

## Оценка потенциальной эффективности действия антимикробных полипептидов потового секрета против стафилококков

В.Г. Арзуманян<sup>1</sup>, А.В. Джадаева<sup>2</sup>, В.А. Заборова<sup>3</sup>, Т.И. Колыганова<sup>1,3</sup>, М.А. Сергеева<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

<sup>2</sup> ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ, Москва

<sup>4</sup> Научно-исследовательский центр «Клиника дерматологии», Москва

## Potential effectiveness of sweat antimicrobial polypeptides against staphylococci

V.G. Arzumanian<sup>1</sup>, A.V. Dzhadaeva<sup>2</sup>, V.A. Zaborova<sup>3</sup>, T.I. Kolyganova<sup>1,3</sup>, M.A. Sergeeva<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow

<sup>2</sup> Moscow Scientific and Practical Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow

<sup>3</sup> First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow

<sup>4</sup> Central Research Dermatology Clinic, Moscow

### Аннотация

Первую линию иммунной защиты кожи представляют секретируемые на её поверхность антимикробные полипептиды (АМП). В настоящем обзоре представлены данные по содержанию известных на сегодняшний день АМП в потовом секрете в сравнении с величинами их минимальных ингибирующих концентраций (МИК) по отношению к стафилококкам. На основании проведённого анализа все описанные АМП можно разделить на следующие 4 группы. Первая включает АМП, которые присутствуют в потовом секрете, а их концентрации сопоставимы с величинами МИК – это дермцидины, кальпротектин, липокалин и азуроцидин. Вторую группу составляют АМП, которые есть в потовом секрете, но их содержание на порядок ниже соответствующих значений МИК – это кателицидин и адреномедуллин. Третья группа – это те АМП, концентрации которых в поте на 2 и более порядков ниже величин МИК, а именно дефензины, сывороточный альбумин, лактоферрин, секреторный ингибитор лейкопротеазы и псориазин. И четвёртая группа включает те АМП, относительно которых невозможно сделать однозначных выводов ввиду отсутствия данных об их наличии в потовом секрете. Очевидно, что первые две группы АМП, в особенности дермцидины, и составляют главную линию защиты поверхности кожи от микроорганизмов, в частности от стафилококков.

### Ключевые слова

Потовый секрет, стафилококки, антимикробные полипептиды, дермцидин, кателицидин, адреномедуллин, псориазин, кальпротектин, липокалин, азуроцидин.

### Summary

The first-line immune defense of the human skin is represented by antimicrobial polypeptides (AMP) secreted onto its surface. This review presents data on the levels of currently known AMP in human sweat in comparison with the values of their minimum inhibitory concentrations (MIC) against staphylococci. Based on the completed analysis, all described AMP can be divided into 4 groups. The first group includes AMP secreted into sweat in concentrations comparable to MIC values – these are dermcidins, calprotectin, lipocalin and azurocidin. The second group consists of sweat AMP, secreted in levels one order of magnitude lower than the corresponding MIC values – these are cathelicidin and adrenomedullin. The third group is comprised of AMP secreted into sweat in concentrations 2 or more orders of magnitude lower than MIC values, namely defensins, serum albumin, lactoferrin, secretory leukoprotease inhibitor and psoriasin. Subsequently, the fourth group includes AMP that could not be classified in the aforementioned three groups due to lacking data on their presence in sweat. Clearly it is the first two groups of AMP, specifically, dermcidins, that form the main line skin surface defense from microorganisms, in particular, from staphylococci.

### Keywords

Sweat, staphylococci, antimicrobial polypeptides, dermcidins, cathelicidin, adrenomedullin, psoriasin, calprotectin, lipocalin, azurocidin.

## Введение

Все живые организмы для защиты своего биотопа от чужеродных существ выделяют антагонистические субстанции: бактерии синтезируют бактериоцины и антибиотики, грибы – микоцины и антибиотики, растения – фитонциды, насекомые – различные яды, животные – целый класс соединений пептидной и полипептидной природы, способных защитить носителя от микроорганизмов, с которыми он постоянно взаимодействует. Антимикробные пептиды (АМП) и белки секретируются клетками иммунной системы и эпителия и присутствуют во всех животных биожидкостях. Их действие на микроорганизмы, несмотря на кажущееся многообразие механизмов, сводится к нарушению целостности цитоплазматической мембраны, что приводит к гибели патогенов. Кроме защитной функции, АМП выполняют множество задач, связанных с иммунитетом хозяина. Информация по этим вопросам подробно изложена в наших предыдущих обзорах, посвящённых функционированию АМП в разных локусах и секретах [1, 2, 3, 4]. Как правило, содержание АМП в секретируемых жидкостях составляет  $10^{-6}$ - $10^2$  мкг/мл.

Чтобы иметь представление, в какой степени тот или иной вид АМП принимает участие в антимикробной защите данного биотопа, имеет смысл провести сравнение их реальной концентрации в биожидкости с минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) в отношении какого-либо патогена. В доступной литературе встречаются лишь единичные подобные публикации (см. таблицу).

