

Стан ендогенних антимікробних пептидів у хворих на вугрову хворобу

В. В. Бочарова

Одеський національний медичний університет

Резюме

Метою дослідження стало визначення вмісту в крові хворих на вугрову хворобу альфа-дефензинів та з'ясування впливу їх функціонального стану на перебіг захворювання. **Об'єкт** дослідження: вугрова хвороба.

Методи дослідження: загальноклінічні, імуноферментні, статистичні.

Результати: виявлено достовірне підвищення рівнів у крові хворих на вугрову хворобу альфа-дефензинів (HNP 1–3) у порівнянні з показниками контрольної групи здорових осіб, що може свідчити про порушення механізмів кутанної толерантності мікробіоти шкіри при даному захворюванні та компенсаторну реакцію на це з боку системи антимікробних пептидів (альфа-дефензинів).

Висновки: підвищення рівнів альфа-дефензинів у крові хворих на вугрову хворобу є реакцією вродженої лінії захисту організму у відповідь на надмірну мікробну колонізацію сально-волосяних фолікулів із залученням до неї різних типів клітин шкіри, що потребує врахування при призначенні комплексної терапії таким хворим.

Ключові слова: вугрова хвороба, дефензини, кутанна толерантність.

Вступ

Шкіру людини розглядають як орган, який являє собою орієнтований у просторі структурно-функціональний тканинний комплекс, на частку якого припадає до 20% від загальної маси тіла. Саме шкіра виступає найпершим бар'єром організму, що забезпечує захист усіх органів і систем від різноманітних впливів зовнішнього середовища, відіграючи важливу роль у збереженні фізіологічного гомеостазу. У цьому аспекті слід зазначити, що «охоронні» її функції пройшли довгий і складний еволюційний шлях і охоплюють найрізноманітніші системи захисту, що функціонують злагоджено, як єдине ціле, а їх структури представлені різним пулом клітин і продуктів їх синтезу (метаболізму та обміну), до яких відносять у тому числі відкриті в минулому столітті так звані антимікробні пептиди. Повноцінне функціонування даного класу молекул забезпечує одну з важливих складових – антимікробний захист (у тому числі за рахунок механізмів так званої кутанної толерантності мікробіоти), беручи активну участь у збереженні повноцінного фізіологічного біотопу, що дає змогу природно регулювати кількісно-видовий склад мікробіоти шкіри.

Антимікробні пептиди є одними з найбільш древніх молекул першої (вродженої) системи захисту від різноманітних інфекційних факторів, і їх функціональне

призначення обумовлено, передусім, фізико-хімічними властивостями, за рахунок чого вони й забезпечують запобігання колонізації та повноцінну елімінацію патогенних мікроорганізмів [7]. Активне вивчення антимікробних пептидів дало змогу відкрити численний клас молекул пептидної природи, що синтезуються як прокаріотичними, так і еукаріотичними клітинами, загальна кількість яких нараховує близько півтисячі сполук [10].

В організмі людини на сьогодні ідентифіковано близько сотні таких молекул з відповідними функціями, 15 з яких відносять до підкласу катіонних білків – так званих дефензинів [8, 9]. Ці біологічно активні ендогенні пептиди, незважаючи на те, що належать до розряду короткоживучих молекул (швидко зазнають ферментативного розщеплення протеазами), здатні при злагодженій роботі каскаду клітинних/міжклітинних і молекулярних/міжмолекулярних комунікацій повноцінно реалізувати свої функції, оскільки їх синтез в організмі людини є постійним і не призводить до формування мікробної резистентності, характеризуючись водночас селективністю дії і атоксичністю [1]. Разом з тим, незважаючи на майже 40-річний період з моменту їх відкриття, альтернативність їх щодо антибактеріальних засобів, перспективність досліджень [6], робіт про їх роль у дерматологічній патології вкрай мало [2,

4, 5], що потребує вивчення їх функціонування і може доповнити/розкрити патогенетичні ланки низки дерматозів, у тому числі вугрової хвороби (ВХ), сприяти оптимізації комплексних лікувально-діагностичних і превентивних заходів.

