

RAPID COMMUNICATION: A VEGETABLE OIL EXTRACT RESTORES REDOX STATUS IN FIBROBLASTS FROM PSORIATIC PATIENTS

V. BARYGINA¹, M. BECATTI¹, A. MANNUCCI¹, N. TADDEI¹, M. TIRANT²,
J. HERCOGOVA^{3,4}, K. FRANÇA⁵, M. FIORANELLI⁶, M.G. ROCCIA⁷, G. TCHERNEV⁸,
U. WOLLINA⁹, T. LOTTI¹⁰ and C. FIORILLO¹

¹*Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences, University of Florence, Florence Italy;* ²*Psoriasis & Skin Clinic, Melbourne, Australia;* ³*2nd Medical Faculty, Charles University, Bulovka Hospital,* ⁴*Institute of Clinical and Experimental Medicine, Prague Czech Republic;* ⁵*Department of Dermatology & Cutaneous Surgery, Department of Psychiatry & Behavioral Sciences, Institute for Bioethics & Health Policy, University of Miami, Miller School of Medicine, Miami, FL, USA;* ⁶*Department of Nuclear Physics, Sub-nuclear and Radiation, G. Marconi University, Rome, Italy;* ⁷*University B.I.S. Group of Institutions, Punjab Technical University, Punjab, India;* ⁸*Medical Institute of Ministry of Interior (MVR), Department of Dermatology, Venereology and Dermatologic Surgery, Sofia, Bulgaria;* ⁹*Department of Dermatology and Allergology, Academic Teaching Hospital Dresden-Friedrichstadt, Dresden, Germany;* ¹⁰*Chair of Dermatology, University of Rome "G. Marconi" Rome, Italy*

Barygina and Becatti contributed equally to this work.

Psoriasis is an inflammatory skin disease that affects 2-5% of the worldwide population. It is a chronic immune-mediated hyperproliferative inflammatory skin disease of unknown etiology, characterized by the appearance of sore patches of thick, red skin with silvery scales.

Mailing address:

Dr. Victoria Barygina, PhD,
Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences,
University of Florence,
Florence Italy
e-mail: v.barygina@gmail.com

129(S3)

0393-974X (2016)

Copyright © by BIOLIFE, s.a.s.
This publication and/or article is for individual use only and may not be further reproduced without written permission from the copyright holder.
Unauthorized reproduction may result in financial and other penalties
DISCLOSURE: ALL AUTHORS REPORT NO CONFLICTS OF INTEREST RELEVANT TO THIS ARTICLE.

**THÔNG TIN NHANH: MỘT CHIẾT XUẤT TỪ TINH DẦU THỰC VẬT
GIÚP PHỤC HỒI TÌNH TRẠNG OXY HÓA – KHỬ TRONG NGUYÊN BẢO SỢI
CỦA BỆNH NHÂN BỊ VẢY NÉN**

U. BARYGINA¹, M. BECATTI¹, A. MANNUCCI¹, N. TADDEI¹, M. TIRANT²,
J. HERCOGOVA^{3,4}, K. FRANÇA⁵, M. FIORANELLI⁶, M. G. ROCCIA⁷, G. TCHERNEV⁸,
U. WOLLINA⁹, T. LOTTI¹⁰ và C. FIORILLO¹

¹Khoa Nghiên cứu và thực hành Y sinh lâm sàng, ĐH Florence, Florence, Ý; ²Viện Da và Vảy nến, Melbourne, Úc; ³Khoa Y, ĐH Charles, Bệnh viện Bulovka, ⁴Viện Y học thực hành và lâm sàng, Prague, Cộng hòa Séc; ⁵Khoa Da liễu và phẫu thuật dưới da, Khoa Tâm lý và Hành vi học, Viện Chính sách và đạo đức y học, ĐH Miami, ĐH Y Miller, Florida, Mỹ; ⁶Khoa Y học hạt nhân, phóng xạ và cận hạt nhân, ĐH Marconi, Rome, Ý; ⁷ĐH B.I.S. Nhóm viện nghiên cứu trực thuộc ĐH Công nghệ Punjab, Punjab, Ấn Độ; ⁸Viện Y học Bộ Nội vụ, Khoa Da liễu và Tiểu phẫu da liễu, Sofia, Bulgaria; ⁹Khoa Da liễu, ĐH Pisa, Pisa, Ý; ¹⁰Khoa Da liễu, Bệnh viện Dresden-Friedrichstadt, Dresden, Đức; ¹⁰ Trưởng khoa Da liễu, ĐH Rome Marconi, Rome, Ý

Barygina và Becatti đã có đóng góp như nhau trong công trình nghiên cứu này.

