

РЕЗИДЕНТИ МІКРОБІОМУ ШКІРИ ПАЦІЄНТІВ З МЕТАБОЛІЧНО-АСОЦІЙОВАНОЮ НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ ТА СЕБОРЕЙНИМ ДЕРМАТИТОМ, ВИЗНАЧЕНІ КУЛЬТУРАЛЬНИМ МЕТОДОМ

©В. В. Височанська

ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

РЕЗЮМЕ. Метаболіти, синтезовані патогенними резидентами мікробіоти кишечника, сприяють депонуванню жиру в клітинах печінки, посилюють інсулінорезистентність, оксидативний стрес та рівень прозапальних цитокінів. Але нема досліджень, які вивчали би вплив метаболічно-асоційованих хвороб на мікробіом шкіри і зокрема пацієнтів з себорейним дерматитом (СД).

Мета – визначити основні резиденти мікробіому шкіри пацієнтів з метаболічно-асоційованою неалкогольною жирною хворобою (НАЖХП) печінки та себорейним дерматитом (СД) культуральним методом.

Матеріал і методи. Брали мазки від 45 НАЖХП + СД пацієнтів та 18 добровольців і сіяли на Uriselect 4 agar, Sabouraud Glucose Agar with Chloramphenicol, Malassezia Leeming & Notman Agar Modified (MLNA), кров'яний агар 5 %, HiCrome Candida Differential Agar, Yeast Extract Sodium Lactate medium (YELA) з додаванням крові. Для підрахунку КУО бактерій використали метод Шелкової, дріжджів – камеру Бюркера.

Результати. Запалені себорейні ділянки достовірно частіше колонізовані *Corynebacterium spp.* ($p=0,0236$), *Enterobacteriaceae spp.* ($p=0,0258$), *Proteus spp.* ($p=0,0236$), *Enterococcus spp.* ($p=0,001$) і мають тенденцію до збільшення кількості *Candida albicans* ($p=0,0784$), *Klebsiella spp.* ($p=0,0784$) та патогенних *Staphylococcus epidermidis* з гемолітичною активністю ($p=0,0795$), *Propionibacterium acnes* з гемолітичною активністю ($p=0,2958$) та зниження числа коменсалів *Staphylococcus epidermidis* ($p=0,0749$) та *Propionibacterium acnes* ($p=0,3806$). Різниці у кількості *Malassezia spp.* виявлено не було ($p=0,6894$). Запалена шкіра заселена достовірно інтенсивніше вищою кількістю *S. aureus*, порівняно з інтактними ділянками пацієнтів з СД ($p=0,0673$) та здоровими особами ($p=0,0463$); *Staphylococcus epidermidis* + *hemolytic activity* ($p=0,004$; $p=0,001$); *Malassezia spp.* ($p=0,019$; $p=0,003$); є тенденція до збільшення числа КУО *Staphylococcus epidermidis* на здоровій шкірі у порівнянні з запаленою у пацієнтів з себорейним дерматитом ($p=0,0934$) та жодної різниці з здоровими особами ($p=0,454$).

Висновки. У пацієнтів з СД була достовірно більша кількість гемолітично активних *St. epidermidis* ($p=0,0018$) та *P. acnes* ($p=0,0776$), *Malassezia spp.* ($p=0,0215$) та достовірно менше коменсалів *St. epidermidis* ($p=0,0017$), порівняно зі здоровими особами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: неалкогольна жирова хвороба печінки; цукровий діабет; інсулінорезистентність; себорейний дерматит; мікробіом.

Вступ. Метаболічно-асоційовані захворювання призводять до гіперінсулінемії, дисліпідемії, гіперглікемії, збільшення жирової клітковини та надмірного виділення адипокінів, хемокінів і цитокінів [1, 2]. Крім того, рівень вільних жирних кислот (ВЖК) підвищується у пацієнтів із метаболічно-асоційованими хворобами, що сприяє запаленню та резистентності до інсуліну [3]. У пацієнтів із поєднанням себорейного дерматиту підвищується рівень тригліцеридів та знижується рівень ліпопротеїдів високої щільності [4]. Таким чином, клітини тканин та імунні клітини піддаються впливу зміненого складу метаболітів, таких як ВЖК і адипоцитокіни, які можуть змінювати гомеостаз і функцію імунних клітин [5]. Описано також метаболіти, які синтезуються патогенними резидентами мікробіоти кишечника, що витіснили корисних коменсалів, сприяють депонуванню жиру в клітинах печінки, посилюють інсулінорезистентність, оксидативний стрес та рівень прозапальних цитокінів [6]. Але немає досліджень, які вивчали би вплив метаболічно-асоційованих хвороб на мікробіом шкіри зокрема пацієнтів із себорейним дерматитом.

Тому **метою** нашого дослідження було визначити основних резидентів мікробіому шкіри пацієнтів з метаболічно-асоційованою неалкогольною жирною хворобою печінки та себорейним дерматитом культуральним методом.

Матеріал і методи дослідження. У дослідження було включено 45 пацієнтів з метаболічно-асоційованою неалкогольною жирною хворобою печінки (НАЖХП) на фоні порушення індексу маси тіла (ІМТ) (надмірна вага тіла чи ожиріння різного ступеня вираження) та цукрового діабету 2-го типу, що мали себорейний дерматит. Пацієнтів з відповідними клінічними ознаками метаболічно-асоційованих захворювань [7] набирали на клінічних базах гастроентерологічного та ендокринологічного відділень медичного факультету Державного вищого навчального закладу «Ужгородський національний університет». При антропометричному дослідженні визначали зріст, вагу, розраховували індекс маси тіла (ІМТ), вимірювали артеріальний тиск. Діагноз НАЖХП встановлювали на основі критеріїв уніфікованого клінічного протоколу (наказ МОЗ України від