Недавно с помощью метода спектрофотометрии нам удалось сравнить антимикробную активность сыворотки крови, слюны, вагинального секрета, водорастворимой фракции кожного секрета и урины [5]. Оказалось, что самой активной биожидкостью является сыворотка крови, а наименее активными – кожный секрет и урина. Поскольку кожа является самым большим органом человека и носителем многочисленных видов микроорганизмов, представляет интерес оценить потенциальную эффективность защиты данного органа хотя бы от самых распространённых микроорганизмов. Наиболее известными условно-патогенными обитателями кожи человека являются стафилококки, из которых наиболее изучен *Staphylococcus aureus* – причинно-значимый вид бактерий при таких (поверхностных) кожных заболеваниях, как акне вульгарис, атопический дерматит, микробная экзема, фолликулит, рожистое воспаление и т.д. Выделяемый на

поверхность кожи потовый секрет, как носитель многих АМП, представляет собой первую линию защиты данного локуса. Целью настоящего обзора явилось выявление наиболее значимых в этом отношении АМП путём сравнения величин МИК 17-ти встречающихся у человека классов АМП и их содержанием в потовом секрете. Данные литературы, касающиеся этого вопроса, представлены в таблице. АМП расположены в порядке убывания их концентрации в потовом секрете, причём по каждому из них есть информация о методе определения концентрации; приведены значения МИК по отношению к клеткам *S. aureus* (и *S. epidermidis*, если таковые имеются) и методы определения МИК.

**Дермцидины.** Семейство дермцидинов – антимикробных пептидов, секретируемых эккринными потовыми железами, – открыто в 2001 году [6]. Дермцидины в основном представлены анионными DCD-1L и DCD-1 и катионными SSL-25 и SSL-23 [7]. Эти пептиды, независимо от их заряда, обладают широким спектром активности против таких условно-патогенных микроорганизмов, как *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, MRSA *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* и *Salmonella typhimurium*. При этом отмечено, что рекомбинантные препараты этих АМП менее активны, чем синтетические. Кроме того, показано, что *S. epidermidis* как нормальный обитатель кожных покровов способен защититься от действия дермцидинов путём образования биопленок и специальных регуляторных механизмов. Установлено, что дермцидины участвуют в регуляции иммунитета кожи не только с помощью прямого антимикробного действия, но и через регуляцию воспалительного процесса.

При исследовании пациентов с атопическим дерматитом (АД) обнаружено достоверно пониженное содержание дермцидинов в потовом секрете по сравнению с группой контроля, которое коррелировало с пониженной *in vivo* антимикробной активностью данного ликвора [8]. Возможно, это одна из причин низкой сопротивляемости больных АД инфекционным агентам, в частности *S. aureus*.

Концентрация дермцидина в поте пациентов с акне вульгарис была значительно ниже, чем в контрольной группе: медиана 9,8 мкг/мл (разброс 6,9-95,3 мкг/мл) против 136,7 мкг/мл (45,4-201,6 мкг/мл) ( $p=0,001$ ) [9].

У пациентов с эктодермальной дисплазией в смывах с кожи обнаружено снижение дермци-

**Таблица. Сравнение минимальной ингибирующей концентрации антимикробных пептидов в отношении стафилококков с их содержанием в потовом секрете**

АМП	Мол. масса АМП, мкг/мл	Концентрация АМП в поте, мкг/мл	Метод определения концентрации АМП в поте	Ссылка	МИК, мкг/мл	Микроорганизм и метод определения МИК	Ссылка
Дермцидины DCD-1	5,07	1-10	Высокоэффективная жидкостная хроматография	Schittek B, 2001	1-10	<i>S. aureus</i>	Schittek B, 2001;
DCD-1L		70 (по всей группе DCD)	Иммуноферментный анализ	Rieg S, 2005	8-45	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	Murakami M, 2002
		12,9	Масс-спектрометрия	Csősz É, 2015	10-50	Метод микроразведений + высев <i>S. aureus</i>	Schittek B, 2012
		136,7	Иммуноферментный анализ	Nakano T, 2015	50***	Метод микроразведений + высев	Nakano T, 2015
Кальпротектин	36,5	7-31	Иммуноферментный анализ	CY-8107 CircuLex Human Calprotectin ELISA Kit.	64 64-256	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , Диско-диффузионный метод	Steinbakk, 1990
Кателицидин LL 37	4,5	Среднее 4,5	Количественный Вестерн-блот и дог-блот анализ	Murakami M, 2002	28 - 112	<i>S. aureus</i>	Murakami M, 2002
Липокалин	25,0	менее 3*	Масс-спектрометрия (label-free LC-MS/MS analyses)	Csősz É, 2015	0,04*** 0,04***	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> Метод серийных разведений + высев	Bakhshandeh, 2014
Сывороточный альбумин	67	менее 1,3*	Масс-спектрометрия	Csősz É, 2015	1000±5000	<i>S. aureus</i>	Арзумянн В.Г, 2019
Адреномедуллин	6,0	0,528	Радиоиммуноанализ	López J, 2002	12,5	<i>S. aureus</i>	Allaker RP, 1999
Лактоферрин	76 - 80	0,021	Иммуно-ферментный анализ и Вестерн-блот	Park et al., 2011	≥ 500	<i>S. aureus</i> , Метод микроразведений + ОП регистрация	Hussan JR, 2022

