

ОЦЕНКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ И ТЯЖЕСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ АКНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ IN VIVO ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ

С. Р. Утц — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующий кафедрой кожных и венерических болезней, профессор, доктор медицинских наук; **Л. Е. Долотов** — ФГБОУ ВПО Саратовский ГУ им. Н. Г. Чернышевского старший преподаватель кафедры оптики и биофотоники; **Ю. П. Синичкин** — ФГБОУ ВПО Саратовский ГУ им. Н. Г. Чернышевского, профессор кафедры оптики и биофотоники, доктор физико-математических наук; **Е. М. Галкина** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра кожных и венерических болезней, ассистент; **И. О. Каткова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра кожных и венерических болезней, клинический ординатор.

ASSESSMENT OF THE PREVALENCE AND SEVERITY OF THE PATHOLOGICAL PROCESS IN PATIENTS WITH ACNES WITH THE USE OF IN VIVO FLUORESCENCE DIAGNOSTICS

S. R. Utz — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Skin and Venereal Diseases, Professor, Doctor of Medical Science; **L. E. Dolotov** — Saratov State University n.a. N. G. Chernishevsky, Senior Lecturer, Department of Optics and Biophotonics; **U. P. Sinichkin** — Saratov State University n.a. N. G. Chernishevsky, Professor, Doctor of Physics and Mathematical Sciences Department of Optics and Biophotonics; **E. M. Galkina** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Skin and Venereal Diseases, Assistant; **I. O. Katkova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Skin and Venereal Diseases; Attending Physician.

Дата поступления — 01.06.2012 г.

Дата принятия в печать — 12.06.2012 г.

Утц С. Р., Долотов Л. Е., Синичкин Ю. П., Галкина Е. М., Каткова И. О. Оценка распространенности и тяжести патологического процесса у больных акне с использованием in vivo флуоресцентной диагностики // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т. 8, № 2. С. 668–671.

Цель: изучение флуоресценции эндогенных порфиринов кожи у пациентов с акне. **Материал и методы.** Были отобраны 20 пациентов с акне I–II степени тяжести. **Основной методикой исследования** являлась селективная колориметрия биотканей с использованием электронного фотографического устройства. Съемка производилась с использованием нескольких светофильтров. Получали синтезированные изображения областей с повышенной флуоресценцией, а затем производили совмещение этих областей с исходным изображением. **Обработка** полученных изображений проводилась в программе ImageJ. **Результаты.** У обследованных пациентов до начала лечения выявлено интенсивное красное свечение в области акне-элементов. При работе с оранжевым светофильтром получали наиболее информативные фотографии. **Заключение.** Данный метод определения количественного состава P. acnes является неинвазивным и высокоточным.

Ключевые слова: акне, Propionibacterium acnes, эндогенные порфирины, флуоресценция, электронное фотографическое устройство.

Utz S. R., Dolotov L. E., Sinichkin U. P., Galkina E. M., Katkova I. O. Assessment of the prevalence and severity of the pathological process in patients with acnes with the use of in vivo fluorescence diagnostics // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2012. Vol. 8, № 2. P. 668–671.

Aims. The present research aimed the study of the fluorescence of endogenous porphyrins of the skin in patients with acne. **Material and methods.** 20 patients with acne of 1–2 degrees of severity were selected. The main research methodology was a selective colorimetry of tissues with using an electronic photographic devices. The research was led with the use of multiple filters. Image areas were synthesized with high fluorescence, and then a combination of these areas with the source image was produced. The images were processed in ImageJ. **Results.** The examined patients has revealed intensive red glow in the field of acne-elements before treatment. After the work with an orange filter pictures were more informative. The study suggests that the chosen method for identification of quantitative composition of P. acnes appears to be noninvasive and highly efficient.

Key words: acne, Propionibacterium acnes, endogenous porphyrins, fluorescence, electronic photographic device.