Bệnh vảy nến là một bệnh viêm da có ảnh hưởng tới 2-5% dân số trên toàn thế giới. Đây là một bệnh viêm da mạn tính tăng sinh quá mức qua trung gian miễn dịch không rõ nguyên nhân, đặc trưng bởi sự xuất hiện những mảng da đỏ và dày kèm theo vảy bạc.

Những nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng tình trạng mất cân bằng oxy hóa có liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh vảy nến. Thêm vào đó, một số nghiên cứu tiết lộ về sự gia tăng các chỉ điểm của tình trạng mất cân bằng oxy hóa và sự suy giảm khả năng chống oxy hóa trong huyết tương, các tế bào bạch cầu (1, 2) và trên da (3 - 5).

Sự hiểu biết về vai trò của chức năng miễn dịch trong bệnh vảy nến có thể cho phép kiểm soát căn bệnh phức tạp này, căn bệnh vốn ảnh hưởng đáng kể đến bệnh nhân không chỉ ở phần da. Trong thực tế, các cytokine và các yếu tố tăng trưởng được giải phóng từ các tế bào T hoạt hóa, đã được chứng minh là đóng vai trò nổi bật trong sự tăng sinh quá mức lớp tế bào sừng; tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung chú ý vào các nguyên bào sợi ở da – cũng trực tiếp tham gia vào sự gia tăng các tổn thương vảy nến thúc đẩy sự tăng sinh các tế bào sừng (6).

Bổ sung các chất chống oxy hóa được chứng minh là hữu ích trong việc điều trị các bệnh nhân bị vảy nến (7, 8). Các loại tinh dầu thiên nhiên và tinh dầu thực vật là đại diện cho một nguồn cung cấp chất chống oxy hóa tự nhiên quan trọng. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động thực nghiệm của một hỗn hợp các tinh dầu thiên nhiên và tinh dầu thực vật (hoa cúc, hoắc hương, hoa phong lữ, dầu hoa cam, nhựa thơm – các sản phẩm gia dụng) với tình trạng oxy hóa khử của việc nuôi cấy nguyên bào sợi từ da bị tổn thương vảy nến.

TƯ LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thông qua bởi Ủy ban Đạo đức địa phương và được tiến hành tuân theo Tuyên bố Helsinki. Các phân tích được thực hiện trên 3 bệnh nhân (2 nữ và 1 nam) bị ảnh hưởng bởi bệnh vảy nến mức độ trung bình (PASI = 13) với độ tuổi bình quân là 45,5 ± 8,5 (năm), và thời gian mắc bệnh trung bình là 14 năm.

Từ khóa: vảy nến, liệu pháp điều trị tự nhiên, tinh dầu tự nhiên, hệ oxy hóa – khử, khả năng sống của tế bào

Địa chỉ hòm thư:

TS. BS. Victoria Barygina,
Khoa Thử nghiệm và Khoa học Y sinh Lâm sàng,
Đại học Florence,
Florence Italy
e-mail: v.barygina@gmail.com

0393-974X (2016)

Bản quyền của © BIOLIFE, s.a.s.

Ấn bản hay bài báo này chỉ sử dụng với mục đích cá nhân và không thể được sao chép mà không có sự chấp thuận bằng văn bản từ đơn vị giữ bản quyền, có thể phải nộp phạt tài chính.

TUYÊN BỐ MIỄN TRỪ TRÁCH NHIỆM: TẤT CẢ CÁC TÁC GIẢ ĐỀU KHÔNG CÓ XUNG ĐỘT VỀ LỢI ÍCH NÀO TRONG BÀI BÁO NÀY

Không có đối tượng nghiên cứu nào đã trải qua đợt điều trị một cách có hệ thống trước khi tiến hành nghiên cứu hoặc có tiền sử mắc bệnh nào đó sau tình trạng mất cân bằng oxy hóa - khử.

Chiết xuất hòa tan trong nước của hỗn hợp tinh dầu (OME) được chuẩn bị như đã đề cập ở trước (9). Tổng khả năng chống oxy hóa của OME được ước tính bởi xét nghiệm ORAC như đã đề cập trong báo cáo trước – sử dụng Trolox (chất tan trong nước tương tự vitamin E) là chất chống oxy hóa tiêu chuẩn (10).

