

Микробиом кожи и противомикробная защита во взаимосвязи с угревой болезнью у профессиональных хоккеистов и в группах сравнения

А.В. Джадаева¹, В.Г. Арзуманян^{2,4}, Н.О. Вартанова², В.А. Заборова^{3,4}, П.В. Самойликов², Т.И. Колыганова^{2,3}, Ю.Л. Васильев³, О.В. Кытко³

¹ ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

² ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

³ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва

⁴ ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна», Москва

Skin microbiome and antimicrobial protection in relation to acne in professional hockey players and comparison groups

A.V. Dzhadaeva¹, V.G. Arzumanyan^{2,4}, N.O. Vartanova², V.A. Zaborova^{3,4}, P.V. Samoylikov², T.I. Kolyganova^{2,3}, Yu.L. Vasilyev³, O.V. Kytko³

¹ Moscow State Budgetary Healthcare Institution “Moscow Research and Practical Centre of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

² Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴ Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Аннотация

Целью работы явилось исследование влияния физических нагрузок, связанных с профессиональным хоккеем, на условно-патогенный микробиом кожи, секретируемый ею протеом и его противомикробную активность при угревой болезни (акне) и в норме.

В качестве модели выбраны хоккеисты-профессионалы (N=38), любители хоккея (N=29) и добровольцы, не занимающиеся спортом (N=33), причём как со здоровыми кожными покровами, так и с акне. Биоматериалом являлись смывы с кожи верхней части спины. Видовую принадлежность микроорганизмов и протеом образцов оценивали методом хромато-масс-спектрометрии, содержание дермцидина – методом иммуноферментного анализа, а антимикробную активность – методом спектрофотометрии.

Из 334 выделенных с кожи изолятов микроорганизмов, принадлежащих к 39 видам и 17 родам, в целом по всей выборке обследованных чаще всего встречались *Staphylococcus hominis* (30%), *Micrococcus luteus* (67%) и *Staphylococcus epidermidis* (76%). Физическая нагрузка прямо коррелировала с видовым разнообразием, общей

Summary

The aim of the study was research of the effect of physical activity associated with hockey on the opportunistic microbiota of the skin, its antimicrobial activity and secreted proteome in persons with acne and healthy skin.

The selected model included professional hockey players (N=38), amateur hockey players (N=29) and volunteers not involved in sports (N=33), both with healthy skin and with acne. Swabs from the upper back skin were used as biomaterial samples. The microorganism species and the samples' proteome were analysed by gas chromatography-mass spectrometry; the dermcidin concentration in the samples – by ELISA, and antimicrobial activity of samples – by spectrophotometry.

Of the 334 microorganisms belonging to 39 species and 17 genera isolated from the skin, *Staphylococcus hominis* (30%), *Micrococcus luteus* (67%) and *Staphylococcus epidermidis* (76%) were most often found in the entire sample. Physical activity directly correlated with species diversity, total skin contamination and its contamination with prevailing types of bacteria. However, these three indicators did not correlate with acne severity. The acne severity was significantly positively

обсеменённостью кожи и её обсеменённостью преобладающими видами бактерий. Однако эти три показателя не коррелировали с тяжестью течения акне. Степень тяжести течения акне высоко положительно коррелировала с антимикробной активностью кожного секрета и концентрацией дермцидина, которые были выше у более молодых людей. Ни дермцидин, ни антимикробная активность не были связаны с физической нагрузкой.

Количество достоверно идентифицированных белков потового секрета у добровольцев спортсменов с акне равнялось 6, у здоровых спортсменов – 12, у профессиональных хоккеистов с акне – 11, а у здоровых профессиональных хоккеистов – 17. Преобладающими у всех перечисленных категорий явились антимикробные полипептиды дермцидин и пролактин-индуцибельный белок.

Ключевые слова

Спортивная медицина, профессиональный спорт, хоккей, акне, микробиом кожи, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *S. hominis*, антимикробные полипептиды.

Введение

Занятия хоккеем сопряжены с профессиональными дерматозами различного генеза: воспалительного, холодового, механического и инфекционного [1,2]. Наиболее часто встречающимся у хоккеистов инфекционным дерматозом является акне (угревая болезнь), очевидно, связанная с быстрым размножением живущих на коже микроорганизмов, обусловленным повышением потоотделения и продукции кожного секрета из-за высоких физических нагрузок [3]. Традиционно причинно-значимыми при акне считают бактерии родов *Cutibacterium* (прежнее название *Propionibacterium*) и *Staphylococcus*, а также дрожжи рода *Malassezia*, хотя при этом они являются нормобионтами [4,5]. Однако спектр микроорганизмов, населяющих кожу, включает множество родов/видов, из которых многие являются условно-патогенными [6-9]. Их состав зависит от многих эндогенных и экзогенных факторов [10], в том числе от профессиональных занятий спортом, таких как роллер-дерби [11] или рестлинг [12]. Однако в научной литературе нам не встречалось такого рода данных, связанных с профессиональным хоккеем.

Защита поверхности кожи от микроорганизмов осуществляется путём секреции потовыми железами целого набора антимикробных полипептидов (АМП), которые активны против вирусов, грибов и бактерий [13]. Антимикробную защиту кожи можно оценить количественно разными методами: иммунологическими (иммуноферментный анализ (ИФА), Вестерн-блот), хроматографическими (высокоэффективная жидкостная хроматография, LC-MS/MS), генно-

correlated with the antimicrobial activity of skin secretion samples and the dermcidin content, which were higher in younger persons. Neither dermcidin nor antimicrobial activity was associated with exercise.