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення 06.11.2014 р. № 826) та згідно з клінічними рекомендаціями EASL–EASD–EASO. Ураження печінки розраховували через маркери фіброзу (онлайн-калькулятор NAFLD fibrosis score (NFS), Fibrosis 4 calculator (FIB-4), Фібротест. Діагноз цукровий діабет 2-го типу встановлювали на основі рекомендацій міжнародної федерації діабету (International Diabetes Federation) та критеріїв уніфікованого клінічного протоколу (наказ МОЗ України від 21.12.2012 № 1118). Ураховували показники крові натще (глюкоза, інсулін, глікозильований гемоглобін). Також аналізували ліпидограму та біохімічні показники функції печінки (аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, загальний білірубін, лужна фосфатаза, гама-глутамілтрансфераза). СД встановлювали на основі шкірних симптомів згідно з критеріями Seborreic Dermatitis area and severity index (SEDASI) [8], анамнезом хвороби пацієнтів та консультацією дерматолога. СД ділили на групи: легка форма за-

хворювання – 1–14 балів, середньої тяжкості – 15–29 балів, тяжка – 30 і більше балів. Пацієнтів з проявами запалення в ділянці грудей виключали з дослідження. Перед початком обстеження пацієнти були поінформовані про дизайн дослідження, розроблений у межах Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження», Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та законодавства України та підписали інформовану згоду. Протокол дослідження затверджено комітетом біоетики ДВНЗ “Ужгородський національний університет” (протокол № 411/3 від 21.09.2021 року).

Групу контролю склали 18 медичних працівників аналогічної вікової групи, які мали нормальний індекс маси тіла, не вживали алкоголь, не курили, займалися помірною фізичною активністю, не мали ознак порушення толерантності до глюкози чи гіпертензії (табл. 1).

Таблиця 1. Демографічні показники, тяжкість проявів СД, ІМТ у порівнянні з групою контролю

Показники	СД (n=44)	Здорові (n=18)	p-value
Вік	50,1 (42–57)	51,3 (45–57)	0,352
Стать (чол/жін)	20/25	11/7	0,645
Тяжкість СД			
Легка форма	25 (45 %)	0	
Середня форма	21 (48 %)	0	
Важка форма	3 (7 %)	0	
ІМТ; нормальна вага	–	67 % (23,7)	
Надмірна вага	20 % (29,2)	33 % (25,8)	
Ожиріння 1 ст.	73 % (33,8)	–	
Ожиріння 2 ст.	7 % (36,3)	–	

Примітка. ІМТ – індекс маси тіла та його середнє значення у групі.

Обстежених просили не вмиватися ввечері та зранку перед забором зразків. У досліджуваній групі мазки брали з двох ділянок обличчя: у місцях де є запалення і з незапаленої шкіри, типової для себорейної зони. У осіб контрольної групи мазки брали з ділянки перенісся. Мазки зібрані ватним тампоном перенесли у транспортне середовище (Amies Transport with Charcoal). Мазки сіяли на Uriselect 4 agar Bio-Rad, Sabouraud Glucose Agar with Chloramphenicol Merck, Malassezia Leeming & Notman Agar Modified (MLNA) Kairosafe та кров'яний агар (КА) 5 % (основа Колумбійського агара Biolife Italiana S.R.L.: пептокомплекс 10 г/л, триптоза 10 г/л, пептон 3 г/л, кукурудзяний крохмаль 1 г/л, натрію хлорид 5 г/л, агар 12 г/л + 50 мл людської дефібринованої крові на 1 л розчину). Для виділення деяких чистих культур сіяли повторно на Uriselect 4 agar Bio-Rad та HiMedia M1297A HiCrome Candida Differential Agar. Всі чашки витримували в термо-

статі 24–72 години при температурі 37 °С в еаробних умовах. Для визначення анаеробних культур мазок сіяли Yeast Extract Sodium Lactate medium (YELA) [9] з додаванням крові (40 г/л триптон-соєвого агару TCA/TSA Conda; 10 г/л екстракту дріжджів; 2,5 г/л K_2HPO_4 VWR International AG; 17 мл/л лактату натрію 60 %; 0,0005 г/л MgSO_4 + 50 мл/л людської дефібринованої крові на 1 л розчину). 4 чашки поміщали в zip-пакет з 1 саше Anaerogen SCHUETT-BIOTEC і витримували при 37 °С до появи росту: 5–7 днів для зразків взятих із запалених ділянок і 7–10 днів для зразків, взятих від здорових осіб.

Для підрахунку КУО бактерій використали метод Шелкової [10]. Чашку Петрі ділили на 4 рівні сектори. Мазки зі шкіри, взяті ватним тампоном, ретельно наносили на перший сектор. Потім прокаленою і охолодженою петлею робили 4 перпендикулярні штрихи на другий сектор. Після повторного прожарювання петлі наносили по 4 пер-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

пендикулярні лінії на кожен з секторів. Чашки інкубували 24 години при 37 °С та 7 діб для анаеробів. Інтенсивність росту оцінювали за кількістю колоній в останніх секторах (рис. 1). Цей метод рекомендований для умовно патогенних бактерій і оцінює кількість КУО від 100 до 100 млн на 1 см³. Отримані результати поділили на групи відповідно до запропонованої автором методики з метою порівняння інтенсивності колонізації: 1 група – 5×10³ КУО/1 см³; 2 – 10⁴ КУО/1 см³; 3 – 5×10⁴ КУО/1 см³; 4 – 10⁵ КУО/1 см³; 5 – 5×10⁵ КУО/1 см³; 6–10⁶ КУО/1 см³; 7–5×10⁶ КУО/1 см³; 8 – 10⁷ КУО/1 см³; 9 – 5×10⁷ КУО/1 см³; 10 – 10⁸ КУО/1 см³. Для підрахунку кількості дріжджів використовували гемоцитометрію з використанням камери Бюркера [11]. Для підрахунку використовували велику комірку і збільшення мікроскопа у 40 разів. Формула для підрахунку дріжджів = кількість клітин у великому квадраті × 250,000 (10⁶/4) × степінь розведення (використовували 10 кратне). Щоб вивести середнє значення кількості дріжджів у досліджуваній групі використали формулу: кількість клітин (середнє значення) × (10⁶/4) × 10.

