

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

СОСТОЯНИЕ ТИОЛОВОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

Р. А. Грашин, А. В. Полякова, И. Н. Теличко¹

Работа выполнена на эритроцитах пациентов. Воздействие на обмен тиолов осуществляли лекарственными препаратами ремаксол и адеметионин. Изучение значений показателей тиолдисульфидного обмена проводили в начале периода наблюдения и в конце каждой недели в течение месяца. У пациентов, получавших гепатопротекторы, отмечена положительная динамика в течении заболевания в сочетании с более интенсивной нормализацией обмена тиолов по сравнению с пациентами, получавшими стандартную терапию. Концентрации восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп белков, активность глутатионпероксидазы являются информативными критериями оценки тяжести течения и эффективности проводимой терапии распространённых форм псориаза.

Ключевые слова: тиоловый обмен; псориаз; ремаксол; адеметионин; свободнорадикальное окисление; глутатион; малоновый диальдегид; глутатионпероксидаза; каталаза

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы появилось много публикаций, посвящённых изучению про- и антиокислительной систем, их регуляции и роли в патогенезе псориаза [1, 2, 11, 12, 13, 14, 15]. Ряд работ посвящён взаимосвязи свободнорадикальных процессов с клинической картиной заболевания [1, 2, 6, 9 – 11, 13]. Установлено, что функционирование клеток зависит в том числе от их окислительно-восстановительного потенциала, в формировании и поддержании которого ведущую роль играет обмен тиолов и дисульфидов [3, 4]. Центральное место в обмене тиолов принадлежит глутатиону, так как за счет превращения восстановленной формы глутатиона в окисленную поддерживается тиолдисульфидное равновесие в тканях, тем самым обеспечивая нормальное соотношение окислительно-восстановительных процессов в клетках [3, 4]. При этом глутатионовая составляющая, наряду с тиоредоксиновой, является ведущей, так как в различных тканях она обеспечивает восстановление до 74 – 88 % низкомолекулярных и 88 % белковых дисульфидов, а также все смешанные дисульфиды глутатиона с белками [4, 8]. Традиционно функционирование показателей обмена глутатиона рассматривается в рамках антиокислительной системы (АОС) клетки и организма в целом. Накопленные данные по системам свободнорадикального окисления (СРО) и антиокислительной защиты позволяют сказать, что определение их параметров даёт возможность проводить оценку тяжести состояния больных, осуществлять контроль лечения, что наиболее актуально в группах больных с распространёнными формами псориаза и тяжёлым течением этой болезни.

¹ Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики (зав. — проф. А. М. Иванов); кафедра кожных и венерических болезней (зав. — проф. А. В. Самцов) ВМедА им. С. М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

Цель исследования: изучить состояние тиолдисульфидного обмена в эритроцитах больных псориазом и определить возможности его коррекции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 53 больных с распространёнными формами псориаза. Тяжесть болезни оценивали по индексу площади и тяжести псориазических поражений PASI (Psoriasis Area and Severity Index). На первом этапе работы проводили определение малонового диальдегида (МДА), восстановленного глутатиона (ВГ), сульфгидрильных групп белков (СГ), ферментов обмена глутатиона: глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и каталазы (К) общепринятыми биохимическими методами [10] в эритроцитах больных ($n = 24$), получавших базовую терапию. Базовая терапия включала: цианокобаламина раствор по 400 мкг в мышцу через день, аскорбиновую кислоту по 0,3 г 3 раза в день, фолиевую кислоту по 0,02 г 3 раза в день, глюконат кальция внутримышечно, 2 % салициловую мазь на очаги поражения. На втором этапе исследования в комплекс лечебных мероприятий были включены гепатоцитопротекторы ремаксол и адеметионин, которые обладают антиоксидантным, детоксикационным и гепатопротекторным эффектами [7]. Количество получавших ремаксол — 15 пациентов, адеметионин — 14. Таким образом, все лица, находившиеся под наблюдением, были разделены на 3 группы: контрольную, 1 — получали базовую терапию, 2 — получали базовую терапию + ремаксол, 3 — получали базовую терапию + адеметионин. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров. Ремаксол и адеметионин вводили пациентам с распространёнными формами псориаза с индексом PASI не ниже 20. Ремаксол вводили внутривенно капельно по 400 мл в сутки в течение 14 дней через день; адеметионин — внутривенно капельно один раз в двое суток, 14 инфузий по 400 мг.