The quantity of reliably identified sweat secretion proteins in volunteers, non-athletes with acne, was 6, in healthy non-athletes – 12, in professional hockey players with acne – 11, and in healthy professional hockey players – 17. The predominant proteins in all of these categories were antimicrobial polypeptides dermcidin and prolactin-inducible protein.

Keywords

Sports medicine, professional sports, hockey, acne, skin microbiome, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *S. hominis*, antimicrobial polypeptides.

инженерными (полимеразная цепная реакция (ПЦР)), микробиологическими (метод посева) [14] и спектрофотометрическим [15]. Протеом потового секрета содержит свыше 130 белков, среди которых в наибольших концентрациях представлен дермцидин, являющийся как раз АМП [16,17]. Есть данные о том, что при акне концентрация дермцидина в потовом секрете снижена по сравнению с контролем [18]. Сочетание нескольких методов позволяет оценить количества секретируемых АМП и сравнить суммарный результат их действия, выражаемый как «антимикробная активность», причём в зависимости от конкретных факторов.

Цель исследования: оценка влияния интенсивных физических нагрузок, сопряжённых с занятиями хоккеем, на микробиом и протеом кожи, антимикробную активность и дермцидин кожного секрета при угревой болезни и в норме.

Методика исследования

Добровольцы представлены 100 мужчинами от 18 до 57 лет, разделёнными на группы: хоккеисты спортсмены-профессионалы без проявлений акне (СПЗ), хоккеисты спортсмены-профессионалы с проявлениями акне (СПА), хоккеисты спортсмены-любители без акне (СЛЗ), хоккеисты спортсмены-любители с акне (СЛА), индивидуумы, не занимающиеся каким-либо видом спорта (неспортсмены) без акне (НСЗ) и спортсмены с акне (НСА). Степень тяжести заболевания выражали в баллах: 0 соответствовал отсутствию каких-либо симптомов акне, 1 – присутствию единичных угрей в области спины, 2 – наличию распространённых угрей в области спины, 3 –

присутствию распространённых угрей как на спине, так и на лице. Степень физической нагрузки условно выражали в баллах: для хоккеистов спортсменов-профессионалов она была принята за 3 балла, для хоккеистов спортсменов-любителей – за 2 балла, а для неспортсменов – за 1 балл.

Биоматериал у спортсменов собирали утром сразу после занятий хоккеем, у неспортсменов – утром. Смывы с кожи производили с помощью стерильной ватной палочки, смоченной раствором буфера с Tween 80 (объём 2 мл, pH 4,5), которой растирали участок кожи верхней части спины (36 см²). Образцы в течение 1 ч передавали в лабораторию, где высевали на чашки Петри, содержащие селективные среды: Сабуро, ГРМ-агар с лошадиной кровью, Питательный агар, Питательную среду №10 ГРМ, Питательную среду №2 ГРМ. Чашки инкубировали в аэробных условиях до 3 суток при 37°C. Штаммы микроорганизмов идентифицировали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии (анализатор «MALDI Biotyper Sirius RUO System», «BRUKER», США) по прилагаемому протоколу: коэффициент соответствия с базой данных $\geq 2,0$ предполагал достоверный результат. Видовое разнообразие микроорганизмов считали как процент видов, выявленных у данной категории обследованных, от общего числа выделенных видов.

Остальную часть биоматериала пропускали через фильтры 0,22 мкм и использовали для определения антимикробной активности, содержания дермцидина и изучения протеома. Антимикробную активность определяли ранее описанным методом спектрофотометрии и выражали в процентах [15]. Метод основан на поглощении из среды красителя клетками с нарушенной мембраной, обработанными аликвотами смывов с кожи (опытный образец) по сравнению с не обработанными клетками (контрольный образец). Для оценки активности использовали тест-культуру *Staphylococcus aureus* Wood 46.

Протеом кожного секрета изучали методом хромато-масс-спектрометрии, для чего использовали объединённые пулы, собранные из одинаковых аликвот, полученных от добровольцев следующих категорий – СПЗ, СПА, НСЗ и НСА. Эти пулы уравнивали по белку и проводили триптический гидролиз 50 мкг белка из каждого пула. Хромато-масс-спектрометрию пулов после гидролиза проводили с помощью хроматографической ВЭЖХ системы Ultimate 3000 RSLCnano, соединённой с масс-спектрометром Q-Exactive HF-X в соответствии с прилагаемым протоколом. Спектры визуализировали в программе

Xcalibur QualBrowser (Thermo Scientific), белки идентифицировали с использованием программы MaxQuant v.1.6.15.0, поискового алгоритма Andromeda и базы данных UniProtKB человека. Белки считали точно идентифицированными, если для них обнаруживали, по меньшей мере, два пептида. Данные, полученные при идентификации, анализировали с помощью программы Perseus v.1.6.15.0. Концентрацию каждого белка характеризовали с помощью iBAQ – абсолютной величины, основанной на интенсивности (intensity based absolute quantification) и отнесённой к количеству пептидов в данном образце. Вклад каждого белка рассчитывали по формуле и выражали в процентах:

$$B = iBAQ_{\text{данного белка}} \times 100 / iBAQ_{\text{суммарная для данной категории}}$$

Концентрацию дермцидина во всех образцах определяли методом ИФА с помощью тест-системы «ELISA Kit for dermcidin» («Cloud-Clone Corp.», США) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Статистическую обработку, а именно, расчёт коэффициентов корреляции, медиан, средних значений и др., проводили с помощью программы, вложенной в Excel. Автоматический расчёт U-критерия Манна-Уитни осуществляли с помощью статистической программы [<https://medstatistic.ru/calculators/calcmann.html>].

