

УДК 616.13/14-005.1-08-06-002.77]-085

© О. І. ЗАРУДНА

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

Дослідження мікроциркуляторного русла: фокус на системні захворювання сполучної тканини

О. І. ZARUDNA

SHEI "Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky"

RESEARCH OF MICROCIRCULATORY BED: FOCUS ON SYSTEMIC DISEASES OF CONNECTIVE TISSUE

У статті наведено результати дослідження мікроциркуляторного русла пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за допомогою інструментальних та лабораторних методик. Виявлено глибокі морфометричні аномалії у пацієнтів із наявністю розладів периферичного кровотоку, що супроводжуються ендотеліальною дисфункцією. У пацієнтів без порушень периферичної гемодинаміки та за умов відсутності ендотеліальної дисфункції мають місце початкові зміни морфології термінального русла.

The article deals with the results of microcirculatory bed research in patients with systemic diseases of connective tissue by instrumental and laboratorian methods. Significant morphometrical anomalies were found in patients with disorders of peripheral hemodynamic and endothelial dysfunction. In patients without hemodynamic disorders and endothelial dysfunction were found only initial morphological anomalies.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Найбільш грізним проявом системних захворювань сполучної тканини, що зумовлює саме системність, призводить до стійких порушень функцій органів та систем (легень, нирок, серця), є васкуліт. Різноманітні статистичні дослідження свідчать про наявність у хворих на системний червоний вовчак (СЧВ), системну склеродермію (ССД) та ревматоїдний артрит (РА) таких його ознак, як синдром Рейно (СР), сітчасте ліведо, рецидивний тромбофлебіт, дигітальний васкуліт, капілярит долонь і підшов тощо. Серед вказаних проявів найпоширеніший – синдром Рейно, який характеризується каскадним порушенням мікроциркуляції: деструкцією ендотелію судин, редуплікацією базальної мембрани капілярів, інтимальною проліферацією гладком'язових клітин із гіперпродукцією колагену та схильністю до вазоконстрикції, потовщенням стінок судин із звуженням їх просвіту, що реалізується у вигляді генералізованих проявів [1, 2]. При цьому мішенню, джерелом та причиною патологічного процесу є ендотелій, який стає рецепторним полем для зв'язування циркулюючих імуноглобулінів, імунних комплексів, комплементу та атак сенсibilізованих Т-лімфоцитів.

Саме мікроциркуляція забезпечує прямий взаємозв'язок між тканинами і таким чином між усім організмом та клітинами органів, адаптує кровообіг до потреб організму в різних умовах [6]. Протягом багатьох років ведуться дослідження, голов-

ною метою яких є виявлення неінвазивних методик дослідження мікроциркуляторного русла та встановлення специфічних ознак патології на користь того чи іншого захворювання сполучної тканини на допомогу у верифікації діагнозу. Наприклад, деякі автори (Kenik et al.) стверджують про наявність специфічної капіляроскопічної картини у хворих на ССД та СЧВ, причому при інших аутоімунних захворюваннях виявляються зміни менш характерні і більш різноманітні [3]. Узагальнена капіляроскопічна картина виглядає так: розширення та петлеподібність капілярів із збільшенням площі безсудинних ділянок. Ці ознаки можуть бути виявлені вже на ранніх стадіях захворювань та випереджати типові клінічні прояви хвороби [4].

Стосовно окремих аутоімунних процесів уже виявлено кореляцію між показниками деяких біологічно активних речовин та даними капіляроскопії, як от при СЧВ виявлено зв'язок між концентрацією ендотеліну-1 (ЕТ-1) та капіляроскопічними характеристиками мікроциркуляторного русла (МЦР) [5]. І лише низка робіт продемонструвала відповідність змін капілярної сітки при широкопольній капіляроскопії нігтьового ложа результатам гістоморфологічних досліджень біоптатів шкіри [7, 8]. Також у нечисленних наукових роботах представлено результати імуногістохімії, яка виявила, що серед клітин, які інфільтрують судинну стінку, значно переважають CD20(+) В-лімфоцити, ще знайдено макрофаги та дендритні клітини, Ig G, A, M та комплемент у виг-

ляді депозитів вздовж еластичної мембрани судинної стінки [9]. Результати глибинного дослідження мікроциркуляторного русла можуть стати підґрунтям для нових підходів до лікування хворих [10].