Актуальність їх вивчення стосовно ВХ також зумовлена значенням мікробної колонізації шкіри та її додатків (сально-фолосяних фолікулів) при цьому захворюванні. Особливий інтерес із широкого спектру класу цих сполук становлять альфа-дефензини – так звані людські нейтрофільні пептиди 1–3 (Human Neutrophils Peptides 1–3; HNP 1–3), які виявляють антимікробну дію як щодо грамнегативних, так і грампозитивних мікроорганізмів. Проте функціональний спектр антимікробних пептидів досить широкий і охоплює не лише антимікробну, а й протигрибкову, противірусну дію, їх активну участь у процесах онкогенезу, причому як у процесах проліферації, так і кілінгу пухлинних клітин [3, 8], та значну роль у запально-репаративному процесі (практично любого генезу), торкаючись майже всіх його етапів/стадій.

Мета дослідження – визначити вміст у крові хворих на ВХ альфа-дефензинів та з'ясувати вплив їх функціонального стану на перебіг захворювання.

Матеріали та методи дослідження

До дослідження було включено 117 хворих на ВХ, ступінь тяжкості якої встановлювався відповідно до загальноприйнятих рекомендацій щодо надання медичної допомоги дерматологічним хворим (що охоплювали дані скарг, анамнезу, об'єктивного і загальнолабораторного обстеження).

Критеріями включення в дослідження були: вік старше 18 років; папулопустульозна форма ВХ; письмова інформована згода пацієнта на участь у дослідженні. Критеріями виключення були: комедональна форма ВХ; хронічні захворювання органів і систем в стадії загострення та наявність декомпенсованої супутньої патології; ендокринопатії (у тому числі гіперандрогенні стани в жінок); участь пацієнта в іншому клінічному дослідженні.

За допомогою імуноферментного аналізу досліджували вміст у сироватці крові хворих на ВХ антимікробних пептидів HNP 1–3 (альфа-дефензинів) з використанням набору реактивів «HNP 1–3, Human, ELISA kit (pg/ml: 156–10000), Hycult®Biotech» (Нідерланди).

Контрольну групу становили 35 практично здорових осіб-добровольців, репрезентативних за статевими та віковими ознаками.

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження опрацьовували за допомогою ліцензованої програми STATISTICA®6.0; статистично достовірними вважали результати при $p < 0,05$ (за непараметричним U-критерієм Манна–Уїтні).

Результати та їх обговорення

У всіх обстежених хворих спостерігалася гостро-запальна форма ВХ з переважанням морфологічних

змін шкіри папулопустульозного характеру, кількісні показники яких у 16 хворих відповідали легкому ступеню клінічного перебігу, у 88 – середньому та в 13 – тяжкому. Захворювання у всіх хворих мало хронічний перебіг з частотою рецидивів від 3 до 4 разів на рік.

Проведені імуноферментні дослідження вмісту у сироватці крові альфа-дефензинів у осіб контрольної групи і хворих на ВХ дали змогу виявити достовірно значущі їх відмінності, а саме зростання вмісту у хворих, рівні альфа-дефензинів відрізнялися не лише від отриманих показників групи контролю, але й між собою (у залежності від ступеня тяжкості клінічного перебігу дерматозу).

З метою перевірки на нормальність розподілу значень HNP 1–3 в контрольній групі, для отримання достовірних результатів дослідження як величини порівняння, було побудовано гістограму їх розподілу, використовуючи стандартні статистичні підходи (рис. 1).

Як свідчать дані, наведені на рисунку 1, вміст у сироватці крові альфа-дефензинів (HNP 1–3) у осіб контрольної групи відповідав нормальному розподілу (знаходився в діапазоні від 352 до 618 пг/мл; у половини обстежених такий діапазон був у межах (462–548) пг/мл при середньому значенні $(504,0 \pm 11,3)$ пг/мл; медіана показників практично співпадала з середніми значеннями, що і вказує на нормальність розподілу величин).

Показники вмісту в сироватці крові альфа-дефензинів практично здорових осіб контрольної групи та хворих на ВХ відрізнялися (див. таблицю).

Як свідчать дані таблиці, у хворих на ВХ з легким ступенем клінічних проявів захворювання середнє значення концентрації в сироватці крові альфа-дефензинів у 2,1 раза перевищувало адекватні/релевантні значення норми, при середньотяжкому та тяжкому перебігу – у 3,6 та 4,0 раза відповідно ($p < 0,001$).

Діаграма розмаху вмісту в сироватці крові альфа-дефензинів відрізнялася в залежності від тяжкості перебігу ВХ (рис. 2).