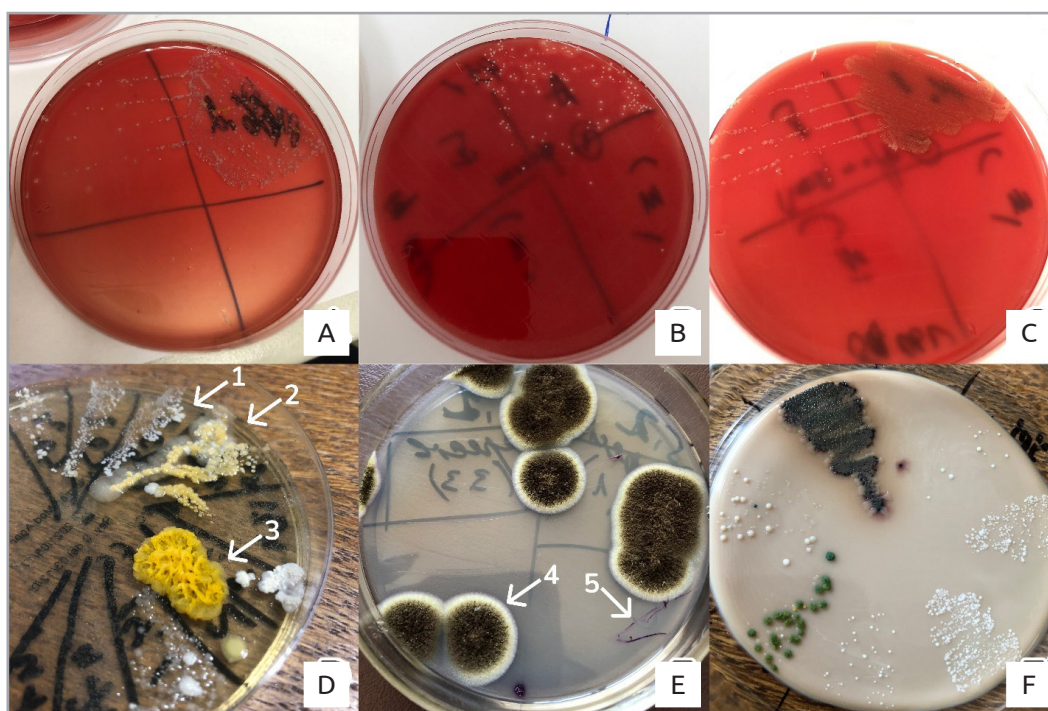


Рис. 1. Колонії, отримані після нанесення ватним тампоном мазка зі шкіри пацієнтів з НАЖХП + СД: А. *Propionibacterium asnes* на YELA+людська кров (Анаероген SCHUETT-BIOTEC, 37 °С, 7 діб) нанесені методом Шелкової; В. *S. epidermidis* + hemolytic activity на кров'яному агарі (37 °С, 3 доби) нанесені методом Шелкової; С. *Staphylococcus aureus* на кров'яному агарі (37 °С, 2 доби) нанесені методом Шелкової; D. *Malassezia* Leeming & Notman Agar Modified (MLNA) Kairosafe (37 °С, 3 доби): 1. *Malassezia* spp. 2. *Malassezia* spp.+ *Staphylococcus aureus* 3. *Klebsiella* spp. + *Staphylococcus aureus*; E. HiCrome Candida Differential Agar (37 °С, 2 доби): 4. *Aspergillus* spp. 5. *Candida tropicalis*; F. Uriselect 4 agar Bio-Rad (37 °С, 2 доби); неможливо оцінити первинний результат – зразки пересівали.

Морфологічну ідентифікацію проводили шляхом світлової мікроскопії після фарбування за Грамом чи метиленовим синім. Для верифікації бактерії чи гриба використовували біохімічні тести та кольорові шкали селективних середовищ. Здатність до гемолізу вважали позитивною при виникненні ділянки зміни кольору на зеленуватий відтінок або прозорого кільця навколо колонії на кров'яному агарі. Наприклад, колонія 1–3 мм у діаметрі білого кольору на КА, плазмокоагулаза – негатив, лецитиназа – негатив, уреаза – позитив приймали за *St. epidermidis*. Колонії з жовтим пігментом на КА і Уріселект агарі, лецитиназа – позитив,

плазмокоагулаза – позитив приймали за *St. aureus*. Невеликі, 0,2–2 мм, напівпрозорі білі колонії з масляним відтінком; Грам-позитивні короткі округлі палички під мікроскопом приймали за *Cutibacterium asnes*. Білі опалесцентні колонії 1–2 мм на КА, коагулаза-позитивні, Грам-позитивні палички *Corynebacterium* spp.

Аналіз хі-квадрат використали для визначення різниці статевого розподілу між групою СД і групою контролю. Т-тест Мана-Уїтні для незалежної вибірки використовувався для виявлення різниці у віці між групами. Т-тест Стюдента застосовували для порівняння різниці у кількості КУО

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення між групами, значення $p < 0,05$ вважали за достовірну статистичну різницю.

Результати й обговорення. Обстежених було рандомізовано за віком та статтю. Середній вік пацієнтів з НАЖХП + СД склав 50 років, а осіб групи контролю – 51 рік ($p = 0,352$). Кількість чоловіків у кожній групі достовірно не відрізнялась ($p = 0,645$). Дві третини пацієнтів з групи контролю мали нормальну вагу, 33 % – надмірну. Дві третини пацієнтів з НАЖХП + СД мали ожиріння 1 ст. та 1/5 мала надмірну вагу.

