

**ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА –
ВЗАИМОСВЯЗЬ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ
И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ
ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СОСУДОВ У БОЛЬНЫХ
СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ**

Руженцова У.Ю.

E-mail: ruljana@mail.ru

Нижегородская Государственная Медицинская Академия, г. Нижний Новгород.

Введение. Системная склеродермия (ССК) – хроническое аутоиммунное заболевание соединительной ткани, определяющее значение в патогенезе которого имеет сосудистая дисфункция [1]. Микроциркуляторные нарушения являются причиной возникновения дигитальных ишемических язв, которые встречаются у 40 % больных ССК [2,3].

Результаты фундаментальных исследований нескольких экспериментальных рабочих групп показали, что ведущую роль в развитии васкулопатий играет активация системы эндотелина-1 (ЭТ-1) [4]. ЭТ-1, как мощный вазоконстриктор, ингибирует продукцию оксида азота (NO), активирует действие провоспалительных цитокинов, вызывая усиление коллагенообразования и повышая синтез фибробластов [5].

С другой стороны, метаболизм NO в состоянии гипоксии также определяет характер нарушений периферической микроциркуляции при ССК. В настоящее время несколькими независимыми группами исследователей получены доказательства изменений эндотелий-зависимой релаксации, опосредуемой NO при хронической легочной гипертензии (ЛГ), ассоциированной со ССК как в экспериментальных моделях, так и у больных с ЛГ [6]. При этом происходит нарушение релаксации легочных артерий в ответ на эндотелий-зависимые вазодилататоры ацетилхолин и аденозина дифосфат. В то же время релаксация легочных артерий в ответ на эндотелий-независимый вазодилататор нитропруссид натрия сохраняется [7]. Так, рабочей группой профессора Haworth S. при ЛГ выявлено снижение способности эндотелиальных клеток синтезировать и высвобождать NO в легочной циркуляции [8].

Мы выдвигаем гипотезу, что микроциркуляторные нарушения, развивающиеся на ранних стадиях развития ССК и предшествующие фиброзным изменениям кожи и внутренних органов, патогенетически связаны с эндотелиальной дисфункцией.

Цель исследования - оценить базальную капиллярную перфузию и изучить взаимосвязь с показателями эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации в периферической микроциркуляции и плазменной концентрацией ЭТ-1 у больных ССК.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 25 больных ССК (22 женщины и 3 мужчины) среднего возраста $47 \pm 2,6$ лет. Длительность ССК составляла $8,3 \pm 1,7$ лет.

При постановке диагноза ССК основывались на критерии, рекомендованные Американской ассоциацией ревматологов [9]. У всех больных диагностирована характерная полисиндромная картина течения ССК. Лимитированная форма ССК регистрировалась у 76 % больных, диффузная форма – у 24 % больных. Хроническое течение болезни выявлено у 84 % пациентов, подострое – у 16 %.

У 68 % больных ССК регистрировалось поражение кожи и периферических сосудов в виде синдрома Рейно, у 44 % выявлены ишемические язвы дистальных фаланг пальцев кистей.

76 % больных ССК получали общепринятую терапию, а также терапию по поводу сосудистого синдрома, включающего прием неселективных антагонистов эндотелиновых рецепторов, ингибиторов фосфодиэстеразы-5, аналогов простациклина, антагонистов кальция и ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). За неделю до включения больного в исследование болезнь-модифицирующая терапия была отменена.

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.

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

Для оценки базального капиллярного кровотока мы использовали лазерную доплерографию (ЛДГ) с применением аппарата moorLDI (V5.0 Axminster,

Великобритания). За единицу перфузии принимали величину потока эритроцитов в единицу времени через единицу объема ткани (PU). 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 ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), в одно и тоже время суток.

Реактивность периферических сосудов оценивали методом трансдермального ионтофореза (MIC2™, Devon, Великобритания) с применением пробы с 1% раствором ацетилхолина (Ach) и 0,01% раствором нитропрусида натрия (NaNP). Воздействие осуществлялось путем аппликации на область предплечья на активный электрод (анод) Ach и NaNP (катод) силой тока 0,1 мА с частотой стимула – 8, длительностью - 20 секунд каждый соответственно. В качестве контрольной пробы служила вазодилатация, обусловленная введением деионизированной воды.

