

УДК 616.53-002-085

БИОХИМИЧЕСКАЯ И КРИСТАЛЛОСКОПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ АКНЕ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ АКНЕКУТАНОМ И РОАККУТАНОМ

¹Кривоногова П.Л., ²Мартусевич А.К., ¹Биткина О.А., ³Копытова Т.В., ³Коткова Е.В.

¹ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России;

²ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России;

³Нижегородский филиал ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Целью работы явилось изучение влияния препаратов изотретиноина (акнекутан и роаккутан) с различной биодоступностью на белковый гомеостаз больных с тяжелыми формами акне. Под наблюдением находились 35 больных с тяжелыми формами акне (основная группа), в группу сравнения были включены 23 человека. Исследовались общая окислительная модификация белков, в том числе альбумина, а также характер собственной и инициированной кристаллизации различных биосубстратов (сыворотка крови, слюна) у данной группы больных с использованием методов классической кристаллоскопии и сравнительной те- зиграфии. Установлено нарушение белкового гомеостаза у больных тяжелыми формами акне. По данным биохимических и биокристалломных методов выявлены различия во влиянии на белковую составляющую гомеостаза разных форм изотретиноина при их сопоставимом клиническом эффекте.

Ключевые слова: акне, изотретиноин, сыворотка крови, биокристалломика, окислительная модификация белка

BIOCHEMICAL AND CRYSTALLOSCOPIC PROPERTIES OF BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH HEAVY ACNE UNDER ACNECUTAN ANA ROACCUTAN THERAPY

¹Krivanogova P.L., ²Martusevich A.K., ¹Bitkina O.A., ³Kopytova T.V., ³Kotkova E.V.

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod;

²Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopaedy, Nizhny Novgorod;

³Research Center of Dermatology and Cosmetology, Nizhny Novgorod, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

The aim of this paper is investigation of action of isotretinoin-based drugs with different bioavailability on protein homeostasis in patients with heavy variants of acne. We studied 58 patients with heavy acne, randomized into two groups: main ($n = 35$) and control ($n = 23$) one. Proteins oxidative modification, including albumin, and character of own and initiated crystallogenesis of blood serum and saliva from these patient were tested. It was stated, that there is some disorders of protein homeostasis in estimated patients. Differences of investigated drugs effect were fixed by indicated biochemical and biocrystalloscopic methods, but its clinical efficiency was similar.

Keywords: acne, isotretinoin, blood serum, biocrystalloscopic, proteins oxidative modification

В настоящее время вопрос подбора оптимального препарата для терапии тяжелых форм акне актуален [3]. Препаратами выбора зачастую являются антибиотики: тетрациклин, доксициклин [14]. Главенствующая же роль отводится препаратам изотретиноина, применяющимся в дозировке 0,4–0,8 мг/кг (Акнекутан) и 0,5–1 мг/кг (Роаккутан, Сотрет) с длительностью курса от 4 месяцев. При наиболее тяжелых формах заболевания могут одновременно использоваться системные стероиды (преднизолон 1 мг/кг в сутки в течение 2–4 недель) [9]. Опубликованы данные о применении препарата Дапсон в дозе 50–150 мг в день [16]. Проводится успешное лечение подрывающего фолликулита волосистой части кожи головы Гоффмана в сочетании с конглобатными акне комбинацией дапсона и изотретиноина [10]. Интерлейкин-β-блокаторы используются при лечении триады PASH

[11]; этанерцепт (Etanercept), комбинация изотретиноина и адалимумаба – в терапии синдрома SAPHO [13]. Также в литературе приводятся сведения об эффективности других методов лечения: углекислого диоксидного лазера в сочетании с местным использованием третиноина с фракционной шлифовкой [13]; криотерапии; внутриочагового введения триамцинолона.

Одной из отличительных особенностей современных форм лекарственных препаратов является показатель биодоступности. При создании новых лекарств изучение растворимости и распределения играет ключевую роль [15], так как именно эти процессы определяют биологический ответ организма на лекарство и возникновение побочных эффектов. Последними для системных форм изотретиноина являются: тератогенный эффект, ксероз, сухость слизистой носа, носовые кровотечения, зуд, дерматит

лица, раздражающий дерматит, конъюнктивит, ухудшение ночного зрения, алопеция, инфекции кожи, фотосенсибилизация, миалгии, артралгии, повышение внутричерепного давления, нефропатии, васкулиты, ускорение СОЭ, гипертриглицеридемия, повышение печеночных ферментов, уровня креатинина и др. [3], однако основным является хейлит (в 96% случаев).