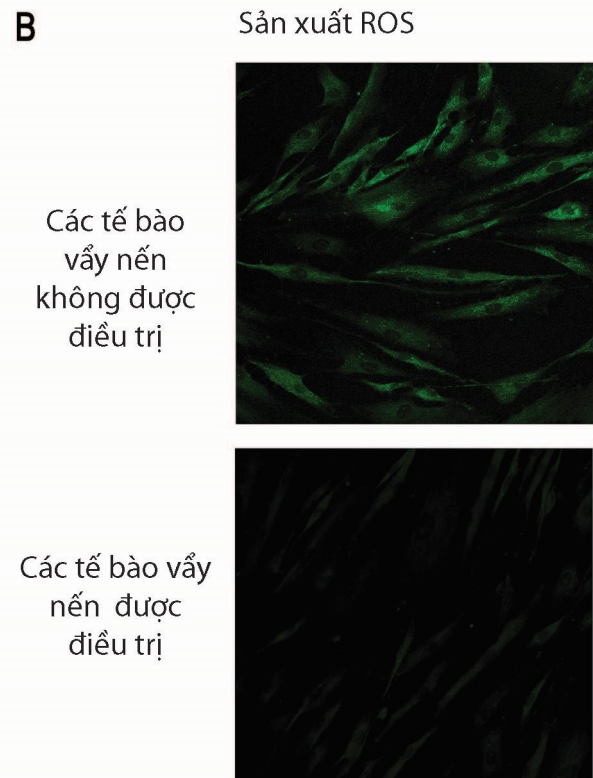
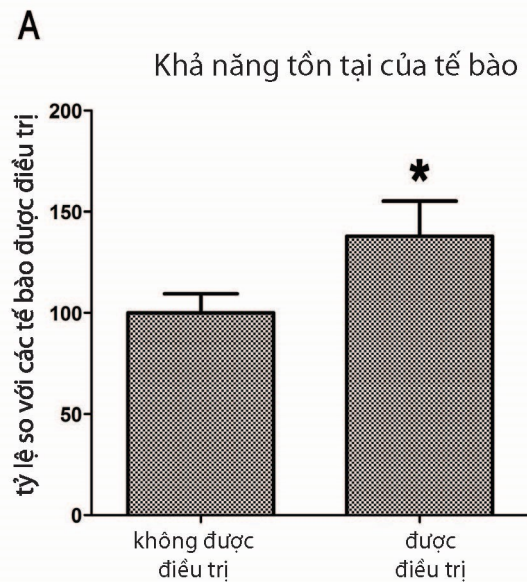
Khả năng tồn tại của tế bào được đo bằng phương pháp khử resazurin huỳnh quang tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Cell Titer-Blue, Promega Corp). Một cách ngắn gọn là các nguyên bào sợi được dàn mỏng trong đĩa nuôi cấy màu đen có 96 giếng (6×10^3 tế bào/giếng). Thêm vào đó OME ở nồng độ pha loãng thích hợp và ủ 24 giờ ở 37°C rồi rửa tế bào bằng PBS và cuối cùng thêm vào $100\mu\text{L}$ dung dịch thuốc nhuộm resazurin pha loãng trong RPMI. Các đĩa nuôi cấy vi sinh được tiếp tục ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ 37°C và sử dụng một máy đo huỳnh quang (Fluoroskan Ascent: Thermo Electron Corp., Vantaa, Phần Lan) để đo độ huỳnh quang.

Điều trị trong 24 giờ với nồng độ OME pha loãng là 1:5000 được cho là nồng độ hiệu quả nhất trong việc khôi phục khả năng sống của tế bào và do đó nó được sử dụng cho các thí nghiệm kính hiển vi đồng tiêu nhằm mục đích đo lường sự sản xuất ROS (Reactive Oxygen Species – gốc oxy hóa tự do) nội bào sử dụng dấu chỉ điểm H2DCFDA (9), ở cả nguyên bào sợi vảy nến được điều trị và không được điều trị.

KẾT QUẢ

Theo dữ liệu của chúng tôi, tổng khả năng chống oxy hóa của OME (pha loãng tỉ lệ 1:5000) cho kết quả tương đương với $163,6\text{ mM}$ Trolox, chứng minh khả năng chống oxy hóa rất cao của hỗn hợp tinh dầu mẫu. Như một thí nghiệm sơ bộ nhằm đánh giá ảnh hưởng của OME lên khả năng tồn tại của tế bào, một test phụ thuộc liều đã được tiến hành trên các nguyên bào sợi vảy nến với nồng độ OME tăng dần từ 1:1000 đến 1:10 000.