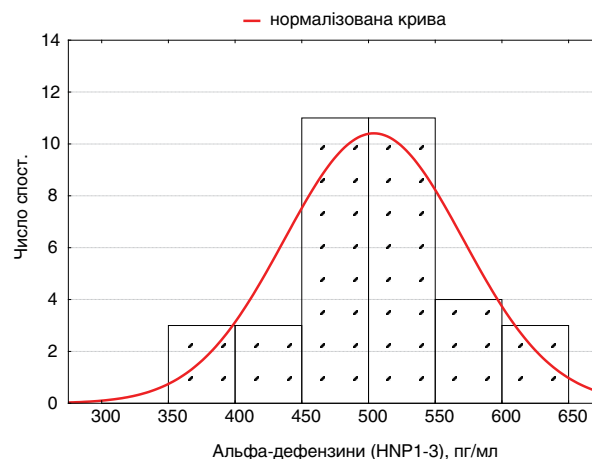


Рис. 1. Розподіл вмісту альфа-дефензинів (HNP1-3) в сироватці крові в осіб контрольної групи

Таблиця. Вміст у сироватці крові альфа-дефензину (пг/мл) в осіб контрольної групи та хворих на ВХ

Контингент обстежених	Середні та їх похибки (M±m)	Медіана (Me)	Діапазон (Min–Max)	Інтерквартильний розмах [25; 75]
Контрольна група	504,0±11,3	510,0	352–618	462; 548
Хворі на ВХ з легким перебігом	1051,3±14,4**	1048,3	950–1152	1016; 1086
Хворі на ВХ з середньотяжким перебігом	1792,5±11,1***	1783,0	1596–1993	1714,0; 1871,5
Хворі на ВХ з тяжким перебігом	2001,0±13,9***	2002,0	1934–2110	1956; 2022

Примітка. Достовірність різниці між показниками осіб контрольної групи та хворих на вугрову хворобу: ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$.

Як свідчить аналіз даних, наведених на рисунку 2, вміст у крові хворих на ВХ альфа-дефензину достовірно відрізнявся в залежності від ступеня тяжкості перебігу захворювання (у хворих з легким, середнім і тяжким перебігом – $p < 0,001$). Водночас, незважаючи на те, що середнє значення вмісту в крові альфа-дефензину у хворих з тяжким перебігом дерматозу було вищим за аналогічне у хворих із середньотяжким перебігом, достовірної різниці між ними не спостерігалось ($p > 0,05$).

Отримані результати імуноферментних досліджень вказують на те, що у хворих на ВХ спостерігається достовірне зростання вмісту в сироватці крові альфа-дефензину (HNP 1–3). Це свідчить, з одного боку, про наявність порушень фізіологічних механізмів так званої кутанної толерантності (що клінічно підтверджується наявністю гострозапальних явищ на шкірі – пустульозні елементи висипки), а з іншої – вказує на неефективність механізмів вродженої (першої) лінії захисту організму. Тобто внаслідок неспроможності ефективно ліквідувати надмірну/патологічну мікробну колонізацію шкіри та її додатків «включаються» додаткові (адаптивні) ланки імунного захисту.

У такому разі незавершений запально-репаративний процес з наявним зростанням вище

фізіологічного рівня вмісту альфа-дефензину є підтвердженням цьому і може свідчити про активацію і включення додаткових джерел їх надходження (як відомо, основним джерелом альфа-дефензину є нейтрофіли, 30–50% білкового вмісту азурофільних гранул яких і становлять HNP 1–3). Тобто за умов патологічного процесу так звані нейтрофільні HNP, при надмірному їх синтезі/звільненні нейтрофілами з осередка ушкодження, швидко потрапляють у кров і як «сигнальні» молекули забезпечують рекрутування прозапальних клітин, які також здатні до їх синтезу (незрілі дендритні клітини моноцитарного походження, моноцити, макрофаги, натуральні кілери, гама- і дельта-Т-лімфоцити, ендотеліоцити та ін.) і забезпечують поряд з синтезом цих самих пептидних молекул посилену експресію та секрецію інших сигнальних сполук (цитокінів, факторів росту, біогенних амінів та ін.), спрямованих на посилення адаптивної відповіді з метою ліквідації пошкодження та повноцінного відновлення фізіологічної «кутанної» толерантності.

