Идэвхгүйжүүлсэн пробиотик гидрогель нь арьсны үрэвсэл үүсгэдэг үү?

Г.Биндэръя[1], З.Амартүвшин[2], Б.Зоригтбаатар[2], Б.Амгалан[2], Я.Энхтөр[2], Чун Минг Хуанг[3], Ч.Баттогтох[2]

[1]Монгол улс, Гялс Анагаах Ухааны Төв
[2]Монгол улс, АШУҮИС, Анагаах Ухааны Сургууль
[3]Тайвань улс, Тайваны Үндэсний Төв Их Сургууль
Цахим шуудан: binderya@gyals.mn, Утас: 91966966

Түлхүүр үг:
Staphylococcus epidermidis
Ферментаци
Поли(этилен гликол) диметакрилат
Гидрогель
Простагландин Е2

Товч утга:
Үндэслэл: *Staphylococcus epidermidis (S. epidermidis)* нь поли(этилен гликол) диметакрилатыг (PEG-DMA) нүүрс усны эх үүсвэр болгон ашигладаг бөгөөд богино гинжин өөхний хүчил (SCFAs) үүсгэдэг. Идэвхгүйжүүлсэн пробиотик бактери агуулсан PEG-DMA гидрогелийг арьсан дээр түрхэх нь арьсны эсийн үрэвслийг өдөөдөг эсэхийг нь тодорхойгүй байна. **Зорилго:** Бид хулганы эдийн загварт *S. epidermidis*-PEG-DMA ферментаци бүхий гидрогелийн үрэвсэл өдөөх чадварыг тодорхойлохыг зорьсон. **Арга, аргачлал:** *S. epidermidis* агуулсан болон агуулаагүй PEG-DMA гидрогелийг хулганы баруун чихэнд 24 цагийн турш 3 удаа, зүүн чихэнд 1 удаа 24 цагийн турш түрхсэн. Ямар ч бодис хэрэглээгүй дөрвөн хулганыг хяналтын бүлэг болгон сонгосон. Туршилтын дараа просгландин е2 (PGE2)-ийн концентрацийг хулганы чихний эдийн супернататад 3 удаа давталттай тогтоосон. Kruskal-wallis тестийг ELISA концентрацийн тасралтгүй хувьсах хэмжигдэхүүний дундаж утгуудын хоорондын статистик ач холбогдолтой ялгааг шалгахад ашигласан. **Үр дүн:** Эдийн PGE2 концентраци пробиотик агуулсан PEG-DMA гидрогель түрхсэн бүлэгт 44.78 [95%CI 41.51 47.19], зөвхөн peg-dma түрхсэн гидрогелийн бүлэгт 91.29 [95%CI 79.89 95.67], хяналтын бүлэгт 73.00 [95%CI 69.79 78.00] байв. PGE2-ийн концентраци нь зөвхөн хулганы бүлгүүдэд ($p<0.0001$) төдийгүй гидрогелийн хэрэглэсэн тоонд (гидрогелийн хэмжээ) ялгаатай байв ($p<0.004$). Сонирхолтой нь пробиотик агуулсан peg-dma гидрогель нь арьсны үрэвсэл үүсгэдэггүй бөгөөд pge2-ийн түвшинг бууруулж байгаа боловч дан peg-dma гидрогель нь эсрэг үр дүн үзүүллээ. **Дүгнэлт:** Хулганы эдэд ферментаци бүхий поли(этилен гликол) диметакрилат гидрогелийг түрхэхэд эд дэх PGE2 -ийн хэмжээ үрэвсэл үүсгэх хэмжээнд нэмэгдэхгүй харин буурсан байна.

Үндэслэл: Антибиотикт тэсвэртэй супер бактераар үүсгэгдсэн арьсны архаг шархнаас шалтгаалсан өвчлөл болон нас баралт ихэсч улмаар санхүүгийн болон эмнэлгийн зардлыг ихэсгэж байгаа нь эрүүл мэндийн салбарын томоохон сорил болж байна[1]. Өндөр хөгжилтэй орнуудад шархны эмчилгээнд эрүүл мэндийн салбарын төсвийн 2-3% зардал гардаг гэж мэдээлсэн[2]. Мөн судлаачид уг чиглэлийн хүрээнд пробиотик агуулсан гидрогелийг ашиглан антибиотик тэсвэртэй супер бактерын эсрэг ашиглах судалгаануудыг хийж байна[3]. Полиэтилен гликол диметакрилат (PEG-DMA нь эм, бэлдмэлийн хэрэглээнд ихэвчлэн ашиглагддаг ба амфифилик шинж чанартай, биологийн задралд ордог полимер нэгдэл бөгөөд өөр өөр биомолекулуудтай нэгтгэн ашигладаг[4].

