

Studio della microangiopatia sclerodermica mediante valutazione dinamica con laser-Doppler e morfologica con videocapillaroscopia periungueale: risultati preliminari

Nailfold capillaroscopy and blood flow laser-doppler analysis of the microvascular damage in systemic sclerosis: preliminary results

M.E. Secchi, A. Sulli, C. Pizzorni, M. Cutolo

Laboratorio di Ricerca e U.O.C. di Reumatologia. Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Genova

SUMMARY

Objectives: Systemic sclerosis (SSc) is characterized by altered microvascular structure and function. Nailfold video-capillaroscopy (NVC) is the tool to evaluate capillary morphological structure and laser-Doppler Blood flowmetry (LDF) can be used to estimate cutaneous blood flow of microvessels. The aim of this study was to investigate possible relationships between capillary morphology and blood flow in SSc.

Methods: 27 SSc patients and 12 healthy subjects were enrolled. SSc microvascular involvement, as evaluated by NVC, was classified in three different patterns ("Early", "Active", "Late"). LDF analysis was performed at the II, III, IV, V hand fingers in both hands and both at cutaneous temperature and at 36°C. Statistical evaluation was carried out by non-parametric procedures.

Results: Blood flow was found significantly lower in SSc patients when compared with healthy subjects ($p < 0.05$). The heating of the probe to 36°C induced a significant increase in peripheral blood flow in all subjects compared to baseline ($p < 0.05$), however, the amount of variation was significantly lower in patients with SSc, compared with healthy controls ($p < 0.05$). The SSc patients with NVC "Late" pattern, showed lower values of peripheral blood flow than patients with NVC "Active" or "Early" patterns ($p < 0.05$). Moreover, a negative correlation between the tissue perfusion score and the progression of the SSc microangiopathy was observed, as well as between the tissue perfusion and the duration of the Raynaud's phenomenon ($p < 0.03$).

Conclusions: LDF can be employed to evaluate blood perfusion in the microvascular circulation in SSc patients.

The blood flow changes observed with the LDF seem to correlate with the severity of microvascular damage in SSc as detected by NVC.

Reumatismo, 2009; 61(1):34-40

INTRODUZIONE

La sclerosi sistemica (SSc) è una malattia ad eziologia multifattoriale e patogenesi autoimmune, caratterizzata da danno endoteliale e fi-

brosi progressiva a carico di cute, vasi sanguigni, apparato digerente, polmoni, cuore e reni (1, 2).

Le alterazioni vascolari rappresentano un evento precoce nella SSc ed il fenomeno di Raynaud (FR), presente in oltre il 90% dei pazienti, costituisce l'espressione clinica dell'alterata regolazione del flusso sanguigno dovuta al danno microvascolare.

La microangiopatia può essere facilmente evidenziata mediante videocapillaroscopia periungueale (VCP) che distingue le lesioni endoteliali in tre pattern morfologici: Iniziale ("Early"), Attivo ("Active"), ed Avanzato ("Late") (3, 4).

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Maria Elena Secchi
U.O.C. Clinica Reumatologica
Dipartimento di Medicina Interna
Università degli Studi di Genova
Viale Benedetto XV, 6
16132 Genova
E-mail: secchime@yahoo.it

La flussimetria laser-Doppler (FLD) invece, è una metodica relativamente nuova in grado di quantizzare l'entità della perfusione a livello del microcircolo periferico (5, 6).

Ad oggi, non sono note correlazioni tra le alterazioni morfologiche osservate nella SSc e la perfusione vascolare digitale; pertanto, scopo di questo studio è stato quello di valutare l'entità del flusso ematico periferico a livello delle mani mediante FLD, correlandolo con i diversi aspetti morfologici di coinvolgimento microvascolare, valutati tramite VCP. Inoltre, nei pazienti sclerodermici, sono state indagate le possibili modificazioni della perfusione digitale dopo infusione di farmaci vasodilatatori.

MATERIALI E METODI

Sono stati arruolati nello studio 39 soggetti, di cui 27 pazienti affetti da SSc (età media 66 ± 10 anni; durata media di malattia 13 ± 11 anni) afferenti al Servizio di Videocapillaroscopia periungueale della Clinica Reumatologica dell'Università di Genova e 15 soggetti sani (età media 59 ± 20 anni).