Результаты исследования

Физические нагрузки при занятиях спортом, такие как хоккей, всегда сопровождаются интенсивным потоотделением. Пот содержит органические и минеральные компоненты, которые могут служить питательным субстратом для микроорганизмов, а также набор антимикробных полипептидов [13]. В этой связи встаёт вопрос, как влияют профессиональные занятия спортом на распространённость угревой болезни, а также на численность и разнообразие микроорганизмов, населяющих кожные покровы?

На рис. 1 представлено распределение добровольцев со здоровыми кожными покровами и с угревой болезнью разной степени тяжести в изученных категориях. Очевидно, что среди любителей хоккея значительно преобладают индивидуумы со здоровыми кожными покровами, тогда как среди профессиональных хоккеистов и неспортсменов их число одинаково. Этот факт можно объяснить тем, что в категорию любителей переходят в основном хоккеисты по достижении определённого возраста, при котором угревая болезнь имеет место в значительно

меньшей степени (см. таблицу 2). Кроме того, частота встречаемости угревой болезни среди хоккеистов-профессионалов (68,4%) и неспортсменов (63,6%) примерно одинакова. Однако у профессиональных хоккеистов степени тяжести угревой болезни выше, чем у неспортсменов.

В данном исследовании не проводили посева с кожи на наличие липофильных дрожжей *Malassezia* и пропионовых бактерий, поскольку те и другие являются представителями нормобиоты человека, причём их участие в развитии акне весьма спорно [19,20]. Кожу указанных выше групп добровольцев исследовали на наличие условно-патогенной микробиоты. Высевы с кожи на селективную среду для выделения нелипофильных грибов (*Candida sp.*, *Rhodotorula sp.* и пр.) показали отсутствие таковых у всех добровольцев. 334 изолята микроорганизмов, выделенных с кожи 100 добровольцев, принадлежали к 39 видам и 17 родам. При этом в целом по всей выборке обследованных чаще остальных встречались такие виды бактерий: *M. atlantae* в 10% случаев, *A. townneri* в 15%, *S. capitis* в 23%, *S. hominis* в 30%, *M. luteus* в 67% и *S. epidermidis* в 76%. Ещё 5 видов – *D. papilomatosis*, *K. sedentarius*, *C. sanguinis*, *C. mucifaciens*, *M. osloensis* – обнаружены в 5-9% случаев; 11 видов – *S. haemolyticus*, *C. tuberculostearicum*, *C. lipophiloflavum*, *C. singulare*, *J. hoylei*, *P. yeei*, *C. xerosis*, *B. muris*, *B. casei*, *P. stutzeri* и 1 неизвестный вид – в 2-4% случаев; и остальные 17 видов – в 1% случаев. В таблице 1 показаны все обнаруженные виды микроорганизмов и частота их встречаемости у добровольцев разных групп. Эпидермальный стафилококк явился

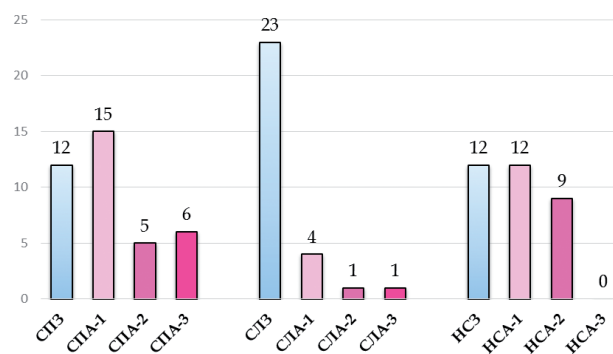


Рис. 1. Распределение добровольцев со здоровыми кожными покровами и с угревой болезнью разной степени тяжести в изученных категориях

Примечание: ордината – количество добровольцев в каждой подгруппе; СПЗ – спортсмены-профессионалы без проявлений акне, СПА – хоккеисты спортсмены-профессионалы с проявлениями акне, СЛЗ – хоккеисты спортсмены-любители без акне, СЛА – хоккеисты спортсмены-любители с акне, НСЗ – индивидуумы, не занимающиеся каким-либо видом спорта (неспортсмены) без акне, НСА – неспортсмены с акне.

наиболее часто встречающимся видом у спортсменов хоккеистов-профессионалов ($p < 0,01$), однако достоверной разницы между группами СПА и СПЗ не выявлено ($p > 0,05$). Данный вид встречался менее часто у неспортсменов, гораздо реже – у спортсменов-любителей хоккея, однако также без сильных различий между здоровыми добровольцами и таковыми с акне ($p > 0,05$), но с достоверными различиями по отношению к профессиональным хоккеистам ($p < 0,01$). Встречаемость второго по представленности вида – *Micrococcus luteus* – уменьшалась при понижении физической нагрузки, однако у неспортсменов и спортсменов-любителей хоккея она была значительно ниже при угревой болезни ($p < 0,01$). Третий по представленности вид – *Staphylococcus hominis* – наиболее часто встречался у добровольцев, профессионально не занимающихся спортом. Во всех группах этот вид преобладал у добровольцев с угревой болезнью ($p < 0,01$). Бактерии *S. capitis* также чаще обнаруживались у людей, профессионально не занимающихся спортом, причём они так же преобладали при акне ($p < 0,01$). Что касается прочих видов микроорганизмов, то здесь интересно отметить роды *Moraxella* и *Dietzia* – они высевались в основном от здоровых спортсменов-хоккеистов профессионалов, в то время как *P. yeei*, *B. casei*, *P. stutzeri* и *K. sedentarius* были получены от спортсменов-хоккеистов любителей, как с угревой болезнью, так и здоровых.