Полиэтилен гликол диметакрилат (PEG-DMA) нь *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) арьсны хэвийн бичил биетэнийг сонгомолоор исгэн бактерийн богино гинжин өөхний хүчлийн (SCFAs) үйлдвэрлэлийг өдөөдөг ба эсрэгээрээ эмгэгтөрөгч бактери болох АНУ-ын USA300 нэртэй метициллинд тэсвэртэй *S. aureus* MRSA (CA-MRSA)-ийг ферментаци

хийдэггүй болох нь тогтоогдсон[5]. Тиймээс амьд *S. epidermidis* пробиотик бактери болон тэдгээрийн ферментациас үүссэн метаболит агуулсан PEG-DMA гидрогель нь MRSA-ийн халдвараар үүсгэгдсэн шархыг эдгэрэлтийг дэмжих наалт, боолт хэлбэрээр ашиглах боломжтой байна. Гэвч амьд пробиотик бактерийг арьсанд түрхэхийг АНУ-ын Хүнс, Эмийн Захиргаа (FDA) зөвшөөрөөгүй байна. Тиймээс пробиотикийн метаболит болох бактерийн богино гинжин өөхний хүчлийн (SCFAs) зэргийг үүссэний дараа бактерийг идэвхигүйжүүлэн үр дүнг тооцохоор зорьсон. Энэхүү гидрогелийг арьсанд түрхвэл арьсны эсэд цитотоксик үрэвсэл үүсгэх эсэх нь тодорхойгүй байгаа нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл болсон.

Зорилго: Бид хулганы эдийн загварт *S. epidermidis*-PEG-DMA ферментаци бүхий гидрогелийн үрэвсэл өдөөх чадварыг тодорхойлохыг зорьсон.

Арга, аргачлал:

S. epidermidis (ATCC12228) өсгөвөрлөсөн аргачлал: Туршилтанд ашигласан *S. epidermidis*- ийн ATCC12228 стандарт омгийг Бичил-амьсудлал, халдварын сэргийлэлт хяналтын тэнхимийн дэргэдэх Бичил-амьсудлалын сургалт судалгааны лабораторийн өсгөврийн санд хадгалагдаж байсан омгоос 5%-ийн хонины цустай агарт 4 секторт зурааслах аргаар тарьж 37 хэмд 24 цаг өсгөвөрлөн сэргээсэн. *S. epidermidis* (ATCC12228)-ийг шар буурцгийн шөлөнд (TSB) (Sigma, St. Louis, MO, USA) 24 цагийн турш өсгөвөрлөсөн. Өсгөврийг 1:100 харьцаагаар нэрмэл усаар шингэн 3000 rpm эргэлтээр 10 минутын турш центрифугт хийв. Трис буфертэй давсны уусмал (TBS)-аар 3 удаа угааж ашиглав.

Ферментаци бүхий S. epidermidis-PEG-DMA гидрогель бэлтгэсэн аргачлал: Гидрогель гарган авахдаа 0.002% фенол улаан агуулсан 430 мкл баяжуулсан тэжээлт шөл, 10 мкл поли(этилен гликол) диметакрилат (PEG-DMA) (number-average Mn=550; Catalog # 25852-47-5, Sigma) болон 60 мкл *S. epidermidis*-ийн булинга ($6x10^7$ CFU/ml) нэмсэн. Мөн 0.5 мкл тетраметилэтилендиамин (TEMED) (Sigma), 0.5 мкл 10%-ийн аммоний персульфатын уусмал (APS) (Sigma) нэмэв. Гарган авсан гидрогелийг 48 U хэлбэртэй хавтанд вэлл-тус бүрт 500 мкл-ийг хийсэн. Цаашид гидрогелийг термостатд 37^0C хэмд 2 хоног өсгөвөрлөсөн. Нэг шинжилгээг тус бүр 3 удаа давталттай гүйцэтгэв. Хяналтын бүлэгт *S. epidermidis* агуулаагүй PEG-DMA гидрогелийг ашиглав.