Các dữ liệu của chúng tôi đã chỉ ra rằng điều trị với liều OME 1:5000 làm tăng khả năng sống sót của nguyên bào sợi vảy nến lên $37,9 \pm 1,7\%$ so với các tế bào không được điều trị như đã được chứng minh trong thử nghiệm với resazurin (Hình 1a). Sự suy giảm đáng kể sản xuất ROS nội bào đã quan sát được trong các nguyên bào sợi điều trị OME so với nguyên bào sợi không điều trị như đã chứng minh bằng các phân tích đồng tiêu (Hình 1b). Thêm vào đó, các nồng độ pha loãng OME (1:10000 và 1:20000) không thể hiện bất cứ tác động nào đáng kể đến việc cải thiện khả năng sống hoặc cân bằng oxy hóa khử (số liệu không được đưa ra).



Hình 1. a): Thí nghiệm khả năng sống của tế bào nguyên bào sợi được điều trị và không điều trị bằng OME. Các giá trị được báo cáo (trung bình \pm SD) là đại diện cho 3 thí nghiệm độc lập, mỗi thí nghiệm được lập lại 3 lần. *Sự khác biệt đáng kể ($P \leq 0,01$) so với nguyên bào sợi vảy nến không điều trị; **b):** Phân tích bằng kính hiển vi đồng tiêu sự sản xuất các chất chống oxy hóa nội bào của các nguyên bào sợi được điều trị và không điều trị (độ phóng đại 63x) sử dụng đầu dò huỳnh quang H2DCFDA.

KẾT LUẬN

Tóm lại, số liệu của chúng tôi đã chứng minh những tác động mạnh mẽ, mang tính bảo vệ tới cân bằng oxy hóa – khử của OME thu được từ hỗn hợp tinh dầu thực vật của nhóm sản phẩm Dr Michaels® (Soratinex®) và nếu được sử dụng ở nồng độ thích hợp, có thể làm gia tăng đáng kể khả năng sống sót và giảm sản xuất ROS (gốc oxy hóa tự do) nội bào ở các nguyên bào sợi vảy nến ở người. Tác động mạnh mẽ của chất chống oxy hóa của OME thu được từ hỗn hợp các loại tinh dầu sản phẩm Dr Michaels® có thể là lí do cho tính hiệu quả của hỗn hợp này trong điều trị tại chỗ bệnh vảy nến. Những nghiên cứu sâu hơn đang được tiến hành nhằm tìm hiểu rõ cơ chế nền của các ảnh hưởng mang tính bảo vệ của các hợp chất được sử dụng cho bệnh vảy nến mà còn trong các bệnh da liễu khác như bệnh vảy cá, chàm, mụn trứng cá, viêm da dị ứng và nhiều hơn nữa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhou Q, Mrowietz U, Rostami-Yazdi M. Oxidative stress in the pathogenesis of psoriasis. *Free Radic Biol Med* 2009; 47:891-905.
2. Barygina VV, Becatti M, Soldi G, et al. Altered redox status in the blood of psoriatic patients: involvement of NADPH oxidase and role of anti-TNF- α therapy. *Redox Rep* 2013; 18:100-6.
3. Dimon-Gadal S, Gerbaud P, Thérond P, Guibourdenche J, Anderson WB, Evain-Brion D, Raynaud F. Increased oxidative damage to fibroblasts in skin with and without lesions in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2000; 114:984-9.
4. Tekin NS, Tekin IO, Barut F, Sipahi EY. Accumulation of oxidized lowdensity lipoprotein in psoriatic skin and changes of plasma lipid levels in psoriatic patients. *Mediators Inflammation* 2007; 2007:78454.
5. Becatti M, Barygina V, Emmi G, Silvestri E, Taddei N, Lotti T, Fiorillo C. SIRT1 activity is decreased in lesional psoriatic skin. *Intern Emerg Med* 2016; in press.
6. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis *Lancet* 2015; 386:983-94.
7. Kharaeva Z, Gostova E, De Luca C, Raskovic D, Korkina L. Clinical and biochemical effects of coenzyme Q10, Vitamin E, and Selenium supplementation to psoriasis patients. *Nutrition* 2009; 25:295-302.
8. Søyland E, Funk J, Rajka G, et al. Effect of dietary supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids in patients with psoriasis. *N Engl J Med* 1993; 328:1812-6.
9. V. Barygina, The redox system: selected concepts in general medicine and in dermatology, in *Natural Antioxidants in General Medicine and in Dermatology*. T. Lotti, D. Turini, J. Hercogova, ed. World Health Academy, New York.
10. Dell'Agli M, Fagnani R, Galli GV, et al. Olive oil phenols modulate the expression of metalloproteinase 9 in THP-1 cells by acting on nuclear factor-kappaB signaling. *J Agric Food Chem* 2010; 58:2246-52.