

Особенности периферической сосудистой реактивности у больных системной склеродермией

Руженцова У.Ю. - доктор медицины (Германия), кандидат медицинских наук (Россия).
Лаборатория микроциркуляции, клиника внутренних болезней, Медицинский Университет, г. Эссен

Peripheral vascular reactivity in patients with systemic sclerosis

Rushentsova U.J.

Резюме

В данном исследовании изучены особенности регуляции тонуса периферических сосудов в аспекте взаимосвязи с нарушенными микроциркуляцией у больных системной склеродермией (ССК). В исследование включены 25 больных ССК (средний возраст $47 \pm 2,6$ лет) длительностью заболевания $8,3 \pm 1,7$ лет и 15 практически здоровых, сопоставимых по возрасту и полу. Комплексное обследование включало лабораторные и инструментальные методы, лазерную доплерографию, оценку эндотелий-зависимой (ЭЗВД) и эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД). У всех больных ССК выявлено снижение капиллярной перфузии, нарушение периферической сосудистой реактивности в сравнении с практически здоровыми. Выраженность микроциркуляторных нарушений при ССК зависит от степени изменения структурно-функционального состояния эндотелия на периферическом сосудистом уровне.
Ключевые слова: системная склеродермия, периферическая сосудистая реактивность, микроциркуляторные нарушения

Summary

We investigated the vascular reactivity of peripheral vessels and the relationship between the microcirculation and endothelial function in patients with systemic sclerosis. 25 patients with systemic sclerosis (SSc) (aged $47 \pm 2,6$ years) and 15 healthy controls were included in this study. Duration of disease was $8,3 \pm 1,7$ years. We used a Laser Doppler imager (LDI) to continuously monitor the changes in skin blood flow and evaluation of endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation. Results of LDI have shown the reduction of a capillary perfusion in comparison with healthy controls. The dysfunction of microcirculation correlated with peripheral vascular reactivity in SSc.
Key words: systemic scleroderma, peripheral vascular reactivity, infringements of microcirculation.

Введение

Системная склеродермия (ССК) – аутоиммунное заболевание системного характера, при котором сосуды являются одновременно органом-мишенью и ареной развития патологического процесса. Несмотря на многолетнее изучение проблемы ССК, многие вопросы патогенетических механизмов, лежащих в основе микроциркуляторных нарушений, остаются дискуссионными, а имеющиеся данные противоречивыми. С одной стороны, это связано с объективными трудностями диагностики васкулопатий на ранних стадиях их развития, с другой, – с многообразием патогенетических механизмов и их возможных взаимодействий между собой в развитии нарушений микроциркуляции.

Результаты фундаментальных исследований последних лет показали, что ведущую роль в развитии нарушений микроциркуляции при ССК играет активация системы эндотелина-1 (ЭТ-1), концентрация которого повышается при прогрессировании заболевания. ЭТ-1, синтезируемый преимущественно в эндотелии, оказывает мощное вазокон-

стрикторное действие, тормозит синтез оксида азота (NO) в сосудах, обладает митогенным эффектом, стимулирует пролиферацию и потенцирует действие ряда цитокинов и факторов роста, усиливает коллагенообразование, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки [1-3].

С другой стороны, имеются противоречивые данные о роли NO, как основного вазодилататора, в регуляции сосудистого тонуса в условиях гипоксии при ССК. В настоящее время несколькими независимыми группами исследователей получены доказательства нарушения эндотелий-зависимой релаксации, опосредуемой NO, при ССК [4,5]. При этом происходит нарушение вазорелаксации в ответ на эндотелий-зависимые вазодилататоры ацетилхолин и аденозин дифосфат. Нарушение эндотелий-зависимой релаксации находится в прямой зависимости от уровня парциального давления кислорода в крови и в обратной - от уровня парциального давления углекислого газа [6]. В то же время, релаксация легочных артерий в ответ на эндотелий-независимый вазодилататор нитропруссид натрия сохраняется. Так, рабочей группой Coghlan JG et al. при ССК выявлено снижение способности эндотелиальных клеток синтезировать и высвобождать NO в легочной циркуляции [7].

Отсутствие единой концепции об особенностях регуляции периферического сосудистого тонуса при ССК обосновывает цели и задачи нашего исследования.

