

Е. С. ЯРМОЛИК, В. В. ЗИНЧУК, Д. Ф. ХВОРИК

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И L-АРГИНИН-НО-СИСТЕМА У ПАЦИЕНТОВ С ПАПУЛОПУСТУЛЕЗНОЙ ФОРМОЙ РОЗАЦЕА

Гродненский государственный
медицинский университет

Цель исследования. Изучить состояние перекисного окисления липидов и L-аргинин-НО-системы у пациентов с папулопустулезной формой розацеа.

Материал и методы. Обследованы 128 женщин с папулопустулезной формой розацеа. Согласно шкале диагностической оценки розацеа пациенты разделены на 3 группы: 1-я группа (n=42) — с легкой, 2-я (n=49) — со средней, 3-я (n=37) — с тяжелой степенью заболевания. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты — ДК) и вторичных (малоновый диальдегид — МДА) продуктов перекиса в эритроцитной массе и плазме крови спектрофотометрическим методом. Продукцию оксида азота определяли по суммарному содержанию нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) в плазме крови с помощью реакции Грисса. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0, Microsoft Office Excel с использованием параметрических критериев.

Результаты. У пациентов 1-й группы содержание ДК и МДА не отличалось от таковых в контрольной. У пациентов 2-й и 3-й групп выявлено достоверное повышение уровня как первичных, так и вторичных продуктов ПОЛ. Кроме того, во всех группах отмечено увеличение содержания NO с максимальным приростом при тяжелой степени исследуемой патологии, что отражает развитие не только окислительного, но и нитразитивного стресса, реализуемого через NO-зависимые механизмы.

Заключение. С утяжелением клинической картины папулопустулезной формы розацеа выявлены повышение активности процессов ПОЛ и увеличение концентрации NO. Это отражает участие L-аргинин-НО-системы в отмечаемых изменениях и является важной частью патогенеза дерматоза, что необходимо учитывать при проведении дифференцированной терапии.

Ключевые слова: розацеа, папулопустулезная форма, перекисное окисление липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, оксид азота.

В настоящее время розацеа является распространенным заболеванием. Так, по данным некоторых авторов, частота встречаемости дерматоза варьирует от 5 до 10%, причем женщины болеют в 3 раза чаще, чем мужчины [1–4]. Высокая распространенность патологии, реализация по мультифакториальному, генетически детерминиро-

ванному механизму развития, хроническое, часто рецидивирующее течение, соматическая отягощенность пациентов, особенности локализации с развитием стойкого косметического дефекта на лице, психоэмоциональные нарушения, а также резистентность к общепринятым методам терапии позволяют относить розацеа к наиболее актуальным заболеваниям в современной дерматологии и косметологии [1–3, 5–7].

Несмотря на возросший в последнее время интерес исследователей к данному дерматозу, этиопатогенетические аспекты розацеа до конца не выяснены и часто противоречивы. Многообразием возможных причин и механизмов развития объясняется большое количество методов и средств лечения, которые не всегда дают положительный результат, стойкий эффект, часто плохо переносятся пациентами из-за множества побочных реакций, а иногда и утяжеляют процесс, делая его торпидным к дальнейшей терапии.

Среди факторов, участвующих в развитии дерматоза, выделяют экзогенные (тепловые процедуры, некоторые пищевые продукты, лекарственные препараты, косметические средства, продукты жизнедеятельности биоты кожи и желудочно-кишечного тракта) и эндогенные (гормональный дисбаланс, иммунные нарушения, патология сосудов, психоэмоциональные расстройства) [2, 7–10]. Ряд авторов важную роль в развитии розацеа отводят нарушениям прооксидантно-антиоксидантного равновесия [4, 10, 11].

По мнению В. Е. Темникова, свободные радикалы, токсичные продукты реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) меняют первоначальную структуру и нормальную функциональную активность клеточных и субклеточных мембран, что способствует выходу протеолитических ферментов в цитоплазму клеток, а затем в кровяное русло и изменяет метаболизм клеточных систем, стимулируя образование медиаторов воспаления — простагландинов, лейкотриенов, лимфокинов. Вследствие этого происходят воспалительные изменения в пораженной коже, что клинически проявляется возникновением основных признаков дерматоза — эритемы, телеангиэктазий, папулезных и пустулезных элементов, отека и инфильтрации. Кроме того, нарушения ПОЛ способствуют изменениям пролиферативной активности лимфоидных клеток и «запуску» иммунопатологических механизмов воспалительных реакций [12].