Отже, вивчення морфометричних особливостей МЦР хворих на системні захворювання сполучної тканини та патогенетичних механізмів його пошкодження є перспективним напрямком наукових медичних досліджень.

Мета роботи: дослідити морфологію судинного русла та функціональний стан ендотелію у хворих на СЧВ, ССД та РА з та без порушення периферичного кровотоку.

Матеріали і методи. Для досягнення мети дослідження проведено обстеження 129 хворих на ревматичні захворювання, з них 39 – з верифікованим діагнозом ССД, 54 – СЧВ та 45 – РА. Верифікацію діагнозів здійснювали на основі критеріїв ACR. Статистично переважали жінки (86,05 %) фертильного віку, що типово для даної категорії захворювань. Середня тривалість хвороби становила $(8,14 \pm 0,53)$ року.

Морфометричні особливості судинного русла вивчали на основі аналізу біоптатів шкірного клаптя пальця пацієнтів. Для цього після хімічної обробки виготовлено зрізи товщиною 5–6 мкм, забарвлені гематоксилином та еозином. Досліджено їх у світлооптичному мікроскопі і задокументовано за допомогою мікроскопа ЛОМО Биолам И і системи виводу зображення гістологічних препаратів. Морфометричні та кількісні дослідження проведено, використовуючи систему аналізу гістологічних препаратів у загальній кількості 26. Зображення на монітор комп'ютера виведено з мікроскопа ЛОМО Биолам И за допомогою відеокамери Vision CCD Camera і програми InterVideoWinDVR. Вимірювання проведено за допомогою програм UTHSCSA Image Tool та Microsoft Excel на персональному комп'ютері.

Стан периферичної гемодинаміки вивчено за допомогою поздовжньої реовазографії передпліч та гомілок програмно-апаратним комплексом автоматизованого аналізу реограм УСРГ-01. Аналіз реограм включав оцінку регулярності пульсових хвиль, крутизну підйому та спуску, характер верхівки, вираження інцизури, наявність додаткових хвиль. Основний показник, що використовувався для аналізу, – це реографічний індекс, який характеризує величину пульсового кровонаповнення, тобто систолічного притоку, і визначається як відношення основної хвилі реограми до величини калібрувального імпульсу (ум. од.).

Стан ендотелію досліджено за одним з основних інтегральних показників його функціональної здатності, а саме ET-1. Вміст ET-1 визначено за імуоферментною методикою, яка ґрунтується на принципі конкурентного імуоферментного аналізу, з використанням набору реагентів Peninsula Laboratories Inc. (США).

Результати досліджень та їх обговорення.

Кількість пацієнтів, які за результатами поздовжньої реовазографії мають розлади периферичного кровотоку, становить 83,7 %. Збіг із клінічними симптомами за цією ознакою становить 99,4 %.

Морфометричне дослідження біоптатів шкіри було проведено у 26 пацієнтів даної вибірки. Нижче наведено зображення біоптатів пацієнтів із різними нозологічними формами, які мають розлади периферичного кровотоку. Характеризуючи побачене в мікроскопі, слід сказати, що загальна архітектоніка судинної стінки не порушена, має місце видима гіперплазія ендотеліоцитів у всіх категоріях пацієнтів, що можна віднести до пристосувальних механізмів в умовах порушеного кровотоку (рис. 1–3).

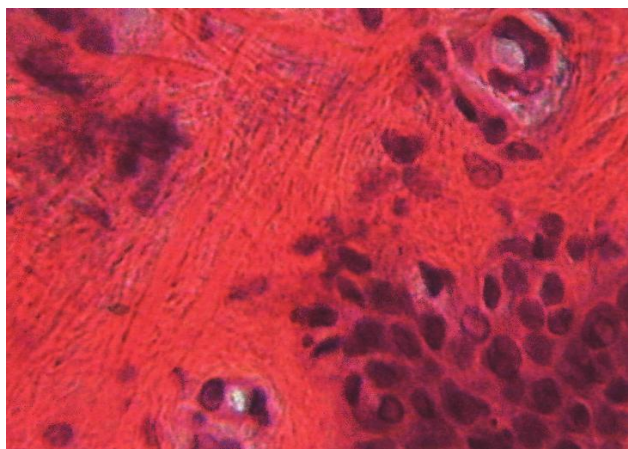


Рис. 1. Біоптат шкіри пальця хворої Ф., медична карта стаціонарного хворого № 01/10064, діагноз: РА: поліартрит, активність III ст., серопозитивний варіант, рентгенологічно II ст., ФНС II ст. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 600$.