В таблице 2 приведены данные о взаимосвязи между физической нагрузкой, тяжестью течения акне, микробиологическими и антимикробными показателями кожи у хоккеистов спортсменов-профессионалов и в группах сравнения. В качестве микробиологических показателей приведены медианные значения общей обсеменённости кожи, обсеменённости тремя превалирующими видами и видового разнообразия. Видно, что имеет место значимая прямая корреляционная взаимосвязь обсеменённости кожи с физической нагрузкой, связанной с интенсивностью занятиями спортом, но не с наличием акне. Видовое разнообразие у хоккеистов спортсменов-профессионалов и у неспортсменов повышалось при наличии угревой болезни, тогда как у хоккеистов спортсменов-любителей, напротив, видовое разнообразие при наличии акне снижалось. Вероятно, это связано с возрастом спортсменов из данной группы, который превышал таковой в двух других группах. Различия в величинах антимикробной активности кожного секрета между выборками добровольцев из категорий СПЗ, СЛЗ

Таблица 1. Микробиота кожи хоккеистов спортсменов-профессионалов, хоккеистов спортсменов-любителей и неспортсменов в норме и при угревой болезни

Роды	Виды	Встречаемость вида в пределах каждой категории, %																						
Не идентифицир.	<i>Dermacoccus</i>																							
	<i>Cocuria</i>	<i>D. nishinomiyaensis</i>																						
	<i>Paracoccus</i>	<i>K. rhizophila</i> <i>K. indica</i>																						
	<i>Citrobacter</i>	<i>P. yeii</i>																						
	<i>Janibacter</i>	<i>C. youngae</i>																						
	<i>Pseudomonas</i>	<i>J. indicus</i> <i>J. hoylei</i>																						
	<i>Oceanobacillus</i>	<i>P. stutzeri</i>																						
	<i>Brachybacterium</i>	<i>O. profundus</i>																						
	<i>Kytococcus</i>	<i>B. muris</i>																						
	<i>Dietzia</i>	<i>K. sedentarius</i>																						
	<i>Chryseobacterium</i>	<i>D. papillomatosis</i>																						
	<i>Moraxella</i>	<i>Chryseobacterium sp.</i>																						
	<i>Acinetobacter</i>	<i>M. osloensis</i> <i>M. atlantae</i>																						
	<i>Corynebacterium</i>	<i>A. baumannii</i> <i>A. lwoffii</i> <i>A. towneri</i>																						
<i>Brevibacterium</i>	<i>C. sp.</i> <i>C. singulare</i> <i>C. lipophiloflavum</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i> <i>C. xerosis</i> <i>C. mucifaciens</i> <i>C. tuberculostearicum</i> <i>C. sanguinis</i>																							
<i>Micrococcus</i>	<i>B. pityocampae</i> <i>B. casei</i>																							
<i>Staphylococcus</i>	<i>M. endophyticus</i> <i>M. luteus</i>																							
Категория	СПЗ, n=13	100	16,7	8,3	0	8,3	0	0	0	0	0	0	0	0	8,3	33,3	16,7	0	16,7	0	0	0	0	
		92,3	34,6	19,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19,2	0	3,9	19,2	0	3,9	0	0	0	0
		47,8	17,4	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43,5	0	0	4,3	21,7	0	0	0	0	0
		50	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
СПА, n=25	СПЗ, n=22	75	33,3	16,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		81	42,9	33,3	4,8	4,8	0	4,8	4,8	0	0	0	0	0	4,8	14,3	0	0	4,8	0	0	0	0	0
		47,8	17,4	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43,5	0	0	4,3	21,7	0	0	0	0	0
		50	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
СЛА, n=6	НСЗ, n=12	75	33,3	16,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		81	42,9	33,3	4,8	4,8	0	4,8	4,8	0	0	0	0	0	4,8	14,3	0	0	4,8	0	0	0	0	0
		47,8	17,4	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43,5	0	0	4,3	21,7	0	0	0	0	0
		50	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
НСА, n=21	СЛА, n=6	75	33,3	16,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		81	42,9	33,3	4,8	4,8	0	4,8	4,8	0	0	0	0	0	4,8	14,3	0	0	4,8	0	0	0	0	0
		47,8	17,4	26,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43,5	0	0	4,3	21,7	0	0	0	0	0
		50	33,3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание: СПЗ – спортсмены-профессионалы без проявлений акне, СПА – хоккеисты спортсмены-профессионалы с проявлениями акне, СПЛ – хоккеисты спортсмены-любители без акне, СЛА – хоккеисты спортсмены-любители с акне, НСЗ – индивидуумы, не занимающиеся каким-либо видом спорта (неспортсмены) без акне, НСА – спортсмены с акне.

Таблица 2. Взаимосвязь между тяжестью течения акне, физической нагрузкой, микробиологическими и антимикробными показателями кожи у хоккеистов-профессионалов и в контрольных группах