Ремаксол — инфузионный гепатопротектор, является сбалансированным полиионным раствором. Содержит активные компоненты — янтарную кислоту, N-метилглюкамин, метионин, рибоксин, никотинамид. Фармакологические свойства и лечебная эффективность ремаксол обусловлена взаимоусиливающим действием его компонентов.

Определение показателей обмена глутатиона проводили общепринятыми методами при поступлении и в конце каждой недели наблюдения в течение 1 месяца.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel. В каждой группе рассчитывали средние значения и ошибку среднего. Достоверность различий с соответствующей контрольной группой оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Приведенные в тексте и таблицах значения представляли в виде $X_{cp} \pm m_x$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных 1-ой группы при поступлении и к концу второй недели концентрация СГ была ниже контроля на 60 и 55 % соответственно. В конце периода наблюдения этот показатель оставался достоверно низким по отношению к контролю, несмотря на то, что наблюдался отчётливый регресс псориатических элементов — PASI $24,2 \pm 3,2$ при поступлении и $10,3 \pm 5,2$ через месяц наблюдения (таблица).

При применении ремаксол отмечен более выраженный рост СГ по сравнению с группой базовой терапии, начиная с 2-й недели и далее в течение всего периода наблюдения. Так, к концу 4-й недели концентрация СГ у больных, получавших ремаксол, была в 1,37 раза выше, чем в группе базовой терапии, и не отличалась от показателей контроля.

В группе больных, получавших адеметионин, не удалось выявить значимых отличий от показателей 1-ой группы.

Учитывая, что СГ белков являются индикатором тиолдисульфидного равновесия, который показывает состоятельность глутатиона по восстановлению СГ, данный показатель нам представляется важным не только как маркер тяжести течения заболевания, но и возможного прогноза осложнений, т.к. соотношение окисленных и восстановленных форм СГ белков характеризует активность ферментов и чувствительность рецепторного аппарата клеток. Падение концентраций СГ у больных в группе базовой терапии указывают на выраженную недостаточность системы глутатиона и значимые нарушения тиолдисульфидного статуса в эритроцитах больных.

Установлено, что распространённые формы псориаза характеризуются выраженными изменениями содержания МДА (таблица). Так, в течение первых двух недель наблюдения концентрация МДА в группе больных получавших базовую терапию была выше на 50 % ($9,372 \pm 0,568$ нмоль/г Нб), по сравнению с группой здоровых лиц: $4,857 \pm 0,327$ нмоль/г Нб. При этом к концу

Влияние гепатопротекторов на обмен тиолов в эритроцитах больных с распространёнными формами псориаза в ходе терапии