Концентрацию ЭТ-1 в плазме измеряли радиоиммунным методом с использованием стандартных тестов «ELISA» (Германия), результаты выражали в пг/мл.

Статический анализ проводили с использованием программы GraphPad Prism V.5 (США) непараметрическими методами. Определялись величина средней (M) и стандартное отклонение (m) различий между группами. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. С целью определения связи между изучаемыми параметрами использовался коэффициент корреляции и метод многомерной регрессии.

Результаты исследования. В группе больных ССК выявлено снижение базального капиллярного кровотока в сравнении с практически здоровыми: 56 ± 12 PU vs. 128 ± 14 PU; $p = 0,0019$ соответственно (рис.1).

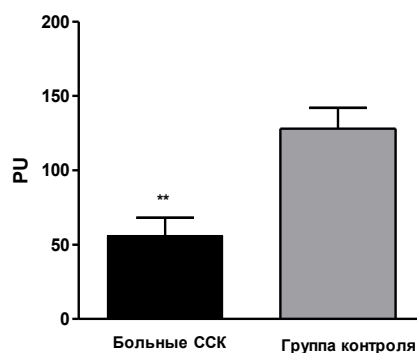


Рис.1. Сравнительная характеристика базального капиллярного кровотока у больных ССК и группе контроля

В ходе исследования была выявлена зависимость выраженности микроциркуляторных нарушений у больных ССК от содержания ЭТ-1 в плазме. Базальные значения концентрации ЭТ-1 были достоверно выше в сравнении с группой контроля и составляли: $1,7 \pm 0,04$ пг/мл vs. $0,4 \pm 0,03$ пг/мл, $p < 0,001$; соответственно). Показатели периферической микроциркуляции находились в тесной корреляционной зависимости от плазменной концентрации ЭТ-1 ($r = -0,23$; $p = 0,019$) что указывает на системный характер нарушений капиллярного кровотока при ССК (рис. 2).

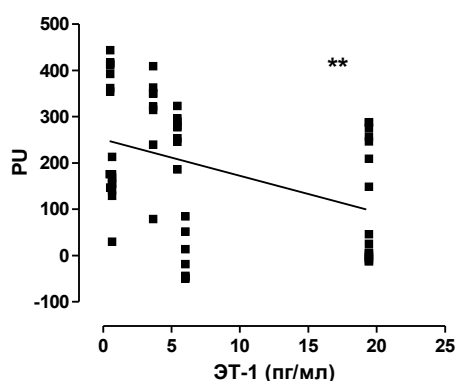


Рис.2 Зависимость выраженности базального капиллярного кровотока от плазменной концентрации ЭТ-1 у больных ССК

В аспекте нового подхода к патогенезу развития васкулопатий при ССК мы оценивали показатели капиллярной перфузии во взаимодействии с маркерами нарушения функции эндотелия как системном, так и на локальном уровне. Мы выявили особенности периферической реактивности капилляров у больных ССК. Так, в сравнении с группой практически здоровых регистрировалось снижение реактивности периферических сосудов кожи на фоне аппликаций 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, $p < 0,001$ в сравнении с группой контроля, соответственно. У больных ССК при аппликации Ach регистрировалось повышение капиллярного кровотока с 30 секунды, достигало максимума на 100 секунде, и с 140 секунды выявлено снижение вазодилатации. Тогда как в группе практически здоровых максимальная периферическая вазодилатация

регистрировалась на 60 сек и сохранялась в течение всего периода введения агониста (рис.3а). Аппликация NaNP у больных ССК вызвала 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 показателями ЭНВД у практически здоровых носили достоверный характер ($p < 0,0001$) (рис.3б).