I pazienti sono stati sottoposti a visita medica completa, a VCP ed a FLD. Sono inoltre stati acquisiti tutti i dati clinici e strumentali relativi al possibile coinvolgimento d'organo dei pazienti (funzionalità polmonare, renale, esofagea, cardiaca, presenza di ulcere cutanee).

La VCP è stata effettuata mediante videocapillaroscopia a sonda ottica (obiettivo 200x) collegato ad un software analizzatore di immagini (Videocap - DS Medigroup - Milano). Prima dell'esame VCP ogni paziente si trovava all'interno della stanza da almeno 15 minuti ad una temperatura ambiente di circa 20-22°C. Il margine periungueale del II, III, IV e V dito delle mani è stato esaminato previa apposizione di una goccia di olio diafanizzante (olio di cedro) per microscopia sul margine periungueale stesso. Sono stati valutati solo i capillari della fila più distale, prossima al margine ungueale, mentre eventuali dita sottoposte a recente traumatismo sono state escluse dalla valutazione.

Sono state considerate le seguenti anomalie: presenza di capillari ectasici e megacapillari, emorragie pericapillari, riduzione del numero di capillari, sovertimento dell'architettura vascolare, presenza di capillari ramificati (3, 4), e sulla base del pattern VCP osservato i pazienti sono stati distribuiti in tre gruppi: pattern microangiopatico "Early", "Active" o "Late" (3, 4).

Il pattern VCP "Early" è caratterizzato dalla presenza di rari capillari ectasici o giganti, poche emorragie capillari, architettura relativamente ben conservata, senza evidente perdita di capillari. Nel pattern VCP "Active" si osservano frequenti capillari giganti e microemorragie, moderata perdita di capillari, modesto sovertimento dell'architettura vascolare, assenti o saltuari capillari ramificati. Il pattern VCP "Late" si contraddistingue per la ridotta presenza di megacapillari ed emorragie, mentre si può osservare una severa perdita di capillari con estese aree avascolari, sovertimento architettonico con irregolare dilatazione dei capillari e frequenti ramificazioni.

Tutti i pazienti ed i soggetti di controllo sono stati sottoposti a FLD analizzando la perfusione ematica periferica a livello dei polpastrelli del II, III, IV e V dito bilateralmente, a temperatura corporea e dopo riscaldamento della sonda a 36°C per valutare la reattività del microcircolo alla temperatura (Periflux 5000 - Perimed - Milano). I risultati sono stati espressi in Unità di Perfusione (PU) (5,7). Lo strumento per la FLD è costituito da una sonda Laser, che può essere riscaldata, collegata mediante fibre ottiche ad una Unità Base composta da due Unità funzionali. Le due strutture hanno rispettivamente la funzione di rilevare la perfusione tissutale e la temperatura della superficie cutanea sovrastante; i dati acquisiti vengono poi inviati ad un Personal Computer dal quale vengono elaborati mediante uno specifico software.

La sonda utilizza luce Laser (Ligth Amplificated Single Emission Radiation) a bassa potenza (circa 1 mW), che viene indirizzata sul tessuto in esame. I corpuscoli in movimento (eritrociti) provocano una variazione della lunghezza d'onda della luce laser che li ha illuminati, proporzionale alla loro velocità media (effetto Doppler).

Nei pazienti affetti da SSc, la FLD è stata eseguita anche dopo sette giorni di infusione endovenosa continua di iloprost (4 mcg/ora). Nessun paziente assumeva altri farmaci ad azione vasodilatatrice. Al termine delle valutazioni sono stati confrontati i valori medi della perfusione ematica digitale tra pazienti sclerodermici e controlli sani, nonché tra gli stessi pazienti sclerodermici prima e dopo infusione endovenosa di iloprost. Inoltre, sono stati confrontati tra loro anche i dati flussimetrici acquisiti alle diverse temperature di misurazione (temperatura corporea e dopo riscaldamento della sonda a 36°C).

L'analisi statistica dei dati acquisiti è stata effettuata tramite metodiche non parametriche (test di

Tabella 1 - Risultati dello studio: perfusione digitale nei pazienti affetti da sclerodermia (SSc) e nei soggetti di controllo (Cnt) a temperatura cutanea e dopo riscaldamento della sonda a 36°C. Sono inoltre riportati i livelli di perfusione (UP) nei pazienti con differenti pattern microangiopatici ("Early", "Active", "Late"), nei pazienti con e senza ulcere (U) e le variazioni della perfusione dopo sette giorni di terapia con iloprost (T7).