Терапия	Сроки исследования/индекс PASI	Показатели						
		МДА, нмоль/г Нб	СГ, мкмоль/г Нб	ВГ, мкмоль/г Нб	Г-6-ФДГ, мкмоль/мин · г Нб	ГР, мкмоль/мин · г Нб	ГП, мкмоль/мин · г Нб	Каталаза, мкмоль/мин · г Нб
<i>Значения контрольной группы</i>								
		$4,857 \pm 0,327$	$5,782 \pm 0,557$	$6,327 \pm 0,427$	$5,938 \pm 0,361$	$211,21 \pm 19,21$	$5,297 \pm 0,411$	$31,51 \pm 1,12$
Базовая, <i>n</i> = 24, группа 1	1 неделя / $24,2 \pm 3,2$	$9,372 \pm 0,568^*$	$2,354 \pm 0,287^*$	$4,125 \pm 0,213^*$	$4,031 \pm 0,334^*$	$166,28 \pm 13,61^*$	$7,533 \pm 0,238^*$	$36,28 \pm 3,67$
	2 неделя / $22,8 \pm 2,7$	$9,759 \pm 0,924^*$	$2,587 \pm 0,331^*$	$4,378 \pm 0,314^*$	$4,222 \pm 0,416^*$	$169,22 \pm 12,93^*$	$7,627 \pm 0,244^*$	$37,71 \pm 2,93^*$
	3 неделя / $15,2 \pm 2,2$	$8,742 \pm 1,306^*$	$3,366 \pm 0,637^*$	$5,682 \pm 0,225$	$5,396 \pm 0,521$	$194,57 \pm 23,07$	$6,633 \pm 0,251^*$	$34,25 \pm 3,07$
	4 неделя / $11,3 \pm 2,3$	$6,361 \pm 0,853^*$	$3,567 \pm 0,624^*$	$5,763 \pm 0,251$	$6,308 \pm 0,246$	$203,18 \pm 23,31$	$7,138 \pm 0,246^*$	$33,18 \pm 3,31$
Базовая + ремаксол, <i>n</i> = 15, группа 2	1 неделя / $23,6 \pm 2,2$	$9,684 \pm 0,321^*$	$2,425 \pm 0,156^*$	$4,267 \pm 0,181^*$	$4,004 \pm 0,303^*$	$154,22 \pm 11,28^*$	$7,467 \pm 0,318^*$	$37,54 \pm 3,29$
	2 неделя / $20,3 \pm 3,1$	$8,458 \pm 0,262^*$	$3,378 \pm 0,243^{*#}$	$4,988 \pm 0,186^{*#}$	$4,698 \pm 0,453^*$	$189,12 \pm 12,34$	$6,259 \pm 0,256^{*#}$	$35,18 \pm 2,87$
	3 неделя / $9,6 \pm 2,5^{##}$	$7,159 \pm 0,315^*$	$4,566 \pm 0,365^{*#}$	$5,566 \pm 0,258$	$5,681 \pm 0,289$	$192,25 \pm 15,72$	$6,091 \pm 0,224$	$32,68 \pm 4,12$
	4 неделя / $5,7 \pm 2,2^{##}$	$5,573 \pm 0,467$	$4,897 \pm 0,312^{*#}$	$6,197 \pm 0,314$	$6,877 \pm 0,421^*$	$224,38 \pm 14,93$	$5,871 \pm 0,188^{##}$	$33,21 \pm 3,77$
Базовая + адеметионин, <i>n</i> = 14, группа 3	1 неделя / $23,6 \pm 2,2$	$9,423 \pm 0,267^*$	$2,367 \pm 0,137^*$	$4,362 \pm 0,137^*$	$3,978 \pm 0,229^*$	$161,72 \pm 13,21^*$	$7,594 \pm 0,371^*$	$36,84 \pm 3,04$
	2 неделя / $20,3 \pm 3,1$	$8,471 \pm 0,385^*$	$2,967 \pm 0,243^*$	$4,367 \pm 0,239^*$	$4,721 \pm 0,435^*$	$196,54 \pm 14,79$	$7,164 \pm 0,266^*$	$35,26 \pm 3,67$
	3 неделя / $9,6 \pm 2,5^{##}$	$7,264 \pm 0,294^*$	$3,769 \pm 0,265^*$	$5,163 \pm 0,317^*$	$5,488 \pm 0,384$	$189,47 \pm 12,11$	$6,548 \pm 0,198^*$	$34,27 \pm 2,98$
	4 неделя / $5,7 \pm 2,2^{##}$	$6,129 \pm 0,377^*$	$4,547 \pm 0,365^*$	$5,639 \pm 0,344$	$6,568 \pm 0,477$	$212,64 \pm 12,67$	$6,011 \pm 0,206^{##}$	$32,89 \pm 4,31$

Примечание. Отличия достоверны при сравнении: * — $p < 0,05$ с показателями группы контроля; # — $p < 0,05$ показателей групп, получавших базовую терапию и получавших в составе базовой терапии ремаксол и адеметионин в один и тот же период наблюдения.