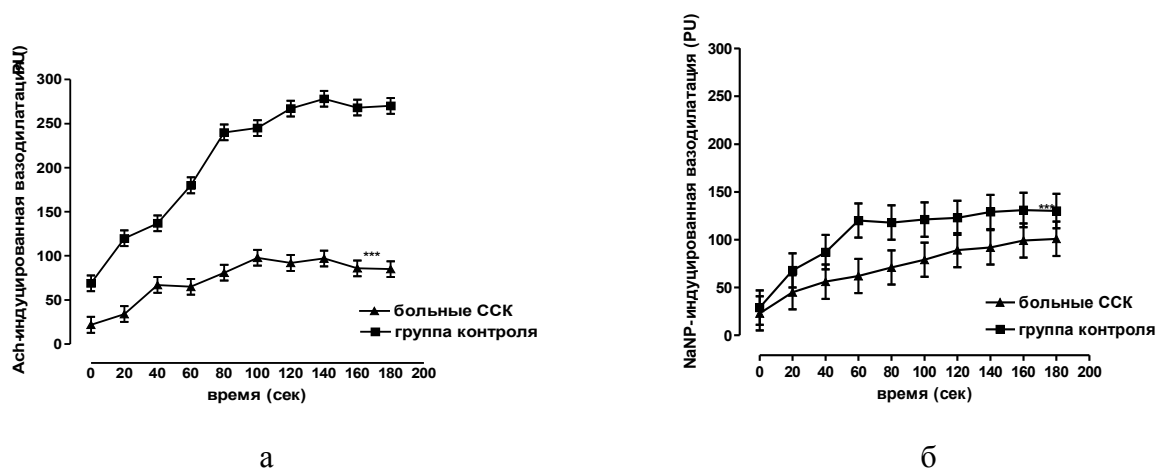


Рис. 3. Динамика показателей ЭЗВД и ЭНВД в периферическом кровообращении у больных ССК и группе контроля

Линейно-регрессионный анализ зависимости показателей периферической перфузии на фоне трансдермальной аппликации Ach и NaNP, с одной стороны, и уровня ЭТ-1 в плазме - с другой, показал наличие достоверной взаимосвязи между исследуемыми параметрами в группе больных ССК (Ach: $r = -0,38$, $p = 0,02$, рис.4а; NaNP: $r = 0,75$, $p = 0,0007$; соответственно, рис.4б). Данный факт может быть объяснен с позиции выраженного повреждения эндотелия при ССК по принципу механизма up-regulation.

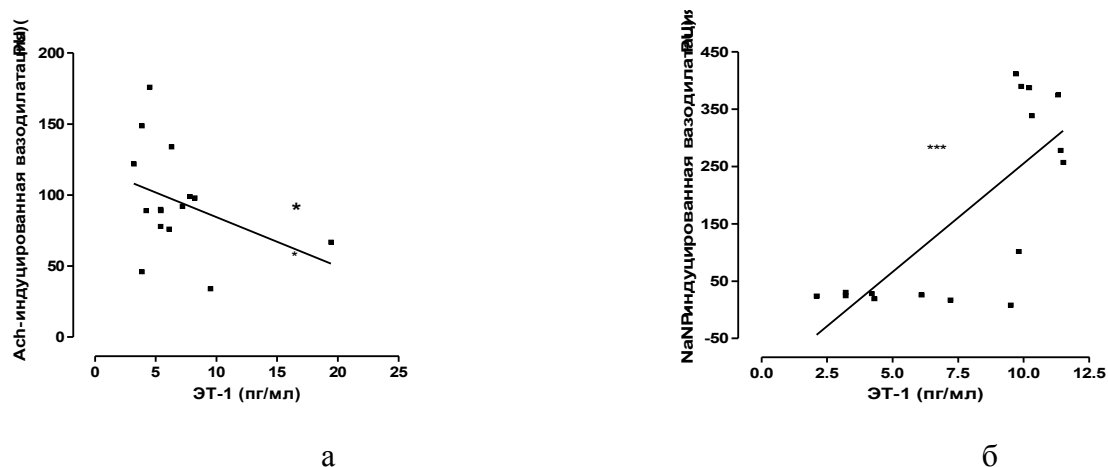


Рис.4 Взаимосвязь между выраженностью ЭЗВД и ЭНВДв периферическом кровообращении и плазменной концентрацией ЭТ-1 у больных ССК

Обсуждение. Как показали результаты нашего исследования, ключевым механизмом в развитии сосудистой дисфункции является повышение экспрессии ЭТ-1, а выявленная нами корреляционная зависимость между концентрацией ЭТ-1 в плазме и показателями капиллярной перфузии на фоне аппликации Ach и NaNP свидетельствует о системности сосудисто-эндотелиальных взаимоотношений. В связи с этим оценка содержания ЭТ-1 в плазме крови имеет дополнительное прогностическое значение при выделении групп больных с высоким развитием васкулопатий и является определяющим маркером поражения эндотелия при ССК.