Категории добровольцев	Возраст, лет (медианы)	Тяжесть акне, баллы (медианы)	Физическая нагрузка, баллы (медианы)	Анти-микробная активность кожного секрета, % (медианы)	Дермци дин, нг/мл смыва (медианы)	Общая обсеменённость КОЕ/мл смыва (медианы)	Обсеменённость, превалирующими видами бактерий, КОЕ/мл смыва (медианы)	<i>M. luteus</i>	<i>S. hominis</i>	Видовое разнообразие микроорганизмов, %
СПЗ, n=13	23	0	3	4,92	3,26	12800	1500	6000	13750	28,2
СПА, n=25	18	1	3	7,51	3,02	13325	2500	2525	5000	48,7
СЛЗ, n=22	42	0	2	2,38	1,74	7000	2500	1375	4250	56,4
СЛА, n=6	34,5	1	2	7,13	2,85	2725	1250	2500	2575	23,1
НСЗ, n=12	25,5	0	1	4,30	2,85	1000	750	325	200	18,0
НСА, n=21	19	1	1	6,38	3,57	1100	350	350	100	33,3
Корреляция с возрастом	-	-0,368	-0,083	-0,605	-0,871	-0,210	0,345	-0,107	-0,076	0,247
Корреляция с тяжестью течения акне	-0,368	-	0,000	0,883	0,464	-0,118	-0,134	-0,201	-0,381	0,030
Корреляция с физической нагрузкой	-0,083	0,000	-	0,202	-0,050	0,950	0,730	0,832	0,818	0,382
Корреляция с антимикробной активностью	-0,605	0,883	0,202	-	0,692	0,076	-0,190	0,104	-0,112	-0,246
Корреляция с дермцидином	-0,871	0,464	-0,050	0,692	-	0,038	-0,637	0,183	0,065	-0,543

Примечание: СПЗ – спортсмены-профессионалы без проявлений акне, СПА – хоккеисты спортсмены-профессионалы с проявлениями акне, СЛЗ – хоккеисты спортсмены-любители без акне, СЛА – хоккеисты спортсмены-любители с акне, НСЗ – индивидуумы, не занимающиеся каким-либо видом спорта (неспорсмены) без акне, НСА – неспорсмены с акне.

и НСЗ статистически не значимы: $p > 0,05$. То же самое справедливо и по категориям СПА, СЛА и НСА: $p > 0,05$. Различия в значениях активности между парами СПЗ-СПА, СЛЗ-СЛА и НСЗ-НСА, несмотря на тенденцию к увеличению данного показателя при наличии акне, также статистически не значимы: во всех парах $p > 0,05$. Различия в значениях концентрации дермцидина между выборками добровольцев из категорий СПЗ, СЛЗ и НСЗ тоже статистически не значимы: $p > 0,05$; однако этот показатель у категории НСА несколько отличается от таковых для категорий СПА и СЛА: $0,01 < p < 0,05$. Различия по концентрации дермцидина между парами СПЗ-СПА, СЛЗ-СЛА и НСЗ-НСА статистически не значимы: $p > 0,05$.

Однако если распределить группы добровольцев по степени тяжести течения угревой болезни, то можно наблюдать определённые закономерности (рис. 2). Хоккеистов-любителей в этом случае не рассматривали ввиду малой выборки обследованных с 2-3 степенью тяжести течения акне. Оказалось, что имеют место достоверные различия в величинах активности между добровольцами с нулевой и 2^й-3^й степенью тяжести акне в группах хоккеистов-профессионалов и спортсменов по критерию Манна-Уитни: $0,01 < p < 0,05$. Сравнение медиан активности и тяжести течения акне показало, что между ними имела место высокая степень положительной корреляции: у хоккеистов-профессионалов $r = 0,812$, у спортсменов $r = 0,971$. Однако у хоккеистов-профессионалов концентрация дермцидина, напротив, была значимо ниже при высокой степени тяжести акне, чем в контрольной группе ($0,01 < p < 0,05$; $r = -0,724$), тогда как у спортсменов

данный показатель имел противоположную тенденцию ($p < 0,05$; $r = 0,954$).

Из таблицы 2 видно, что имеет место умеренная обратная корреляция между возрастом обследованных и степенью тяжести течения акне. Более заметная обратная взаимосвязь отмечена между возрастом и антимикробной активностью потового секрета, а высокая обратная корреляция – между возрастом и содержанием дермцидина. Какие-либо данные литературы о влиянии возраста на эти показатели отсутствуют. Видно, что между величинами антимикробной активности и содержанием дермцидина в потовом секрете имеет место заметная положительная корреляция. Этот факт можно объяснить тем, что данный полипептид является превалирующим среди прочих секретируемых кожей АМП [13,16,17]. Кроме того, очевидно, что степень тяжести течения угревой болезни имеет высокую положительную корреляцию с антимикробной активностью потового секрета.

Результаты исследования протеома пуловых образцов потового секрета, полученных от добровольцев категорий СПЗ, СПА, НСЗ и НСА, представлены в таблице 3. Достоверно идентифицированных полипептидов по всем категориям оказалось 17. Полипептиды расположены в следующей последовательности: первые 6 обнаружены у всех четырёх категорий; следующие 5 – во всех категориях, кроме НСА; ещё 1 – только у НСЗ и СПЗ; остальные 5 – только у СПЗ. Видно, что 8 из 17 полипептидов – это кератины, которые выполняют структурную функцию. Для каждого из их соединений рассчитан вклад в общее содержание полипептидов в пуле данной категории. Превалирующими во всех четырёх пулах являются дермцидин и пролактин-индуцибельный белок. Поиск научных публикаций по наличию антимикробной активности у обнаруженных белков показал, что, помимо известного своими антимикробными свойствами дермцидина, к АМП относятся протеины S100-A8 и S100-A9, которые являются составными частями АМП кальпротектина [21], а также цистатин [22] и пролактин-индуцибельный белок [23]. Видно, что у категории СПЗ последний белок играет более значимую роль в антимикробной защите по сравнению с дермцидином, чем у прочих категорий добровольцев. Помимо этого, именно в пуловом образце СПЗ в относительно высоком соотношении присутствует цистатин и протеины S100-A8 и S100-A9, которых не обнаружено в образцах других категорий, что связано, очевидно, с их низкими концентрациями.