Хэт ягаан туяагаар бактер үхүүлэх/идэвхигүйжүүлсэн аргачлал: Ферментаци явагдсаны дараа S. *epidermidis* агуулсан гидрогелийг хэт ягаан туяанд (354 нм, 15.54Mw/см^2 гаралт) 120 секундын турш байлган *S. epidermidis*-ийг устгаж/идэвхгүйжүүлсэн**.**

Ферментаци бүхий S. epidermidis-PEG-DMA гидрогель болон S.epidermidis агуулаагүй PEG-DMA гидрогелийг хулганад түрхсэн аргачлал: Судалгааны ажилд C57BL/6 үүлдрийн 5-7 долоо хоногтой 12 эр хулгана ашиглав. Туршилтын хулгануудыг нийт 3 бүлэгт хуваасан. Туршилтын I бүлгийн 4 хулганы чихэнд ферментаци бүхий *S. epidermidis*-PEG-DMA гидрогелийг баруун чихэнд 8 цаг тутамд 1 буюу 24 цагт нийт 3 удаа, зүүн чихэнд эхний 8 цагт 1 удаа түрхсэн. Туршилтын II бүлгийн 4 хулганы чихэнд *S. epidermidis* агуулаагүй PEG-DMA гидрогелийг мөн адил баруун чихэнд 8 цаг тутамд 1 буюу 24 цагт нийт 3 удаа, зүүн чихэнд эхний 8 цагт 1 удаа түрхсэн. Хяналтын бүлгийн 4 хулганы чихэнд хяналт болгож ямар нэг бодис түрхээгүй.

Судалгааны ажлын ёс зүй: Бид хулганыг АШУҮИС-ийн харьяа Био анагаахын хүрээлэнгийн Туршилтын амьтны төвөөс авсан ба Бичил-амьсудлал, халдварын сэргийлэлт хяналтын тэнхимийн дэргэдэх Бичил-амьсудлалын сургалт судалгааны лабораторийг түшиглэн хийсэн. Эрүүл мэндийн яам, Анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хорооны 232 тоот тогтоолын дагуу судалгааг хийж гүйцэтгэв.

Шинжлэгдэхүүн бэлтгэсэн аргачлал: Хулганы чихийг мөсөн дээр ариун хайчаар жижиглэсэн. 100 мг эд тутамд protease inhibitor cocktail (Phygene, China) агуулсан 500мкл хүйтэн задлагч буфер (T-PER™ Tissue Protein Extraction Reagent, Thermo Fisher, Waltham, Massachutes, USA) хийх ба электрон гомогенжүүлэгчээр гомогенжүүлсэн. Гомогенжүүлэх үеэр 100-200 мкл задлагч буфер нэмж 4^0C-д шөнийн турш хольсон. Үүний дараа 4^0C-д 15000G хүчээр 30 минут центрифугдсэний дараа мөс рүү шилжүүлж, супернатантыг цэвэр хундаганд цуглуулж тунадасыг хаясан.

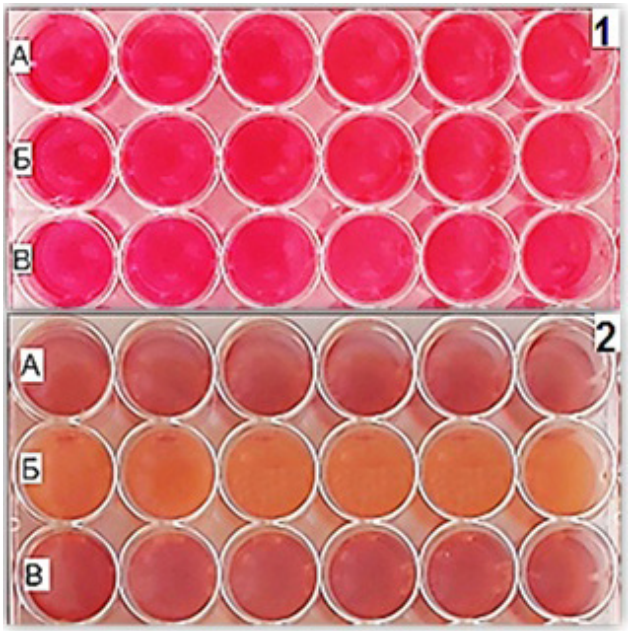
Уургийн концентраци тодорхойлсон аргачлал: Супернатантаас 1 мкл авч нанодроп (Nanodrop, ALLSHEMG, БНХАУ) багаж ашиглан уургийн концентрацийг тодорхойлсон.