Отже, при ВХ антимікробні пептиди можна віднести до неспецифічних індикаторів функціонування вродженої ланки імунної відповіді і посилення/активації та підтримки/регуляції (у разі необхідності) адаптивних механізмів захисту, що забезпечують складні комунікативні взаємодії не лише завдяки авто-/паракринному, але й гемокринному механізмам складних процесів гомеостазу.

Висновки

Достовірне зростання вмісту в крові хворих на ВХ антимікробних пептидів (альфа-дефензину – HNP 1–3) свідчить про адаптивне «включення» цієї вродженої системи антимікробного захисту у відповідь на порушення механізмів «кутанної» толерантності, спричинене надмірною колонізацією мікроорганізмами шкіри сально-волоссяних фолікулів. З урахуванням залучення для синтезу цих пептидів різних клітин в осередок ушкодження шкіри підхід до лікування хворих має бути індивідуалізованим і комплексним (модуляція ефектів пептидних молекул різних класів).

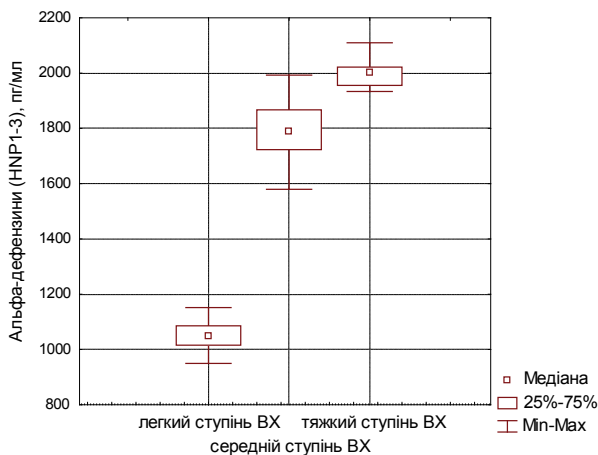


Рис. 2. Діаграма розмаху вмісту в крові альфа-дефензину (пг/мл) у хворих на ВХ з різними ступенями тяжкості клінічного перебігу

Список літератури

1. Болатчиев А.Д., Батурич В.А. Дефензины. Роль в патологии человека и перспективы применения. Вестник молодого ученого. 2016. № 4 (15). С. 17-22.
2. Ермолаева Е.И., Виноградова Т.В., Пампура А.Н. Содержание антимикробных пептидов в сыворотке у детей с atopическим дерматитом. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. № 4. С. 89-92.
3. Мамчур В.И., Левых А.Э. Дефензины – эндогенные пептиды с антиинфекционными и противоопухолевыми свойствами (обзор литературы). Таврический медико-биологический вестник. 2012. Т. 15 (2). Ч. 3 (58). С. 315-321.
4. Уровень эндотелина (1-21) и альфа-дефензина (1-3) при atopическом дерматите и при обострении и ремиссии / И.В. Петрищева, Н.Н. Цыбиков, Н.Н. Фелелова и др. Клиническая дерматология и венерология. 2015. № 1. С. 68-70.
5. Iwasaki A., Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. Nat. Immunol. 2015. Vol. 16, N. 4. P. 343-353. doi: 10.1038/ni.3123.
6. Mozeika E., Pilmene M., Kisis J. Role of Human Skin Antimicrobial Peptides in Psoriasis. Acta Chirurgica Latviensis. 2010. Vol. 10 (2). P. 69-75. doi: 10.2478/v10163-011-0014-0.
7. Scudiero O., Nigro E., Cantisani M. Design and activity of a cyclic mini- α -defensin analog: a novel antimicrobial tool. Int. J. Nanomedicine. 2015. Vol. 10. P. 6523-6539.
8. Tai K.P., Le V.V., Selsted M.E. Ouellette Hydrophobic determinants of α -defensin bactericidal activity. Infect. Immun. 2014. Vol. 82(6). P. 2195-2202.
9. Wang G. Human Antimicrobial Peptides and proteins. Pharmaceuticals. 2014. Vol. 7. N. 5. P. 545-594. doi:10.3390/ph7050545.
10. Zhao X., Wu H., Lu H. LAMP: A Database Linking Antimicrobial Peptides. PloS One. 2013. Vol. 8. N. 6. P. 1-6. doi: 10.1371/journal.pone.0066557.