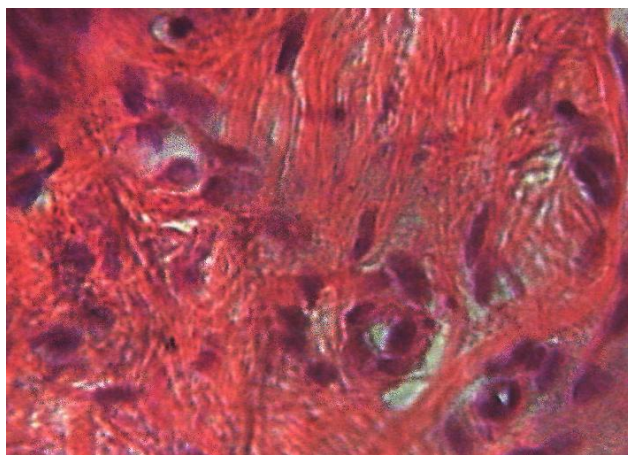


Рис. 2. Біоптат шкіри пальця хворого Ш., медична карта стаціонарного хворого № 01/00920, діагноз: СЧВ, активність I ст., хронічний перебіг, з ураженням шкіри (еритема), нирок (нефрит), суглобів (поліартрит), судин (синдром Рейно). Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 600$.

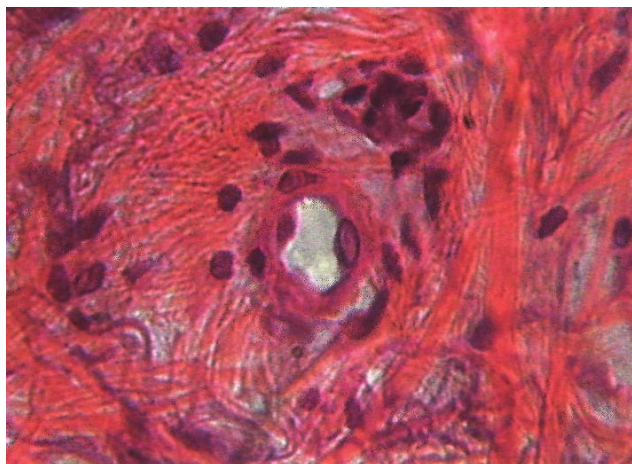


Рис. 3. Біоптат шкіри пальця хворої Х., медична карта стаціонарного хворого № 01/07587, діагноз: ССД, активність І ст., хронічний перебіг, з ураженням шкіри (індурація, атрофія, гіперпігментація), судин (синдром Рейно), суглобів (склеродактилія, ФНС ІІ ст.), серця (кардіосклероз, СН І ст.), ШКТ (езофагіт), нирок (склеродермічна нирка). Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 600$.

За результатами, наведеними в таблиці 1, середня щільність капілярів на одиницю площі зменшується недостовірно у хворих без порушення периферичного кровотоку. Статистично достовірно вона знижується у хворих із розладами периферичного кровотоку за умов СЧВ та ССД.

Поряд із зменшенням числа капілярів нормальних розмірів виявлено появу дилатованих та мегакапілярів (табл. 2). Причому їх кількість незначна у хворих без порушення периферичного кровотоку та статистично достовірна у пацієнтів із порушенням гемодинаміки. У відносних значеннях кількість патологічних капілярів становить 66,7 % при РА, 92,0 % при ССД та 91,5 % при СЧВ.

При дослідженні крові пацієнтів на визначення концентрацій ЕТ-1 ми отримали результати (табл. 3), які свідчать про наявність надзвичайно високого вмісту його у пацієнтів із судинною патологією порівняно з показниками донорів. Одночасно концентрація ЕТ-1 у пацієнтів без ураження судин суттєво не відрізняється від норми.