	Perfusione (UP) T0	Perfusione 36°C T0	Variazione 24-36°C T0	Perfusione T7	Perfusione 36°C T7	p<0.05
Cnt	*118±101	*174±108	*53±50	-	-	Perf T0 vs Perf 36°C T0
SSc	52±66	82±66	30±30	67±60	95±67	Perf T0 vs Perf 36°C T0 Perf T0 vs Perf T7 Perf 36°C T0 vs Perf 36°C T7
SSc "Early"	*54±33	*148±35				
SSc "Active"	*68±94	*97±65				
SSc "Late"	*48±64	*66±68				
SSc con ulcere	40±55	59±62				
SSc senza ulcere	*62±77	*92±67				
*p<0.05	Cnt vs SSc E,A vs L U vs noU	Cnt vs SSc E,A vs L U vs noU	Cnt vs SSc			

Mann Whitney U, Wilcoxon, Spearman Rank), considerando statisticamente significativo un valore di $p<0.05$.

RISULTATI

Il flusso ematico periferico è risultato significativamente più basso nei pazienti sclerodermici (52±66 e 82±66 PU, rispettivamente a temperatura basale e a 36°C) rispetto ai soggetti sani (118±101 e 174±108 PU, rispettivamente a temperatura basale e a 36°C) ($p<0.05$) (Fig. 1 e 2).

Il riscaldamento della sonda a 36°C induceva un significativo incremento del flusso periferico in tutti i soggetti rispetto alle condizioni basali ($p<0.05$), tuttavia l'entità della variazione risultava significativamente più bassa nei pazienti con SSc (Fig. 3), rispetto ai controlli sani (Fig. 4) (rispettivamente 30±30 e 53±50 PU) ($p<0.05$).

I pazienti affetti da SSc con un pattern "Late" alla VCP mostravano valori più bassi di flusso ematico periferico rispetto ai pazienti con un quadro "Active" e "Early" (48±64, 68±94, 54±33 PU, rispettivamente a temperatura basale; 66±68, 97±65, 148±35 PU, rispettivamente a 36°C) ($p<0.05$).

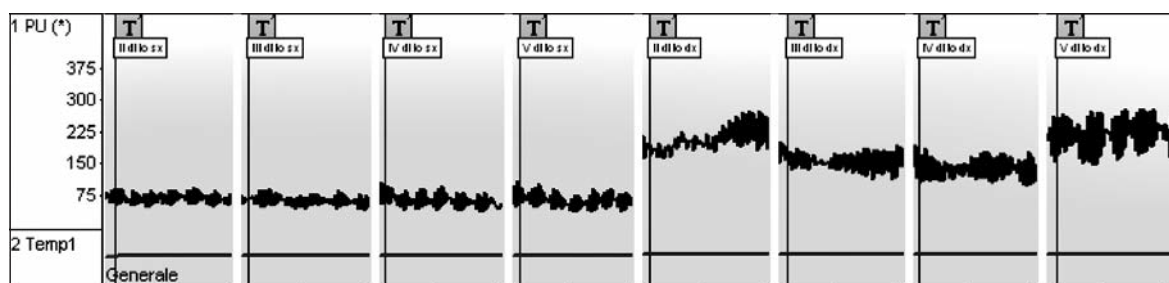


Figura 1 - Tracciato del flusso di un soggetto sano a temperatura basale.

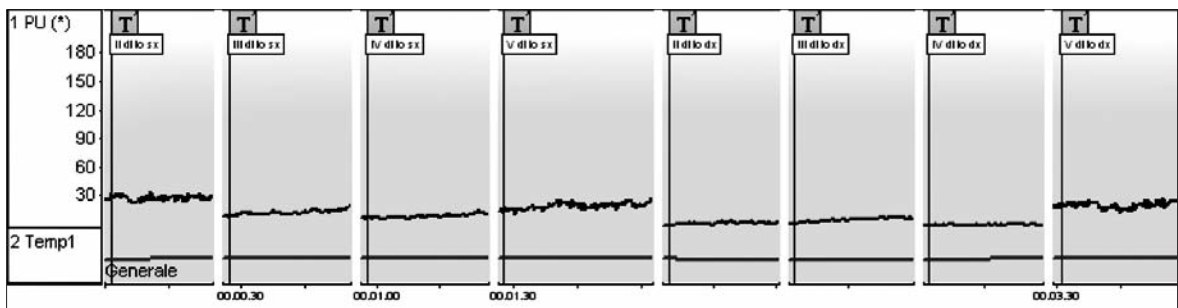


Figura 2 - Tracciato del flusso di un paziente sclerodermico a temperatura basale.