Простагландин Е2 илрүүлэх ЭХЭБ-ийн урвал илрүүлсэн аргачлал: Хулганы простагландин Е2 илрүүлэх цомог – Mouse prostaglandin E2 ELISA KIT (Elabscience, Wuhan, China) ашиглан үйлдвэрлэгчийн заасан дараах протоколын дагуу хийж гүйцэтгэв.

Статистик боловсруулалт: Нэг бүлэг дэх хулгана хоорондын хэмжилтийн ялгааг Анова тестээр, хяналтын болон туршилтын бүлэг хоорондын ялгааг (простагландин Е2-ийн хэмжээг) үл хамааралт Т тестээр тооцооллоо. Шинжлэгдэхүүн дэх нийт уургийн концентраци болон простагландин Е2-ийн концентрацийн хамаарлыг Пирсоны корреляциар тооцооллоо.

Үр дүн:

Идэвхгүйжүүлсэн S.epidermidis-ийн ферментаци бүхий гидрогель гарган авсан дүн: Туршилтанд PEG-DMA гидрогелийг *S.epidermidis* бактери агуулсан (Зураг 1.1.Б) болон агуулаагүй (Зураг 1.1.А) байдлаар бэлтгэн туршив. Ферментацийн хяналтын бүлэг болгон зөвхөн бактери агуулсан (Зураг 1.1.В) буюу поли(этилен гликол) диметакрилат агуулаагүй гидрогелийн бүлгийг ашиглав. Зураг 1-д ферментац бүхий гидрогелийг бэлтгэсэний дараа болон 37^0C-д 48 цаг инкубацласаны дараах үр дүнг үзүүлэв. Зураг 1.2.Б-д *S.epidermidis* бактери агуулсан PEG-DMA гидрогельны өнгө шар болсон байгаа нь ферментаци явагдаж хүчиллэг болсон байгааг харуулж байна.



Зураг 1. Ферментаци бүхий гидрогелийг бэлтгэсэн байдал

***Гидрогели бэлтгэсэн байдал* 1А**. 1-6 нүхэнд PEG-DMA, TEMED болон APS агуулсан. **1Б**. 1-6 нүхэнд *S. epidermidis,* PEG-DMA, TEMED болон APS агуулсан. **1В**. 1-6 нүхэнд *S. epidermidis*, TEMED болон APS агуулсан.

***Ферментаци бүхий гидрогели* 2А**. 1-6 нүхэнд *S. epidermidis* агуулаагүй учир ферментаци явагдаагүй. **2Б**. 1-6 нүхэнд *S. epidermidis* сонгомолоор PEG-DMA-г бодисын солилцоондоо ашиглан ферментаци явагдсанаар богино гинжит өөхний хүчил ялгаруулж гидрогелийн орчин хүчиллэг болж фенол улаан хүчиллэг орчинд шар өнгө үзүүлсэн. **2В**. 1-6 нүхэнд PEG-DMA агуулаагүй гидрогель дэх *S.epidermidis* ферментаци явагдаагүй учир өнгө өөрчлөгдөөгүй.

Үүний дараа дээрх ферментаци бүхий урвалын хавтанг хэт ягаан туяанд (354 нм, 15.54 Mw/см^2 гаралт) 120 секундийн турш шарж *S. epidermidis*-ийг идэвхгүйжүүлсний дараа бактерийн бүрэн үхсэн буюу дарангуйлагдсаныг цустай агар тэжээлт тарин Зураг 2-т үзүүлснээр баталгаажуулав.