Таблиця 1. Середня щільність розміщення гемокапілярів шкіри хворих на 1мм²

Нозологія	Без порушення периферичного кровотоку (І група)	З порушенням периферичного кровотоку (ІІ група)
Норма	43,0 \pm 1,9	–
Ревматоїдний артрит, n=5	40,0 \pm 1,8 p1>0,05	37,0 \pm 1,6 p1>0,05 p2>0,05
Системна склеродермія, n=5	38,0 \pm 1,7 p1>0,05	21,0 \pm 1,0 p1<0,01 p2<0,01
Системний червоний вовчак, n=5	41,0 \pm 1,9 p1>0,05	36,0 \pm 1,7 p1<0,05 p2>0,05

Примітка. p1 – достовірна різниця між нормою та середньою щільністю гемокапілярів на одиницю площі у хворих обох груп; p2 – достовірна різниця між показниками пацієнтів І та ІІ груп.

Таблиця 2. Розподіл гемокапілярів шкіри хворих за шириною просвіту

Нозологія	Без порушення периферичного кровотоку (І група)			З порушенням периферичного кровотоку (ІІ група)		
	кількість гемокапілярів діаметром			кількість гемокапілярів діаметром		
	8–12 мкм	15–25 мкм	більше 5 мкм	8–12 мкм	15–25 мкм	більше 5 мкм
Норма	100	–	–	100	–	–
Ревматоїдний артрит	80,6 \pm 3,6 p1<0,01	12,1 \pm 0,6	7,3 \pm 0,3	31,3 \pm 1,5 p1<0,01 p2<0,01	46,6 \pm 2,2	22,1 \pm 1,0
Системна склеродермія	71,7 \pm 3,3 p1<0,01	24,5 \pm 1,1	3,82 \pm 0,17	8,0 \pm 0,3 p1<0,01 p2<0,01	58,9 \pm 2,8	33,1 \pm 1,5
Системний червоний вовчак	69,2 \pm 3,3 p1<0,01	29,7 \pm 1,4	1,13 \pm 0,04	7,5 \pm 0,3 p1<0,01 p2<0,01	43,2 \pm 2,0	49,3 \pm 2,4

Примітка. p1 – достовірна різниця між нормою та кількістю капілярів нормальних розмірів (8–12 мкм) у хворих обох груп; p2 – достовірна різниця між кількістю капілярів розміром 8–12 мкм у хворих І та ІІ груп.

Таблиця 3. Концентрація ЕТ-1 у хворих на ревматичні захворювання з/без порушення периферичного кровотоку

Група хворих		ЕТ-1, пкг/мл
Донори, n=10		1,8±0,7
I група, n=5		1,9±0,5 p1>0,05
II група	СЧВ, n=10	19,0±1,4 p1<0,001 p2<0,001
	ССД, n=10	23,1±1,5 p1<0,001 p2<0,001
	РА, n=10	18,9±1,4 p2<0,001 p2<0,001

Примітка. p1 – достовірна різниця між показниками хворих та донорів; p2 – достовірна різниця між показниками хворих I та II груп.

Для більш детального вивчення змін концентрації ЕТ-1 усіх хворих з ознаками ураження судинного русла поділено на три групи за ступенем активності запального процесу (табл. 4). Виявлені

зміни виражаються у поступовому зростанні концентрації ЕТ-1 при вищому ступені активності запального процесу, однак статистично достовірної різниці між показниками немає.

Таблиця 4. Концентрація ЕТ-1 у крові хворих на ревматичні захворювання за умов наявності судинних уражень відповідно до ступеня автоімунного запалення

Ступінь активності захворювання	ЕТ-1, пкг/мл
Акт. I ст., n=13	18,4±2,5
Акт. II ст., n=11	18,8±3,5
Акт. III ст., n=6	24,7±2,2

Отже, слід зазначити, що порушенням периферичної гемодинаміки відповідають глибокі зміни МЦР у вигляді зменшення середньої щільності розміщення гемокапілярів на одиницю площі, зменшення кількості нормальних капілярів, натомість збільшення кількості дилатованих та мегакапілярів. Морфометричні зміни супроводжуються вираженою ендотеліальною дисфункцією з високою концентрацією ЕТ-1. Крайній ступінь змін за інтегральною оцінкою стосується хворих на ССД, що відповідає сучасним уявленням про дане захворювання.