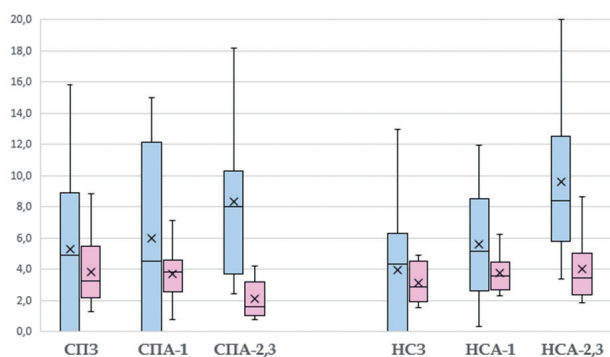


Рис. 2. Антимикробная активность (%) (голубые «ящики») и содержание дермцидина (нг/мл) (розовые «ящики») потового секрета хоккеистов-профессионалов и спортсменов в норме и при наличии угревой болезни различной степени тяжести

Таблица 3. Результаты протеомного анализа пуловых образцов водорастворимой фракции потового секрета у 4-х категорий обследованных добровольцев

Полипептиды	Число идентифицированных пептидов	Молекулярная масса, кДа	Анти-микробная функция	Вклад обнаруженных полипептидов в общее содержание в каждом пуле, %			
				НСЗ n=12	НСА n=21	СПЗ n=13	СПА n=25
Дермцидин	3	11,3	+ [24]	63,5	51,2	15,7	57,9
Пролактин-индуцибельный белок (PIP)	6	16,6	+ [23]	27,1	33,0	20,1	13,9
Цистатин А	4	11,0	+ [22]	0,6	1,9	3,2	1,2
Цинк-альфа 2- гликопротеин	7	34,3	-	1,6	9,6	2,0	2,8
Каспаза 14	6	27,7	-	0,8	1,1	1,3	3,0
Убиквитин-60S рибосомальный белок	2	14,7	-	1,2	3,2	1,6	1,6
Кератин тип II цитоскелетный 1	18	66,0	-	1,4	0	19,1	6,9
Кератин тип I цитоскелетный 9	16	62,1	-	0,2	0	12,8	0,3
Кератин тип I цитоскелетный 10	13	58,8	-	0,1	0	4,0	0,4
Кератин тип II цитоскелетный 6C	6	60,0	-	0,01	0	0,08	0,03
Изоформа 2 симплекина	2	74,5	-	3,3	0	5,1	11,9
Кератин тип II цитоскелетный 6B	6	60,1	-	0,3	0	5,9	0
Кератин тип I цитоскелетный 15	5	49,2	-	0	0	0,2	0
Кератин тип II цитоскелетный 2	5	65,4	-	0	0	0,2	0
Кератин тип I цитоскелетный 17	6	48,1	-	0	0	0,6	0
Белок S100-A8	3	10,8	+ [21]	0	0	6,3	0
Белок S100-A9	3	13,2	+ [21]	0	0	1,9	0
Общее количество идентифицированных белков в каждой категории				12	6	17	11

Обсуждение

Исследование, в котором комплексно изучено влияние интенсивных физических нагрузок на микробиом и протеом кожи, антимикробную активность и дермцидин кожного секрета во взаимосвязи с угревой болезнью, проведено впервые. Установлено, что частота встречаемости угревой болезни среди хоккеистов-профессионалов и неспортсменов примерно одинакова, что, по всей видимости, обусловлено возрастом обследованных. Однако у профессиональных хоккеистов степень тяжести угревой болезни выше, чем у неспортсменов. При этом показатели частоты встречаемости акне у обследованных превосходят данные исследования Liebich с соавт., проведённого на атлетах иных видов спорта [3].

В предыдущих исследованиях показано, что у атлетов со здоровой кожей золотистый стафилококк встречался в 1,5 раза чаще, чем у неспортсменов, а эпидермальный – в 2 раза чаще [25]. Идентификацию стафилококков в этом исследовании проводили традиционными физиолого-биохимическими методами, а применение новых методик привело к уточнению результатов. Опубликованных данных литературы о влиянии

занятий спортом на состав микробиома кожи не так много. Известно, например, что при профессиональном роллер-дерби повышается общая бактериальная обсеменённость кожи, оценённая методом ПЦР [11]. У рестлеров также отмечено увеличение колонизации кожи условно-патогенными бактериями, однако идентификацию в данном случае проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии [12]. Аналогичных публикаций, касающихся занятий хоккеем, в научной литературе нами не обнаружено. В двух упомянутых выше исследованиях оценивали микробиом смывов с кожи предплечий. В случае исследований, проводимых на спортсменах-хоккеистах, на наш взгляд, более подходящим локусом для поставленных задач является спина как место более интенсивного потоотделения. Из данных, полученных на модели спортсменов-хоккеистов и контрольных групп, следует, что *S. aureus* не являлся причинно-значимым микроорганизмом, поскольку обнаруживался лишь у неспортсменов с акне, причём очень редко. Однако ни *S. epidermidis*, ни *M. luteus* также не могут считаться в данном контексте причинно-значимыми бактериями, несмотря на высокие показатели об-

семенённости и частоты встречаемости, так как эти показатели не увеличивались при наличии акне (таблица 1). Наиболее подходящим на эту роль мог бы явиться *S. hominis*, поскольку у всех изученных категорий этот вид преобладал по частоте встречаемости именно при угревой болезни, однако данные по величинам обсеменённости не позволяют сделать такой вывод. Можно только предположить, что в каждом конкретном случае причинно-значимым может стать любой из членов микробного сообщества.