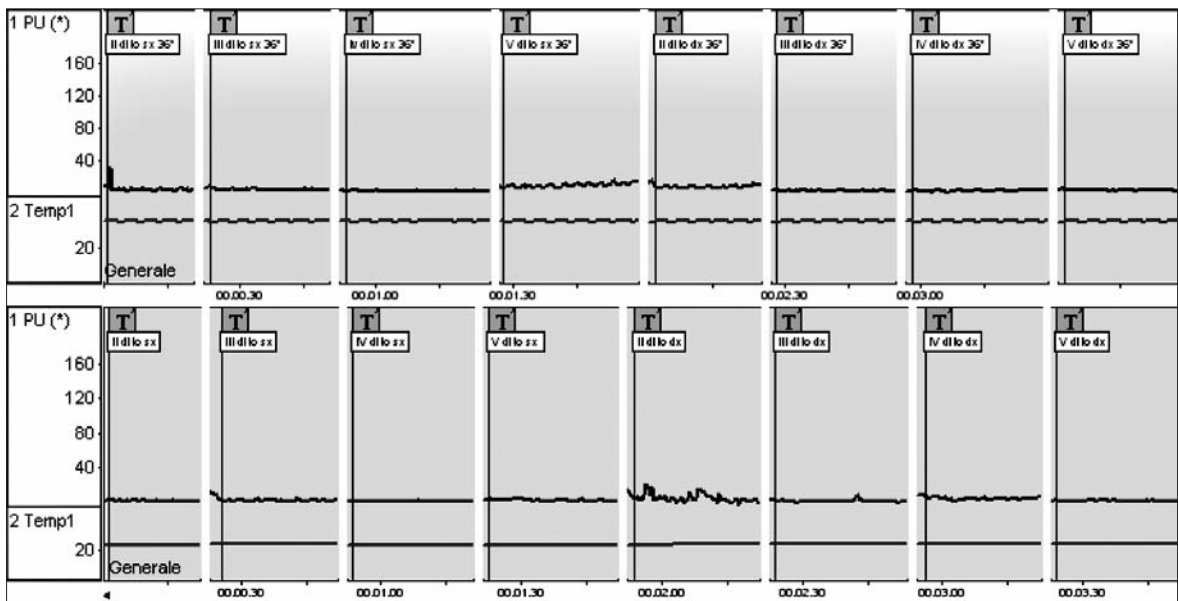


Figura 3 - Tracciato del flusso di un paziente sclerodermico a temperatura basale ed a 36°C.