Введение. Акне — хроническое, рецидивирующее полиморфное, мультифакториальное заболевание сальных желез и волосяных фолликулов, являющееся результатом гиперпродукции кожного сала и закупорки гиперплазированных сальных желез с последующим их воспалением, встречающееся у 80% подростков и лиц молодого возраста. По данным исследования J. Leyden, 85% лиц страдают акне в возрасте от 12 до 24 лет, 8% — в возрасте от 25 до 34 лет, 3% — от 35 до 44 лет. По данным Д. Элинга, в пубертатном периоде acne vulgaris развиваются у 100% мальчиков и у 90% девочек [1]. Развитие и течение дерматоза зависит от семейной (генетической) предрасположенности, его клинической формы, а также типа и цвета кожи. Имеются данные о наличии у больных акне ядерного R-фактора, определяющего генетическую предрасположенность, которой можно объяснить развитие у одних людей тяжелых, а у других легких форм заболевания. В связи с этим важной

в прогностическом отношении является ранняя диагностика, правильная клиническая оценка, своевременное назначение эффективных безопасных методов лечения.

Согласно современным представлениям возникновение и развитие акне происходит на фоне нескольких взаимосвязанных патогенетических механизмов. Инициальным звеном является наследственно обусловленная гиперандрогения, что обуславливает увеличение количества мужских половых гормонов или повышенную чувствительность андрогенных рецепторов клеток сальных желез к производным тестостерона. Андрогенная стимуляция функции сальных желез приводит к повышенной продукции кожного сала и изменению ее состава. Далее под влиянием повышенного содержания филлагрина в клетках зернового слоя, на фоне избыточной продукции сального секрета развивается фолликулярный гиперкератоз. И наконец, особое значение в этой цепочке имеет активация условно-патогенной флоры сально-волосяных фолликулов и снижение бактерицидности [2, 3]. Ключевым механизмом в за-

Ответственный автор — Галкина Екатерина Михайловна.
Адрес: г. Саратов, пр.50 лет Октября, д. 79, кв. 41.
Тел.: 8-917-207-82-10.

пуске воспалительных изменений при этом является размножение *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*). Реагируя на продуцируемые микроорганизмами хемотаксические факторы, полиморфоядерные лейкоциты устремляются в фолликул, повреждая его стенки. Содержимое фолликула изливается в окружающие ткани, инициируя воспалительную реакцию, которая и обуславливает клиническую картину, проявляющуюся в появлении папул, пустул, узлов и кист. Чаше высыпания локализуются в так называемых «себорейных» зонах (лицо, волосистая часть головы, область груди и плеч, паховая область и область ягодиц) [4].

P. acnes являются медленно растущими анаэробными бактериями, они обычно не способны повреждать сальную железу, так как конечные продукты метаболизма бактерий выводятся с выходящим кожным салом. Продуктом нормальной жизнедеятельности данного вида бактерий являются эндогенные порфирины (копропорфирин 3), обладающий выраженными фотосенсибилизирующими свойствами. Порфирины — природные азотсодержащие пигменты, входят в состав небелковой части молекулы, которые под воздействием света превращаются в различные химические вещества. О количественном составе микрофлоры у больных с акне можно судить по увеличению уровня флуоресценции на определенном участке кожного покрова. Высокие концентрации эндогенных порфиринов в областях пораженной кожи, обсемененных *P. acnes*, приводят к увеличению уровня флуоресценции по сравнению с этими же показателями, характерными для нормальной кожи [5].

Целью нашего исследования стало определение наличия корреляции между флуоресценцией красного цвета области высыпаний и количеством колоний *P. acnes*.

Для оценки степени распространенности акне мы применили метод, в основе которого лежит анализ флуоресценции эндогенных порфиринов. Содержащиеся в коже порфирины поглощают свет в спектральном диапазоне вблизи 405 нм и имеют характерную флуоресценцию в области 620–700 нм.

Метод реализован в установке для *in vivo* селективной колориметрии биотканей «Селкол», в состав которой входят осветитель и регистрирующее устройство, представляющее собой цифровой фотоаппарат, сопряженный с персональным компьютером (рис. 1).



Рис. 1. Установка для *in vivo* селективной колориметрии биотканей

Осветитель представляет собой рефлектор сферической формы, в котором размещены 112 светоизлучающих диодов с длиной волны излучения 405 нм, попадающей в полосу поглощения порфиринов (рис. 2). Рефлектор обеспечивал равномерное освещение участка поверхности кожи размером 110 мм, при этом оптимальное расстояние его от поверхности кожи 160–180 мм. Плотность мощности возбуждающего излучения составляла 9 мВт/см². Перед объективом фотоаппарата закреплялся светофильтр, отсекающий возбуждающее излучение, в результате чего регистрировалось пространственное распределение флуоресценции в диапазоне 620–700 нм (рис. 3).

