



Российский университет дружбы народов, кафедра кожных и венерических болезней факультета повышения квалификации медицинских работников

Современные представления о роли оксидативного стресса в процессе меланогенеза и возможности восстановления антиоксидантного баланса с помощью препаратов супероксиддисмутазы на примере Дисмутина (DISMUTIN-J PF)

В.А. Блюмина, О.А. Хаирова

Адрес для переписки: Валентина Арнольдовна Блюмина, amphitritae@gmail.com

Представлены современные данные литературы о влиянии окислительных процессов на механизмы меланогенеза и взаимосвязи оксидативных нарушений с биохимическими процессами, протекающими в коже при гипохромии. Приведен обзор применения экзогенной дисмутазы для коррекции оксидативного статуса кожи с нарушенным обменом меланина.

Ключевые слова: меланогенез, оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, защита от солнца, фотостарение, витилиго, супероксиддисмутаза, экстракт дрожжей

Введение

Меланогенез – это процесс образования меланина из тирозина с помощью ферментов тирозиназы и ДОФА-оксидазы. Меланосомы, гранулы, заполненные меланином, транспортируются в кератиноциты через ветвящиеся

отростки путем фагоцитоза. Меланоциты располагаются среди клеток базального слоя и имеют несколько отростков, которые могут удаляться на расстояние до 100 мкм от тела клетки до мембран отдельных кератиноцитов. Распределение меланоцитов и спо-

соб их ветвления в норме таковы, что почти каждая клетка базального слоя контактирует с их концевыми отделами. Имеет место и контакт отростков меланоцитов между собой. Образование меланосом и синтез в них меланинового пигмента – процессы независимые, поскольку у альбиносов, а также у больных витилиго в эпидермисе присутствуют меланоциты с меланосомами, не содержащие премеланин и меланин. Биосинтез меланина начинается на внутренних мембранах меланосом. Под действием тирозиназы (тирозингидролазы) тирозин превращается в L-ДОФА-хинон (L-диоксифенилаланин). Кроме того, тирозиназа очень чувствительна к ультрафиолету и ионам меди и кислорода. В дальнейшем последовательно протекают такие этапы:



1. ДОФА-хинон преобразуется в содержащий индольное кольцо ДОФА-хром.

2. Ферменты ДОФА-хром-таутомераза и ДНІСА-оксидаза превращают ДОФА-хром в 5,6-дигидроксииндол-2-карбоновую кислоту (5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid – ДНІСА).

3. Заключительный этап синтеза – полимеризация 5,6-дигидроксииндол-2-карбоновой кислоты (ДНІСА) с образованием коричневого ДНІСА-меланина, содержащего от 100 до 1000 мономеров ДНІСА. Для этой реакции необходимо присутствие цинка и кислорода.

4. ДОФА-хром может также превращаться в 5,6-дигидроксииндол (5,6-dihydroxyindole, ДНІ). Продуктом окислительной полимеризации ДНІ является черный или коричневый ДНІ-меланин (эумеланин), содержащийся в коже и волосах. Он нерастворим в органических растворителях и устойчив к химической обработке. Таким образом, физиологический меланогенез невозможен без тирозина, молекулярного кислорода, ионов меди и цинка [1].

Регуляция меланогенеза

Медиаторы нервной системы – катехоламины влияют на гипоталамус, который в свою очередь стимулирует промежуточную долю гипофиза к выработке меланостимулирующего гормона (МСГ). Установлено, что МСГ могут продуцировать сами кератиноциты под воздействием ультрафиолета и других факторов (воспаление, травмы). На меланогенез оказывают влияние гормоны надпочечников, щитовидной и половых желез, а также стресс, химические и физические факторы (нервные окончания вырабатывают нейропептиды, стимулирующие меланогенез).

Функции меланина

Классическая структура меланина – длинноцепочечный полимер. Это определяет его барьерную защитную функцию. В литера-

туре упоминается о том, что меланины, синтезируемые в организме человека, участвуют в ликвидации любого стрессового воздействия и являются составной частью иммунной системы организма. Меланин дезактивирует свободные радикалы, возникающие после облучения организма ультрафиолетом и ионизирующим излучением, а также в результате ряда ферментативных процессов и реакций аутоокисления; катализирует многие биохимические процессы; обладает ионообменными свойствами.