Цель исследования - оценить эндотелий-зависимую и

Отвечственный за ведение переписки -
Rushentsova U.J.
Germany, 45127 Essen,
Gustav-Hickingstr, 14
e-mail: ruljana@mail.ru

эндотелий-независимую вазодилатацию в кожной микроциркуляции и изучить взаимосвязь между показателями базальной капиллярной перфузии и особенностями регуляции сосудистого тонуса периферических сосудов у больных ССК.

Материалы и методы

Исследование открытое, контролируемое и выполнено согласно критериям Хельсинкской декларации по этике. В исследование включены 25 больных ранее диагностированной ССК (22 женщины и 3 мужчины) в возрасте от 36 до 70 лет (средний возраст $47 \pm 2,6$ лет). Длительность заболевания составляла $8,3 \pm 1,7$ лет. Критериями исключения служили больные ССК с дисфункцией щитовидной железы, хроническими обструктивными заболеваниями легких, тяжелыми нарушениями ритма и проводимости, хронической почечной и печеночной недостаточностью, инфекциями, злокачественными новообразованиями.

При постановке диагноза ССК основывались на критерии, рекомендованные Американской ассоциацией ревматологов [8]. У всех больных диагностирована характерная полисиндромная картина течения ССК. Лимитированная форма ССК регистрировалась у 66,7 % больных, диффузная форма – у 33,3 % больных. Хроническое течение болезни выявлено у 82,8 % пациентов, подострое – у 17,2 %.

У 95,6 % больных ССК регистрировалось поражение кожи и периферических сосудов – синдром Рейно, у 45 % выявлены ишемические язвы дистальных фаланг пальцев кистей. 76 % больных ССК получали общепринятую терапию, а также терапию по поводу сосудистого синдрома, включающего прием антагонистов эндотелиновых рецепторов, ингибиторов фосфодиэстеразы-5, аналогов простагландина. За неделю до включения больного в исследование болезнь-модифицирующая терапия была отменена.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых, сопоставимых по возрасту и полу с больными основной группы.

Для оценки базальной периферической микроциркуляции мы использовали лазерную доплерографию (ЛДГ) с применением аппарата Moor LDI V.3.0 Axminster, Devon, Великобритания, в основе работы которого лежит принцип изменения скорости движущегося объекта (эритроцита) путем определения доплеровского изменения частоты зондирующего гелио-неонового лазера длиной волны 632,8 нм [9]. За единицу перфузии (PU) принимали величину потока эритроцитов в единицу времени через единицу объема. Данный метод обследования рекомендован для диагностики расстройств микроциркуляции при различной патологии и отличается высокой воспроизводимостью результатов в стандартных условиях ($0,08 \pm 0,04\%$) [10]. С целью оптимизации получаемых результатов исследование проводилось в положении лежа на спине после 30-минутной фазы относительного покоя, в едином тепловом режиме помещения (22 ± 1 °C), в одно и то же время суток, и исключался прием спазмолитиков и вазоактивных препаратов.

Для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) проводилась проба с 1% раствором ацетилхолина (ACh), эндотелий-независимой вазодилатации (ЭНВД) – с 0,01% раствором нитропруссид натрия (NaNP), вводи-

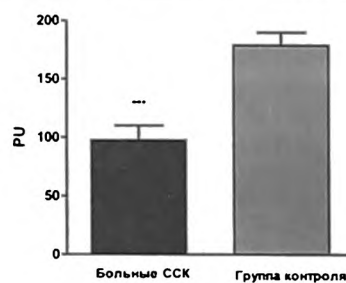


Рис. 1. Сравнительная характеристика базального капиллярного кровотока у больных системной склеродермией и группе контроля

мыми методом трансдермального нонтофореза (MIC2TM, Devon, Великобритания) [11]. Воздействие осуществлялось путем аппликации на область предплечья на активный электрод (анод) раствора ACh и раствора NaNP (катод) силой тока 0,1 mA с частотой стимула – 8 длительностью – 20 сек каждый соответственно. В качестве контрольной пробы служила вазодилатация, обусловленная введением деонизированной воды. Трактовка данных пробы с агонистами мускариновых рецепторов не вызывает различий и является современным методом исследования реактивности сосудов, отражающим функциональное состояние эндотелия и позволяющим оценить состояние периферического микроциркуляторного русла [12].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы GraphPad Prism V.5 (США) непараметрическими методами. Определялись величина средней (M) и стандартное отклонение (m) различий между группами. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для сравнения динамики показателей перфузии использовали тест ANOVA с факторами время и медикамент. С целью определения связи между изучаемыми параметрами использовался коэффициент корреляции и метод многомерной регрессии.