В последнее время в патогенезе розацеа большое внимание уделяется роли факторов, стимули-

рующих расширение сосудов и ангиогенез, к которым относится в том числе и NO, постоянно образующийся в эндотелии сосудов из L-аргинина при участии NO-синтазы [10]. Увеличение синтеза оксида азота происходит при застое крови, гипоксии, повреждении стенок сосудов физическими и химическими агентами, под влиянием экзо- и эндотоксинов, среди которых главную роль играют бактериальные эндотоксины, иммунные комплексы, антиэндотелиальные и антифосфолипидные антитела, медиаторы воспаления (интерлейкины, фактор некроза опухоли и др.), а также клеточные и плазменные протеазы (эластаза, трипсин, тромбин и др.). Гиперпродукция оксида азота является причиной развития эндотелиальной дисфункции, приводящей к длительной дилатации сосудов с последующей активацией неоангиогенеза.

В этой связи актуальным является изучение состояния свободнорадикальных процессов и L-аргинин-NO-системы у пациентов с папулопустулезной формой розацеа, что позволит расширить представления о механизмах развития дерматоза и усовершенствовать методы лечения и профилактики рецидивов.

Цель настоящего исследования — изучить состояние перекисного окисления липидов и L-аргинин-NO-системы у пациентов с папулопустулезной формой розацеа.

Материал и методы

Обследованы 128 женщин с папулопустулезной формой розацеа, обратившихся за медицинской помощью в поликлиническое и стационарное отделения Гродненского областного кожно-венерологического диспансера, а также на кафедру дерматовенерологии Гродненского государственного медицинского университета. Контрольную группу составила 41 практически здоровая женщина.

Критериями включения пациентов в исследование явились: наличие информированного согласия пациента на медицинское вмешательство и соблюдение указаний врача относительно назначенной терапии; способность пациента, по мнению исследователя, выполнять рекомендации; женский пол; возраст старше 18 лет; папулопустулезная форма розацеа (L71); прогрессирующая стадия заболевания; отсутствие сопутствующих заболеваний в фазе обострения, требующих постоянной медикаментозной терапии; отрицательный тест на беременность.

Диагностику заболевания проводили согласно действующим протоколам (стандарты) об-

следования и лечения дерматовенерологических больных, утвержденным приказом Минздрава Республики Беларусь № 142 от 25.02.2008.

Для определения клинической формы заболевания использовали международную классификацию, разработанную экспертным комитетом Национального общества по изучению розацеа, с выделением эритематозно-телеангиэктатической, папулопустулезной, фиматозной (гипертрофическая) и офтальморозацеа [13].

Согласно шкале диагностической оценки розацеа (ШДОР) [14], включающей качественную оценку выраженности основных признаков заболевания, пациенты разделены на 3 группы в зависимости от степени тяжести: 1-я (n=42) группа — легкая, 2-я (n=49) — средняя, 3-я (n=37) — тяжелая.

Возраст пациентов с папулопустулезной формой розацеа составил 18—68 лет, средний возраст — $40,1 \pm 0,99$ года. При этом доминировали пациенты в возрасте 31—40 лет — 49 (38,3%) человек, в возрасте 41—50 лет было 33 (25,8%) женщины, 18—30 лет — 23 (18,0%), 51—60 лет — 14 (10,9%), старше 60 лет — 9 (7,0%). Средняя степень тяжести доминировала у пациентов практически всех возрастов за исключением возрастной группы 31—40 лет, где преобладающей являлась тяжелая (в 14,1% случаев).