References

1. Bolatchiev AD, Baturin VA. Defensins. Rol' v patologii cheloveka i perspektivy primeneniya (The role in human pathology and application prospects). Vestnik mladogo uchenogo. 2016;4(15):17-22.
2. Ermolaeva EI, Vinogradova TV, Pampura AN. Soderzhanie antimikrobykh peptidov v syvorotke u detey s atopicheskim dermatitom (Serum levels of antimicrobial peptides in children with atop dermatitis). Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2015;4:89-92.
3. Mamchur VI, Levych AE. Defenziny – endogennye peptidy s antiinfektsionnymi i protivopukhlevymi svoystvami (obzor literatury) (Defensins – endogenous peptides with anti-infective and anti-cancer properties (review). Tavricheskiy Mediko-Biologicheskyy Vestnik. 2012;15(58):315-21.
4. Petrishcheva IV, Tsubikov NN, Fefelova EV, Tereshkov PP. Uroven' endotelina (1-21) i al'fa-defenzina (1-3) pri atopicheskom dermatite i pri obostrenii i remissii (The level of endothelin (1-21) and alpha-defensin (1-3) in atop dermatitis in exacerbation and remission). Clinical Dermatology and Venereology. 2015;1:68-70.
5. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. Nat. Immunol. 2015;16(4):343-53. doi: 10.1038/ni.3123.
6. Mozeika E, Pilmene M, Kisis J. Role of Human Skin Antimicrobial Peptides in Psoriasis. Acta Chirurgica Latviensis. 2010;10(2):69-75. doi: 10.2478/v10163-011-0014-0.
7. Scudiero O, Nigro E, Cantisani M. Design and activity of a cyclic mini- α -defensin analog: a novel antimicrobial tool. Int. J. Nanomedicine. 2015;10:6523-39.
8. Tai KP, Le VV, Selsted ME. Ouellette Hydrophobic determinants of α -defensin bactericidal activity. Infect. Immun. 2014;82(6):2195-202.
9. Wang G. Human Antimicrobial Peptides and proteins. Pharmaceuticals. 2014;7(5):545-94. doi:10.3390/ph7050545.
10. Zhao X, Wu H, Lu H. LAMP: A Database Linking Antimicrobial Peptides. PloS One. 2013;8(6):1-6. doi: 10.1371/journal.pone.0066557.

СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ У БОЛЬНЫХ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНЬЮ

В.В. Бочарова

Одесский национальный медицинский университет

Резюме

Целью исследования стало определение содержания в крови больных угревой болезнью альфа-дефензинов и выяснение влияния их функционального состояния на течение заболевания.

Методы исследования – общеклинические, иммуноферментные, статистические.

Результаты. Выявлено достоверное повышение уровней в крови больных угревой болезнью альфа-дефензинов (HNP 1–3) по сравнению с показателями контрольной группы здоровых лиц, что может свидетельствовать о нарушении механизмов кутанной толерантности микробиоты кожи при данном заболевании и компенсаторной реакции на это со стороны системы антимикробных пептидов (альфа-дефензинов).

Выводы. Повышение уровня альфа-дефензинов в крови больных угревой болезнью является реакцией врожденной линии защиты организма в ответ на чрезмерную микробную колонизацию сально-волосных фолликулов с привлечением к ней различных типов клеток кожи, что требует учета при назначении комплексной терапии таким больным.

Ключевые слова: угревая болезнь, дефензины, кутанная толерантность.

THE STATE OF ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN PATIENTS WITH ACNE

V. V. Bocharova

Odessa National Medical University

Abstract

The objective of the study was to determine the content of alpha-defensins in the blood of patients with acne and to determine the effect of their functional state on the course of the disease.

The methods of investigation are general clinical, immuno-enzymatic, and statistical.

Results. A remarkable increase in blood levels in patients with acne of alpha defensins (HNP 1–3) was revealed in comparison with the parameters of the control group of healthy individuals, which may indicate a violation of the mechanisms of the knotted tolerance of the skin microbiota in this disease and compensatory response to this from the system of antimicrobial peptides (alpha-defensins).

Conclusions. An increase in the level of alpha-defensins in the blood of patients with acne is a reaction of the innate line of defense of the organism in response to excessive microbial colonization of the sebaceous hair follicles with the involvement of various types of skin cells to it, which requires consideration when assigning complex therapy to such a patients.

Key words: acne, defensins, cutaneous tolerance.

Відомості про автора:

Бочарова Вероніка Володимирівна – канд. мед. наук, доцент кафедри дерматології та венерології Одеського національного медичного університету. E-mail: veronika.bocharova.80@gmail.com