Результаты и обсуждение

Результаты ЛДГ регистрировали достоверное снижение базального периферического кровотока у больных ССК в сравнении с группой контроля: 98 ± 10 PU vs. 189 ± 13 PU, $p < 0,0001$, соответственно (рис. 1).

В ходе исследования мы выявили особенности периферической реактивности капилляров у больных ССК. Так, в сравнении с группой практически здоровых регистрировалось снижение реактивности периферических сосудов кожи на фоне аппликации ACh и NaNP, проявляющееся более медленным развитием вазодилаторной реакции, снижением ее продолжительности и уменьшением амплитуды. Средние максимальные значения на фоне ACh составляли: 119 ± 9 PU vs. 194 ± 8 PU; $p < 0,0001$; NaNP: 99 ± 9 PU vs. 138 ± 5 PU, $p < 0,0001$ в сравнении с группой контроля, соответственно. У больных ССК при аппликации ACh регистрировалось повышение капиллярного кровотока с 30 сек, достигало максимума на 100 сек, и с 140 сек выявлено снижение вазодилатации. Тогда как

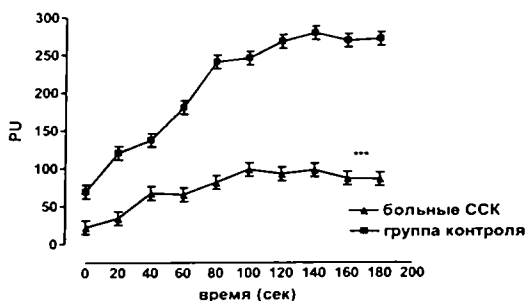


Рис.2. Динамика показателей эндотелий-зависимой вазодилатации в периферическом кровообращении у больных системной склеродермией и группе контроля

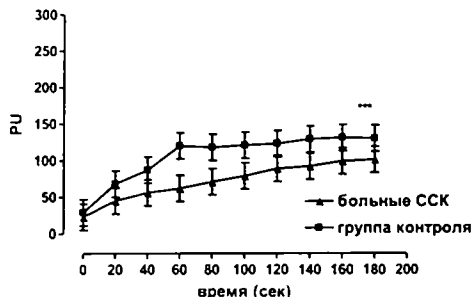


Рис.3. Динамика показателей эндотелий-независимой вазодилатации в периферическом кровообращении у больных системной склеродермией и группе контроля

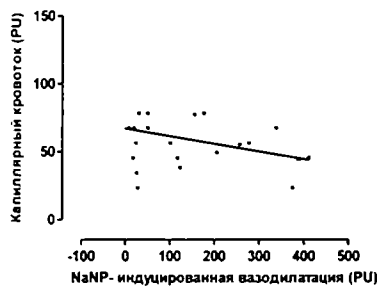
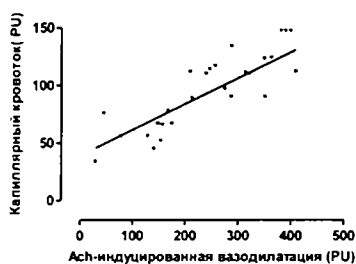


Рис.4. Взаимосвязь между выраженностью микроциркуляторных нарушений и показателями ЭЗВД и ЭНВД в периферическом кровообращении у больных системной склеродермией

в группе практически здоровых максимальная периферическая вазодилатация регистрировалась на 60 сек и сохранялась в течение всего периода введения агониста (рис.2). Средние максимальные значения периферической вазодилатации на фоне введения Ach в группе ССК были достоверно снижены в сравнении с группой практически здоровых (123 ± 11 PU vs. 202 ± 6 PU, $p < 0,0001$; соответственно).

Введение NaNP у больных ССК вызывало увеличение периферической перфузии на 40 сек с максимумом реакции на 60 сек, вазодилатация сохранялась в течение всего периода аппликации. Изменения в капиллярном кровотоке в сравнении с значениями вазодилатации у практически здоровых носили достоверный характер ($p < 0,0001$) (рис.3). Средние максимальные значения вазодилатации в периферическом кровообращении на фоне введения NaNP у больных ССК были снижены в сравнении с практически здоровыми и составляли 101 ± 12 PU vs. 148 ± 9 PU соответственно; $p < 0,05$.