Длительность заболевания была от 1 мес до 10 лет и в среднем составила $44,5 \pm 2,5$ мес. Доля пациентов с длительностью заболевания до 1 года была 14,1%, 1—5 лет — 60,2%, 5—10 лет — 25,8%. Наибольшее количество пациентов было в группе с длительностью заболевания 1—5 лет. У пациентов с длительностью заболевания до 1 года преобладала легкая степень тяжести дерматоза (8,6%), 1—5 лет и 5—10 лет — средняя (21,9% и 12,5% соответственно). Максимальная продолжительность дерматоза отмечена у пациентов в возрасте 51—60 лет. У обследованных до 60 лет выявлена следующая закономерность: чем старше пациент, тем длительнее течение дерматоза.

При оценке субъективных ощущений установлено, что у пациентов с папулопустулезной формой розацеа в 61,0% случаев имел место зуд кожи, в 45,3% — жжение в области высыпаний, в 33,6% — приливы жара, в 28,9% — стягивание кожи, в 21,1% — болезненность в области высыпаний. Лишь в 10,9% случаев субъективные ощущения отсутствовали.

У всех пациентов клиническая картина характеризовалась наличием папул и пустул на фоне

стойкой эритемы, а также телеангиэктазий. Распространенность эритемы была различная: у 123 (96,1%) пациентов она занимала область щек, у 115 (89,8%) — подбородок, у 99 (77,3%) — лоб, у 37 (28,9%) — нос, у 16 (12,5%) — периоральную область, у 3 (2,3%) — веки, у 1 (0,8%) — шею. На фоне эритемы визуально и дерматоскопически верифицировалась сеть древовидно разветвленных сосудов. Множественные папулезные и пустулезные элементы у 83 (67,5%) пациентов располагались на коже щек, у 39 (30,5%) — на коже подбородка, у 24 (18,6%) — лба, у 23 (18,0%) — носа, у 3 (2,3%) — периорально. Размер папул и пустул варьировал от 1 до 4 мм в диаметре.

Активность различных стадий свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты — ДК) и вторичных (малоновый диальдегид — МДА) продуктов ПОЛ в эритроцитной массе и плазме крови. Уровень ДК определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232—234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [15]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Содержание МДА оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой, которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [15]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на аппарате Solar PV1251C при длине волны 540 нм для эритроцитной массы и 535 нм для плазмы по отношению к контролю.

Продукцию оксида азота определяли по суммарному содержанию нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) в плазме крови. Для оценки уровня общих нитритов плазму крови депротеинизировали NaOH с сульфатом цинка с последующим восстановлением нитратов до нитритов гранулами кадмия. Измерение уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 540 нм с реактивом Грисса [16, 17].

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 6.0. Для описания полученных результатов рассчитывали показатели частоты изучаемых явлений (P) со статистической ошибкой (Sp), среднее арифметическое (M) и ошибку среднего арифметического (m). Результаты представлены в виде $M \pm m$ [18].

Результаты и обсуждение

Для изучения активности процессов ПОЛ у пациентов с папулопустулезной формой розацеа проводили оценку содержания ДК (рис. 1) и МДА (таблица) в гемолизате эритроцитов и плазме крови.

Как видно из рис. 1 и таблицы, при оценке содержания первичных и вторичных продуктов перекисидации липидов в гемолизате эритроцитов и плазме крови у пациентов с легкой степенью тяжести папулопустулезной формы розацеа достоверные различия с аналогичными показателями контрольной группы не установлены ($P > 0,05$).

В гемолизате эритроцитов у пациентов со средней степенью тяжести по сравнению с контрольной группой наблюдалось достоверное увеличение показателей как первичных ($11,6 \pm 0,33$ ЕД/мл и $10,3 \pm 0,35$ ЕД/мл соответственно, $P < 0,01$), так и вторичных ($10,5 \pm 0,28$ мкмоль/л и $9,6 \pm 0,25$ мкмоль/л соответственно, $P < 0,05$) продуктов ПОЛ. В отношении плазмы крови достоверные различия в содержании ДК и МДА не выявлены ($P > 0,05$).