Азуроцидин	37,0	0,01÷0,1*	Масс-спектрометрия (label-free LC-MS/MS analyses)	Burian, M., 2015	0,185	<i>S. aureus</i> Метод микроразведений + регистрация ОП	J. Нц, 2013
Дефензины: hBD-2 и hBD-3	3,5 – 4,5	0 Менее 0,01	Иммуноферментный анализ	Tjabringa, 2005; Wittersheim M, 2013 Tjabringa, 2005	hBD-1: 4 –8 hBD-3: 0,5–4 HNP-1: 2–8	<i>S. aureus</i> Метод микроразведений + визуальная оценка наличия роста	Bolatchiev A., 2020
Секреторный ингибитор лейкопротеазы	11,7	Менее 0,01	Иммуноферментный анализ	Tjabringa, 2005	200	<i>S. aureus</i> , Метод серийных разведений + высев	Niemstra PS, 1996
Псориазин	11,4	Присутствует в коже**	Масс-спектрометрия	Kerr, 2014 Glaser R., 2009	228 Выше 290	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> Метод микроразведений + высев	Glaser R., 2004
Лизоцим	14	Присутствует в коже**	Масс-спектрометрия	Kerr, 2014	Выше 50000	<i>S. aureus</i> Диско-диффузионный метод	Beta, A., 2005
Гепцидин	2,8	Присутствует в коже**	Масс-спектрометрия	Kerr, 2014	Выше 20000 36,4	Спектрофотометрический метод <i>S. aureus</i> Метод микроразведений + ОП	Колыганова, 2021 Lin W, 2014
Бактерицидный/увеличивающий проницаемость белок (BPI CAP57)	55	Присутствует в коже**	Масс-спектрометрия	Kerr, 2014	140	<i>S. epidermidis</i> Метод микроразведений + высев	Brancatisano, 2014
РНКаза 7	14,5	Присутствует в коже**	ПЦР; ВЭЖХ	Harder, 2002	112	Нет данных <i>S. aureus</i> Метод микроразведений + высев	Нет данных Harder, 2002
Гистатины	3,0-4,9	Нет данных	Нет данных	Нет данных	>200	<i>S. aureus</i> Метод микроразведений + высев	Groenink J., 2003
Гранулизин	9	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных

\*расчетные величины относительно дермидина

\*\*нет количественных данных о содержании в поте

\*\*\*данные по отношению к рекомбинантному препарату

динов на 2 порядка по сравнению с контрольной группой, несмотря на близкие значения общего содержания белков в образцах [10].

Оценка экспрессии генов дермцидинов в образцах кожи пациентов с гнойным гидраденитом показала значительное снижение по сравнению с группой контроля [11].

Из таблицы видно, что диапазон концентраций дермцидинов в потовом секрете 1-137 мкг/мл [6, 8, 9, 12] вполне соответствует (перекрывает) диапазону МИК для стафилококков – 1-50 мкг/мл [6, 7, 9, 13].

**Кальпротектин** (синонимы: calcium binding L1 protein, S100A8/S100A9). Кальпротектин встречается во многих биологических жидкостях, при этом его максимальное содержание отмечено в слюне и вагинальном секрете – до 41 мкг/мл [4]. Его диагностическое значение связано с тем, что он является маркером воспалительных заболеваний кишечника. В доступной литературе нам удалось обнаружить единственную публикацию, касающуюся содержания кальпротектина в потовом секрете – это не научная статья, а лишь инструкция к набору для определения этого АМП методом иммуноферментного анализа [CY-8107 CircuLex Human Calprotectin ELISA Kit]. Этот АМП ингибирует рост *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *S. aureus* и *S. epidermidis* [15], а кроме того, активен против *Borrelia* (*Borrelia*) *burgdorferi* [16]. Отмечено также, что ингибирование роста *S. aureus* не зависит от pH среды, тогда как в отношении *S. typhimurium* и *E. coli* эффект ослабляется при понижении pH, а в случае *P. aeruginosa* – усиливается [17].

Уровни кальпротектина при кожных заболеваниях оценивались только в сыворотке крови и коже. Отмечено, что при акне вульгарис средней и тяжёлой степени уровень сывороточного кальпротектина значительно выше, чем в группе контроля [18]. Повышенная экспрессия кальпротектина в кератиноцитах имела место при псориазе и инверсных акне (гнойном гидрадените) [19], но не при atopическом дерматите [20].

Из данных таблицы следует, что концентрация кальпротектина в потовом секрете не превышает 31 мкг/мл, тогда как значения МИК по отношению к золотистому стафилококку составляют 64 мкг/мл [15]. Эти величины сопоставимы, однако последняя величина была получена относительно устаревшим диско-диффузионным методом, что даёт основания для дальнейших исследований.

**Кателицидин (LL 37)**. Наибольший уровень этого АМП имеет место в сперме (50-124 мкг/мл),

тогда как в вагинальном секрете и в сыворотке крови их на 2 порядка меньше [4]. Кателицидин является одним из важнейших АМП, участвующих в защите кожных покровов: с одной стороны, это обусловлено его непосредственным киллерным действием на клетки грибов, бактерий и вирусов, а с другой – в качестве «алармина», повышающего иммунный ответ носителя [21].

При atopическом дерматите отмечается повышенная экспрессия мРНК и белка LL 37 в лихенифицированной коже по сравнению с гладкой [22], а также отсутствие существенных различий в этих показателях для непоражённой кожи у atopических пациентов и здоровых добровольцев [23]. Однако есть данные и о сниженной экспрессии этого АМП в коже при АД [21]. Уровни сывороточного LL 37 повышались только при тяжёлых формах АД.

Установлено, что у пациентов с розацеа имели место значительно повышенные уровни кателицидина и его производных в кожных чешуйках по сравнению с контролем [24]. Введение этих АМП мышам приводило к воспалительному процессу на коже, что подтверждает участие LL 37 в патогенезе данного заболевания.

Впервые показано, что в воспалённой коже пациентов с трудно поддающимся лечению акне вульгарис после лечения ретиноидами имела место возросшая индукция кателицидина [25]. Противовоспалительная активность LL 37 обусловлена связыванием бактериальных липополисахаридов, снижением TNF-α макрофагами и ингибированием активности инфламмасом [26].