Линейно-регрессионный анализ зависимости показателей периферической перфузии на фоне трансдермальной аппликации Ach и NaNP с одной стороны, и значений базального капиллярного кровотока, отражающего степень выраженности микроциркуляторных нарушений – с другой, показал наличие достоверной взаимосвязи между исследуемыми параметрами в группе больных ССК (Ach: $r = 0,80$, $p < 0,0001$; NaNP: $r = -0,365$, $p = 0,02$, соответственно, рис.4). Данный факт может быть объяснен с позиции выраженного повреждения эндотелия при ССК по принципу механизма up-regulation.

Результаты наших исследований доказали, что определяющее значение в развитии васкулопатий при ССК имеет сосудистая дисфункция. Данная методика позволяет изучить влияние эндогенных и экзогенных субстанций на периферическую микроциркуляцию кожи, а регистрируемые характеристики, такие как изменения перфузии, зависят от концентрации и скорости эритроцитов в микроциркуляторном русле и модулируются колебаниями сосудистой стенки, обусловленными функционированием эндотелия, нейрогенной и миогенной регуляцией. Ионофорез с Ach приводит к увеличению выработки NO эндотелием, к более глубокой модуляции сосудистой стенки и повышению амплитуды эндотелиального ритма у больных с ССК.

Недостаток синтеза NO вследствие нарушения функции эндотелия ведет к повышению сопротивления периферических сосудов. Наряду с этим, воспалительные стимулы способствуют синтезу индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и ее активации во многих клетках и тканях. В итоге генерируется большое количество NO, которое намного превышает его физиологические количества, вырабатываемые конститутивной NO-синтазой [13]. Ослабление синтеза NO при ССК приводит к повышению сосудистого тонуса и свертываемости крови, оказывая тем самым влияние на развитие васкулопатий [14]. Таким образом, метаболизм NO определяет поражение стенок сосудов, параметры ЭЗВД и ЭНВД при ССК.

Подтверждением тому служат также и результаты экспериментов на животных, где было установлено, что блокада синтеза NO, приводит к усилению гипоксической вазоконстрикции. Его синтез активируется при нарушениях кровотока и при воздействии ацетилхолина, брадикинина, гистамина и фактора агрегации тромбоцитов [4,15].

С позиций патогенеза развития васкулопатий при ССК особый интерес представляют нарушения взаиморегуляции ЭТ-1 с NO. С одной стороны, ЭТ-1 индуцирует синтез L-аргинина, эндогенного ингибитора NO-синтазы, с другой - ЭТ-1 тормозит образование NO путем снижения количества eNOS посредством протеинкиназы C. В проведенных нами ранее исследованиях и по данным других рабочих групп мы показали, что внутривенное введение ЭТ-1 редуцирует ЭЗВД в физиологическом кровообращении, которая, возможно связана со снижением NO-опосредованной вазодилатации [16]. Результативная оценка ответа селективного антагониста ЭТА-рецепторов BQ-123 и селективного антагониста ЭТВ-рецепторов BQ-788 на экзогенное введение ЭТ-1 регистрировала в сосудах мелкого калибра подавление вазоконстрикторных эффектов ЭТ-1 [17]. Данный факт позволяет утверждать о наличии как ЭТА-рецепторов, так и вазоконстрикторных ЭТВ-рецепторов в гладкомышечной стенке капилляров, причем

соотношение ЭТА/ЭТВ-рецепторов составляет в среднем 60% в капиллярном кровообращении.

Результаты наших исследований являются пусковым фактором для оценки коррекции микроциркуляторных нарушений и эндотелиальной дисфункции при ССК путем терапевтического воздействия блокаторами эндотелина, чему посвящены наши дальнейшие научные изыскания.

Выводы

1. В группе больных ССК выявлено достоверное снижение базального периферического кровотока в сравнении с практически здоровыми.
2. У больных ССК в сравнении с группой практически здоровых регистрируется снижение ЭЗВД и ЭНВД в периферическом кровообращении, что свидетельствует о нарушениях регуляции сосудистого тонуса при ССК.
3. Микроциркуляторные нарушения обусловлены нарушением функции эндотелия: показатели перфузии на фоне Асh-опосредованной вазодилатации достоверно коррелировали с выраженностью микроциркуляторных нарушений, тогда как между значениями ЭНВД и капиллярной перфузией регистрировалась отрицательная взаимосвязь, что в определенной степени доказывает патогенетическое происхождение развития васкулопатий при ССК. ■