Основная функция меланина заключается в том, чтобы регулировать количество ультрафиолетового (УФ) излучения, проникающего в кожу. Спектр поглощения меланина перекрывает весь диапазон видимого света и УФ-диапазона. При поглощении квантов света часть энергии меланин превращает в тепло, а часть расходует на фотохимические реакции. Меланин и его предшественники могут окисляться, полимеризоваться, а также продуцировать свободные радикалы кислорода, которые повреждают клетку. Из-за способности меланина генерировать активные формы кислорода его называют обоюдоострым мечом кожи [2].

Дефицит меланина и оксидантный стресс

В данном обзоре мы решили сделать акцент на пациентах с гипохромиями, в частности с витилиго. Больные витилиго составляют 0,5–4% всего населения земного шара. Это около 40 млн человек [3]. Существуют различные классификации витилиго. В большинстве из них в качестве критериев используются распространенность и локализация очагов депигментации. Согласно классификации J.P. Ortonne витилиго подразделяется на локализованное, генерализованное и универсальное.

Локализованные формы:

- фокальная (одно или несколько пятен на отдельном участке

кожного покрова, не составляющем сегмента);

- сегментарная (одно пятно или более в пределах сегмента);

- витилиго слизистых оболочек.

Генерализованные формы:

- акрофациальная (с поражением дистальных отделов конечностей и лица);

- вульгарная (с появлением симметричных множественных депигментированных пятен на различных участках кожи);
- смешанная.

Универсальная форма имеет место, когда пигмент отсутствует на площади, превышающей 80% общей площади кожного покрова. В настоящее время нет четких критериев активности витилиго. Согласно оценке по шкале VIDA (Vitiligo disease activity), предложенной D. Njoo и соавт. (1999) [4], за прогрессирование витилиго принимается увеличение существующих очагов депигментации или возникновение новых в течение последнего года. Отсутствие роста и появления пятен в течение более 1 года – характерные признаки стабильного течения витилиго.

В патогенезе заболевания особое значение имеют генетические факторы. Установлен аутосомно-рецессивный тип наследования, обусловленный отсутствием в меланоцитах и меланосомах фермента тирозиназы.

Существует множество теорий этиологии витилиго. В исследованиях показано, что общим для всех групп пациентов с витилиго является повышение активности перекисного окисления липидов, что приводит к накоплению гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в крови. Выявлены изменения и среди ферментов антиоксидантной системы, контролирующей уровень активных форм кислорода. У пациентов с витилиго установлено также снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы [5]. Ряд авторов подтверждают снижение активности этих экзогенных ферментов при различных патологических процессах [6, 7].



Коррекция активности супероксиддисмутазы

Применение препаратов на основе СОД апробировано многими авторами. В лечении пигментной ксеродермы такие препараты оказывали восстанавливающее действие на структуру кератиноцитов [8], *in vitro* стимулировали метаболизм фибробластов и действовали на свободные радикалы, оказывая нейтрализующее действие на супероксид-ион. *In vivo* препараты способствуют детоксикации и стимулируют общий метаболизм в клетках [9]. DISMUTIN BT защищает от свободных радикалов, обладает противовоспалительным действием и замедляет перекисное окисление липидов, устраняет из цепи супероксидные радикалы, не повреждается в ходе реакции и в комплексной терапии показал хорошие результаты в лечении пациентов с витилиго [8].

В 2009 г. было объявлено о выделении новой модификации СОД, получившей название DISMUTIN-J PF, признанной одним из самых быстродействующих и наиболее стабильных природных ферментов. DISMUTIN-J PF был разработан для снижения числа кислородных радикалов в коже при УФ-излучении и других стрессовых воздействиях. Высокая эффективность фермента была продемонстрирована в исследованиях *in vitro* и *ex vivo*. Препарат DISMUTIN-J PF представляет собой водный раствор высокоочищенного фермента, полученного биотехнологическим путем из природного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [10].

Материалы и методы исследования

УФ-излучение и частый контакт с химическими загрязнителями, такими как озон, приводят к избыточному образованию свободных кислородных радикалов в коже. Они разрушают мембраны путем окисления ненасыщенных жирных кислот и белков,

а также вызывают деполяризацию и образование перекрестных связей биополимеров. Это провоцирует возникновение острых состояний, таких как эритема, гиперпролиферация, шелушение и хроническое раздражение кожи с общим повреждением коллагена, что вместе с депонированием эластина в дерме приводит к преждевременному старению кожи.