Из таблицы видно, что содержание кальпротектина в потовом секрете в 6÷25 раз ниже, чем МИК по отношению к *S. aureus*. Это значит, что ожидать выраженного противомикробного эффекта от этого полипептида в составе пота можно только при сочетании его с другими АМП.

**Липокалин** (NGAL – neutrophil gelatinase-associated lipocalin, липокалин 2). Данный АМП присутствует во многих биожидкостях, но его уровень в слюне – до 0,5 мкг/мл – наибольший [4]. Липокалин по праву считают маркером инфекционных заболеваний, причём более надёжным, чем С-реактивный белок и прокальцитонин [27]. Его содержание в сыворотке крови именно при бактериальных (не вирусных) заболеваниях увеличивается в 2÷3 раза по сравнению с контролем.

Из единственной на сегодняшний день публикации о наличии липокалина в потовом секрете количество этого АМП можно рассчитать лишь исходя из его содержания по сравнению с дермцидином (таблица) [12]. Ещё более интригующей

является единственная публикация об антимикробной способности липокалина *in vitro* по отношению к различным условно-патогенным микроорганизмам: величины МИК составляют сотые доли микрограмма, что на порядок ниже его содержания в сыворотке крови и на два порядка ниже – в потовом секрете [28]. Если авторы данной публикации не ошиблись, то мы вправе ожидать самого активного участия липокалина в защите кожных покровов от микроорганизмов, в частности от стафилококков.

**Сывороточный альбумин.** Данный белок выполняет множество функций в организме: поддерживает онкотическое давление плазмы, связывает и транспортирует низкомолекулярные вещества и экзогенные лиганды, участвует в окислительно-восстановительных реакциях и в поддержании кислотно-основного равновесия в крови, в регуляции гемостаза и апоптоза [29]. Недавно показано, что сывороточный альбумин в концентрациях, близких к физиологическим, проявляет антимикробную активность против про- и эукариот, разрушая цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку [30]. Мы попытались определить концентрацию этого АМП в потовом секрете по реакции с бромкрезоловым зелёным, но эта концентрация, видимо, оказалась ниже предела чувствительности метода (ниже 1 мг/мл). По данным единственной публикации на эту тему, данная величина, оценённая относительно содержания дермцидина, примерно на 3 порядка ниже [12] и примерно так же ниже величин МИК по отношению к стафилококкам. В этой связи участие сывороточного альбумина в антимикробной защите кожи маловероятно.

**Адренomedуллин.** Этот пептид синтезируется макрофагами и моноцитами и присутствует во многих тканях, выполняя функцию вазодилатора, а также регулятора клеточного роста и АМП [31]. Показано антимикробное действие адренomedулина на представителей условно-патогенной микробиоты кожи и других мукозальных тканей: *Propionibacterium acnes*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Eikenella corrodens*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli* и *Helicobacter pylori* [32].

Установлено, что адренomedуллин содержится в эпидермисе, однако его экспрессия при акне практически не отличается от таковой при непоражённой коже [31]. В потовом секрете концентрация этого АМП на 2 порядка выше, чем в

сыворотке крови [4, 33]. Роль адренomedулина в антимикробной защите кожи спорная, поскольку его содержание в поте на порядок ниже МИК (таблица).

**Лактоферрин.** Этот АМП является гликопротеином, синтезируется гранулами нейтрофилов, а также экзокринными железами млечкопитающих [4]. У человека он присутствует практически во всех биожидкостях организма, однако наибольших концентраций – порядка 100÷8000 мкг/мл – достигает в грудном молоке, слёзной и семенной жидкости. Содержание сывороточного лактоферрина коррелирует с тяжестью и длительностью течения акне вульгарис [34], однако определение концентрации этого АМП в потовом секрете в данном исследовании не проводили. Нами не обнаружено каких-либо данных о взаимосвязи лактоферрина и прочих заболеваний кожи. Есть данные о лечении кожных заболеваний – акне, псориаза и диабетических язв – с помощью препарата лактоферрина [35].

Значение лактоферрина, секретлируемого на поверхность кожи, в качестве антимикробного вещества по отношению к стафилококкам вряд ли велико: его концентрация в поте на 4 порядка ниже МИК (таблица).

**Азуроцидин (CAP37).** Этот гепарин-связывающий белок синтезируется в азурофильных гранулах нейтрофилов и, помимо антимикробной функции, является медиатором воспаления, хемоаттрактантом и активатором моноцитов макрофагов. Информация об участии азуроцидина в воспалительных заболеваниях кожи отсутствует. Содержание азуроцидина в сыворотке крови и моче составляет всего 0,01÷0,02 мкг/мл [4], а в потовом секрете уровень этого пептида может быть на порядок выше [10]. Величины МИК азуроцидина по отношению к стафилококкам сравнимы с его уровнем в потовом секрете [36], поэтому вклад данного АМП в защиту кожных покровов можно рассматривать как значимый.

**Дефензины:**  $\alpha$ -дефензины (human neutrophil peptides, HNP) синтезируются в азурофильных гранулах нейтрофилов и клетках Панета, тогда как  $\beta$ -дефензины (human beta-defensin, hBD) – в макрофагах, моноцитах и дендритных клетках. Считают, что  $\beta$ -дефензины играют важную роль при воспалительных заболеваниях кожи, однако наличие их экспрессии установлено лишь в клетках эпидермиса hBD-2 и hBD-3, а в потовом секрете  $\beta$ -дефензины отсутствуют [37, 38]. Показано наличие HNP1-3 в потовом секрете [38], однако концентрация его на 2 порядка ниже, чем соответствующие величины МИК по отношению к стафилококкам [40].