При оценке аналогичных показателей у пациентов с тяжелой степенью заболевания установлено достоверное повышение в 1,2 раза концентрации ДК ($12,8 \pm 0,53$ ЕД/мл и $10,30,35$ ЕД/мл соответственно, $P < 0,001$) и МДА ($11,5 \pm 0,41$ мкмоль/л и $9,6 \pm 0,25$ мкмоль/л соответственно, $P < 0,001$) в гемолизате эритроцитов у пациентов 3-й группы по сравнению с контрольной, что, возможно, обусловлено дальнейшей активацией и накоплением свободных радикалов (см. таблицу). В плазме крови у пациентов данной группы выявлено достоверное повышение концентрации МДА

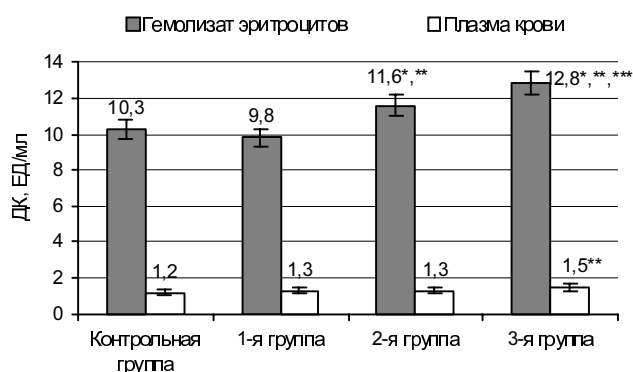


Рис. 1. Концентрация ДК в гемолизате эритроцитов и плазме крови у обследованных женщин.

Примечание. Здесь, в таблице и на рис. 2: *достоверность различий между показателями контрольной и 1-й групп, контрольной и 2-й групп; **достоверность различий между показателями 1-й и 2-й групп, 1-й и 3-й групп; ***достоверность различий между показателями 2-й и 3-й групп

Содержание МДА (мкмоль/л) в гемолизате эритроцитов и плазме крови у обследованных женщин

Образцы крови	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Гемолизат эритроцитов	9,6±0,25	9,5±0,25	10,5±0,28*	11,5±0,41*,***
Плазма крови	1,5±0,08	1,6±0,07	1,7±0,05	1,9±0,14*

(1,9±0,14 мкмоль/л и 1,5±0,08 мкмоль/л соответственно, $P<0,05$) по сравнению с контрольной.

Выраженность активизации процессов накопления свободных радикалов у пациентов возрастала с утяжелением клинической картины заболевания, что подтверждалось достоверным увеличением содержания продуктов ПОЛ от 1-й группы к 3-й. У пациентов 2-й группы по сравнению с 1-й установлено достоверно более высокое содержание ДК (11,6±0,33 ЕД/мл и 9,8±0,46 ЕД/мл, $P<0,01$) и МДА (10,5±0,28 мкмоль/л и 9,5±0,25 мкмоль/л, $P<0,05$) в гемолизате эритроцитов. При сравнении полученных данных у пациентов со средней и тяжелой степенью обнаружено достоверное увеличение концентрации как ДК ($P<0,05$), так и МДА ($P<0,05$) в эритроцитарной массе у пациентов 3-й группы по сравнению со 2-й. Концентрация ДК в плазме крови ($P<0,001$) и гемолизате эритроцитов ($P<0,001$) была достоверно выше у пациентов с тяжелой степенью по сравнению с легкой.

При оценке содержания суммарных нитрат/нитритов в плазме крови установлено его увеличение у пациентов с утяжелением клинической картины заболевания (рис. 2). Так, у пациентов 1-й (11,3±0,6 мкмоль/л и 9,4±0,39 мкмоль/л соответственно, $P<0,01$), 2-й (13,0±0,6 мкмоль/л и 9,4±0,39 мкмоль/л соответственно, $P<0,01$) и 3-й (14,9±0,71 мкмоль/л и 9,4±0,39 мкмоль/л соответственно, $P<0,001$) групп было выявлено достоверное увеличение данного показателя по сравнению с контролем. При этом у обследо-

ванных с тяжелой степенью уровень суммарных нитрат/нитритов был достоверно выше, чем у пациентов со средней и легкой степенью, а у пациентов со средней степенью тяжести — выше, чем у пациентов с легкой.

Концентрация монооксида азота в системном кровотоке может отражать не только уровень активности L-аргинин-NO-системы, но и напряженность других механизмов, возникающих при избытке NO, в частности усиление ПОЛ и снижение антиоксидантной защиты организма; оксид азота можно характеризовать как один из медиаторов воспаления при розацеа [10].