Запалені ділянки у пацієнтів з себорейним дерматитом мали різний видовий склад бактерій та грибів, порівняно з незапаленими ділянками себорейної зони обличчя. Запалені себорейні ділянки достовірно частіше колонізовані *Corynebacterium spp.* ($p = 0,0236$), *Enterobacteriaceae spp.*

($p = 0,0258$), *Proteus spp.* ($p = 0,0236$), *Enterococcus spp.* ($p = 0,001$) і мають тенденцію до збільшення кількості *Candida albicans* ($p = 0,0784$), *Klebsiella spp.* ($p = 0,0784$) та патогенних *Staphylococcus epidermidis* з гемолітичною активністю ($p = 0,0795$), *Propionibacterium acnes* з гемолітичною активністю ($p = 0,2958$) та зниження числа коменсалів *Staphylococcus epidermidis* ($p = 0,0749$) та *Propionibacterium acnes* ($p = 0,3806$). Різниця у кількості *Malassezia spp.* виявлено не було ($p = 0,6894$). Отримані нами дані також ставлять під сумнів релевантну раніше інформацію щодо ролі *Malassezia spp.* у патогенезі СД [12]. Хоча нещодавнє дослідження нового шампуню з протигрибковими компонентами все ж вказує, що основними тригерами запалення у пацієнтів з СД є *Malassezia spp.* і *Staphylococcus aureus* (табл. 2) [13].

Таблиця 2. Результати посіву запалених та інтактних ділянок у пацієнтів з СД та здорових осіб

Показник	1. СД бляшки (n=44)	2. СД без бляшок (n=44)	3. Здорові (n=18)	p-value 1-2	p-value 1-3	p-value 2-3
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 (20,5 %)	8 (18 %)	2 (11 %)	0,761	0,3741	0,3165
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2 (11 %)	2 (11 %)	1 (5,5 %)	0,454545	0,8671	0,8671
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23 (52 %)	31 (70,5 %)	17 (94,4 %)	0,0749	0,0017	0,0449
<i>Staphylococcus epidermidis + hemolytic activity</i>	21 (47,7 %)	13 (29,5 %)	1 (5,5 %)	0,0795	0,0018	0,0771
<i>Propionibacterium acnes</i>	14 (32 %)	18 (41 %)	8 (44 %)	0,3806	0,3700	0,8279
<i>Propionibacterium acnes + hemolytic activity</i>	11 (25 %)	7 (16 %)	1 (5,5 %)	0,2958	0,0776	0,0117
<i>Streptococcus spp. with hemolytic activity</i>	3 (6,8 %)	1 (2,3 %)	0	0,311	0,2568	0
<i>Corynebacterium spp.</i>	5 (11 %)	0	0	0,0236	0,0193	0
<i>Pseudomonas spp.</i>	5 (11 %)	1 (2,3 %)	0	0,1015	0,0193	0
<i>Candida albicans</i>	3 (6,8 %)	0	1 (5,5 %)	0,0784	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	0	1	2 (11 %)	0	0,0454	0,0254
<i>Klebsiella spp.</i>	3 (6,8 %)	0	2 (11 %)	0,0784	0	0,0254
<i>Enterococcus spp.</i>	17 (39 %)	2 (4,5 %)	4 (22 %)	0,001	0,198	0,0336
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	7 (16 %)	1 (2,3 %)	3 (16,6 %)	0,0258	0	0,0375
<i>Proteus spp.</i>	5 (11 %)	0	1 (5,5 %)	0,0236	0,5006	0,1168
<i>Serratia spp.</i>	3 (6,8 %)	0	1 (5,5 %)	0,784	0	0,1168
<i>Escherichia spp.</i>	1 (2,3 %)	0	0	0,3116	0,5165	0
<i>Aspergillus spp.</i>	5 (11 %)	1 (2,3 %)	1 (5,5 %)	0,3285	0	0
<i>Malassezia spp.</i>	38 (87 %)	37 (84 %)	11 (61 %)	0,6894	0,0215	0,0496
<i>P. acne to S. epidermidis ratio</i>	1,53	1,76	1,88			

Примітка. СД бляшки – запалені ділянки шкіри обличчя пацієнтів з себорейним дерматитом. СД без бляшок – типові «себорейні» ділянки на шкірі обличчя тих самих пацієнтів, які не мають ознак запалення на момент забору зразка.

Останні дослідження показали, що відповідна зміна поверхневої бактеріальної мікробіоти (зменшення кількості *Cutibacterium acnes* і збільшення *Staphylococcus spp.*, зокрема *S. epidermidis*) спостерігається у суб'єктів із СД [14]. Зокрема, на запалених ділянках шкіри спостерігається зменшення популяції *Cutibacterium acnes* і збільшення *Staphylococcus spp.* [12]. Таким чином, при СД по-

рушується мікробна рівновага шкіри, яка корелює з клінічною тяжкістю ураження шкіри [15].

Типові себорейні ділянки без ознак запалення у пацієнтів з себорейним дерматитом та здорових осіб мали найбільшу кількість коменсалів *Staphylococcus epidermidis* ($p = 0,0449$) та однакову кількість *Propionibacterium acnes* ($p = 0,8279$), *Staphylococcus saprophyticus* ($p = 0,8671$); мали тенден-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

цію до зниження *Staphylococcus aureus* ($p=0,3165$) та достовірну нижчу кількість патогенних *Staphylococcus epidermidis* з гемолітичною активністю ($p=0,0771$) та *Propionibacterium acnes* з гемолітичною активністю ($p=0,017$) та *Malassezia spp.* ($p=0,0496$). Достовірно нижчою була кількість *Corynebacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*, *Proteus spp.*, *Aspergillus spp.* ($p<0,03$).