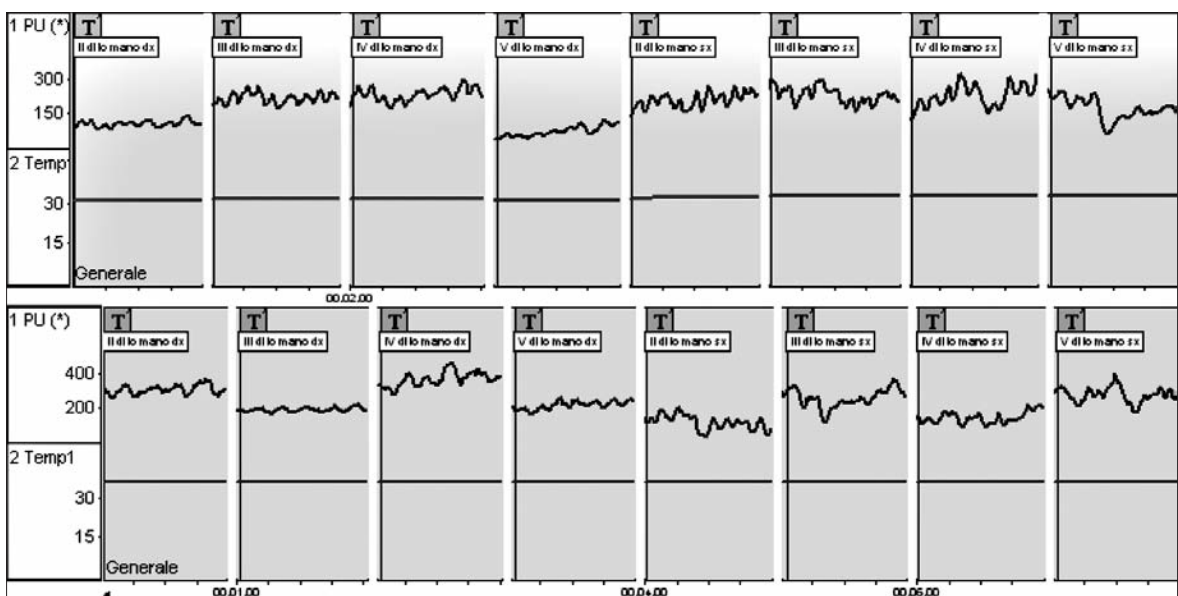


Figura 4 - Tracciato del flusso di un soggetto sano a temperatura basale ed a 36°C.

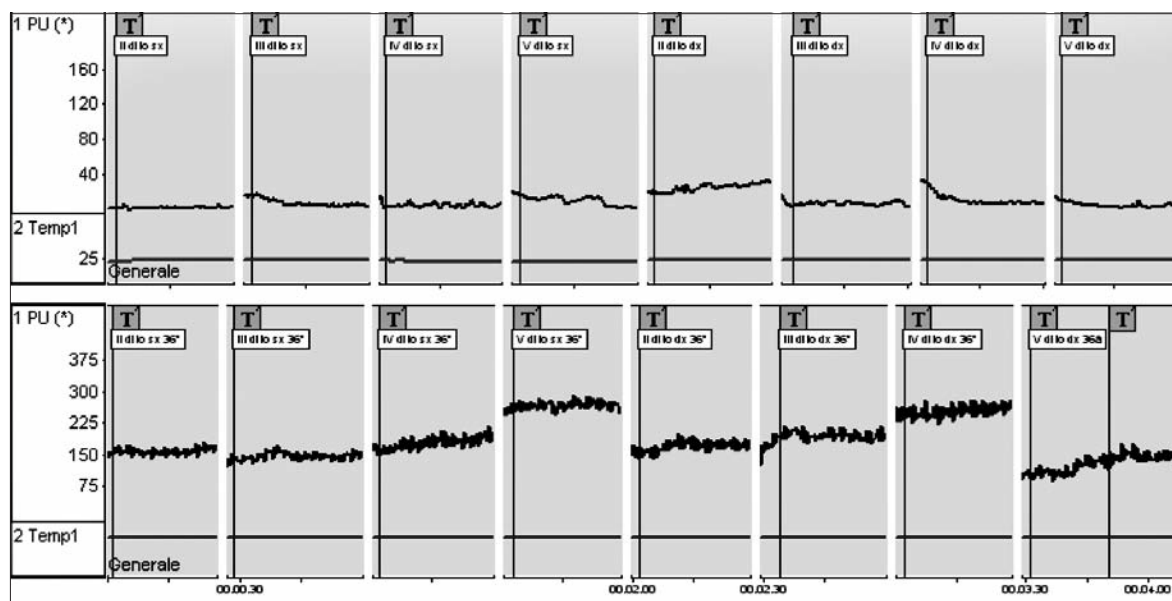


Figura 5 - Tracciato del flusso di un paziente sclerodermico prima e dopo l'infusione di iloprost.

Inoltre, è stata osservata una correlazione negativa tra la perfusione tissutale e lo score di progressione della microangiopatia sclerodermica, così come tra la perfusione tissutale e la durata del fenomeno di Raynaud ($p < 0.03$).

Con il limite di una casistica poco numerosa, non sono state trovate correlazioni significative tra entità del flusso ematico periferico e impegno d'organo (polmonare, esofageo o renale) nei pazienti affetti da SSc. Tuttavia, pazienti con storia o presenza attuale di ulcere digitali mostravano una perfusione ematica significativamente più bassa rispetto a quelli senza ulcere ($p < 0.05$).

Dopo 7 giorni di terapia endovenosa continua con iloprost, è stato osservato nei pazienti affetti da SSc un incremento del flusso ematico periferico (da 52 ± 66 a 67 ± 60 PU a temperatura basale e da 82 ± 66 a 95 ± 67 PU a 36°C) (Fig. 5).