Однак виявлено також і деякі морфометричні особливості у хворих без порушень периферичного кровотоку: за умов достатньої щільності розміщення гемокапілярів на одиницю площі виявлено зменшення кількості нормальних капілярів та появу дилатованих і мегакапілярів. Вказані зміни не супроводжувались ендотеліальною дисфункцією за показником ЕТ-1. Таким чином, відсутність змін на реовазограмі не виключає наявність розладів на мікроциркуляторному рівні.

Висновки. 1. За результатами поздовжньої реовазографії передпліч та гомілок розлади периферичного кровотоку виявлено у більшості пацієнтів.

2. Дослідження біоптатів шкіри пацієнтів виявило збереження нормальної архітекτονіки судин у всіх пацієнтів.

3. У пацієнтів із розладами периферичного кровотоку виявлено достовірне зменшення середньої щільності розміщення гемокапілярів на одиницю площі, зменшення числа нормальних капілярів та переважання дилатованих і мегакапілярів.

4. У хворих без порушення периферичної гемодинаміки виявлено нормальну щільність розміщення гемокапілярів на одиницю площі, однак у біоптатах знайдено (19,4–30,8) % капілярів патологічних розмірів, що свідчить про наявність гемодинамічних розладів на рівні МЦР.

5. Розлади периферичного кровотоку за результатами поздовжньої реовазографії та морфометрії біоптатів супроводжуються ендотеліальною дисфункцією та достовірним підвищенням концентрації ЕТ-1.

6. Виявлені зміни у всіх категоріях пацієнтів мають пристосувальний характер і виникають в умовах підвищеного навантаження на периферичне русло.

Перспективи подальших досліджень. Виконання імуногістохімічних досліджень біоптатів при кожному із захворювань зокрема та відповідно до ступеня активності автоімунного запалення і тривалості хвороби.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Яцишин Р. І. Синдром Рейно в клініці системної склеродермії / Р. І. Яцишин // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2001. – Вип. 15. – С. 111–112. – (Серія : “Медицина”).
2. Верещака В. В. Вплив системних змін мікроциркуляції на розвиток передчасної інволюції шкіри / В. В. Верещака, С. В. Возіанова, Т. Н. Шульженко // Фізіологічний журнал. – 2003. – № 6. – С. 75–79.
3. Lambova S. N. Capillaroscopic pattern in systemic lupus erythematosus and undifferentiated connective tissue disease: What we still have to learn? / S. N. Lambova, Ulf Muller-Ladner // Rheumatol Int. – 2012. – 5 p.
4. Марушко Т. В. Феномен Рейно у дітей: сучасний погляд на проблему / Т. В. Марушко // Здоров'я України. – 2007. – 21/1. – С. 76–77.
5. Analysis of correlation between selected endothelial cell activation markers, disease activity, and nailfold capillaroscopy microvascular changes in systemic lupus erythematosus patients / Mariusz Ciolkiewicz, Anna Kuryliszyn-Moskal, Piotr Adrian Klimiuk // Clin Reum. – 2009. – P. 7.
6. Бризіцька О. М. Стан мікроциркуляторного русла у хворих на токсикодермії / О. М. Бризіцька // Дерматологія та венерологія. – 2010. – № 1(47) – С. 66–69.
7. Алекперов Р. Т. Широкопольная капилляроскопия в диагностике и дифференциальной диагностике ревматических заболеваний / Р. Т. Алекперов, А. В. Волков, Н. Г. Гусев // Терап. арх. – 1998. – № 5. – С. 80–83.
8. Коркушко О. В. Возрастные изменения уровня эндотелиальных вазодилататоров и вазоконстрикторов в плазме крови практически здоровых людей / О. В. Коркушко, В. Ю. Лишневская, М. И. Асинова // Клінічна медицина. – 2003. – № 1. – С. 164–169.
9. Dimirijevic Jovan. Morphology of autoimmune diseases / Dimirijevic Jovan // Arch. Oncol. – 2007. – № 12. – P. 27–29.
10. Daniela Quaglino. Connective tissue and diseases: from morphology to proteomics towards the development of new therapeutic approaches / Daniela Quaglino // Gastroenterology and Hepatology. – 2009. – № 2. – P. 56–65.

Отримано 28.09.12