Считают, что защита посредством дефензинов осуществляется именно внутри клеток кератиноцитов. Экспрессия  $\beta$ -дефензинов в кератиноцитах повышена при гнойном гидрадените [19], при акне и псориазе, а при атопическом дерматите данные противоречивы – есть указания как на их снижение [39], так и на значительное повышение [41].

**Секреторный ингибитор лейкопротеазы (SLPI).** Данный АМП вырабатывается клетками эпителия и, как и прочие, обладает множественными функциями. Есть данные о том, что SLPI играет защитную роль при псориазе, предотвращая сухость кожи, присущую патогенезу псориаза, и что это действие SLPI зависит от входных сигналов нейронов, действующих рефлекторно [42]. Показано, что при атопическом дерматите имеют место высокие уровни этого АМП в крови, причём он регулирует миграционную способность эозинофилов [43]. Исследований, касающихся роли SLPI при акне, нами не обнаружено.

Содержание SLPI в потовом секрете на 4 порядка ниже, чем величина его МИК по отношению к стафилококкам (таблица) [38]. По всей видимости, роль данного полипептида не связана с поверхностью кожи.

**Псориазин (S100A7)** вырабатывается в эпидермальных кератиноцитах и сальных железах кожи человека и был впервые обнаружен при псориазе. Из всех биожидкостей наиболее высокая его концентрация в слюне – до 15 мкг/мл [4].

Есть данные о повышенной экспрессии псориазина при гнойном гидрадените [19]. Установлено, что в себоглангулярном протоке комедонов при акне имела место высокая экспрессия псориазина [44]. Количественных данных о его содержании в нативном потовом секрете нет, однако в смывах с кожи здоровых людей псориазин обнаружен методом ИФА в сравнительно небольших количествах: 1–23 нг/мл в смывах с площади 0,55 см<sup>2</sup>, тогда как при атопическом дерматите эти величины составляли 90–120 нг/мл [45]. Эти величины на несколько порядков ниже соответствующих значений МИК для стафилококков (таблица) [46], но однозначных выводов о соотношении содержания псориазина в потовом секрете с величиной МИК по имеющимся данным сделать невозможно.

**Лизоцим** продуцируется макрофагами, нейтрофилами, дендритными клетками и эпителиоцитами и присутствует во всех биожидкостях организма [4]. Наиболее высокая концентрация этого АМП имеет место в слёзной жидкости (до 500 мкг/мл) и грудном молоке (до 300 мкг/мл). Информации о его концентрации в потовом

секрете нет, однако известно, что он там присутствует (таблица). Измерение лизоцима в секциях кожи методом иммунофлуоресценции показало его содержание на уровне 75÷198 мкг/г сырого веса [47]. МИК этого полипептида по отношению к стафилококкам [48] на 2 порядка превышает его уровни в самых обильных по лизоциму биожидкостях, поэтому, скорее всего, его роль в защите поверхности кожи невелика. В литературе по акне и атопическому дерматиту лизоцим упоминается лишь как компонент перспективного препарата для лечения против стафилококков [50].

**Гепцидин** известен как ключевой гормон, регулирующий уровень железа, обладающий также и антимикробными свойствами [4]. Его уровни в сыворотке крови и моче составляют максимум 1–2 мкг/мл. По содержанию гепцидина в потовом секрете почти ничего неизвестно [51], тем не менее, он играет определённую роль при заболеваниях кожи. Показано, что в коже продукция гепцидина кератиноцитами индуцируется у носителей с некротизирующим фасциитом, вызванным стрептококком группы А [52]. У пациентов с акне вульгарис отмечено значительное повышение сывороточного гепцидина, который коррелировал со степенью тяжести заболевания [53]. Поскольку в доступной литературе нет количественных данных о содержании гепцидина в поте, то сравнить эти величины с чувствительностью стафилококков [54, 55] не представляется возможным.

**Бактерицидный / увеличивающий проницаемость белок (BPI CAP57)** синтезируется в азурофильных гранулах нейтрофилов и обнаружен в различных биожидкостях, хотя и в невысокой концентрации – порядка 70 нг/мл [4]. Известно, что в потовом секрете он присутствует, но нет данных о его концентрации [51]. Кроме того, отсутствуют какие-либо данные о роли BPI при заболеваниях кожи, а также о чувствительности к нему стафилококков.

**РНКаза 7** среди прочих рибонуклеаз единственная обнаружена в кератиноцитах и эпителиоцитах [4, 55]. При атопическом дерматите имеет место значительное увеличение экспрессии РНказы 7 в пробах кожи и в кожных смывах по сравнению с контролем [56]. Кроме того, экспрессия РНказы 7 в кератиноцитах повышается при псориазе и стафилококковых поражениях кожи. Есть данные об активности этого АМП против стафилококков *in vitro* [55], причём величины МИК (таблица) на 4 порядка выше, чем содержание РНказы 7 в смывах с кожи [57].