Собственная защитная система кожи основана на действии СОД. Эндогенные СОД в большом количестве обнаружены в роговом слое. Присутствуют они и в дерме. При фотостарении кожи значительно снижается содержание эндогенного фермента в роговом слое и эпидермисе (D. Sanders и соавт., 2002) (рис. 1) [10].

В данных ситуациях считается обязательной заместительная терапия экзогенным СОД с помощью косметических препаратов. При нанесении на кожу супероксиддисмутазы способна проникать в неповрежденный роговой слой и достигать верхних слоев эпидермиса, что было показано с помощью флуоресцентных меток FITC (I. Emerit и соавт., 1997). Данные литературы, как и информация разработчиков, подтверждают защитный эффект DISMUTIN-J PF при местном применении против УФ-индуцированного повреждения кожных покровов, что проявляется в способности компенсировать отсутствие эндогенной СОД и восстанавливать антиоксидантный гомеостаз кожи. Антиоксидательный эффект DISMUTIN-J PF изучали

при воздействии свободного кислорода на раствор гиалуроновой кислоты. Защитный эффект DISMUTIN-J PF против перекисного окисления липидов был испытан при УФ-облучении кожи предплечья добровольцев [10].

Результаты и обсуждение

Защита гиалуроновой кислоты от свободных кислородных радикалов

Защитный эффект DISMUTIN-J PF изучали при экспозиции гиалуроновой кислоты в системе, генерировавшей свободный кислород (гипоксантин/ксантинооксидазы). Последствия атаки свободных радикалов определяли путем измерения снижения вязкости раствора гиалуроновой кислоты. DISMUTIN-J PF показал дозозависимую способность защищать данный биополимер от деполимеризации. Концентрация 100 ЕД/мл на протяжении 50 часов сохраняла вязкость раствора гиалуроновой кислоты на уровне, близком к уровню контрольной группы (без обработки активным кислородом) (рис. 2) [10].

Защита кожи от УФ-индуцированной липопероксидации

Защитный эффект препарата DISMUTIN-J PF против перекисного окисления липидов в коже был испытан при ультрафиолетовом облучении (УФО) кожи предплечья добровольцев. Образование липидного пероксида измерялось с помощью хемилуминесценции. В отличие от группы плацебо и группы без нанесения препарата в группе, где применяли DISMUTIN-J PF,

DISMUTIN BT защищает от свободных радикалов, обладает противовоспалительным действием и замедляет перекисное окисление липидов, устраняет из цепи супероксидные радикалы, не повреждается в ходе реакции и в комплексной терапии показал хорошие результаты в лечении пациентов с витилиго.



наблюдалось существенное ингибирование дополнительного перекисного окисления на фоне УФ-излучения. В группах без нанесения препарата и с нанесением нейтрального геля имел место высокий уровень хемилюминесценции. Группа с защитой экзогенным СОД показала после УФО такой же низкий уровень люминесценции, как и группа добровольцев, не получавших местного средства и УФО (рис. 3) [10].

DISMUTIN-J PF защищает кожу от вредного воздействия свободных радикалов кислорода, образующихся под воздействием УФ-излучения или других факторов окружающей среды, таких как озон. Экзогенный фермент помогает отсрочить преждевременное старение кожи, вызванное воздействием солнечного излучения. Проявлениями такого фотостарения становятся сухость, образование морщин и пигментных пятен, потеря эластичности. DISMUTIN-J PF также облегчает симптомы раздражения кожи, то есть обладает как защитной, так и профилактической активностью. В связи с этим DISMUTIN-J PF должен быть рассмотрен для включения в новые формулы продуктов защиты от солнца, неблагоприятного воздействия факторов внешней среды, в состав продуктов для восстановления кожи после пребывания на солнце и в состав средств, стабилизирующих окислительные процессы в коже [10].

