

О.М. Капулер, Н.З. Сарварова, А.Р. Мирсаева, Р.М. Хаматнуров, Ф.Х. Камилов

СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

ОАО «Косметологическая лечебница», г. Уфа

Республиканский кожвендиспансер, г. Уфа

ГОУВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

В статье представлены данные определения конечных стабильных метаболитов оксида азота в плазме крови у 64 больных псориазом в зависимости от стадии, тяжести (PASI) и длительности течения заболевания. Установлено, что уровень метаболитов оксида азота имеет прямую корреляционную связь с индексом PASI и не зависит от длительности заболевания. Обсуждается патогенетическая роль NO в развитии клинических проявлений псориаза.

Ключевые слова: псориаз, оксид азота.

O.M.Kapuler, N.Z.Sarvarova, A.R.Mirsaeva, R.M.Hamatnurov, F.H.Kamilov

CONTENT OF METHABOLITES OF NO IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH PSORIASIS

This article represents the data of final stable nitro gene oxide metabolites definition in blood plasma in 64 patients ill with psoriasis depending on the stage, severity and time of the disease. It has been established that the level of NO metabolites has direct correlating connection with the PASI index and doesn't depend on the time of the disease. Pathogenetic role of NO in the development of psoriasis clinical manifestations.

Key words: psoriasis, nitro gene oxide.

Оксид азота (NO) обладает широким спектром биорегуляторных эффектов, является нейромедиатором, принимает участие в регуляции сосудистого тонуса и кровотока, системной и региональной гемодинамики, внутриклеточной концентраций ионов кальция и тонуса гладких мышц, цитотоксичности, антимикробной защите, агрегации тромбоцитов [8, 14, 21].

В клетках NO синтезируется из L - аргинина под влиянием семейства NO - синтаз (КФ 1.14.13.39) в результате 5-электронного окисления субстрата с образованием L - цитруллина и оксида азота [3]. Уровень оксида азота в органах и тканях определяют изоформы синтазы оксида азота (NOS): нейрональная (nNOS или NOS 1), индуцибельная (iNOS или NOS 2) и эндотелиальная (eNOS или NOS 3) [9].

При патологических состояниях высокий уровень генерации оксида азота iNOS вызывает токсический эффект, характеризующийся повреждением клеточных структур, мутацией ДНК, изменениями апоптоза [21]. Повышение уровня NO и свободных радикалов создают условия для синтеза пероксинитрита (ONOO) и ведут к значительному увеличению его локальной концентрации в сосудистой стенке [11]. Пероксинитрит - сильный окислитель, способный окислять amino- и сульфгидрильные группы биомолекул, что оказывает прямое цитотоксическое и иммуногенное действия, приводит к инактивации глутатиона, ингибированию супероксиддисмутазы, каталазы, α_1 - антитрипсина и других ферментов [2, 7, 14].

Исследования последних лет показывают, что изменения содержания оксида азота имеют место при многих заболеваниях [2, 8].

Псориаз рассматривают как хронический дерматоз мультифакториальной природы с доминирующим значением в его развитии генетических факторов, характеризующийся неконтролируемым, незлокачественным ростом эпидермиса [6, 10, 16].

Воспалительный процесс при псориазе сопровождается развитием сложных патохимических и патоиммунных механизмов, связанных с нарушениями кислородного режима кожи с вовлечением медиаторов воспаления и микроциркуляторного русла, повышением проницаемости сосудов и миграцией клеточных элементов крови, повреждением структур эпидермиса и дермы [4, 11, 16]. Особую роль в патогенезе заболевания играет активация Т-лимфоцитов, поскольку обнаружено, что при псориазе кератоциты получают сигнал к гиперпролиферации при высвобождении Т-лимфоцитами различных хемокинов и цитокинов (интерлейкинов, интерферонов, фактора некроза опухоли, хемокинов, факторов роста, матричной металлопротеиназы и др.) [23]. Таким образом, при псориазе поражении кожи наблюдаются сдвиги в метаболических, иммунологических и сосудистых реакциях, в которых NO обладает биорегуляторными эффектами, и интенсивность его продукции при псориазе может играть существенную роль в патогенетических механизмах изменений биохимических, физиологических и иммунологических взаимодействий.

Оксид азота необратимо инактивирует

ся гемоглобином в просвете кровеносного сосуда, а его реакция с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов нитрита и нитрата, которые являются основными маркерами оксида азота в крови [21].

Целью данного исследования явилось изучение содержания конечных стабильных продуктов оксида азота (NO_x) в плазме крови у больных псориазом в зависимости от тяжести и длительности течения заболевания.