**Гистатины** – это семейство АМП, отличающихся высоким содержанием гистидина, выраба-

тывающихся эпителиоцитами и активных против бактерий, грибов и вирусов [4]. Установлено, что гистатины способствуют миграции эпителиоцитов и фибробластов, что играет важную роль в процессе ранозаживления и выдвигает эти АМП в качестве кандидатов в лекарственные средства, активные против кожных ран [58]. Их обнаруживают в высокой концентрации (порядка 50 мкг/мл) в слюне и слезной жидкости, тогда как в прочих биожидкостях они отсутствуют. О роли гистатинов в естественных условиях на коже информация отсутствует, хотя известна их активность по отношению к стафилококкам [59].

**Гранулизин** – это антимикробный пептид, продуцируемый клетками цитолитических Т-лимфоцитов и натуральных киллеров [60]. Он активен против бактерий, грибов и простейших, а также опухолевых клеток. Известно, что при буллезных кожных расстройствах, опосредованных цитотоксическими Т-лимфоцитами, содержание гранулизина в жидкости пустул на 2-3 порядка выше, чем при не опосредованных таковыми [61]. При псориазе значительно повышается содержание гранулизина в крови и клетках эпидермиса по сравнению с контролем [62]. Производные гранулизина считают перспективными веществами в лечении акне [63]. Данные, касающиеся активности гранулизина против стафилококков, отсутствуют, определена лишь его МИК методом микроразведений по отношению к *Salmonella Typhimurium* – она составила 90 мкг/мл [64]. Неизвестно также, присутствует ли гранулизин в потовом секрете.

На основании вышеизложенного все описанные АМП можно разделить на следующие группы:

1. АМП, которые точно присутствуют в потовом секрете, причём их концентрации сопоставимы с величинами МИК по отношению к стафилококкам – это дермцидины, кальпротектин, липокалин и азуроцидин.
2. АМП, которые есть в потовом секрете, но их содержание примерно на порядок ниже упомянутых значений МИК – это кателицидин и адреномедуллин.
3. АМП, концентрации которых в потовом секрете на 2 и более порядков ниже величин МИК – это дефензины, сывороточный альбумин, лактоферрин, секреторный ингибитор лейкопротеазы и псориазин.
4. Прочие АМП, относительно которых невозможно сделать однозначных выводов ввиду отсутствия данных об их наличии в потовом секрете.

Очевидно, что первые две группы АМП, в особенности дермцидины, и составляют главную линию защиты поверхности кожи от микроорганизмов, в частности от стафилококков.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова, функционирующего при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Минобрнауки России, Соглашение № 075-15-2021-676 от 28.07.2021.