Лечение витилиго на основе коррекции перекисного окисления липидов

Ускорения окисления L-ДОФА для усиления синтеза меланина достигают путем воздействия фотосенсибилизаторов совместно с УФ-А-облучением (ПУВА-терапия) или специфических альфа-липопротеинов плацентарного экстракта, а также за счет восполнения недостатка в коже микроэлементов – ионов меди и кальция; требуется уменьшение содержания в коже

пероксид-ионов – нанесение на поврежденные участки дополнительного количества каталазы и антиоксидантов; стимуляция пролиферации и миграции меланоцитов – нанесение экстракта плаценты, содержащего глико-сфинголипиды и эндотелин, экстракта плодов черного перца, содержащего пиперин, гиалуронатов. Особенность витилиго заключается в том, что течение заболевания зависит от психоэмоционального состояния больных. Поэтому среднестатистическая эффективность медикаментозного лечения витилиго составляет 30–40% [11]. Описано применение витаминов (РР, В₆, В₁₂), фурукумариновых соединений, седативных и пероральных антиоксидантных препаратов [3] в комплексе с УФО. Часто рекомендуются маскирующие декоративные средства.

Сочетание указанных принципов местной терапии было апробировано на основе гидрополимерного геля Витискин (Vitiskin, ISIS, Швейцария) в университетской клинике г. Безансон, Франция, в 2007 г. [8]. В состав геля для наружного применения входят СОД, цинк, медь, пантотенат кальция и витамин В₁₂. Применение экзогенной дисмутазы защищает кожу больных витилиго от свободных радикалов, подавляет избыточное перекисное окисление липидов и оказывает противовоспалительное действие. Микроэлементы цинк и медь защищают кожу от окислительных повреждений. Кроме того, медь является важным кофактором тирозиназы и способствует синтезу нового меланина. Пантотенат кальция необходим для усвоения меди и совместно с витамином В₁₂ участвует в синтезе меланина. Назначенное лечение в комбинации с УФО-терапией в 83% случаев привело к умеренному улучшению течения витилиго – прогрессированию равномерной репигментации. У 17% пациентов исследование было завершено со значительным улучшением

Применение экзогенной дисмутазы защищает кожу больных витилиго от свободных радикалов, подавляет избыточное перекисное окисление липидов и оказывает противовоспалительное действие.

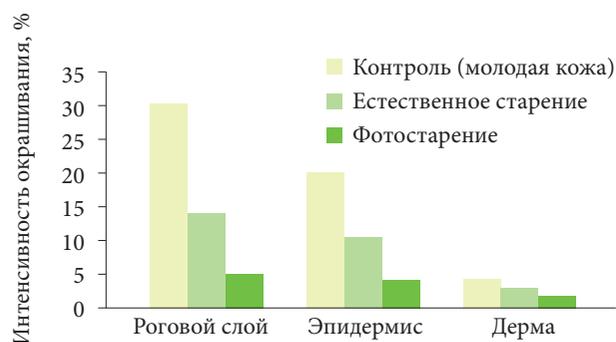


Рис. 1. Уровни СОД в коже пациентов разного возраста

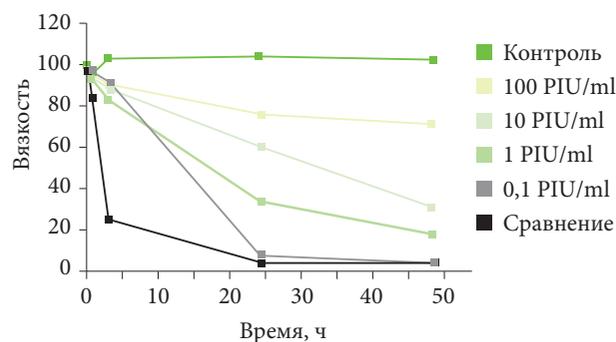


Рис. 2. Изменение вязкости гиалуроновой кислоты в зависимости от концентрации СОД

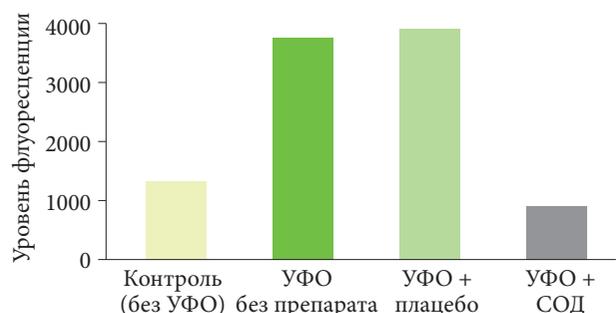


Рис. 3. Образование липидного пероксида под воздействием УФО



(курс лечения 10 недель в сочетании с УФО-терапией) [7].