Материал и методы

Обследовано 64 больных псориазом в прогрессирующей стадии и 27 практически здоровых лиц. Возраст больных колебался от 18 до 57 лет, из них мужчин - 73,3%, женщин - 26,3%. Больные были разделены на 6 групп: в 1-ю группу вошли лица с площадью поражения до 10% поверхности тела ($\text{PASI } 11,6 \pm 2,4$ ед.), болеющие до 5 лет; во 2-ю - с площадью поражения кожи менее 10% ($\text{PASI } 16,6 \pm 1,26$ ед.), болеющие 5 и более лет; в 3-ю - с площадью поражения более 10% и страдающие менее 5 лет ($\text{PASI } 16,1 \pm 1,26$ ед.); в 4-ю - больные с площадью поражения более 10% ($\text{PASI } 20,8 \pm 2,24$ ед.) со «стажем» заболевания 5 и более лет; в 5-ю - лица, страдающие тяжелыми формами псориаза (пустулезный, эритродермия, артропатия) менее 5 лет ($\text{PASI } 44,5 \pm 6,90$ ед.), и в 6-ю группу - пациенты с осложненным течением заболевания, но болеющие более 5 лет ($\text{PASI } 49,8 \pm 5,72$ ед.).

У пациентов при поступлении в стационар и перед выпиской из клиники и лиц контрольной группы в плазме крови определяли содержание стойких конечных продуктов оксида азота (NO_x) по методу Н.Л. Емченко и соавт. (1994) после их восстановления губча-

тым кадмием по реакции Грисса [5].

Лечение больных проводили согласно стандартной терапии с индивидуальным подходом в зависимости от формы и тяжести заболевания, включающей десенсибилизирующие, антигистаминные, нестероидные противовоспалительные препараты, гепатопротекторы, витаминотерапию, наружные кератолитические, противовоспалительные и антибактериальные средства. При псориазической эритродермии, артропатии и пустулезном псориазе использовали дополнительно кортикостероидные препараты (внутрь и как наружные средства), дезинтоксикационную терапию (гемодез 4-5 сеансов), методы физиотерапии. Больные выписывались при достижении ремиссии заболевания.

Результаты и обсуждение

Результаты определения в плазме крови NO_x представлены в таблице. Содержание конечных стабильных продуктов оксида азота у больных псориазом в прогрессирующей стадии имело прямую корреляционную зависимость ($r = 0,68$; $P < 0,01$) от индекса охвата и тяжести псориаза (PASI). Так, у больных с ограниченной площадью поражения кожи (1- и 2-я группы) уровень NO_x составлял 144-149,5%, с увеличением площади воспалительных изменений и тяжести вульгарного псориаза (больные 3- и 4-й групп) он возрастал до 177-179,8%. А у пациентов с пустулезной формой заболевания, псориазическими артропатией и эритродермией уровень NO_x повышался более, чем в 2 раза.

Оксид азота принимает активное участие в регуляции сосудистого тонуса и кровотока, системной и региональной гемодинамики.

Таблица

Содержание конечных стабильных продуктов оксида азота в плазме крови больных псориазом ($M \pm m$)							
Показатели, стадия псориаза	Группы обследуемых						
	Контроль, n = 27	1-я, n = 11	2-я, n = 11	3-я, n = 11	4-я, n = 10	5-я, n = 10	6-я, n = 11
NO_x , мкмоль/л; прогрессирующая	$27,3 \pm 2,82$	$39,3 \pm 4,52$ $P < 0,02$	$40,8 \pm 3,51$ $P < 0,01$	$48,3 \pm 2,47$ $P < 0,001$	$49,1 \pm 3,07$ $P < 0,001$	$62,4 \pm 3,88$ $P < 0,001$	$57,4 \pm 3,89$ $P < 0,001$
NO_x , мкмоль/л; ремиссии	$27,3 \pm 2,82$	$29,0 \pm 3,74$ $P > 0,5$ $P_1 > 0,05$	$30,6 \pm 3,53$ $P > 0,5$ $P_1 < 0,05$	$33,8 \pm 3,06$ $P > 0,2$ $P_1 < 0,001$	$35,1 \pm 4,58$ $P > 0,2$ $P_1 < 0,02$	$34,8 \pm 3,09$ $P > 0,1$ $P_1 < 0,001$	$41,6 \pm 3,50$ $P < 0,005$ $P_1 < 0,01$

Примечание. P - значимость по сравнению с контролем; P_1 - различия между прогрессирующей стадией и стадией ремиссии псориаза.