DISCUSSIONE

I risultati del nostro studio dimostrano che i pazienti affetti da SSc presentano un flusso ematico periferico significativamente inferiore rispetto ai soggetti sani, sia nelle rilevazioni effettuate a temperatura cutanea basale, sia dopo riscaldamento della sonda a 36°C , confermando la presenza di una minore vascolarizzazione periferica e di una alterata reattività endoteliale nei soggetti sclerodermici (8).

Nei soggetti sani, infatti, il riscaldamento della son-

da (e quindi della cute sottostante) a 36°C induce un aumento del flusso ematico molto più marcato rispetto a quanto avviene nei pazienti affetti da SSc. Queste osservazioni di carattere funzionale caratterizzano il fenomeno di Raynaud (FR), il quale si manifesta soprattutto in condizioni di bassa temperatura e rappresenta frequentemente il sintomo d'esordio della SSc, potendo precedere le manifestazioni cutanee di mesi o, spesso di anni (9).

È noto inoltre come il freddo promuova lo scatenarsi del FR e possa determinare una maggiore gravità delle manifestazioni, fatto che può essere attribuito all'alterazione dei meccanismi della vasoregolazione (10). Un altro parametro considerato nello studio è l'area sottesa sotto la curva dei valori flussimetrici: anche dall'analisi di questi valori è emerso come i soggetti sani presentino un maggior valore di perfusione, indice di un flusso molto più cospicuo, ma, soprattutto, come coloro che sono affetti da SSc abbiano differenti valori di perfusione a seconda dei pattern videocapillaroscopici nei quali rientrano. Tra i soggetti sclerodermici valutati nello studio è infatti emerso che coloro i quali presentano un pattern videocapillaroscopico di tipo "Late" (e conseguentemente una malattia di più lunga durata ed in fase più avanzata) mostrano un flusso ematico significativamente inferiore rispetto a coloro i quali presentano un pattern capillaroscopico di tipo "Active" o "Early", evidenziando quindi una correlazione negativa tra le alterazioni morfologiche del microcircolo e la per-

fusione tissutale (11). La ridotta perfusione potrebbe essere in parte la causa delle modificazioni morfologiche a livello dei capillari, che vengono rilevate con l'esame videocapillaroscopico.

La microangiopatia sclerodermica è infatti caratterizzata da alterazioni strutturali dei capillari, con progressiva riduzione della numerosità capillare; inoltre, sono apprezzabili capillari ectasici e capillari giganti (megacapillari), microemorragie, capillari ramificati (espressione di una neoangiogenesi verosimilmente compensatoria) con sovvertimento dell'architettura vascolare stessa (3, 4).

Il meccanismo patogenetico alla base della progressione delle lesioni potrebbe essere interpretato come un iniziale tentativo da parte dell'endotelio di mantenere un flusso adeguato formando prima megacapillari ed in seguito cercando di generarne dei nuovi (mediante neoangiogenesi); continuando però l'apposizione interstiziale di matrice extracellulare si assisterebbe alla progressiva rarefazione dei capillari fino al quadro più evoluto delle lesioni, noto come "desertificazione" (4). La riduzione di flusso secondaria al rimodellamento strutturale del microcircolo, e la conseguente ipossia tissutale, rappresentano in parte la causa della formazione delle ulcere cutanee che si riscontrano nei pazienti affetti da SSc.

Ad ulteriore conferma dei dati sopraccitati questo studio ha dimostrato che i pazienti con ulcere digitali una perfusione ematica basale inferiore ri-

spetto ai soggetti sclerodermici senza ulcere. Durante lo svolgimento dello studio sono stati seguiti pazienti sclerodermici sottoposti a terapia infusione endovenosa con ilprost, un farmaco vasodilatatore di comune impiego nella SSc, che possiede una dimostrata efficacia sia nel ridurre la sintomatologia nell'immediato (FR, ulcere cutanee) sia nel medio-lungo periodo. L'analisi flussimetria effettuata ha dimostrato, dopo l'infusione continua di ilprost (24 ore al giorno per sette giorni), un significativo incremento del flusso ematico periferico sia nelle misurazioni a temperatura cutanea, sia in quelle a 36°C (ovvero dopo il riscaldamento della sonda) ed una maggiore reattività del flusso alla temperatura, peraltro confermando l'efficacia del farmaco nell'incrementare la perfusione ematica tissutale nella SSc.