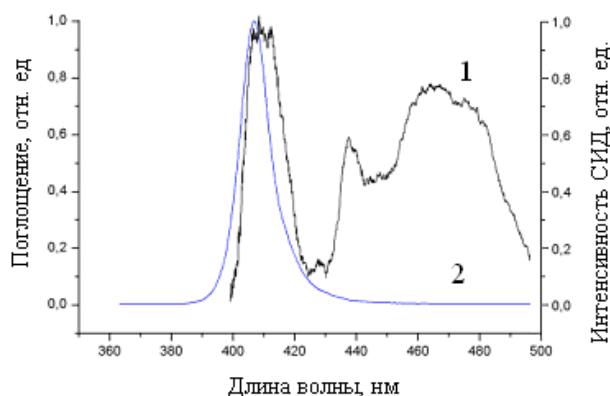


Рис. 2. Спектры поглощения порфиринов (1) и излучения светодиода (СИД) (2)

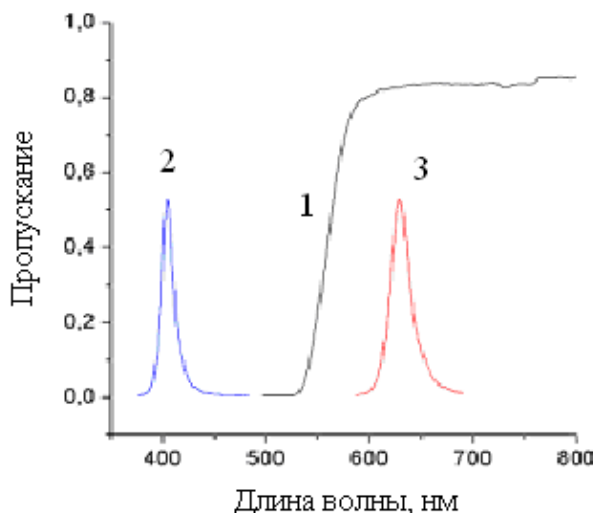


Рис. 3. Спектр пропускания светофильтра (1) и спектры возбуждения (2) и флуоресценции (3) порфиринов

Съёмка проводилась через желтый ЖС-17, оранжевый ОС-14 или красный КС-10 светофильтры, а также без их использования (рис. 4). Для исследования нами были отобраны 20 пациентов с акне I–II степени тяжести (степень тяжести определялась на основе американской классификации акне G. Plevig, M. Kligman). Данные пациенты до исследования не получали наружного лечения топическими антибактериальными препаратами и ретиноидами в течение 14 дней до проведения исследования, также они не принимали системные ретиноиды в течение последних двух лет, не принимали системные антибактериальные препараты в течение последних трех

месяцев, не использовали наружно косметические средства в течение недели. Эти условия были необходимы для того, чтобы определить флуоресценцию, характерную непосредственно для *P. acnes* [6].

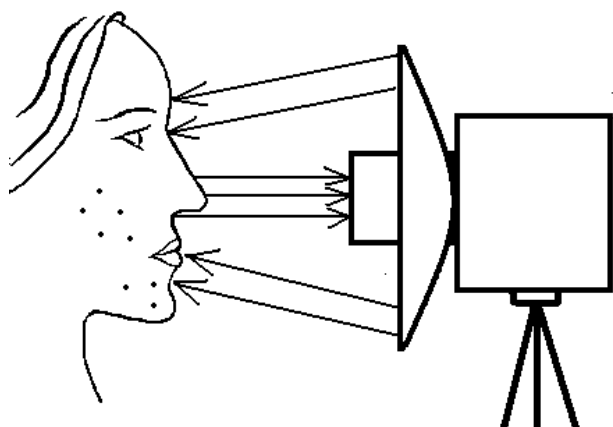


Рис. 4. Схема получения изображений с помощью электронного фотографического устройства

Результаты. Нами исследовалась «себорейная» зона лица (Т-зона) и зоны с наибольшим количеством высыпаний.