## Литература

1. Арзумян В.Г., Кабаева Т.И. Антимикробные пептиды кожи как факторы местного иммунитета. Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2008; 3 (1): 47-52.
2. Арзумян В.Г., Мальбахова Е.Т., Комиссарова Л.М. Антимикробные пептиды как факторы местного иммунитета при вульвовагинальном кандидозе. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2008; 4 (2): 46-49.
3. Колыганова Т.И., Арзумян В.Г., Хорошко Н.В. и др. Различия гуморальных факторов иммунной защиты грудного молока и молозива. Вопросы детской диетологии. 2021; 1: 1-8. DOI: 10.20953/1727-5784-2021-2
4. Иксанова А.М., Арзумян В.Г., Конаныхина С.Ю. и др. Антимикробные пептиды в биожидкостях человека. MIR J 2022; 9(1): 37–55. doi: 10.18527/2500-2236-2022-9-1-37-55
5. Arzumanyan V, Erofeeva T, Zhigalkina P, et al. Antimicrobial activities of human biofluids and their antimicrobial peptide fractions against *Candida albicans*. Current Topics in Peptide and Protein Research. 2019; 20: 35-40. DOI: 10.31300/CTPPR.20.2019.35-40
6. 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.
7. Schitteck B. The Multiple Facets of Dermcidin in Cell Survival and Host Defense. J Innate Immun 2012; 4 (4), 349-60. doi: 10.1159/000336844
8. 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.
9. 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 Sep;95(7):783-6. doi: 10.2340/00015555-2068.
10. 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.
11. 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.
12. Csösz 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 Oct;29(10):2024-2031.
13. 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. CY-8107 CircuLex Human Calprotectin ELISA [Electronic resource]. Mode of access: <https://www.mblbio.com/bio/g/dtl/P/?pcd=CY-8107>.
14. Steinbakk M., Naess-Andresen C-F, Fagerhol M.K., et al. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *The Lancet*. 1990; Vol. 336, Iss. 8718: 763-765.
15. Besold AN, Culbertson EM, Nam L, et al. Antimicrobial action of calprotectin that does not involve metal withholding. *Metallomics*. 2018 Dec 12;10(12):1728-1742. doi: 10.1039/c8mt00133b
16. Rosen T., Nolan E.M. Metal Sequestration and Antimicrobial Activity of Human Calprotectin are pH-Dependent. *Biochemistry*. 2020; doi:10.1021/acs.biochem.0c00359
17. Korkmaz S, Fıçıcıoğlu SK. Calprotectin can play an inflammatory role in acne vulgaris. *Postepy Dermatol Alergol*. 2018 Aug;35 (4):397-399. doi: 10.5114/ada.2017.71286
18. Yao Y., Frew J.W., Thomsen S.F., et al. Antimicrobial Peptides in Hidradenitis Suppurativa – A Systematic Review. *British Journal of Dermatology*. 2021; doi:10.1111/bjd.20750
19. Almansouri D, Zouboulis CC. Calprotectin functions in the skin: an overview. *Hong Kong J. Dermatol. Venereol*. 2017;25:115-121.
20. Reinholz M., Ruzicka T., Schaubert J. Cathelicidin LL-37: An Antimicrobial Peptide with a Role in Inflammatory Skin Disease. *Annals of Dermatology*, 2012;24(2):126.
21. Ballardini N, Johansson C, Lilja G, et al. Enhanced expression of the antimicrobial peptide LL-37 in lesional skin of adults with atopic eczema. *Br J Dermatol* 2009;161:40-47.
22. Goo J, Ji JH, Jeon H, et al. Expression of antimicrobial peptides such as LL-37 and hBD-2 in nonlesional skin of atopic individuals. *Pediatr Dermatol* 2010;27:341-348.
23. Yamasaki K, Di Nardo A, Bardan A, et al. Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nat Med*. 2007 Aug;13(8):975-980.
24. O'Neill AM, Liggins MC, Seidman JS, et al. Antimicrobial production by perifollicular dermal preadipocytes is essential to the pathophysiology of acne. *Sci Transl Med*. 2022 Feb 16;14(632):eabh1478.
25. Harder J., Tsuruta D., Murakami M., et al. What is the role of antimicrobial peptides (AMP) in acne vulgaris? *Experimental Dermatology*, 2013;22(6):386-391.
26. Fang C., Wang Z, Dai Y, et al. Serum human neutrophil lipocalin: An effective biomarker for diagnosing bacterial infections. *Clinical Biochemistry*. 2020; Vol. 75: 23-29. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.10.003
27. Bakhshandeh Z, Halabian R, Imani Fooladi AA, et al. Recombinant human lipocalin 2 acts as an antibacterial agent to prevent platelet contamination. *Hematology*. 2014 Dec;19(8):487-92. doi: 10.1179/1607845414Y.0000000155
28. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Книга 2. Москва: ГЭОТАР; 1998, 440 с.
29. Арзуманян В.Г., Ожован И.М., Свитич О.А. Антимикробное действие альбумина на клетки бактерий и дрожжей. *БЭБМ*, 2019; Т. 167, №6: 722-725.
30. Müller FB, Müller-Röver S, Korge BP, et al. Adrenomedullin: expression and possible role in human skin and hair growth. *Br J Dermatol*. 2003 Jan;148(1):30-8. doi: 10.1046/j.1365-2133.2003.05016.x
31. Allaker RP, Zihni C, Kapas S. An investigation into the antimicrobial effects of adrenomedullin on members of the skin, oral, respiratory tract and gut microflora. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999 Apr;23(4):289-93. doi: 10.1111/j.1574-695X.1999.tb01250.x
32. López J, Martínez A. Cell and molecular biology of the multifunctional peptide, adrenomedullin. *Int Rev Cytol*. 2002;221:1-92. doi: 10.1016/s0074-7696(02)21010-4
33. Sharara MA, Diab HM, Reda AM. A pilot study on serum lactoferrin in patients with mild versus severe acne in correlation with disease duration. *J Egypt Womens Dermatol Soc* 2019;16:193-7.
34. Hassoun LA, Sivamani RK. A systematic review of lactoferrin use in dermatology. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017 Nov 22;57(17):3632-3639. doi: 10.1080/10408398.2015.1137859
35. Hu J., Peidaee P., Elshagmani E., et al. The effects of synthetic Azurocidin peptide analogue on *Staphylococcus aureus* bacterium. 13th IEEE International Conference on BioInformatics and BioEngineering, Chania, Greece. 2013: 1-4.
36. Wittersheim M, Cordes J, Meyer-Hoffert U, et al. Differential expression and in vivo secretion of the antimicrobial peptides psoriasin (S100A7), RNase 7, human beta-defensin-2 and -3 in healthy human skin. *Exp Dermatol*. 2013 May;22(5):364-6. doi: 10.1111/exd.12133
37. Tjabringa GS, Vos JB, Olthuis D, et al. Host defense effector molecules in mucosal secretions. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005 Aug 1;45(2):151-8. doi: 10.1016/j.femsim.2005.03.004
38. Herman A, Herman AP. Antimicrobial peptides activity in the skin. *Skin Res Technol*. 2019 Mar;25(2):111-117. doi: 10.1111/srt.12626. Epub 2018
39. Bolatchiev A. Antibacterial activity of human defensins against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Peer J*. 2020 Nov 25;8:e10455. doi: 10.7717/peerj.10455.
40. Clausen ML, Jungersted JM, Andersen PS, et al. Human  $\beta$ -defensin-2 as a marker for disease severity and skin barrier properties in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2013 Sep;169(3):587-93. doi: 10.1111/bjd.12419
41. Kwiecinska P, Grygier B, Morytko A, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor regulates nerve reflex-mediated skin barrier function in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022 Aug;36(8):1266-1274. doi: 10.1111/jdv.18065
42. Osiecka O, Skrzeczynska-Moncznik J, Morytko A, et al. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Is Present in Circulating and Tissue-Recruited Human Eosinophils and Regulates Their Migratory Function. *Front Immunol*. 2022; 12:737231. doi: 10.3389/fimmu.2021.737231
43. Ganceviciene R, Fimmel S, Glass E, et al. Psoriasin and follicular hyperkeratinization in acne comedones. *Dermatology*. 2006; 213(3):270-2. doi: 10.1159/000095058
44. Glaser R., Meyer-Hoffert U., Harder J., et al. The Antimicrobial Protein Psoriasin (S100A7) Is Upregulated in Atopic Dermatitis and after Experimental Skin Barrier Disruption. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009;129:641-649.
45. Gläser R., Harder J., Lange H., et al. Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from *Escherichia coli* infection. *Nature Immunology*. 2004;6 (1):57-64.
46. Papini M., Simonetti S., Franceschini S., et al. Lysozyme Distribution in Healthy Human Skin . *Arch Dermatol Res*. 1982;272:167-170.
47. Bera A., Herbert S., Jakob A., et al. Why are pathogenic staphylococci so lysozyme resistant? The peptidoglycan O-acetyltransferase OatA is the major determinant for lysozyme resistance of *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*. 2005; 55: 778-787. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04446.x>
48. Kolyganova T., Arzumanyan V, Budanova E, et al. Activity of breast milk antimicrobial peptides in experiments in vitro. *Current Topics in Peptide & Protein Research*. 2021; Vol. 22: 77- 83. DOI 0.31300/CTPPR.22.2021.77-83
49. Choopani R, Mehrbani M, Fekri A, et al. Treatment of Atopic Dermatitis From the Perspective of Traditional Persian Medicine:

- Presentation of a Novel Therapeutic Approach. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2017; 22 (1):5-11. doi:10.1177/2156587215598610
50. Brancatisano F.L., Maisetta G., Di Luca M., et al. Inhibitory effect of the human liver-derived antimicrobial peptide hepcidin 20 on biofilms of polysaccharide intercellular adhesin (PIA)-positive and PIA-negative strains of *Staphylococcus epidermidis*. *Biofouling*. 2014;30(4):435–446.
51. Malerba M, Louis S, Cuvellier S, et al. Epidermal hepcidin is required for neutrophil response to bacterial infection. *J Clin Invest*. 2020;2, 130 (1): 329-334. doi: 10.1172/JCI126645
52. El-Taweel AA, Salem RM, El-Shimi OS, et al. Type I and type II acute-phase proteins in acne vulgaris. *J Egypt Womens Dermatol Soc* 2019;16:31-6. DOI: 10.4103/JEWD.JEWD\_3\_19
53. Lin W, Liu S, Hu L, et al. Characterization and bioactivity of hepcidin-2 in zebrafish: dependence of antibacterial activity upon disulfide bridges. *Peptides*. 2014; 57:36-42.
54. Harder J, Schroder JM. RNase 7, a novel innate immune defense antimicrobial protein of healthy human skin. *J Biol Chem*. 2002; 277 (48):46779-84. doi: 10.1074/jbc.M207587200
55. Rademacher F, Dreyer S, Kopfnagel V, et al. The Antimicrobial and Immunomodulatory Function of RNase 7 in Skin. *Front Immunol*. 2019; 5 (10): 2553. doi: 10.3389/fimmu.2019.02553
56. Harder J., Dressel S., Wittersheim M., et al. Enhanced Expression and Secretion of Antimicrobial Peptides in Atopic Dermatitis and after Superficial Skin Injury. *Journal of Investigative Dermatology*. 2010; 130 (5): 1355–1364. doi:10.1038/jid.2009.432
57. Pan L., Zhang X., Gao Q. Effects and mechanisms of histatins as novel skin wound-healing agents. *Journal of Tissue Viability*. 2021; 30(2): 190–195. doi:10.1016/j.jtv.2021.01.005
58. Groenink J, Ruissen AL, Lowies Det al. Degradation of antimicrobial histatin-variant peptides in *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*. 2003 Sep;82(9):753-7.
59. Krensky AM. Granulysin: a novel antimicrobial peptide of cytolytic T lymphocytes and natural killer cells. *Biochem Pharmacol*. 2000 Feb 15;59(4):317-20. doi: 10.1016/s0006-2952(99)00177-x
60. Chen CB, Kuo KL, Wang CW, et al Taiwan Severe Cutaneous Adverse Reaction Consortium. Detecting Lesional Granulysin Levels for Rapid Diagnosis of Cytotoxic T lymphocyte-Mediated Bullous Skin Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 Mar;9(3):1327-1337.e3. doi: 10.1016/j.jaip.2020.09.048
61. Vičić M, Kaštelan M, Sotošek Tokmadžić V, et al. Systemic and Local Increase of Granulysin Expression in Cytotoxic Lymphocytes in Severe Psoriasis. *Acta Derm Venereol*. 2019 Nov 1;99(12):1136-1142. doi: 10.2340/00015555-3298
62. Lim H.-S., Chun S.-M., Soung M.-G., et al. Antimicrobial efficacy of granulysin-derived synthetic peptides in acne vulgaris. *International Journal of Dermatology*. 2015; 54(7): 853–862. doi:10.1111/ijd.12756
63. Wang Z, Choice E, Kaspar A, et al. Bactericidal and tumoricidal activities of synthetic peptides derived from granulysin. *J Immunol*. 2000 Aug 1;165(3):1486-90. doi: 10.4049/jimmunol.165.3.1486

#### Сведения об авторах

Арзумян Вера Георгиевна – д.б.н., профессор, зав. лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва. ORCID: 0000-0001-9769-1634.

Джадаева Анна Вячеславовна – врач ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения города Москвы», Москва. ORCID: 0009-0003-4107-580X.

Заборова Виктория Александровна – профессор кафедры спортивной медицины и медицинской реабилитации ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ», Москва. ORCID: 0000-0001-5044-1152.

Колыганова Татьяна Игоревна – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; младший научный сотрудник лаборатории физиологии грибов и бактерий ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва. ORCID: 0000-0002-9065-9786.

Сергеева Марья Алексеевна – врач Научно-исследовательского центра «Клиника дерматологии», Москва. ORCID: 0000-0003-0292-5878.

Поступила 23.01.2023.