Дане дослідження має низку обмежень, таких як невелика вибірка пацієнтів та неточність культурального методу дослідження. Проте, дані отримані шляхом культивування та секвенування порівнювали. На всіх ділянках шкіри більшість ізолятів було ідентифіковано як *S. epidermidis* (67,2 %), а потім *Staphylococcus hominis* (15,4 %). На ділянках шкіри чола, щік і спини переважали штами *S. epidermidis*, потім *Staphylococcus capitis* (відносна кількість 74,5 % і 11,7 % відповідно), тоді як на ділянках шкіри передпліччя була більша кількість штамів *S. hominis* і *Staphylococcus haemolyticus* (відносна чисельність 38,7 % і 7,3 % відповідно). Автори не знайшли достовірної різниці у результатах, отриманих різними методами [16].

У пацієнтів із себорейним дерматитом була достовірно більша кількість гемолітично активних *Staphylococcus epidermidis* ($p=0,0018$) та *Propionibacterium acnes* ($p=0,0776$), *Malassezia spp.* ($p=0,0215$) та достовірно менше коменсалів *Staphylococcus epidermidis* ($p=0,0017$), порівняно зі здоровими особами.

Останні дані показують, що *S. epidermidis* і *C. acnes* взаємодіють [17] і є критичними для регуляції гомеостазу шкіри [18]. *S. epidermidis* може пригнічувати ріст *C. acnes* [18, 19] і спричинене *C. acnes* запалення шкіри [30]. *S. epidermidis* контролює проліферацію *C. acnes*, сприяючи ферментації гліцерину, який природним чином виробляється шкірою, і шляхом виділення янтарної кислоти, продукту бродіння жирних кислот [20]. Протизапальну дію *S. epidermidis* опосередковує ліпотейхоева кислота, яка пригнічує виробництво Toll-подібного рецептора (TLR)-2. Таким чином, *S. epidermidis* може пригнічувати продукування кератиноцитами індукованого *C. acnes* IL-6 і фактора некрозу пухлини (TNF)-альфа [21]. Проте *C. acnes*, утворюючи біоплівки, не тільки пригнічує ріст *Staphylococcus aureus*, а й знижує їх патогенність та підвищує чутливість до антибіотиків (табл. 3) [22].

Таблиця 3. Вихідна бактеріальна засіяність (МК / 1 см³) запалених та інтактних ділянок шкіри пацієнтів з себорейним дерматитом та здорових осіб

КУО	1. СД бляшки (n=44)	2. СД без бляшок (n=44)	3. Здорові (n=18)	p-value 1-2	p-value 1-3	p-value 2-3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,18	1,55	1,62	0,0673	0,0463	0,794
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4,54	5,22	5,89	0,245	0,0934	0,454
<i>S. epidermidis + hemolytic activity</i>	3,43	1,78	1,22	0,004	0,001	0,065
<i>Propionibacterium acnes</i>	4,02	3,67	3,35	0,162	0,282	0,893
<i>P. acnes + hemolytic activity</i>	1,17	0,64	0,0	0,623	0,0	0,0
<i>Malassezia spp.</i>	3,85	2,5	1,65	0,019	0,003	0,042

Примітки. Кількість КУО *Malassezia spp.* показана як середнє значення $\times (10^6/4)$.

Кількість бактеріальних КУО показана як середнє значення числа, яке відповідає Табличній величині по методу Щелкової: 1 – 5×10^3 КУО/1 см³; 2 – 10^4 КУО/1 см³; 3 – 5×10^4 КУО/1 см³; 4 – 10^5 КУО/1 см³; 5 – 5×10^5 КУО/1 см³; 6 – 10^6 КУО/1 см³; 7 – 5×10^6 КУО/1 см³; 8 – 10^7 КУО/1 см³; 9 – 5×10^7 КУО/1 см³; 10 – 10^8 КУО/1 см³.

Дослідження лікувальних властивостей шампуню з гліцерретиновою кислотою взяло за основу контролю симптомів співвідношення *P. acnes* до *S. epidermidis*. Індекс *P. acnes* до *S. epidermidis* значно збільшився, з 0,93 на початковому рівні до 1,55 на 5-му тижні використання шампуню ($p<0,001$). Автори вважають даний показник новим біомаркером запаленої та здорової шкіри у пацієнтів з СД [23]. Отримані нами дані підтримують теорію мікробного балансу мікробіоти. Співвідношення *P. acnes* до *S. epidermidis* наростало на незапаленій шкірі пацієнтів з НАЖХП + СД і склало (1,53 vs 1,76) та було найвищим у здорових осіб (1,88).

На запалених ділянках шкіри пацієнтів із себорейним дерматитом інтенсивність росту бактерій та

грибів в цілому була вищою, ніж на інтактній шкірі. Запалена шкіра заселена достовірно вищою кількістю *Staphylococcus aureus*, порівняно з інтактними ділянками пацієнтів з СД ($p=0,0673$) та здоровими особами ($p=0,0463$); *Staphylococcus epidermidis + hemolytic activity* ($p=0,004$; $p=0,001$); *Malassezia spp.* ($p=0,019$; $p=0,003$); є тенденція до збільшення числа КУО *Staphylococcus epidermidis* на здоровій шкірі, порівняно з запаленою, у пацієнтів з себорейним дерматитом ($p=0,0934$) та жодної різниці з здоровими особами ($p=0,454$). Автори зауважують, що саме число КУО є персоналізованим значенням, обрахунок середнього значення КУО використовувався для зручнішого порівняння та виведення загальних тенденцій. Надмірна колонізація *Staphylococcus*

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення *S. epidermidis* разом з порушенням шкірного бар'єру відіграє провідну роль у патогенезі СД [24].