На рис. 5 приведены образцы исходных изображений, полученные с использованием оранжевого (а) и красного (б) светофильтров. При этом было выявлено интенсивное красное свечение в области высыпаний, что свидетельствовало о наличии колоний *P. acnes* в данной области кожного покрова. Обработка полученных изображений проводилась в программе ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>) в ручном режиме для определения оптимального алгоритма. Сравнение результатов обработки привело к выбору следующего алгоритма:

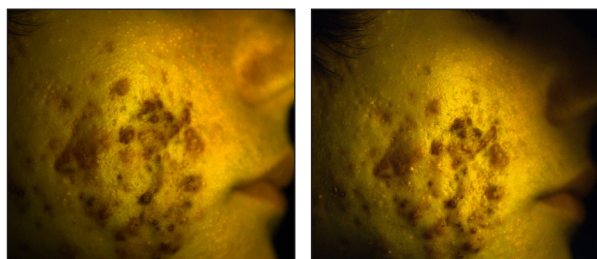


Рис. 5. Фотографии флуоресценции кожного покрова, выполненные за оранжевым (а) и красным (б) фильтрами

— преобразование изображения из цветового пространства sRGB (исходное после цифрового проявления снимков) в цветовое пространство CIE Lab;

— синтез изображения по параметру chroma, который определяется следующим образом:

$$chroma = \sqrt{a^2 + b^2},$$

где a и b — соответствующие компоненты цветового пространства CIE Lab;

— выбор среднего значения параметра chroma, характерного для флуоресцентного свечения;

— определение верхнего и нижнего порогов параметра chroma для сегментации областей флуоресцентного свечения;

— определение порога бинаризации синтезированного изображения для установления площади флуоресцентного свечения и соответственно площади поражения;

— получение совмещенного изображения.

Результаты обработки изображений показаны на рис. 5. На рис. 6а представлено синтезированное изображение областей с повышенной флуоресценцией (в условных цветах), на рис. 6б — совмещение этих областей с исходным изображением (рис. 5а).

По результатам обработки полученных изображений сделан вывод, что наиболее информативными являются те фотографии, которые были выполнены при использовании оранжевого светофильтра. Это объясняется следующим образом: данный фильтр полностью пропускает световой поток в диапазоне длин волн свыше 575 нм, что характерно для флуоресценции акне-элементов.

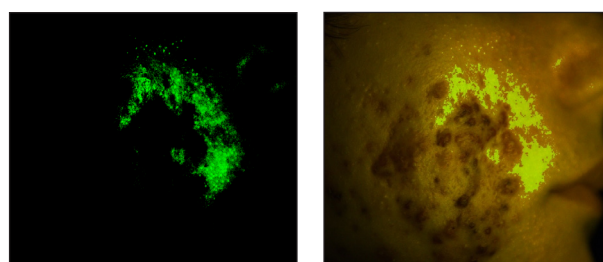


Рис. 6. Результаты цифровой обработки изображений: а) выделенные области флуоресцентного свечения, б) совмещение исходного изображения с выделенными областями

Для подтверждения обоснованности наших исследований мы провели флуоресцентный анализ колоний *P. acnes* с образцов микрофлоры пораженной кожи. Сравнение данных образцов при дневном свете и при флуоресцентном анализе демонстрирует эффективность системы флуоресцентной фотографии в определении областей, заселенных колониями *P. acnes* [7]. Результаты представлены на рис. 7.

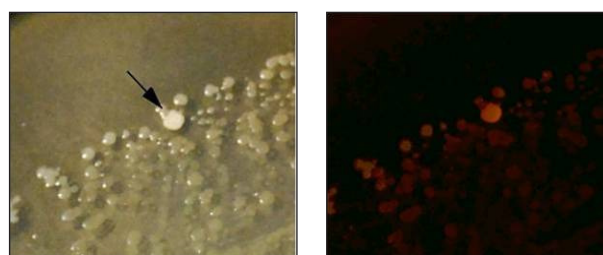


Рис. 7. Фотографии образцов микрофлоры: а) образец при дневном свете, б) тот же образец при флуоресцентном анализе

Обсуждение. Изложенные данные согласуются с целым рядом исследований, проводимых иностранными авторами. В частности, наши данные совпадают с результатами Sang Woong Youn et al. [5]. Однако в их работе говорится о влиянии на интенсивность красной флуоресценции количества и состава кожного сала [6]. Это исследование проводилось для определения зависимости степени тяжести акне, а значит, количества акне-элементов и *P. acnes* и интенсивности красной флуоресценции от уровня pH поверхности кожи (SSPH) и количественного и качественного состава

кожного сала. Проанализировав значения всех этих данных, можно сделать вывод, что флуоресценция эндогенных порфиринов напрямую зависит от количества Р. аспес, однако необходимо учитывать и другие функциональные показатели кожи.