Зураг 2. Хэт ягаан туяагаар шарж *S. epidermidis*-ийг идэвхгүйжүүлсэн байдал

А: Хэт ягаан туяагаар шарахын өмнө **Б:** Хэт ягаан туяагаар 2 минутын турш шарж *S.epidermidis*-ийг идэвхгүйжүүлсэний дараах үр дүн. 2 минутын турш хэт ягаан туяагаар шарахад *S.epidermidis* бүрэн идэвхгүйжсэн байв. Мөн хэт ягаан туяагаар шарснаар PEG-DMA болон TEMED хөндлөн холбоогоор холбогдоно.

Хулганы эдэд простагландин Е2 илрүүлэх өрсөлдөөнт ЭХЭБУ-ын шинжилгээний үр дүн: Нийт 3 бүлгийн хулганад туршилтын хугацаа дууссаны дараа аргачлалд тусгасны дагуу хулганыг изофлуранаар мэдээгүйжүүлэн чихнээс эдийн сорьц цуглуулсан. Цуглуулсан шинжлэгдэхүүний уургын концентрацийг тодорхойлсныг Хүснэгт 1-т харуулав.

Хүснэгт 1. Шинжлэгдэхүүн дэх нийт уургийн концентрацийг тодорхойлсон үр дүн

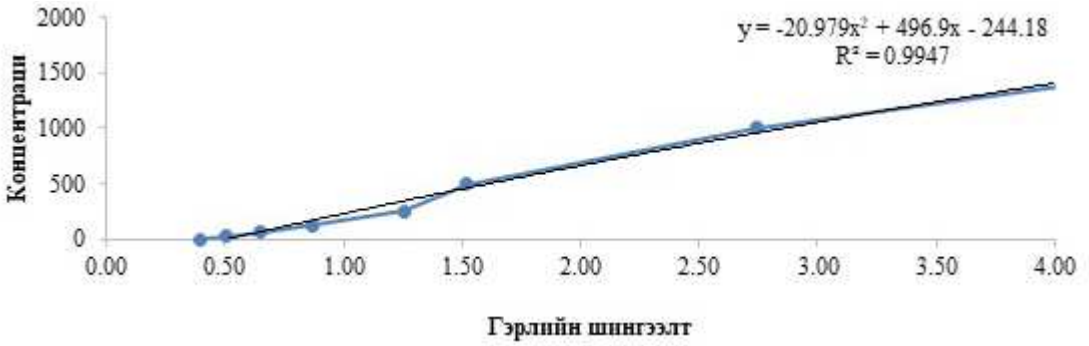
Туршилтанд хамруулсан хулганы тоо, давтамж		Туршилтын I бүлэг	Туршилтын II бүлэг	Хяналтын III бүлэг
		S. epidermidis агуулсан гидрогель түрхсэн бүлэг	S. epidermidis агуулаагүй гидрогель түрхсэн бүлэг	Ямар нэг бодис түрхээгүй хяналтын бүлэг
Хулгана 1	8 цагт 1 түрхсэн	3.080 mg/ml	3.42 mg/ml	2.816 mg/ml
	24 цагт 3 түрхсэн	2.917 mg/ml	2.508 mg/ml	
Хулгана 2	8 цагт 1 түрхсэн	2.326 mg/ml	3.39 mg/ml	2.528 mg/ml
	24 цагт 3 түрхсэн	2.279 mg/ml	2.590 mg/ml	
Хулгана 3	8 цагт 1 түрхсэн	3.199 mg/ml	3.197 mg/ml	2.441 mg/ml
	24 цагт 3 түрхсэн	3.709 mg/ml	2.970 mg/ml	
Хулгана 4	8 цагт 1 түрхсэн	3.705 mg/ml	2.346 mg/ml	3.420 mg/ml
	24 цагт 3 түрхсэн	2.551 mg/ml	2.671 mg/ml	

Хулганы эдэд простагландин Е2 илрүүлэх өрсөлдөөнт ЭХЭБУ-ын шинжилгээний үр дүн: Стандарт уусмалын шингэрүүлэлт бүрийг 2 давталттай хийсэн бөгөөд гарсан үр дүнг Хүснэгт 2-т үзүүлэв.