Несмотря на то, что препараты изотретиноина незаменимы при лечении тяжелых форм акне [9], известны их токсические свойства. С другой стороны, стандартный комплекс биохимических тестов не полностью отражает характер метаболических изменений, вызванных токсичностью препаратов. В связи с этим оценка белкового гомеостаза с изучением состояния альбумина и его транспортной функции, а также кристаллогенных свойств плазмы крови, определяющихся ее протеиновым компонентом, позволяет комплексно исследовать характер влияния препаратов изотретиноина на организм больного.

Связывание лекарственных препаратов с белками плазмы, в частности, с сывороточным альбумином, является одним из важных фармакокинетических параметров, определяющих распределение лекарств в организме. Регуляция этих процессов осуществляется как за счет количественного содержания альбуминов, так и за счет их конформации, модификации и др. [1]. Исследования по окислительной модификации альбумина крови больных при акне немногочисленны, хотя известно, что при этом дерматозе происходят нарушения белкового гомеостаза, в том числе и альбуминовой фракции [1].

Кристаллогенные свойства, присущие любому биосубстрату и являющиеся интегральным параметром его гомеостаза [2, 7, 8], способны косвенно отражать состояние протеома биосреды, так как кристаллогенный потенциал последней, реализующийся за счет его минеральных компонентов, непосредственно зависит от конформационных особенностей и степени гидратации белков [2, 5, 8]. Ранее нами показано, что характер дегидратационной структуризации сыворотки крови при патологии дерматологического профиля (в частности, герпетическом дерматите Дюринга) существенно отличается от свойственного практически здоровым людям [2]. Это позволяет, согласно теории биокристаллоного анализа [7, 8], оценивать эффективность лечения по кристаллогенным свойствам биожидкостей, прежде всего сыворотки крови [5], а также сопоставлять различные препараты по действию на данный показатель гомеостаза рассматриваемой биосреды [8].

Целью работы явилось изучение влияния препаратов изотретиноина с разной биодоступностью (акнекутан и роаккутан) на белковый гомеостаз больных с тяжелыми формами акне.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 35 больных тяжелыми формами акне, в том числе 22 мужчины и 13 женщин в возрасте от 15 до 35 лет (средний возраст 21,33 года), длительность заболевания: до 3 лет – 9 человек (25,7%), 4–7 лет у 19 человек (54,3%), 8–11 лет – 7 человек (20%). Группу сравнения составили 23 человека.

Исследования проводились в двух основных группах: 25 пациентов в лечении использовали препарат Акнекутан, 10 пациентов – обычный изотретиноин (Роаккутан). Суточная доза Акнекутана в среднем составила 0,45 мг/кг веса ($31,4 \pm 8,6$ мг), курсовая – 104,3 мг/кг веса ($7,1 \pm 1,4$ г) при среднем весе пациентов $63,8 \pm 10,62$ кг. По Роаккутану суточная дозировка бралась из расчета 0,6 мг/кг веса ($43 \pm 10,37$ мг), 126,4 мг/кг на курс ($8,85 \pm 1,19$ г) при среднем весе пациентов – $68,9 \pm 10,1$ кг.

Оценивали окислительную модификацию белков сыворотки крови (ОМБ) и альбумина (ОМА) по уровню карбонильных производных, измеряемых на длине волны 370 нм по методу Е.Е. Дубининой [4]. Содержание карбонильных производных белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных к 1 мл сыворотки (ед. опт. пл./мл сыворотки); содержание карбонильных производных альбумина выражали в единицах оптической плотности, отнесенных к 1 г белка (ед. опт. пл./г белка). Количество эффективного альбумина (ЭКА) определяли методом мочевинового гемолиза А.Д. Кожевникова [6]. Кроме того, выполнено исследование характера собственной и инициированной кристаллизации сыворотки крови и слюны [2, 5]. Базисным веществом при тизиграфии являлся 0,9% раствор хлорида натрия. Оценку кристаллограмм и тизиграмм выполняли с применением системы параметров [5]. Изучение данных показателей проводили до начала лечения (1 обследование), через месяц (2 обследование) и через 3 месяца от начала терапии (3 обследование).