4-ой недели уровень МДА несмотря на снижение продолжал оставаться значимо высоким ($6,361 \pm 0,853$ нмоль/г Hb). Применение ремаксоло вызвало снижение концентрации МДА к концу 4-ой недели наблюдения до уровня контрольной группы, тогда как в группе 3 этот показатель всё ещё достоверно превышал контроль, несмотря на проводимую терапию. Полученные результаты свидетельствуют о высокой интенсивности свободнорадикальных процессов у больных с распространёнными формами заболевания и о возможности их эффективной коррекции при применении ремаксоло.

В начале периода наблюдения наряду с высокими значениями МДА, у больных 1 группы отмечена значимо низкая концентрация ВГ — на 65 % ($4,125 \pm 0,213$ мкмоль/г Hb) по сравнению с группой здоровых лиц — $6,327 \pm 0,427$ мкмоль/г Hb (таблица). Однако несмотря на высокие концентрации ТБК-активных продуктов в конце периода наблюдения содержание восстановленного глутатиона к концу 4-ой недели практически достигло значений контрольной группы ($5,763 \pm 0,251$ мкмоль/г Hb). При введении в схему терапии ремаксоло динамика увеличения концентрации ВГ была более интенсивной. Так в конце второй недели концентрация ВГ составила $4,988 \pm 0,186$ мкмоль/г гемоглобина, превышая его содержание на 12 % относительно 1-ой группы в этот период. В группе больных, где в схеме лечения присутствовал адеметионин, изменения концентраций ВГ по сравнению с группой базовой терапии значимых различий не имели, за исключением того, что в конце 3-ей недели ещё не достигали значений контрольной группы, но к концу периода наблюдения не отличались от неё.

Исследования основных ферментов редокс-циклирования глутатиона показали, что уже в ранние сроки активности Г-6-ФДГ и ГР на 32 и 21 % соответственно были снижены по сравнению со здоровыми донорами, продолжая оставаться значимо низкими и на второй неделе наблюдения (таблица). В течение последующего периода в эритроцитах больных отмечалась отчетливая динамика к восстановлению активности ферментов до значений контрольной группы. К концу третьей недели активность обоих энзимов у больных 1-ой группы не отличалась от группы контроля.

При введении в схему лечения гепатопротекторов отмечено, что в обеих группах, начиная со 2-ой недели, глутатионредуктазная активность не отличалась от таковой у здоровых лиц. Что касается Г-6-ФДГ, то восстановление её активности происходило лишь к третьей недели. Однако в группе ремаксоло к концу периода наблюдения значения данного показателя превышали контрольные величины на 16%, что может свидетельствовать о выраженном положительном влиянии препарата на скорость генерации восстановленных форм НАДФ и, следовательно, более быстром приведении тиолов в восстановленное состояние, чем у больных, получавших только базовую терапию.

С самого начала наблюдения была отмечена статистически значимо высокая активность ГП у больных — на 42 % больше, чем у здоровых лиц (таблица). При этом цифры оставались устойчиво высокими в течение месяца,