Висновки. У пацієнтів з метаболічно-асоційованою жирною хворобою печінки та себорейним дерматитом виявлено відмінності у колонізації шкіри себорейних ділянок. Маркерами, що відрізняють шкіру здорових від хворих осіб, були

S. epidermidis + hemolytic activity, Malassezia spp., Propionibacterium acnes та зниження співвідношення *Propionibacterium acnes* до *S. Epidermidis*. На запалених ділянках шкіри у пацієнтів із СД виявлено більше бактеріальне та грибокве різноманіття та більшу інтенсивність колонізації, а також наявність кишкової флори та опортуністів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Chemokine Receptor 5, a Double-Edged Sword in Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease / Z. Zhang, Q. Wang, J. Yao [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2020. – Vol.11. – P.146.
2. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome / S. K. Masenga, L. S. Kabwe, M. Chakulya, A. Kirabo // *International journal of molecular sciences*. – 2023. – Vol. 24(9). – P. 7898.
3. Polyunsaturated and Saturated Oxylin Plasma Levels Allow Monitoring the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression to Severe Stages / M. D. Ferrer, C. Reynés, M. Monserrat-Mesquida [et al.] // *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. – 2023. – Vol. 12(3). – P. 711.
4. Investigation of the relationship between seborrheic dermatitis and metabolic syndrome parameters / A. Akbaş, F. Kılınç, S. Şener, Y. Hayran // *Journal of cosmetic dermatology*. – 2022. – Vol. 21 (11). – P. 6079–6085.
5. Obesity and Dyslipidemia Synergistically Exacerbate Psoriatic Skin Inflammation / K. Ikeda, S. Morizane, T. Akagi [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – Vol. 23 (8). – P. 4312.
6. The role of the gut microbiome and its metabolites in metabolic diseases / J. Wu, K. Wang, X. Wang, Y. Pang // *Protein & cell*. – 2021. – Vol. 12 (5). – P. 360–373.
7. Metabolic syndrome – a new definition and management guidelines: A joint position paper by the Polish Society of Hypertension, Polish Society for the Treatment of Obesity, Polish Lipid Association, Polish Association for Study of Liver, Polish Society of Family Medicine, Polish Society of Lifestyle Medicine, Division of Prevention and Epidemiology Polish Cardiac Society, "Club 30" Polish Cardiac Society, and Division of Metabolic and Bariatric Surgery Society of Polish Surgeons / P. Dobrowolski, A. Prejbisz, A. Kuryłowicz [et al.] // *Archives of medical science*. – 2022. – Vol. 18 (5). – P. 1133–1156.
8. A new proposed severity score for seborrheic dermatitis of the face: SEborrheic Dermatitis Area and Severity Index (SEDASI) // *Journal of the American academy of dermatology*. – 2017. – Vol. 76 (6). – P. 18.
9. http://www.liofilchem.net/login/pd/ts/610363_TS.pdf
10. Quantitative research method of maintenance of bacteria in clinical species which are selected by wadding tampon / N. Shelkova, V. Prokopets // *Collection of scientific works of staff member of Shupyk NHU of Ukraine*. – 2009. – Vol. 17 (2). – P. 698–702.
11. Validation of analytical methods in GMP: the disposable Fast Read 102® device, an alternative practical approach for cell counting / M. Gunetti, S. Castiglia, D. Rusticelli [et al.] // *Journal of translational medicine*. – 2012. – Vol. 10. – P. 112.
12. Comprehensive pyrosequencing analysis of the bacterial microbiota of the skin of patients with seborrheic dermatitis / A. Tanaka, O. Cho, C. Saito [et al.] // *Microbiology and immunology*. – 2016. – Vol. 60 (8). – P. 521–526.
13. Ketoconazole 2 % cream alters the skin fungal microbiome in seborrheic dermatitis: a cohort study / R. Tao, R. Wang, Z. Wan [et al.] // *Clinical and experimental dermatology*. – 2022. – Vol. 47 (6). – P. 1088–1096.
14. Dysbiotic Bacterial and Fungal Communities Not Restricted to Clinically Affected Skin Sites in Dandruff / R. C. Soares, P. H. Camargo-Penna, V. C. de Moraes [et al.] // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2016. – Vol. 6. – P. 157.
15. Effects of a cream containing 5 % hyaluronic acid mixed with a bacterial-wall-derived glycoprotein, glycyrrhetic acid, piroctone olamine and climbazole on signs, symptoms and skin bacterial microbiota in subjects with seborrheic dermatitis of the face / M. Puviani, E. Campione, A. M. Offidani [et al.] // *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*. – 2019. – Vol. 12. – P. 285–293.
16. Interference and co-existence of staphylococci and Cutibacterium acnes within the healthy human skin microbiome / C. M. Ahle, K. Stødkilde, A. Poehlein [et al.] // *Communications biology*. – 2022. – Vol. 5 (1). – P. 923.
17. Antagonism between Staphylococcus epidermidis and Propionibacterium acnes and its genomic basis / G. J. Christensen, C. F. Scholz, J. Enghild [et al.] // *BMC genomics*. – 2016. – Vol. 17. – P. 152.
18. The Skin Microbiome: A New Actor in Inflammatory Acne / B. Dréno, M. A. Dagnelie, A. Khammari, S. Corvec // *American journal of clinical dermatology*. – 2020. – Vol. 21 (1). – P. 18–24.
19. Staphylococcus epidermidis in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of Propionibacterium acnes: implications of probiotics in acne vulgaris / Y. Wang, S. Kuo, M. Shu [et al.] // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2014. – Vol. 98 (1). – P. 411–424.
20. Staphylococcus epidermidis: A Potential New Player in the Physiopathology of Acne? / J. P. Claudel, N. Auffret, M. T. Leccia, F. Poli, S. Corvec // *Dermatology (Basel, Switzerland)*. – 2019. – Vol. 235 (4). – P. 287–294.
21. Staphylococcus epidermidis Sets Things Right Again / Y. Skabytska, T. Biedermann // *The Journal of investigative dermatology*. – 2016. – Vol. 136 (3). – P. 559–560.
22. Cutibacterium acnes biofilm forming clinical isolates modify the formation and structure of Staphylococcus

- Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
- cus aureus biofilms, increasing their susceptibility to antibiotics / C. Abbott, E. Grout, T. Morris, H.L. Brown // *Anaerobe*. – 2022. – Vol. 76. – P. 102580.
23. Evaluation of a new-formula shampoo containing 6 % glycyrrhetic acid complex for scalp seborrheic dermatitis: A pilot study / H. C. Wang, C. S. Wang, S. C. Hsieh [et al.] // *Journal of cosmetic dermatology*. – 2022. – Vol. 21 (8). – P. 3423–3430.
24. High Staphylococcus epidermidis Colonization and Impaired Permeability Barrier in Facial Seborrheic Dermatitis / Q. An, M. Sun, R. Q. Qi, L. Zhang [et al.] // *Chinese medical journal*. – 2017. – Vol. 130 (14). – P. 1662–1669.