На основании полученных данных можно ответить на вопрос, какой именно из изученных факторов является первичным по отношению к микробиоте – наличие питательного субстрата или антимикробных субстанций. Во-первых, общая микробная обсеменённость поверхности кожи обследованных добровольцев значимо прямо коррелировала с физической нагрузкой, но не с наличием акне. Во-вторых, видовое разнообразие в целом тоже прямо коррелировало с физической нагрузкой, но не с акне. То есть интенсивное потоотделение регулирует обсеменённость кожи скорее за счёт поступления питательных веществ, а не антимикробных полипептидов. Чтобы понять, как именно изменяется защитная компонента потового секрета, исследовали также его антимикробную активность и содержание дермцидина.

В современной научной литературе описаны 17 АМП потового секрета человека [13]. Они действуют на микроорганизмы путём разрушения их цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. Недавно проведено сравнение их концентрации в потовом секрете с минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) по отношению к двум видам стафилококков – золотистому и эпидермальному [26]. Оказалось, что наиболее эффективными АМП пота должны явиться дермцидин и кальпротектин, из которых лидирует дермцидин, поскольку диапазон концентраций дермцидина [14,17,18,27] перекрывает разброс значений МИК для этих стафилококков [18,27–29]. Кроме того, именно дермцидин является мажорным полипептидом потового секрета [13,16,17], поэтому именно он и был выбран в качестве основного АМП в настоящей работе. Ранее было показано снижение концентрации/экспрессии дермцидина при кожных инфекционных воспалительных заболеваниях – атопическом дерматите [14], эктодермальной дисплазии [30], гнойном гидрадените [31] и угревой болезни [18]. В работе по атопическому дерматиту сравнили концентрацию дермцидина

с *in vivo* антимикробной активностью пота и показали наличие прямой корреляции [14]. В настоящей работе при сравнении 6 групп добровольцев выявлена заметная положительная корреляция между величинами антимикробной активности и концентрацией дермцидина в потовом секрете, а также между антимикробной активностью и степенью тяжести течения акне (таблица 2). Однако в пределах каждой из 6 групп невозможно сделать таких однозначных выводов: если у спортсменов антимикробная активность и дермцидин повышались по мере увеличения степени тяжести угревой болезни, то у хоккеистов-профессионалов напротив – активность повышалась, а дермцидин снижался (рис. 2). При этом физическая нагрузка хоккеистов не влияла на дермцидин и антимикробную активность, но эти показатели напрямую зависели от возраста добровольцев. Ни один из изученных показателей, кроме физической нагрузки, не имел взаимосвязи с обсеменённостью кожи условно-патогенными микроорганизмами, что ещё раз подтверждает приведённый выше тезис о ведущей роли потового секрета в качестве питательного, а не защитного субстрата. Тем не менее защитная функция пота, выраженная через антимикробную активность и дермцидин, делается более заметной при возникновении угревой болезни и увеличении степени её тяжести, особенно у добровольцев, не связанных со спортом.

Протеом кожного секрета включает свыше 130 белков, наиболее представленными из которых являются дермцидин и пролактин-индуцибельный белок [16,17]. Сравнительно недавно появились данные об антимикробной функции пролактин-индуцибельного белка [23]. Механизм его взаимодействия с клетками микроорганизмов пока не известен. Данные, полученные в настоящей работе, подтверждают преобладание дермцидина и пролактин-индуцибельного белка в пуловых образцах потового секрета хоккеистов-профессионалов и спортсменов (таблица 3). Установлено также, что разнообразие полипептидов и АМП были самыми высокими в группе СПЗ, а дермцидин и пролактин-индуцибельный белок у данной группы добровольцев обнаруживались примерно в равных соотношениях, тогда как у прочих групп обследованных значительно преобладал дермцидин.