Сейчас выдвигаются новые требования к составу косметических средств. В частности, в связи с онкологической настороженностью рекомендуется не включать в них такие компоненты, как парабены [12, 13]. С учетом этой тенденции удалось стабилизировать фермент супероксиддисмутазу без использования парабенов. Новая молекула была классифицирована как DISMUTIN-J PF и рекомендована для включения

в состав лечебных косметических средств как экстракт дрожжей (*yeast extract*) [10].

Заключение

Несмотря на сохранение клинического интереса к нарушениям обмена меланина и достаточно глубокую изученность этих процессов на биохимическом и молекулярном уровнях, эффективных способов коррекции гипохромии, в частности витилиго, не существует. Теория оксидантного стресса и изучение процессов перекис-

ного окисления липидов заставляют внимательно относиться к местным методам терапии, стабилизирующим окислительные процессы в коже. Высокая клиническая эффективность фермента супероксиддисмутазы, выделенного из экстракта дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, позволяет рекомендовать его вместе с микроэлементами медью и цинком, витамином B₁₂ и пантотеном кальция в составе препаратов для лечения пациентов с витилиго. ●

Литература

1. Барбой В.А. Структура, биосинтез меланоцитов, их биологическая роль, перспективы применения // Успехи современной биологии. 2000. № 117. С. 86–92.
2. Нетруненко И., Игнатъев Д. Гиперпигментация: проблемы и пути решения // <http://www.consilium-medicum.com/article/17803>.
3. Махнева Н.В., Чистякова Т.В., Спицина Е.Г. К вопросу о лечении витилиго // Международный журнал экспериментального образования. 2012. № 7. С. 83.
4. Njoo M.D., Westerhof W., Bos J.D. et al. The development of guidelines for the treatment of vitiligo. Clinical Epidemiology Unit of the Istituto Dermatologico dell'Immacolata-Istituto di Recovero e Cura a Carattere Scientifico (IDI-IRCCS) and the Archives of Dermatology // Arch. Dermatol. 1999. Vol. 135. № 12. P. 1514–1521.
5. Исмаилов Р.Г. Состояние компонентов системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной системы у больных витилиго // Мир медицины и биологии. 2011. № 4. С. 89–90.
6. Земченкова О.В., Артюхов В.Г., Башарина О.В. и др. Активность Ca²⁺АТФ-азы плазматических мембран фотомодифицированных лимфоцитов в присутствии ферментов антиоксидантной защиты // Вестник ВГУ. Химия. Биология. Фармация. 2011. № 2.
7. Камбачокова З.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных рецидивирующим генитальным герпесом // Журнал инфектологии. 2011. Т. 3. № 2. С. 63–68.
8. Humbert P. Vitiligo en tant que complement de soin a un traitement UVB ameliorer les plaques de vitiligo dans le schema theurapeutique ou l'application est associee aux UVB pendant 10 semaines // Nouv. Dermatol. 2008. № 27. P. 410–412.
9. Chambon S. Sobediol, un produit complet pour la prevention du vieillissement de la peau. Материалы франко-британского симпозиума по вопросам старения кожи. Blois, 1990.
10. База данных Impag AG, 2009. www.impag.ch.
11. Зараева Г.А., Щелочков А.В. Препараты на основе гиалуроновой кислоты в комплексном лечении витилиго и псориаза // Вестник новых медицинских технологий. 2007. Т. XIV. № 4. С. 138–140.
12. Kirchhof M.G., de Gannes G.C. The health controversies of parabens // Skin Therapy Lett. 2013. Vol. 18. № 2. P. 5–7.
13. Cowan-Ellsberry C.E., Robison S.H. Refining aggregate exposure: example using parabens // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2009. Vol. 55. № 3. P. 321–329.

Modern approaches for the oxidative stress role in melanogenesis and antioxidant balance normalization capabilities with superoxide dismutase preparation, DISMUTIN-J PF

V.A. Blyumina, O.A. Khairova

Department of skin sexually transmitted diseases for postgraduate education faculty of Peoples' Friendship University of Russia

Contact person: Valentina Arnoldovna Blyumina, amphitritae@gmail.com

The article gives modern literature data for impact of oxidative reactions to melanogenesis mechanisms, correlation of oxidative disorders with the biochemical processes in the skin with hypochromia. Shows an overview of exogenous dismutase usage for skin oxidative status correction in melanin metabolism disorders.

Key words: melanogenesis, oxidative stress, lipid peroxidation, sun protection, photoaging, vitiligo, superoxide dismutase, yeast extract