Выявлено увеличение содержания нитрат/нитритов: максимальный прирост их отмечался при тяжелой степени патологии. Известно, что молекула NO выступает в роли эффектора, определяющего величину кровотока на уровне микроциркуляции. В то же время эта молекула, соединяясь с супероксиданионом, образует пероксинитрит, обладающий выраженной цитотоксической активностью и способный окислять липиды и белки мембраны клетки, оказывая тем самым повреждающий эффект [19].

В организме существует собственная антиоксидантная система, элиминирующая избыток активных радикалов, но при многих патологических состояниях она оказывается несостоятельной, вследствие чего происходит повреждение клеточных мембран, приводящее к дисфункции клеток и тканей, что вызывает окислительный стресс [20]. У пациентов с данной патологией отмечается развитие окислительного стресса, реализуемого через NO-зависимые механизмы. Действие монооксида азота опосредуется через его реактивные формы и осуществляется при участии чрезмерной экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы, благодаря которой образуется большое количество NO [21]. При этом развивается не только окислительный, но и нитрозитивный стресс, обусловленный избыточным образованием NO. Несомненно, увеличение активности свободнорадикального окисления липидов является важным фактором патогенеза, что необходимо учитывать при проведении терапии.

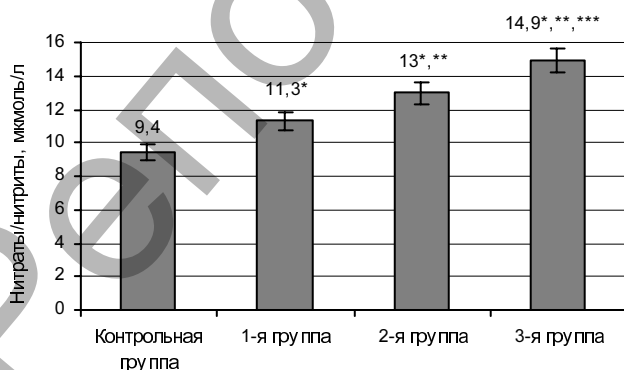


Рис. 2. Содержание суммарных нитрат/нитритов в плазме крови у женщин с папулопустулезной формой розацеа

Выводы

1. У пациентов с папулопустулезной формой розацеа отмечается различный тип изменений активности процессов ПОЛ, характер которых зависит от тяжести патологии. У обследованных с легкой степенью папулопустулезной формы розацеа не было повышения активности ПОЛ, у пациентов со средней степенью отмечено увеличение содержания (ДК) и (МДА) в эритроцитной массе, в то время как при тяжелой степени выявлено увеличение концентрации ДК в эритроцитной массе и МДА в эритроцитной массе и плазме крови. Активность процессов свободнорадикального окисления возрастает с ухудшением клинической картины заболевания.

2. Выявленные нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса сопровождаются увеличением концентрации нитрат/нитритов, что отражает участие L-аргинин-NO-системы в отмечаемых изменениях. Очевидно, NO-зависимый характер возникающего окислительного стресса является важной частью патогенеза папулопустулезной формы розацеа у данных пациентов.