Являясь одним из самых мощных сосудорасширяющих агентов, он, кроме того, опосредует действие других эндотелийзависимых вазодилататоров (ацетилхолина, брадикинина, гистамина), тормозит образование эндотелиального сосудосуживающего эндотелина-1, препятствует осуществлению чрезмерных эффектов других вазоконстрикторов (ангиотензина, тромбосана A_2). Воспалительная

реакция в очагах поражения кожи характеризуется глубокими нарушениями микроциркуляции со снижением скорости капиллярного кровотока и трансапикалярного обмена [15], приводящим к гипоксии, снижению энергетического потенциала клеток, поддержанию воспаления и хроническому течению заболевания. Оксид азота может оказывать непосредственное влияние на процессы пролифе-

рации и дифференциации кератиноцитов [19], на биосинтез эпидермальными кератиноцитами и нейтрофилами простагландинов и лейкотриенов [22], которые в свою очередь активируют воспалительную реакцию и обладают митогенным эффектом на эпителиальные клетки [13], способствуют миграции в эпидермис нейтрофилов. Следовательно, увеличение содержания NO при псориазе, может быть не только следствием течения воспалительной реакции, но также ответной реакцией, направленной на компенсацию и/или нормализацию региональной гемодинамики кожи, ингибирование митогенных и пролиферативных процессов.

Другой важной биохимической основой действия NO при псориазе, вероятно, может быть его регулирующее действие на апоптоз клеток базального слоя эпидермиса. Иницирующее влияние NO на апоптоз многосторонне: ингибирование окислительного фосфорилирования в митохондриях с падением трансмембранного потенциала; прямая активация открытия «гигантской поры» в митохондриях, приводящего к выходу в цитозоль цитохрома C и запуску каспазного каскада; резкое снижение внутриклеточного Bel - 2 белка через каспаз - индуцированное расщепление или p53 - зависимое подавление его экспрессии; активация перекисного окисления фосфолипидов и окисление тиольных групп белков митохондриальной мембраны с высвобождением в цитозоль апоптогенных факторов [17].

В то же время есть данные о том, что пероксинитрит и нитрозотиолы, образующиеся при высоких концентрациях NO, нейтрализуют SH - группы каспаз и прерывают их активацию [20], активируют продукцию супероксиданиона, снижают активность основных антиоксидантных ферментов, приводят к инактивации глутатиона, способствуя падению антирадикальной защиты [7, 14].

Таким образом, оксид азота при псориазе возможно играет двоякую роль: при определенных условиях может усиливать процес-

сы перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызывать вазодилатацию, инициировать апоптозную гибель клеток, ингибировать митогенные и пролиферативные процессы, поддерживать воспалительный процесс, но также может ингибировать процессы ПОЛ, оказывать цитотоксический эффект на кератиноциты [18], вызывать вазоконстрикцию и эндогенную интоксикацию. Описано двухфазное влияние NO на пролиферацию и дифференровку кератиноцитов кожи человека в зависимости от его концентрации - при низких концентрациях - стимуляция, а при высоких - цитоллиз [19].

После проведенной терапии у больных 1-, 2-, 3-, 4-й групп наблюдалась стабилизация и ремиссия процесса, а у большинства пациентов 5- и 6-й групп - значимое уменьшение выраженности и активности псориаза. Индекс PASI у больных 1-й группы после лечения составил в среднем $4,6 \pm 0,86$, 2-й группы - $9,3 \pm 1,33$, 3-й - $9,4 \pm 1,32$, 4-й - $10,0 \pm 2,24$, 5-й - $25,4 \pm 5,42$ и 6-й - $22,7 \pm 4,12$, т.е. снижался примерно в 2 раза. У больных всех групп при этом статистически значимо понижался и уровень стабильных конечных продуктов NO. Необходимо отметить, что изменения содержания NO_x ни в прогрессирующей стадии, ни в стадии ремиссии не зависели от длительности заболевания.

Заключение

Представленные данные свидетельствуют о том, что прогрессирующая стадия псориаза характеризуется повышением в крови конечных стабильных метаболитов NO, уровень которых зависит от тяжести и клинической формы течения болезни и не зависит от длительности развития заболевания. Интенсивность продукции NO при псориазе может играть патогенетическую роль в выраженности патологического процесса, включая характер и интенсивность воспалительных изменений кожи, метаболических нарушений, апоптоза, гиперпролиферации, состояния микроциркуляторного русла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзамасцев, А.П. Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы NO - синтаз (химический аспект) / А.П. Арзамасцев, И.С. Северина, Н.Б. Григорьев, В.Г. Граник // Вестник РАМН. - 2003. - № 12. - С. 88-94.
2. Голиков, П.П. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева, И.А. Гавриленко [и др.] // Патологическая физиология и эксперим. мед. - 2000. - № 2. - С. 6-9.
3. Граник, В.Г. Метаболизм L - аргинина (обзор) / В.Г. Граник // Химико-фармац. журнал. - 2003. - Т. 37, № 3. - С. 3-20.
4. Довжанский, СИ. Псориаз или псориазическая болезнь / СИ. Довжанский, СР. Утц. - Саратов, 1992. - 175 с.