несмотря на значительный регресс заболевания, выражавшийся в уменьшении элементов кожной сыпи, стабилизации показателей метаболизма и улучшения самочувствия больных. У пациентов с индексом PASI $11,3 \pm 2,3$ в конце периода наблюдения активность этого фермента на 34 % превышала таковую у здоровых людей, что свидетельствует о достаточной активности свободно-радикальных процессов и выраженной адаптивной напряжённости системы антиоксидантной защиты. При применении ремаксоло уже на второй неделе наблюдения активность фермента была достоверно ниже, чем у больных, получавших базовую терапию в этот же период, а в конце периода наблюдения активность ГП не отличалась от показателей контроля и при этом была на 17,7 % ниже, чем у больных 1-ой группы в это же время. В группе больных, где в схему лечения был введён адеметионин активность ГП снизилась только к 4-й неделе и составила $6,011 \pm 0,206$ мкмоль/(мин · г Hb), что ниже на 15,7 %, чем в 1-ой группе в этот же период, но достоверно выше уровня активности фермента у здоровых лиц. Статистически значимая разница между группами ремаксоло и адеметионина была отмечена только на второй неделе наблюдения — в период значительного снижения активности фермента у больных, получавших ремаксоло. Учитывая, что основная функция ГП заключается в обезвреживании различных типов гидроперекисей в цитоплазме, митохондриях и ядре клеток, полученные результаты активности этого энзима подтверждают высокую степень выраженности оксидативного стресса у больных распространёнными формами псориаза. В 1-й группе активность ГП компенсаторно высока в течение всего периода наблюдения, а при применении антиоксидантов она уменьшается, приходя к нормальным значениям наряду со снижением концентрации МДА и ростом содержания ВГ в эритроцитах пациентов. Доказано, что в эритроцитах дефицит ГП очень быстро приводит к гемолизу, т.е. при недостаточности ГП любой вариант оксидативного стресса опасен [4]. Вероятно, в этом заключается диагностическая значимость этого фермента.

Изменения каталазы в период наблюдения оказались менее динамичными. Статистический анализ выявил достоверные изменения активности этого фермента только в 1-ой группе в конце второй недели наблюдения. В целом активность каталазы варьировала в широком диапазоне у всех пациентов, что, вероятно, объясняет её роль в системе антиоксидантной защиты. Применение гепатопротекторов также не привело к значимым изменениям активности этого фермента. Не исключено, что полученные результаты связаны с тем, что каталаза утилизирует исключительно перекись водорода и только в пероксисомах клеток. Поэтому её исследование в эритроцитах не показало выраженных изменений.

После 4-х недель клинического наблюдения было отмечено, что в группе больных, получавших базовую терапию, индекс PASI уменьшился с $24,2 \pm 3,2$ в начале наблюдения до $11,3 \pm 2,3$, что составило 46,7 % от исходного уровня. В группах пациентов, получавших препараты гепатопротективного действия, уменьшение индекса PASI было более выраженным и к концу 4-ой недели составило $5,7 \pm 2,2$, что на 76,4 % меньше исходных значе-

ний. Наиболее динамичной оказалась 3-я неделя наблюдений, когда данный показатель снизился на 52,7% (с $20,3 \pm 3,1$ во вторую неделю до $9,6 \pm 2,5$ в третью) и значительно отличался от группы 1 в этот же период. Этому предшествовали изменения в обмене тиолов: увеличение содержания СГ, ВГ, снижение активности ГП, которые были зафиксированы в конце 2-ой недели наблюдения в группе 2, где использовался ремаксол. Окончание периода наблюдений характеризовалось значительным разрешением псориатических бляшек, что выражалось в снижении индекса PASI, который составил $5,7 \pm 2,2$ и был ниже ($p < 0,05$), чем в группе больных, получавших только базовую терапию.

Нарушения в обмене тиолов, выявленные в ходе исследования, вероятно, вызваны тем, что псориаз — источник продуктов эндогенной интоксикации, в том числе и липофильной природы. Различные токсиканты, в избытке генерирующиеся в результате изменённого метаболизма кератиноцитов и активированных цитотоксических лимфоцитов, поддерживают воспаление в области бляшек, а при распространённых формах заболевания — на больших участках кожного покрова. В генерации липофильных токсикантов эндогенной природы ведущая роль принадлежит активированным процессам СРО. Основным местом детоксикации данных соединений является печень, а в ней — система цитохрома Р-450, активно работающая в гепатоцитах. Образующиеся в ходе детоксикации гидрофильные метаболиты могут быть еще более токсичными, чем их липофильные предшественники. И если при относительно низком уровне токсического воздействия, т.е. при ограниченных формах заболевания, метаболиты вступают в реакции конъюгации и обезвреживаются, то увеличение его интенсивности может приводить к истощению возможностей системы конъюгации, накоплению метаболитов в тканях и взаимодействию их с молекулами белка, ДНК, РНК [1, 2, 5, 7]. Тиолы и восстановленный глутатион, в частности, обеспечивают успешную конъюгацию. Недостаточность данного механизма в печени неизбежно приведёт к ухудшению метаболизма в коже и, как следствие, увеличению индекса PASI, удлинению сроков лечения, развитию осложнений. Это во многом объясняет положительный эффект использованных нами гепатоцитопротекторов, в первую очередь ремаксола, на обмен тиолов и подтверждает целесообразность их включения в схемы лечения больных

псориазом, особенно в случаях длительно текущих и резистентных к терапии форм.