Полученные данные были обработаны с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Проанализированы показатели общей окислительной модификации белков плазмы крови и фракции альбуминов, а также содержание эффективного альбумина у больных акне в динамике лечения системными ретиноидами (таблица). В первой графе таблицы представлен показатель ОМБ сыворотки крови, характеризующий количество карбонильных производных в результате их спонтанного окисления в организме. Во второй и третьей графах – количество карбонильных производных при спонтанной и индуцированной реактивом Фентона (H_2O_2/Fe^{2+}) окислительной модификации альбумина (первый показатель

характеризует конститутивную активность окислительной модификации альбумина, второй характеризует приращение ОМА после стимуляции реактивом Фентона; он указывает на количество субстрата для ОМА и возможность его вовлечения в окис-

лительные процессы). В четвертой графе разность в количестве карбонильных производных между индуцированным и спонтанным окислением молекулы альбумина. В пятой графе – концентрация эффективно-го альбумина.

Показатели окислительной модификации белков сыворотки крови (ед. опт. пл./мл сыв.) и альбумина (ед. опт. пл./г белка), эффективного альбумина (г/л) у практически здоровых лиц и больных акне в процессе лечения препаратами изотретиноина ($M \pm m$)

		ОМБ сп. (370 нм)	ОМА сп. (370 нм)	ОМА инд. (370 нм)	инд. – сп.	ЭКА
Контрольная группа ($n = 23$)		$3,9 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,26$	$3,17 \pm 0,36^{**}$	$0,84 \pm 0,2$	$44,5 \pm 0,86$
До лечения ($n = 35$)		$6,17 \pm 0,41^*$	$3,44 \pm 0,27^*$	$4,57 \pm 0,31^*$	$1,13 \pm 0,23$	$40,43 \pm 1,04^*$
Акнекутан ($n = 25$)	2 облс.	$7,93 \pm 0,67^*$	$3,64 \pm 0,36^*$	$4,78 \pm 0,42^*$	$1,14 \pm 0,33$	$40,61 \pm 1,32^*$
	3 облс.	$7,62 \pm 0,7^*$	$2,39 \pm 0,31$	$4,23 \pm 0,55$	$1,84 \pm 0,4^*$	$43,39 \pm 0,64$
Роаккутан ($n = 10$)	2 облс.	$8,09 \pm 0,56^*$	$3,18 \pm 0,9$	$3,84 \pm 0,49$	$0,66 \pm 0,82$	$46,77 \pm 1,54$
	3 облс.	$7,43 \pm 1,32^*$	$1,84 \pm 0,71$	$3,81 \pm 0,8$	$1,98 \pm 0,2^*$	$38,08 \pm 0,56$

Примечания: «*» – сравнение с контрольной группой ($p < 0,05$); 2 облс. – второе обследование; 3 облс. – третье обследование.

Согласно данным литературы, основную диагностическую значимость в оценке спектра ОМБ имеют альдегидные и кетонные производные нейтрального характера, которые регистрируются при 356–370 нм. [4]. В норме данный показатель составляет $3,9 \pm 0,3$, а у больных с акне он выше в 1,6 раза – $6,17 \pm 0,41$ ($p < 0,05$). В динамике применения системных ретиноидов (2 обследование) у больных с акне было отмечено нарастание количества ОМБ при лечении обоими видами препаратов. На момент третьего обследования показатели не возвращались к исходному уровню. Эти данные свидетельствуют о том, что проводимое лечение вызывает в организме больного образование окисленно-модифицированных продуктов и, следовательно, развитие эндогенной интоксикации.

В связи с тем, что основной функциональной и транспортной молекулой плазмы крови является альбумин, нами была изучена степень его окислительной модификации и количество эффективно функционирующих молекул. Показано, что для больных с акне характерны изменения функциональных характеристик молекулы альбумина, которые проявляются в статистически значимом увеличении уровня его альдегидных и кетонных карбонильных производных нейтрального характера при спонтанном и при металл-катализируемом окислении, а также снижение количества эффективного альбумина (таблица). Дельта показателей количества продуктов индуцированного и спонтанного окисления

до начала лечения оставалась в пределах контрольных значений.