5. Емченко, Н.Л. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма / Н.Л. Емченко, О.И. Цыганенко, Т.В. Ковалевская // Клин. лаб. диагностика. - 1994. - № 6. - С. 19-20.
6. Кунгуров, Н.В. Псориазическая болезнь / Н.В. Кунгуров, Н.Н. Филимонкина, И.А. Тузакина. - Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 2002. - 200 с.
7. Малышев, И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев // Биохимия. - 1998. - Т. 63, Вып. 7. - С. 992-1006.
8. Марков, Х.М. Эндогенные ингибиторы оксида азота и их значение в патологии / Х.М. Марков // Росс. педиатр. журнал. - 2005. - № 6. - С. 31-35.
9. Меньшикова, Е.Б. Оксид азота и NO - синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.П. Реутов // Биохимия. - 2000. - Т. 65, Вып. 4. - С. 485-503.
10. Мордовцев, В.А. Псориаз: патогенез, клиника, лечение / В.А. Мордовцев, Г.В. Мушет, В.И. Албанова. - Казань: Изд-во УИИИ, 1991. - 186 с.
11. Охлопков, В.А. Клинико-морфологическая характеристика вульгарного псориаза в условиях терапии / В.А. Охлопков. - Омск: Изд-во ОГМА, 2004. - 166 с.
12. Реутов, В.П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин. - М.: Наука, 1997. - 159 с.
13. Романенко, В.Н. Лейкотриены как факторы регуляции воспалительной реакции кожи при псориазе / В.Н. Романенко, М.Э. Баринаева // Вестн. дерматол. и венерол. - 2001. - № 5. - С. 23-27.
14. Северина, И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота / И.С. Северина // Биохимия. - 1998. - Т. 63, Вып. 7. - С. 939-947.
15. Трофимова, И.Б. Новые аспекты патогенеза и лечения псориаза / И.Б. Трофимова, А.В. Коралкина, Е.Н. Костянова // Вестн. дерматол. и венерол. - 2004. - № 6. - С. 33-36.
16. Шилов, В.Н. Псориаз - решение проблемы (этиология, патогенез, лечение) / В.Н. Шилов. - М., 2001. - 304 с.
17. Battinell, E. Nitric oxide induces apoptosis in megakaryocytic cell lines / E. Battinell, J. Loscalzo // Blood. - 2000. - Vol. 95. - P. 3451-3459.
18. Didier, C. L-arginine increases UVA cytotoxicity in irradiated human keratinocyte cell line: potential role nitric oxide / C Didier, N. Emonet - Piccardi, J.C. Beani [et al.] // FABES J. - 1999. - Vol. 13. - P. 1817-1824.
19. Krishel, V. Biphasic effect of exogenous nitric oxide on proliferation keratinocytes but not fibroblasts // J. Invest. Dermatol. - 1998. - Vol. 111. - P. 286-291.
20. Lee, M. Effect of overexpression of BCL-2 on cellular oxidative damage, nitric oxide production, antioxidant defenses and the proteasome / M. Lee, D.H. Hyun, K.A. Marschall // Free radical biology et medicine. - 2001. - Vol. 31(2). - P. 1550-1559.
21. Moncada, S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R. Palmer, E. Higgs // Pharmacol. Reviews. - 1991. - Vol. 43, № 2. - P. 109-143.
22. Mutevelic, A.N. Pathologic mechanisms in the development of psoriatic lesions / A.N. Mutevelic // Lijec. Vjesn. - 1992. - Vol. 114, № 9. - P. 296-300.
23. Veale, D. Immunopathology of psoriatic arthritis / D Veale, C. Ritchlin, O. Fitz Gerald // Ann. Rheum. Dis. - 2005. - Vol. 64 (Suppl. 2). - P. 26-29.

УДК 615.012. 1:547.857.4.057

© Ф.А. Халиуллин, Е.Э. Клен, С.А. Мещерякова, А.З. Саитгалина, Л.Ф. Багаутдинова

Ф.А. Халиуллин, Е.Э. Клен, С.А. Мещерякова, А.З. Саитгалина, Л.Ф. Багаутдинова
СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТИЕТАНСОДЕРЖАЩИХ
ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗОЛА И КСАНТИНА

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

Исследованы реакции 3,5-дибром-1-(тиетанил-3)-, 2,4-триазола и 8-бром-3-метил-7-(тиетанил-3)ксантина с тиогликолевой кислотой и синтезированы 2-(3-бром-1,2,4-триазолил-5-тио)- и 2-(3-метилксантинил-5-тио)уксусные кислоты, содержащие тиетановый цикл, реакцией нейтрализации которых щелочами и аминами получены различные соли. У некоторых соединений изучена антиоксидантная активность методом *in vitro*.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, 1,2,4-триазолы, ксантины, тиетан, тиогликолевая кислота, нуклеофильное замещение, реакция нейтрализации.