ВЫВОДЫ

1. Препараты гепатопротекторного действия ремаксол и адеметионин в сочетании с базовой терапией оказывают корригирующее влияние на обмен тиолов и дисульфидов у больных с распространёнными формами псориаза, что сочетается с ускоренным разрешением псориатических высыпаний.

2. Концентрации восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп белков, активность глутатионпероксидазы могут служить информативными критериями оценки тяжести состояния и эффективности проводимой терапии распространённых форм псориаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. Алеид, Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов и др., *Экспер. и клин. дерматокосметол.*, № 4, 59 – 61 (2010).
2. С. В. Гострова, Л. Ф. Кульдагова, З. Ф. Хараева, *Усп. современного естествознания*, № 12, 42 (2003).
3. В. И. Кулинский, *Соросовский образовательный журнал*, № 1, 2 – 7 (1999).
4. В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко, *Биомед. хим.*, **55**(4), 365 – 379 (2009).
5. *Методы клинической биохимии: Медицинские лабораторные технологии и диагностика*, А. И. Карпищенко (ред.), СПб (2002).
6. Б. С. Нагоев, С. В. Гострова, З. Ф. Захараева, *Вестн. новых мед. технол.*, **15**(2), 195 – 196 (2008).
7. В. Е. Новиков, Е. И. Климкина, *Обзоры по клин. фармакол. и лек. тер.*, **4**(1), 2 – 20 (2005).
8. В. В. Соколовский, *Вопр. мед. хим.*, **34**(6), 2 – 4 (1988).
9. С. Е. Фоменко, Н. Ф. Кушнерова, В. Г. Спрыгин, *Тихоокеанский мед. журн.*, **4**, 74 – 77 (2006).
10. В. Н. Шилов, В. И. Сергиенко, *Бюл. экспер. биол.*, **129**(4), 364 – 369 (2000).
11. D. P. Kadam, A. N. Suryakar, R. D. Ankush, et al., *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **25**(4), 388 – 392 (2010).
12. G. Filomeni, K. Aquilano, P. Civitareale, et al., *Free Rad. Biol. Med.*, **39**, 345 – 354 (2005).
13. I. Kokcam, M. Naziroglu, *Clin. Chim. Acta.*, **289**(1–2), 23 – 31 (1999).
14. M. Yildirim, H. S. Inaloz, V. Baysal, N. Delibas, *JEADV*, **17**(1), 34 – 36 (2003).
15. Q. Zhou, U. Mrowietz, M. Rustami-Yazdi, *Free Radical Biol. Med.*, **47**(7), 891 – 905 (2009).

Поступила 13.09.12

STATE OF THIOL EXCHANGE IN PATIENTS WITH PSORIASIS AND ITS POSSIBLE CORRECTION

R. A. Grashin., A. V. Polyakova, and I. N. Telichko

St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Akad. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044, Russia

Experiments on erythrocytes of patients were used to study the influence of remaxol and ademetionin on the exchange of thiols. The values of thiol disulfide exchange indicators were determined in the beginning of the period of observation and at the end of every week within one month. Patients who received hepatoprotectors in combination with higher-level thiols showed positive dynamics in disease treatment as compared to patients receiving standard therapy. The concentration of restored glutathione and proteins of hydrosulfide groups and the activity of glutathione peroxidase are informative criteria for estimating the course of disease current and the efficiency of therapy of widespread forms of psoriasis.

Keywords: thiol exchange; psoriasis; remaxol; ademetionin; free-radical oxidation; glutathione; malonic dialdehyde; glutathione peroxidase; catalase