Ко второму обследованию была отмечена негативная тенденция влияния системных ретиноидов на состояние молекулы альбумина. Она проявилась в том, что оба препарата приводили к увеличению разности в количестве карбонильных производных между индуцированным и спонтанным окислением. Это может свидетельствовать о том, что лечение системными ретиноидами делает молекулу альбумина более подверженной процессам окисления. К третьему обследованию показатели спонтанной ОМА снижались до уровня контрольных значений в обеих группах, что свидетельствует о восстановлении конститутивных характеристик молекулы альбумина, однако достоверной разницы в уровне карбонильных производных металл-катализируемого окисления между исследуемыми группами не выявлено. При этом дельта показателей количества продуктов индуцированного и спонтанного окисления оставалась высокой. Подобные данные свидетельствуют об усугублении проявлений окислительного стресса организма в результате лечения препаратами изотретиноина.

Концентрация эффективного альбумина до лечения у данных больных достоверно снижена относительно контрольной группы, но в динамике лечения происходит нормализация показателя. При этом различия между препаратами проявились более медленным восстановлением нормальных значений у больных, леченных Акнекутаном.

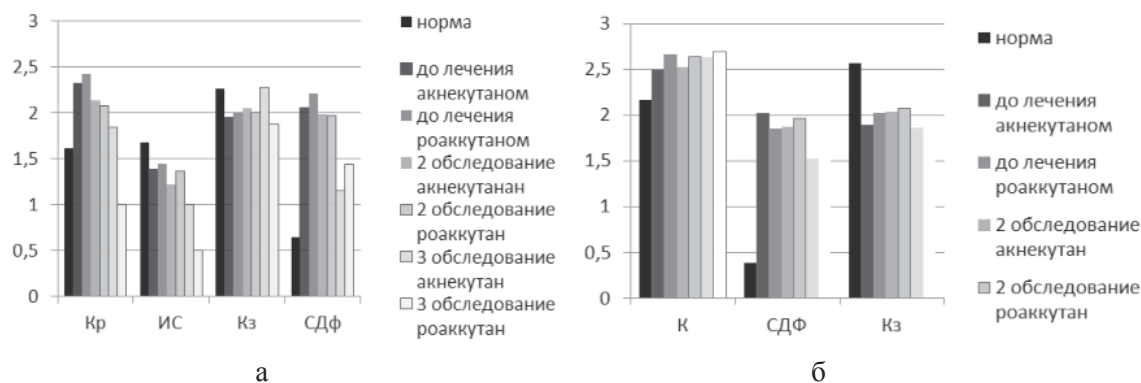


Рис. 1. Динамика кристаллогенных и иницирующих свойств сыворотки крови пациентов с акне в зависимости от варианта лечения (Кр – кристалличность, ИС – индекс структурности, Кз – краевая зона, СДФ – степень деструкции фации): а – кристаллоскопия; б – тезиграфия

Установлено, что тезиокристаллоскопический «паттерн» биосред пациентов с акне существенно отличался от физиологического [2, 8]. Анализ фаций сыворотки крови и слюны пациентов с акне до лечения позволил выявить особенности структуризации данных биожидкостей (рис. 1 и 2). Так, фациям последних присуща высокая кристаллогенная активность (Кр)

с преобладанием в образцах одиночно-кристаллических структур (ИС). Следует подчеркнуть, что для структурных элементов микропрепаратов пациентов с акне характерно наличие выраженных признаков деструкции (СДФ). Краевая зона фаций (Кз) сыворотки крови и слюны достаточно четкая, прослеживается по всему периметру образца.

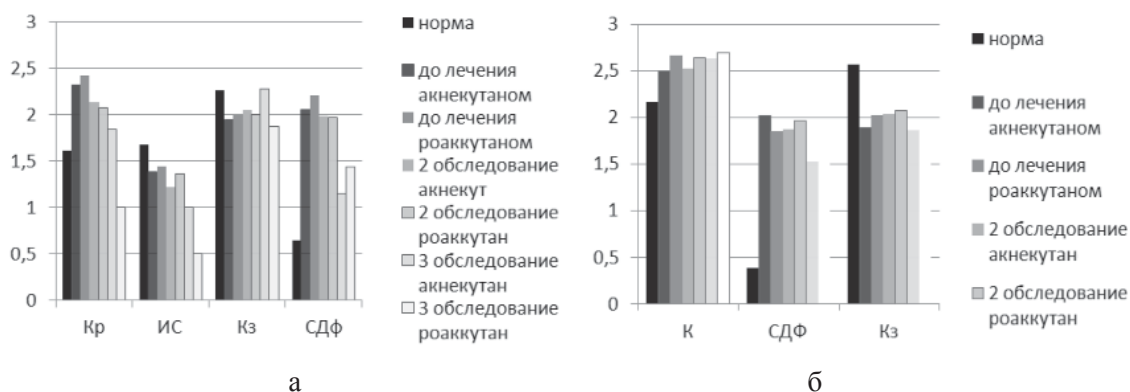


Рис. 2. Динамика кристаллогенных и иницирующих свойств слюны пациентов с акне в зависимости от варианта лечения: а – кристаллоскопия; б – тезиграфия

