for the Therapy of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Text] / M. A. Giembycz // *Monaldi archives for chest disease.* — 2002. — Vol 57. — P.48–64.
 17. Grootendorst, D. C. Reduction in sputum neutrophil and eosinophil numbers by the PDE4 inhibitor roflumilast in patients with COPD / D. C. Grootendorst [et al.] // *Thorax.* — 2007. — 62(12). — P. 1081–1087.
 18. Martinez, F. J. Efficacy of Roflumilast in the COPD Frequent Exacerbator Phenotype [Text] / F. J. Martinez // Report of the European Respiratory Society Annual Conference 2011.
 12. Sampson N, Berger P, Zenzmaier C. Therapeutic targeting of redox signaling in myofibroblast differentiation and age-related fibrotic disease. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2012;458276.
 13. Klingberg F, Hinz B, White ES. The myofibroblast matrix: implications for tissue repair and fibrosis. *J. Pathol.* 2013;229(2):298–309.
 14. Annoni R, et al. Extracellular matrix composition in COPD. *Eur. Respir. J.* 2012;40(6):1362–1373.
 15. Chadwick D, Goode J A. *Chronic obstructive pulmonary disease: pathogenesis to treatment.* Chichester: John Wiley & Sons. 2001;149–168.
 16. Giembycz MA. Phosphodiesterase-4 Selective and Dual-Specificity Inhibitors for the Therapy of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Monaldi archives for chest disease.* 2002;57:48–64.
 17. Grootendorst DC, et al. Reduction in sputum neutrophil and eosinophil numbers by the PDE4 inhibitor roflumilast in patients with COPD. *Thorax.* 2007;62(12):1081–1087.
 18. Martinez FJ. Efficacy of Roflumilast in the COPD Frequent Exacerbator Phenotype. Report of the European Respiratory Society Annual Conference 2011.
-