In conclusione, la FLD appare, dunque, una metodica utile, affidabile e non invasiva che può essere utilizzata per valutare la perfusione a livello del microcircolo periferico nei pazienti affetti da SSc e la risposta alla terapia vasodilatatrice.

Questo studio sembra confermare la presenza di una correlazione tra le alterazioni morfologiche osservate mediante VCP e la perfusione vascolare digitale, valutata tramite FLD, ponendo le basi per la possibile integrazione delle due metodiche, capaci di esaminare aspetti diversi, ma tra loro strettamente collegati ovvero, quello morfologico e funzionale della vasculopatia SSc.

RIASSUNTO

Scopo dello studio è stato quello di valutare l'entità del flusso ematico periferico nella sclerosi sistemica (SSc) mediante flussimetria laser-Doppler (FLD), correlandolo con i tipici aspetti morfologici di coinvolgimento sclerodermico microvascolare, valutati mediante videocapillaroscopia periungueale (VCP).

Sono stati valutati 39 soggetti, di cui 27 pazienti affetti da SSc e 12 soggetti sani. Mediante VCP è stato identificato il pattern microangiopatico, definito "Early", "Active" o "Late". La FLD è stata eseguita analizzando la perfusione ematica a livello del II, III, IV, V dito di entrambe mani, sia a temperatura ambiente sia dopo riscaldamento della sonda a 36°C. Il flusso ematico periferico è risultato significativamente più basso nei pazienti sclerodermici ($p < 0.05$).

Il riscaldamento della sonda a 36°C induceva un significativo incremento del flusso periferico in tutti i soggetti rispetto alle condizioni basali ($p < 0.05$), tuttavia l'entità della variazione risultava significativamente più bassa nei pazienti con SSc, rispetto ai controlli sani ($p < 0.05$).

I pazienti affetti da SSc con un pattern "Late" alla VCP mostravano valori più bassi di flusso ematico periferico rispetto ai pazienti con un quadro "Active" ed "Early". Inoltre, è stata osservata una correlazione negativa tra la perfusione tissutale e lo score di progressione della microangiopatia sclerodermica, così come tra la perfusione tissutale e la durata del fenomeno di Raynaud ($p < 0.03$). La FLD può essere utilizzata per valutare la perfusione a livello del microcircolo periferico nei pazienti affetti da SSc. Le alterazioni del flusso osservate con la FLD sembrano correlare con la severità della microangiopatia sclerodermica.

Parole chiave - Sclerosi sistemica, fenomeno di Raynaud, microangiopatia sclerodermica, videocapillaroscopia periungueale, flussimetria laser-Doppler.

Key words - *Systemic sclerosis, Raynaud's phenomenon, microangiopathic scleroderma, nailfold videocapillaroscopy, laser-Doppler flowmetry.*

BIBLIOGRAFIA

1. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA Jr, et al. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988; 15: 202-5.
2. Denton CP, Black CM, Abraham DJ. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 134-44.
3. Cutolo M, Pizzorni C, Tuccio M, Burroni A, Craviotto C, Basso M, et al. Nailfold videocapillaroscopic patterns and serum autoantibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2004; 43: 719-26.
4. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2000; 27: 155-60.
5. Marszałek A. Skin circulation measurements with laser-Doppler. *Med Pr*. 1996; 47: 411-18.
6. Seifalian AM, Stansby G, Jackson A, Howell K, Hamilton G. *Eur J Vasc Surg* 1994; 8: 65-9.
7. Ahn H, Johansson K, Lundgren O, Nilsson GE. In vivo evaluation of signal processor for laser Doppler tissue flowmeters. *Med Biol Eng Comput* 1987; 25: 207-11.
8. Wright CI, Kroner CI, Draijer R. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006; 54: 1-25.
9. Cutolo M, Grassi W, Matucci-Cerinic M. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3023-30.
10. Lekakis J, Mavrikakis M, Emmanuel M, Prassopoulos V, Papazoglou S, Papamichael C et al. Cold-induced coronary Raynaud's phenomenon in patient with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 135-40.
11. Szabo N, Csiki Z, Szanto A, Danko K, Szodoray P, Zehner M. *Scand J Rheumatol* 2008; 3723-9.
12. Cutolo M, Pizzorni C, Secchi ME, Sulli A. Capillaroscopy. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008; 22: 1093-108.