С другой стороны, дисфункция эндотелия у больных ССК сопровождается достоверным усилением суммарной продукции NO в организме. Такое, на первый взгляд, парадоксальное сочетание снижения NO-зависимой функции эндотелия и усиления общего синтеза NO в организме объясняется тем, что для ССК характерно одновременное ослабление активности и экспрессии белка эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и высокая активность индуцибельной NO-синтазы (iNOS), которая появляется в гладкомышечных клетках сосудов на ранних стадиях микроциркуляторных нарушений [11]. Избыточное содержание NO в гладкой мышце подавляет активность eNOS и прямо повреждает эндотелиальные клетки за счет угнетения дыхания митохондрий и синтеза ДНК [12]. В результате продукция эндотелиального NO прогрессивно падает, что вносит большой вклад в развитие дисфункции эндотелия и рост периферического сопротивления. Поскольку iNOS продуцирует NO в количествах, на несколько

порядков превышающих продукцию eNOS, то в условиях индукции iNOS изменения уровня NO в плазме отражают интенсивность синтеза NO именно iNOS, которая в норме в сосудистой стенке отсутствует [13]. В условиях дефицита эндотелиального NO этот защитный механизм не функционирует и, соответственно, создаются условия, способствующие вазоконстрикции, тромбозам и ишемии.

Выводы.

1. У больных ССК выявлена редукция капиллярного русла, снижение показателей ЭЗВД и ЭНВД в периферическом кровообращении в сравнении с группой практически здоровых.
2. Выраженность микроциркуляторных нарушений находится в корреляционной зависимости от концентрации ЭТ-1, что доказывает системность поражения капиллярного кровотока и обосновывает необходимость использования терапии антагонистами эндотелиновых рецепторов при ССК, чему посвящена вторая часть научного проекта.

Список литературы.

1. Guiducci S, Giacomelli R, Cerinic MM: Vascular complications of scleroderma. Autoimmun Rev 2007;6:520-523.
2. Chung L, Fiorentino D: Digital ulcers in patients with systemic sclerosis. Autoimmun Rev 2006;5:125-128.
3. Guillemin L: [Digital ulcers in systemic sclerosis.]. Presse Med 2008.
4. Mayes MD: Endothelin and endothelin receptor antagonists in systemic rheumatic disease. Arthritis Rheum 2003;48:1190-1199.
5. Hoher B, Schwarz A, Slowinski T, Bachmann S, Pfeilschifter J, Neumayer HH, Bauer C: In-vivo interaction of nitric oxide and endothelin. J Hypertens 2004;22:111-119.
6. 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.
7. Gonon AT, Erbas D, Broijers A, Valen G, Pernow J: Nitric oxide mediates protective effect of endothelin receptor antagonism during myocardial ischemia and reperfusion. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;286:H1767-1774.

8. Haworth SG: Role of the endothelium in pulmonary arterial hypertension. *Vascul Pharmacol* 2006;45:317-325.
9. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1980;23:581-590.
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. Ferrini MG, Vernet D, Magee TR, Shahed A, Qian A, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF: Antifibrotic role of inducible nitric oxide synthase. *Nitric Oxide* 2002;6:283-294.
12. Marie I, Beny JL: Endothelial dysfunction in murine model of systemic sclerosis: tight-skin mice 1. *J Invest Dermatol* 2002;119:1379-1387.
13. Suschek CV, Schnorr O, Kolb-Bachofen V: The role of iNOS in chronic inflammatory processes in vivo: is it damage-promoting, protective, or active at all? *Curr Mol Med* 2004;4:763-775.