Исследование выполнено с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова

Литература

1. Tlougan BE, Mancini AJ, Mandell JA, et al. Skin conditions in figure skaters, ice-hockey players and speed skaters: part I - mechanical dermatoses. *Sports Med.* 2011;41(9):709-19.
2. Tlougan BE, Mancini AJ, Mandell JA, et al. Skin conditions in figure skaters, ice-hockey players and speed skaters: part II - cold-induced, infectious and inflammatory dermatoses. *Sports Med.* 2011;41(11):967-84.
3. Liebich C, Wegin VV, Marquart C, et al. Skin Diseases in Elite Athletes. *Int J Sports Med.* 2021;42(14):1297-1304.
4. Арзуманян В.Г., Зайцева Е.В., Кабаева Т.И., и др. Оценка стафилококковой и нелипофильной дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией при контактном способе посева. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2004;6:3-6.
5. Сергеев А.Ю., Бурцева Г.Н., Сергеев В.Ю. Стафилококковая колонизация кожи, антибиотикорезистентность и противомикробная терапия при распространенных дерматозах. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2014;4:42-55.
6. Gallo RL. Human Skin Is the Largest Epithelial Surface for Interaction With Microbes. *J. Investig. Dermatol.* 2017;137(6):1213-1214.
7. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The Human Skin Microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018;16(3):143-155.
8. Lunjani N, Hlela C, O'Mahony L. Microbiome and skin biology. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2019;19:328-33.
9. McLoughlin JJ, Wright EM, Tagg JR, et al. Skin Microbiome – The Next Frontier for Probiotic Intervention. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2021;14(4):630-647.
10. Moskovicz V, Gross A, Mizrahi B. Extrinsic Factors Shaping the Skin Microbiome. *Microorganisms.* 2020;8(7):1023.
11. Meadow JF, Bateman AC, Herkert KM, et al. Significant changes in the skin microbiome mediated by the sport of roller derby. *Peer J. PeerJ.* 2013 Mar 12;1:e53. doi:10.7717/peerj.53.
12. Martykanova DS, Davletova N.C., Zemlenuhin I.A., et al. Skin Microbiota in Contact Sports Athletes and Selection of Antiseptics for Professional Hygiene. *Biomed Res Int.* 2019;Jan 10;2019:9843781. doi:10.1155/2019/9843781.
13. Иксанова А.М., Арзуманян В.Г., Конаныхина С.Ю., и др. Антимикробные пептиды в биожидкостях человека. Независимые микробиологические исследования. 2022;9(1):37-55.
14. Rieg S, Steffen H, Seeber S, et al. Deficiency of dermcidin-derived antimicrobial peptides in sweat of patients with atopic dermatitis correlates with an impaired innate defense of human skin in vivo. *J Immunol.* 2005;174(12):8003-10.
15. Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Фошина Е.П., и др. Способ определения совокупной активности антимикробных пептидов как маркера состояния местного иммунитета различных эпителиальных тканей. Патент на изобретение № 2602298 от 21.10.2016 по заявке №2015113069, приоритет 10.04.2015.
16. Raiszadeh MM, Ross MM, Russo PS, et al. Proteomic analysis of eccrine sweat: implications for the discovery of schizophrenia biomarker proteins. *J Proteome Res.* 2012;11(4):2127-39.
17. Csósz É, Emri G, Kalló G, et al. Highly abundant defense proteins in human sweat as revealed by targeted proteomics and label-free quantification mass spectrometry. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV.* 2015;29(10):2024-2031.
18. Nakano T, Yoshino T, Fujimura T, et al. Reduced expression of dermcidin, a peptide active against propionibacterium acnes, in sweat of patients with acne vulgaris. *Acta Derm Venereol.* 2015;95(7):783-6.
19. Арзуманян В.Г., Сергеев А.Ю., Шелемех О.В., и др. Антагонистическая активность *Malassezia* spp. к другим клинически значимым родам дрожжей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2009;148(9):298-303.
20. Arzumanyan V., Zaborova V., Globa A., et al. Communities of Skin Propionic Bacteria: Cultivation and Antifungal Antagonistic Activity. *J Bacteriol Parasitol.* 2016;7:266. doi:10.4172/2155-9597.1000266.
21. Abtin A., Eckhart L., Gläser R., et al. The antimicrobial heterodimer S100A8/S100A9 (calprotectin) is upregulated by bacterial flagellin in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2010;130(10):2423-30.
22. Shah A., Bano B. Cystatins in Health and Diseases. *Int J Pept Res Ther.* 2009;15(1):43.
23. Yousuf M., Ali A., Khan P, et al. Insights into the Antibacterial Activity of Prolactin-Inducible Protein against the Standard and Environmental MDR Bacterial Strains. *Microorganisms.* 2022;10(3):597.
24. Rieg S, Seeber S, Steffen H, et al. Generation of multiple stable dermcidin-derived antimicrobial peptides in sweat of different body sites. *J Invest Dermatol.* 2006;126(2):354-65.
25. Заборова В.А., Арзуманян В.Г., Артемьева Т.А., и др. Особенности стафилококковой микрофлоры кожи у спортсменов разных специализаций. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2015;1:78-82.
26. Арзуманян В.Г., Джадаева А.В., Заборова В.А., и др. Оценка потенциальной эффективности действия антимикробных полипептидов потового секрета против стафилококков. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2023;1:60-69.
27. Schitteck B, Hipfel R, Sauer B, et al. Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nat Immunol.* 2001;2(12):1133-7.
28. Murakami M, Ohtake T, Dorschner RA, et al. Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin. *J Invest Dermatol.* 2002;119:1090-1095.
29. Schitteck B. The Multiple Facets of Dermcidin in Cell Survival and Host Defense. *J Innate Immun.* 2012;4(4):349-60.
30. Burian M., Velic A., Matic K., et al. Quantitative Proteomics of the Human Skin Secretome Reveal a Reduction in Immune Defense Mediators in Ectodermal Dysplasia Patients. *Journal of Investigative Dermatology.* 2015;135(3):759-767.
31. Shanmugam V. K., Jones D., McNish S., et al. Transcriptome patterns in hidradenitis suppurativa: support for the role of antimicrobial peptides and interferon pathways in disease pathogenesis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2019;44(8):882-892.

Сведения об авторах

Джадаева Анна Вячеславовна – врач ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы». Москва, 124575, г. Зеленоград, корпус 910. E-mail: zabalueva@bk.ru. ORCID: 0009-0003-4107-580X.

Арзуманян Вера Георгиевна – д.б.н., профессор, зав. лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. Москва, 105064, Малый Казённый пер., 5а, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна». E-mail: veraar@mail.ru. ORCID: 0000-0001-9769-1634.

Вартанова Нунэ Оганесовна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории условно-патогенных микроорганизмов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова. Москва, 105064, Малый Казённый пер., 5а. E-mail: labmic@mail.ru.

Заборова Виктория Александровна – д.м.н., профессор кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ. Москва, 119991, ул. Трубецкая, 8/2. E-mail: vaz111v@gmail.com. ORCID: 0000-0001-5044-1152.

Самойликов Павел Владимирович – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории алергодиагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. Москва, 105064, Малый Казённый пер., 5а. E-mail: samoiikov@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3580-3199.

Колыганова Татьяна Игоревна – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; м.н.с ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова». E-mail: kolyganova_t_i@staff.sechenov.ru. ORCID: 0000-0002-9065-9786.

Васильев Юрий Леонидович – д.м.н., профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ИКМ им. Н. В. Склифосовского ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ORCID: 0000-0003-3541-6068,

Кытько Олеся Васильевна – к.м.н., доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ИКМ им. Н. В. Склифосовского ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ORCID: 0000-0001-5472-415X

Поступила 5.02.2025.