К моменту проведения 2 обследования (конец 1 месяца лечения) нормализация кристаллогенных свойств биожидкостей была вариабельной. При этом изменения кристаллизации биожидкостей характеризовались снижением плотности и сложности структуры кристаллов, а также выраженности деструкции (рис. 1, а и 2, а). Интересно, что темпы нормализации иницированного кристаллогенеза биосубстратов в данной точке наблюдения были ниже (рис. 1, б и 2, б).

К 3 обследованию наблюдали различную степень нормализации кристаллогенных и иницирующих свойств слюны и сы-

воротки крови (рис. 1 и 2). Так, в образцах сыворотки крови пациентов, получавших Акнекутан, регистрировали максимальное приближение тезиокристаллоскопического «паттерна» к норме (рис. 1, а). В то же время у больных, лечение которых производили Роаккутаном, имели место существенные отклонения от нормы (уменьшение плотности кристаллов и сложности их построения – по Кр и ИС). Кроме того, в микропрепаратах отмечали снижение выраженности Кз с нарастанием СДФ. На момент окончания терапии в фациях сыворотки крови и слюны пациентов с акне наблюдали схожие процессы нормализации

структуропостроения как для групп пациентов, получавших Акнекутан, так и Роаккутан.

Заключение

Результаты исследования позволяют заключить наличие нарушений белкового гомеостаза у больных с тяжелыми формами акне. Так, в сыворотке крови больных выявлены существенное увеличение количества ОМБ, изменения конститутивных характеристик молекулы альбумина при спонтанном и металл-катализируемом окислении, а также снижение количества эффективно альбумина. Тезиокристаллоскопический «паттерн» биосред пациентов с акне существенно отличается от характерного для практически здоровых людей. Проводимое лечение системными ретиноидами вызывает восстановление функциональных характеристик молекулы альбумина, хотя и приводит к формированию умеренного окислительного стресса. В то же время, согласно биокристалломным тестам, в динамике лечения препаратами изотретиноина выявляется частичная нормализация показателей преимущественно при использовании Акнекутана.

Список литературы

1. Биткина О.А., Копытова Т.В., Конторщикова К.Н., Баврина А.П. Уровень окислительного стресса у больных розацеа и обоснование терапевтического применения озонкислородной смеси // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 4. – С. 13–16.
2. Биткина О.А., Кривоногова П.Л., Мартусевич А.К., Пантелеева Г.А. Физико-химические параметры биологических жидкостей при герпетиформном дерматите Дюринга // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – № 4. – С. 11–15.
3. Биткина О.А., Никулин Н.К. Акне. Этиология, патогенез, вопросы терапии // Современные вопросы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2009. – № 4. – С. 67–70.
4. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. – СПб.: Мед. Пресса, 2006.
5. Камакин Н.Ф., Мартусевич А.К. К методике тезиокристаллоскопии биожидкостей // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 9. – С. 3.
6. Кожевников А.Д., Лешенкова Е.В., Сазонец Г.И. Способ обнаружения и метод количественного определения модифицированного или денатурированного сывороточного альбумина человека // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 2. – С. 39–42.
7. Мартусевич А.К. Биокристалломика как наука о спонтанном, направленном и управляемом биокристаллогенезе // Информатика и системы управления. – 2008. – № 2. – С. 145–148.
8. Мартусевич А.К., Воробьев А.В., Гришина А.А., Русских А.П. Физиология и патология кристаллостаза: общая парадигма и перспективы изучения // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – № 1. – С. 135–139.
9. Allison M.A., Dunn C.L., Person D.A. Acne fulminans treated with isotretinoin and «pulse» corticosteroids // *Pediatr. Dermatol.* – 1997. – Vol. 14, № 1. – P. 39–42.
10. Bolz S., Jappe U., Hartschuh W. Successful treatment of perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens with combined isotretinoin and dapsone // *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* – 2008. – Vol. 6, № 1. – P. 44–47.
11. Braun-Falco M., Kovnerystyy O., Lohse P., Ruzicka T. Pyodermagangrenosum, acne, and suppurativehidradenitis (PASH) a new autoinflammatory syndrome distinct from PAPA syndrome // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2012. – Vol. 66, № 3. – P. 409–415.
12. Garcovich S., Amelia R., Magarelli N. et al. Long-term treatment of severe SAPHO syndrome with adalimumab: case report and a review of the literature // *Am. J. Clin. Dermatol.* – 2012. – Vol. 13, № 1. – P. 55–59.
13. Hasegawa T., Matsukura T., Hirasawa Y. et al. Acne conglobata successfully treated by fractional laser after CO laser abrasion of cysts combined with topical tretinoin // *J. Dermatol.* – 2009. – Vol. 36, № 2. – P. 118–119.
14. Margolis D.J., Hoffstad O., Bilker W. Association or lack of association between tetracycline class antibiotics used for acne vulgaris and lupus erythematoses // *Br. J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 157. – P. 540–546.
15. Perlovich G.L., Ryzhakov A.M., Strakhova N.N. et al. Thermodynamic aspects of solubility, solvation and partitioning processes of some sulfonamides // *J. Chem. Thermodynamics.* 2011. – Vol. 43. – P. 683–689.
16. Tan B.B., Lear J.T., Smith A.G. Acne fulminans and erythema nodosum during isotretinoin therapy responding to dapsone // *Clin. Exp. Derm.* – 1997. – Vol. 22, № 1. – P. 26–27.