3. Изменения активации свободнорадикальных процессов необходимо учитывать при проведении дифференцированной терапии данной патологии. Оценка степени прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса во взаимосвязи с NO-образующей функцией организма может быть информативной для оценки степени тяжести данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адашкевич В. П. Акне вульгарные и розовые.— М., 2005.
2. Потеекаев Н. Н. Розацеа.— М., 2000.
3. Барабанов Л. Г., Музыченко А. П. // *ARS MEDICA*.— 2010.— № 8.— С. 124—128.
4. Биткина О. А. Научное обоснование применения медицинской озono-кислородной смеси для лечения розовых и вульгарных угрей на основе динамики показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и окислительной модификации протеинов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Нижний Новгород, 2010.
5. Олисова О. Ю., Додина М. И. // *Эксперим. и клинич. дерматокосметология*.— 2010.— № 6.— С. 18—22.
6. Курдина М. И. // *Эстетич. медицина*.— 2004.— Т. 3, № 4.— С. 366—372.
7. Crawford G. N., Pelle M. T., James W. D. // *J. Am. Acad. Dermatol.*— 2004.— Vol. 51, № 3.— P. 327—341.
8. Перламутров Ю. Н., Ольховская К. // *Эстетич. медицина*.— 2009.— Т. 8, № 2.— С. 189—197.
9. Abram A. U., Silt H., Maaroos H. I., Oona M. // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.*— 2010.— Vol. 24, № 5.— P. 565—571.
10. Сайдалиева В. Ш. // *Лечеб. дело*.— 2012.— № 2.— С. 88—92.
11. Trouba K. J., Hamaden H. K., Amin R. P., Germolic R. // *Antioxid. Redox. Signal.*— 2002.— Vol. 4, № 4.— P. 665—673.
12. Темников В. Е. Свободнорадикальное окисление липидов, монооксигеназная система печени, эндокринный статус при розовых угрях и совершенствование их лечения: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Ростов н/Д, 2000.
13. Wilkin J., Dahl M., Detmar M., et al. // *J. Am. Acad. Dermatol.*— 2004.— Vol. 50.— P. 907—912.
14. Адашкевич В. П. Диагностические индексы в дерматологии.— М., 2004.
15. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.— Т. 1.— Минск, 2002.
16. Bryan N. S., Grisham M. B. // *Free Radic. Biol. Med.*— 2007.— Vol. 43, № 5.— P. 645—657.
17. Guevara I., Iwanejko J., Dembinska-Kiec A., et al. // *Clin. Chim. Acta*.— 1998.— Vol. 274, № 2.— P. 177—188.
18. Гланц С. Медико-биологическая статистика.— М., 1998.
19. Лычкова А. Э. // *Успехи физиол. наук*.— 2013.— Т. 44, № 1.— С. 72—96.
20. Горажанская Э. Г. // *Клинич. диагностика*.— 2010.— № 6.— С. 28—44.
21. Lopes de Almeida J. P., Carvalho F. A., Silva-Herdade A. S., et al. // *Cell. Biol. Int.*— 2009.— Vol. 33, № 3.— P. 268—275.

Поступила 04.05.15.

FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS AND L-ARGININE — NO SYSTEM IN PATIENTS WITH ROSACEA PAPULO-PUSTULE FORM

E. S. Yarmolik, V. V. Zinchuk, D. F. Khvorik

Objective. Studying of the free radical oxidation of lipids and L-arginine — NO system in patients with rosacea papulo-pustule form was the aim of the research.

Materials and methods. One hundred and twenty eight women suffering from rosacea papulo-pustule form were examined. The patients were divided into three groups according to the scale for the rosacea diagnostic estimation: Group I (n=42) included women with mild symptoms, Group II (n=49) included women with moderate symptoms, Group III (n=37) included women with severe symptoms. The lipid peroxidation (LPO) activity was assessed by the peroxidation primary (diene conjugates — DC) and the secondary (malondialdehyde — MDA) levels in the erythrocyte mass and blood plasma spectrophotometrically. The nitrogen oxide (NO) production was determined by the blood plasma nitrates/nitrites ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) total content in Griss reaction. The data were processed statistically by STATISTICA 6.0, Microsoft Office Excel using the parametric criteria.

Results. The DC and MDA levels in Group I did not differ from those in the control group. The LPO both the primary and the secondary peroxidation products increased reliably in the patients of Group II and Group III. In addition, the NO levels were elevated in all the groups the maximal values registered in case of a severe pathology evidencing that besides an oxidative stress a nitric stress developed as well being realized via the NO dependent mechanisms.

Conclusion. The rosacea papulo-pustule form symptoms becoming more severe the LPO processes activity and the NO concentration were found to elevate. It confirmed that the L-arginine — NO system participated in those changes being an important part of the dermatosis pathogenesis. The latter fact should be considered while managing patients differentially.

Key words: rosacea, papulo-pustule form, lipid peroxidation, diene conjugates, malondialdehyde, nitrogen oxide.

Адрес для корреспонденции:

Ярмолик Елена Сергеевна.
Гродненский государственный медицинский университет.
230009, г. Гродно, ул. Горького, 80; сл. тел. (8-152) 43-16-21.