REFERENCES

- Zhang, Z., Wang, Q., Yao, J., Zhou, X., Zhao, J., Zhang, X., Dong, J., & Liao, L. (2020). Chemokine Receptor 5, a Double-Edged Sword in Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. *Frontiers in pharmacology*, 11, 146. DOI: 10.3389/fphar.2020.00146.
- Masenga, S.K., Kabwe, L.S., Chakulya, M., & Kirabo, A. (2023). Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24(9), 7898. DOI: 10.3390/ijms24097898.
- Ferrer, M.D., Reynés, C., Monserrat-Mesquida, M., Quetglas-Llabrés, M., Bouzas, C., García, S., ... & Pons, A. (2023). Polyunsaturated and Saturated Oxylipin Plasma Levels Allow Monitoring the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression to Severe Stages. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(3), 711. DOI: 10.3390/antiox12030711.
- Akbaş, A., Kılınç, F., Şener, S., & Hayran, Y. (2022). Investigation of the relationship between seborrheic dermatitis and metabolic syndrome parameters. *Journal of cosmetic dermatology*, 21(11), 6079-6085. DOI: 10.1111/jocd.15121.
- Ikeda, K., Morizane, S., Akagi, T., Hiramatsu-Asano, S., Tachibana, K., Yahagi, A., ... & Mukai, T. (2022). Obesity and Dyslipidemia Synergistically Exacerbate Psoriatic Skin Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 23(8), 4312. DOI: 10.3390/ijms23084312.
- Wu, J., Wang, K., Wang, X., Pang, Y., & Jiang, C. (2021). The role of the gut microbiome and its metabolites in metabolic diseases. *Protein & cell*, 12(5), 360-373. DOI: 10.1007/s13238-020-00814-7.
- Dobrowolski, P., Prejbisz, A., Kuryłowicz, A., Baska, A., Burchardt, P., Chlebus, K., ... Bogdański, P. (2022). Metabolic syndrome – a new definition and management guidelines: A joint position paper by the Polish Society of Hypertension, Polish Society for the Treatment of Obesity, Polish Lipid Association, Polish Association for Study of Liver, Polish Society of Family Medicine, Polish Society of Lifestyle Medicine, Division of Prevention and Epidemiology Polish Cardiac Society, "Club 30" Polish Cardiac Society, and Division of Metabolic and Bariatric Surgery Society of Polish Surgeons. *Archives of medical science : AMS*, 18(5), 1133-1156. DOI: 10.5114/aoms/152921.
- A new proposed severity score for seborrheic dermatitis of the face: SEborrheic Dermatitis Area and Severity Index (SEDASI). *Journal of the American academy of dermatology*, 76, 6. DOI: 10.1016/j.jaad.2017.04.088.
- http://www.liofilchem.net/login/pd/ts/610363_TS.pdf.
- Shelkova, N., & Prokopets, V. (2009). Quantitative research method of maintenance of bacteria in clinical species which are selected by waddin tampon. *Collection of scientific works of staff member of Shupyk NHU of Ukraine*, 17(2), 698-702. DOI: 10.13140/RG.2.1.3161.3049.
- Gunetti, M., Castiglia, S., Rustichelli, D., Mareschi, K., Sanavio, F., Muraro, M., ... & Fagioli, F. (2012). Validation of analytical methods in GMP: the disposable Fast Read 102® device, an alternative practical approach for cell counting. *Journal of translational medicine*, 10, 112. DOI: 10.1186/1479-5876-10-112.
- Tanaka, A., Cho, O., Saito, C., Saito, M., Tsuboi, R., & Sugita, T. (2016). Comprehensive pyrosequencing analysis of the bacterial microbiota of the skin of patients with seborrheic dermatitis. *Microbiology and immunology*, 60(8), 521-526. DOI: 10.1111/1348-0421.12398.
- Tao, R., Wang, R., Wan, Z., Song, Y., Wu, Y., & Li, R. (2022). Ketoconazole 2 % cream alters the skin fungal microbiome in seborrheic dermatitis: a cohort study. *Clinical and experimental dermatology*, 47(6), 1088-1096. DOI: 10.1111/ced.15115.
- Soares, R.C., Camargo-Penna, P.H., de Moraes, V.C., De Vecchi, R., Clavaud, C., Breton, L., Braz, A.S., & Paulino, L.C. (2016). Dysbiotic Bacterial and Fungal Communities Not Restricted to Clinically Affected Skin Sites in Dandruff. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 157. DOI: 10.3389/fcimb.2016.00157.
- Puviani, M., Campione, E., Offidani, A.M., De Grandi, R., Bianchi, L., Bobyr, I., ... & Milani, M. (2019). Effects of a cream containing 5 % hyaluronic acid mixed with a bacterial-wall-derived glycoprotein, glycyrrhetic acid, piroctone olamine and climbazole on signs, symptoms and skin bacterial microbiota in subjects with seborrheic dermatitis of the face. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 12, 285-293. DOI: 10.2147/CCID.S205904.
- Ahle, C.M., Stødkilde, K., Poehlein, A., Bömeke, M., Streit, W.R., Wenck, H., ... & Brüggemann, H. (2022). Interference and co-existence of staphylococci and Cutibacterium acnes within the healthy human skin microbiome. *Communications biology*, 5(1), 923. DOI: 10.1038/s42003-022-03897-6.
- Christensen, G.J., Scholz, C.F., Enghild, J., Rohde, H., Kilian, M., Thürmer, A., Brzuszkiewicz, E., Lomholt, H.B., & Brüggemann, H. (2016). Antagonism between Staphylococcus epidermidis and Propionibacterium acnes and its genomic basis. *BMC genomics*, 17, 152. DOI: 10.1186/s12864-016-2489-5
- Dréno, B., Dagnelie, M. A., Khammari, A., & Corvec, S. (2020). The Skin Microbiome: A New Actor in Inflammatory Acne. *American journal of clinical dermatology*, 21(1), 18-24. DOI: 10.1007/s40257-020-00531-1.
- Wang, Y., Kuo, S., Shu, M., Yu, J., Huang, S., Dai, A., Two, A., Gallo, R.L., & Huang, C.M. (2014). Staphylococcus

- Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
- epidermidis in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*: implications of probiotics in acne vulgaris. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(1), 411-424. DOI: 10.1007/s00253-013-5394-8.
20. Claudel, J.P., Auffret, N., Leccia, M.T., Poli, F., Corvec, S., & Dréno, B. (2019). Staphylococcus epidermidis: A Potential New Player in the Physiopathology of Acne? *Dermatology (Basel, Switzerland)*, 235(4), 287-294. DOI:10.1159/000499858
21. Skabytska, Y., & Biedermann, T. (2016). Staphylococcus epidermidis Sets Things Right Again. *The Journal of investigative dermatology*, 136(3), 559-560. DOI: 10.1016/j.jid.2015.11.016.
22. Abbott, C., Grout, E., Morris, T., & Brown, H.L. (2022). Cutibacterium acnes biofilm forming clinical isolates modify the formation and structure of Staphylococcus aureus biofilms, increasing their susceptibility to antibiotics. *Anaerobe*, 76, 102580. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2022.102580.
23. Wang, H.C., Wang, C.S., Hsieh, S.C., Hung, Y.T., & Chen, H.H. (2022). Evaluation of a new-formula shampoo containing 6 % glycyrrhetic acid complex for scalp seborrheic dermatitis: A pilot study. *Journal of cosmetic dermatology*, 21(8), 3423-3430. DOI: 10.1111/jocd.14623.
24. An, Q., Sun, M., Qi, R. Q., Zhang, L., Zhai, J.L., Hong, Y.X., Song, B., Chen, H.D., & Gao, X.H. (2017). High *Staphylococcus epidermidis* Colonization and Impaired Permeability Barrier in Facial Seborrheic Dermatitis. *Chinese medical journal*, 130(14), 1662-1669. DOI: 10.4103/0366-6999.209895.

SKIN MICROBIOME RESIDENTS OF PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND SEBORRHEIC DERMATITIS DETERMINED BY CULTURE METHOD

©V. V. Vysochanska

Uzhhorod National University

SUMMARY. Metabolites synthesized by pathogenic residents of the intestinal microbiota contribute to the deposition of fat in liver cells, increased insulin resistance, oxidative stress, and the level of pro-inflammatory cytokines. No studies currently present the influence of metabolic-associated diseases on the microbiome of the skin, and in particular, patients with seborrheic dermatitis (SD).

The aim – to determine the main residents of the skin microbiome of patients with metabolically-associated non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and seborrheic dermatitis by culture method.

Material and Methods. Smears were taken from 45 NAFLD +SD patients and 18 volunteers and cultured on Uriselect 4 agar, Sabouraud Glucose Agar with Chloramphenicol, Malassezia Leeming & Notman Agar Modified (MLNA), blood agar 5 %, HiCrome Candida Differential Agar, Yeast Extract Sodium Lactate medium (YELA) with the addition of blood. The CFU of bacteria was counted using Shelkova's method, the Bürker chamber was used for yeast.

Results. Inflamed seborrheic areas are significantly more often colonized by *Corynebacterium spp.* ($p=0.0236$), *Enterobacteriaceae spp.* ($p=0.0258$), *Proteus spp.* ($p=0.0236$), *Enterococcus spp.* ($p=0.001$), and tend to increase the number of *Candida albicans* ($p=0.0784$), *Klebsiella spp.* ($p=0.0784$), and pathogenic *Staphylococcus epidermidis* with hemolytic activity ($p=0.0795$), *Propionibacterium acnes* with hemolytic activity ($p=0.2958$) and a decrease in the number of commensal *Staphylococcus epidermidis* ($p=0.0749$) and *Propionibacterium acnes* ($p=0.3806$). Differences in the number of *Malassezia spp.* was not significant ($p=0.6894$). Inflamed skin is colonized by a significantly higher number of *S. aureus* compared to intact areas of patients with SD ($p=0.0673$) and healthy individuals ($p=0.0463$); *Staphylococcus epidermidis* + hemolytic activity ($p=0.004$; $p=0.001$); *Malassezia spp.* ($p=0.019$; $p=0.003$); there is a tendency to increase the number of *Staphylococcus epidermidis* CFU on healthy skin compared to inflamed skin in patients with seborrheic dermatitis ($p=0.0934$) and no difference with healthy individuals ($p=0.454$).

Conclusions. SD patients had a significantly higher number of hemolytically active *St. epidermidis* ($p=0.0018$) and *P. acnes* ($p=0.0776$), *Malassezia spp.* ($p=0.0215$) and significantly less commensals like *St. epidermidis* ($p=0.0017$) compared to healthy individuals.

KEY WORDS: non-alcoholic fatty liver disease; diabetes; insulin resistance; seborrheic dermatitis; microbiome.

Отримано 05.06.2023

Електронна адреса для листування: sirchakliza777@gmail.com