Литература:

1. Chung L, Lin J, Furst DE, Fiorentino D: Systemic and localized scleroderma. *Clin Dermatol* 2006;24:374-392.
2. Kleinert S, Tony HP, Kneitz C: [Systemic sclerosis]. *Internist (Berl)* 2006;47:1051-1062.
3. Rubens C, Ewert R, Halank M, Wensel R, Orzechowski HD, Schultheiss HP, Hoeffken G: Big endothelin-1 and endothelin-1 plasma levels are correlated with the severity of primary pulmonary hypertension. *Chest* 2001;120:1562-1569.
4. Marie I, Beny JL: Endothelial dysfunction in murine model of systemic sclerosis: tight-skin mice 1. *J Invest Dermatol* 2002;119:1379-1387.
5. Anderson ME, Hollis S, Moore T, Jayson MI, Herrick AL: Non-invasive assessment of vascular reactivity in forearm skin of patients with primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1996;35:1281-1288.
6. Christen S, Delachaux A, Dischl B, Golay S, Liaudet L, Feihl F, Waeber B: Dose-dependent vasodilatory effects of acetylcholine and local warming on skin microcirculation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;44:659-664.
7. Mukerjee D, Yap LB, Ong V, Denton CP, Howells K, Black CM, Coghlan JG: The myth of pulmonary Raynaud's phenomenon: the contribution of pulmonary arterial vasospasm in patients with systemic sclerosis related pulmonary arterial hypertension. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1627-1631.
8. Poornoghim H, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr: Systemic sclerosis sine scleroderma: demographic, clinical, and serologic features and survival in forty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2000;43:444-451.
9. Stucker M, Heese A, Hoffmann K, Rochling A, Altmeyer P: Precision of laser Doppler scanning in clinical use. *Clin Exp Dermatol* 1995;20:371-376.
10. Rushentsova U, Opazo Saez AM, Mosel F, Nurnberger J, Gossel M, Mitchell A, Schafers RF, Philipp T, Wenzel RR: Laser Doppler imager (LDI) scanner and intradermal injection for in vivo pharmacology in human skin microcirculation: responses to acetylcholine, endothelin-1 and their repeatability. *Br J Clin Pharmacol* 2005;59:511-519.
11. Thysman S, Van Neste D, Preat V: Noninvasive investigation of human skin after in vivo iontophoresis. *Skin Pharmacol* 1995;8:229-236.
12. Anderson ME, Moore TL, Lunt M, Herrick AL: Digital iontophoresis of vasoactive substances as measured by laser Doppler imaging—a non-invasive technique by which to measure microvascular dysfunction in Raynaud's phenomenon. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43:986-991.
13. Takagi K, Kawaguchi Y, Hara M, Sugiura T, Harigai M, Kamatani N: Serum nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO levels and clinical features. *Clin Exp Immunol* 2003;134:538-544.
14. Andersen GN, Caidahl K, Kazzam E, Petersson AS, Waldenstrom A, Mincheva-Nilsson L, Rantapaa-Dahlqvist S: Correlation between increased nitric oxide production and markers of endothelial activation in systemic sclerosis: findings with the soluble adhesion molecules E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and vascular cell adhesion molecule 1. *Arthritis Rheum* 2000;43:1085-1093.
15. Ramsay JE, Ferrell WR, Greer LA, Sattar N: Factors critical to iontophoretic assessment of vascular reactivity: implications for clinical studies of endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39:9-17.
16. Mitchell A, Rushentsova U, Siffert W, Philipp T, Wenzel RR: The angiotensin II receptor antagonist valsartan inhibits endothelin 1-induced vasoconstriction in the skin microcirculation in humans in vivo: influence of the G-protein beta3 subunit (GNB3) C825T polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79:274-281.
17. Rushentsova U, Detmer N, Mitchell A, Philipp T: Effects of ET-1 antagonism on ET-1-mediated vasoconstriction in the skin microcirculation in man in vivo. *J Hypertension* 2006;24(4):207-210.
18. Strent-Cornateanu R, Mihai C, Balan S, Ionescu R, Moldoveanu E: The IL-6 promoter polymorphism is associated with disease activity and disability in systemic sclerosis. *J Cell Mol Med* 2006;10:955-959.
19. Sato S, Hasegawa M, Takehara K: Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin thickness score in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 2001;27:140-146.