References

1. Bitkina O.A., Kopytova T.V., Kontorshhikova K.N., Bavrina A.P. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika Clinical laboratory diagnostics*, 2010, no. 4, pp. 13–16.
2. Bitkina O.A., Krivonogova P.L., Martusevich A.K., Panteljeva G.A. *Rossijskij zhurnal kozhnyh i venericheskikh boleznej Russian journal of skin and venerological diseases*, 2012, no.4, pp. 11–15.
3. Bitkina O.A., Nikulin N.K. *Sovremennye voprosy dermatovenerologii, immunologii i vrachebnoj kosmetologii Modern technologies od dermatovenerology, immunology and doctors cosmetology*, 2009, no.4, pp. 67–70.
4. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v funkcional'noj aktivnosti kletok [Oxygen metabolism products in functional activity of cells]*. SPb., Med. Pressa, 2006.
5. Kamakin N.F. Martusevich A.K. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika Clinical laboratory diagnostics*, 2002, no. 9, pp. 3.
6. Kozhevnikov A.D., Leshenkova E.V., Sazonec G.I. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika Clinical laboratory diagnostics*, 2004, no. 2, pp. 39–42.
7. Martusevich A.K. *Informatika i sistemy upravlenija Informatics and systems direction*, 2008, no. 2, pp. 145–148.
8. Martusevich A.K., Vorobjev A.V., Grishina A.A., Russkikh A.P. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo Gerald of Nizhny Novgorod University named after N.I. Lobachevsky*, 2010, no. 1, pp. 135–139.
9. Allison M.A., Dunn C.L., Person D.A. *Pediatr. Dermatol.*, 1997, vol. 14, no. 1, pp. 39–42.
10. Bolz S., Jappe U., Hartschuh W. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.*, 2008, vol. 6, no.1, pp. 44–47.
11. Braun-Falco M., Kovnerystyy O., Lohse P., Ruzicka T. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2012, vol. 66, no.3, pp. 409–415.
12. Garcovich S., Amelia R., Magarelli N. et al. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2012, vol. 13, no.1, pp. 55–59.
13. Hasegawa T., Matsukura T., Hirasawa Y. et al. *J. Dermatol.*, 2009, vol. 36, no.2, pp. 118–119.
14. Margolis D.J., Hoffstad O., Bilker W. *Br. J. Dermatol.*, 2007, vol. 157, pp. 540–546.
15. Perlovich G.L., Ryzhakov A.M., Strakhova N.N. et al. *J. Chem. Thermodynamics*, 2011, vol. 43, pp. 683–689.
16. Tan B.B., Lear J.T., Smith A.G. *Clin. Exp. Dermatol.*, 1997, vol. 22, no1, pp. 26–27.

Рецензенты:

Монахов С.А., д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии и дерматоонкологии ФУВ, ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», г. Москва;
 Перетягин С.П., д.м.н., профессор, президент Ассоциации российских озонотерапевтов, г. Нижний Новгород.
 Работа поступила в редакцию 18.04.2014.