Заключение. Метод селективной колориметрии биотканей с использованием электронного фотографического устройства является неинвазивным, способствует более точной, объективной, индивидуальной оценке поражения кожи у пациентов с акне [8] и служит важным дополнением к стандартной схеме диагностики данного дерматоза. Данная методика позволяет измерять пространственное распределение флуоресценции эндогенных порфиринов кожи *in vivo*, что делает возможным соотносить степень активности кожного процесса при акне с количественным распределением Р. аспес в области высыпаний.

Конфликт интересов. Статья написана в рамках диссертационного исследования «Патологическое обоснование фототерапии синим светом 405 нм в комплексном лечении акне» на соискание ученой степени Галкиной Е. М.

Библиографический список

1. New insights into the management of acnes: an update from the Global Alliance to improve outcomes in acnes group / D. Thiboutot, H. Gollnick, V. Betolli [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009 № 60. Suppl. 5. P. 1–50.
2. Webster G.F. Acnes vulgaris // *Br. J. Dermatol.* 2002. № 325. P. 475–479.
3. Самцов А. В. Акне и акнеформные дерматозы. М., 2009. С. 13–22, 23–40.
4. Полонская Н. А. Современные представления об этиологии и патогенезе вульгарных угрей: общие подходы к терапии // *Materia Medica.* 2001. Т. 3, № 31. P. 67–7.
5. The facial red fluorescence of ultraviolet photography: is this color due to Propionibacterium acnes or the unknown content of secreted sebum? / Sang Woong Youn, Jun Hyung Kim, Jai Eun Lee [et al.] // *Skin Research and Technology.* 2009. № 15. P. 230–236.
6. McGinley K. J., Webster G. F., Leyden J. J. Facial follicular porphyrin fluorescence: correlation with age and density of Propionibacterium acnes // *Br. J. Dermatol.* 1980. № 102. P. 437–441.
7. Lee W. S., Shalita A. R., Poh-Fitzpatrick M. B. Comparative studies of porphyrin production in Propionibacterium acnes and Propionibacterium granulosum // *J. Bacteriol.* 1978. № 133. P. 811–815.
8. Rizova E., Pagnoni P. A., Stoudemayer T., Poncet M., Kligman A. M. Polarized light photography and videomicroscopy greatly enhance the capability of estimating the therapeutic response to a topical retinoid (adapalene) in acnes vulgaris // *Cutis.* 2001. № 68 (Suppl. 4). P. 25–33.

Translit

1. New insights into the management of acnes: an update from the Global Alliance to improve outcomes in acnes group / D. Thiboutot, H. Gollnick, V. Betolli [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009 № 60. Suppl. 5. R. 1–50.
2. Webster G.F. Acnes vulgaris // *Br. J. Dermatol.* 2002. № 325. R. 475–479.
3. Самцов А. В. Акне и акнеформные дерматозы. М., 2009. С. 13–22, 23–40.
4. Полонская Н. А. Современные представления об этиологии и патогенезе вульгарных угрей: общие подходы к терапии // *Materia Medica.* 2001. Т. 3, № 31. R. 67–7.
5. The facial red fluorescence of ultraviolet photography: is this color due to Propionibacterium acnes or the unknown content of secreted sebum? / Sang Woong Youn, Jun Hyung Kim, Jai Eun Lee [et al.] // *Skin Research and Technology.* 2009. № 15. R. 230–236.
6. McGinley K. J., Webster G. F., Leyden J. J. Facial follicular porphyrin fluorescence: correlation with age and density of Propionibacterium acnes // *Br. J. Dermatol.* 1980. № 102. R. 437–441.
7. Lee W. S., Shalita A. R., Poh-Fitzpatrick M. B. Comparative studies of porphyrin production in Propionibacterium acnes and Propionibacterium granulosum // *J. Bacteriol.* 1978. № 133. R. 811–815.
8. Rizova E., Pagnoni P. A., Stoudemayer T., Poncet M., Kligman A. M. Polarized light photography and videomicroscopy greatly enhance the capability of estimating the therapeutic response to a topical retinoid (adapalene) in acnes vulgaris // *Cutis.* 2001. № 68 (Suppl. 4). R. 25–33.