Хүснэгт 2. ЭХЭБУ-ын стандарт уусмалын шингэрүүлэлтийн байдал

Шингэрүүлэлтийн зэрэг	Стандарт уусмал дахь протагландины дундаж утга
Стандартын шингэрүүлэлт 2000 пг/мл	2022.4±633.27
Стандартын шингэрүүлэлт 1:1 1000 пг/мл	961.9±95.33
Стандартын шингэрүүлэлт 1:2 500 пг/мл	464.3±57.40
Стандартын шингэрүүлэлт 1:4 250 пг/мл	352.3±77.57
Стандартын шингэрүүлэлт 1:8 125 пг/мл	172.0±1.96
Стандартын шингэрүүлэлт 1:16 62.5 пг/мл	68.2±4.72
Стандартын шингэрүүлэлт 1:32 31.25 пг/мл	2.8±2.69
Бланк 0пг/мл	-52.6±1.09

ЭХЭБУ-ын стандарт уусмалыг үйлдвэрлэгчээс өгсөн зааврын дагуу шингэрүүлэн концентрацийг тодорхойлоход Зураг 3-т үзүүлсэн шингэрүүлэлтийн муруйн дагуу судалгааны үр дүнг тооцоолов.



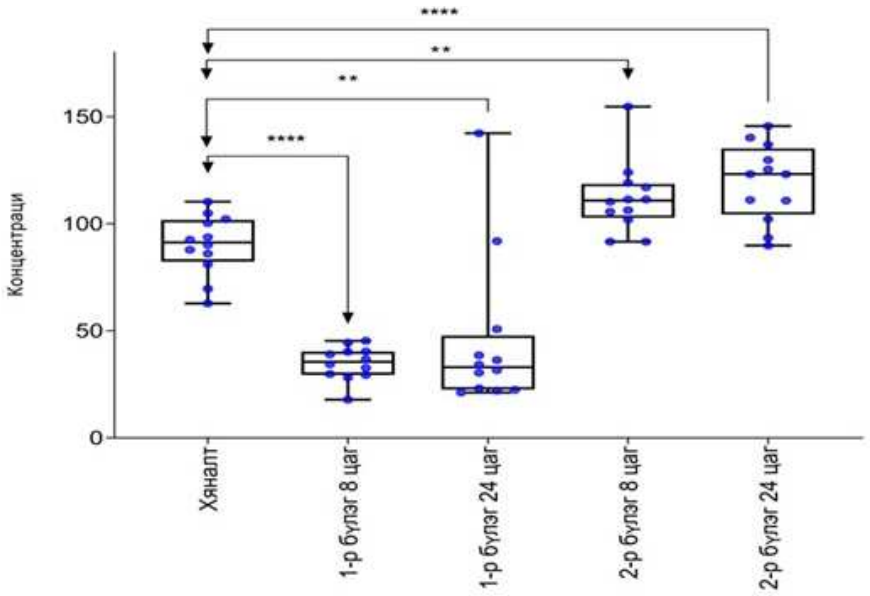
Зураг 3. Стандарт уусмалын шингэрүүлэлтийн үр дүн

Судалгаанд хамруулсан эдийн супернатант бүрийг 3 удаагийн давталттай шинжилсэн ба туршилтын үр дүн болон нэг бүлэг дэх хулгана хоорондын хэмжилтийн ялгааг Хүснэгт 3-т үзүүлэв. Нэг бүлэгт хамруулсан хулгана хоорондын хэмжилтэнд ялгаа ажиглагдсангүй (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Туршилтын болон хяналтын бүлгийн хулганы эд дэх простагландин Е2-ийн концентраци тодорхойлсон үр дүн (пг/мл)

Судалгааны бүлгүүд	Хулгана 1	Хулгана 2	Хулгана 3	Хулгана 4	Дундаж	P утга
Хяналтын бүлэг	86.8±17.6	92.1±1.8	83.6±19.0	97.8±15.0	90.1±14.0	0.683
Туршилтын I бүлэг: Ферментаци бүхий гидрогель түрхсэн бүлэг – 8 цаг	30.5±13.5	38.2±6.4	34.8±5.1	35.8±6.6	34.8±7.8	0.742
Туршилтын II бүлэг : Ферментаци бүхий гидрогель түрхсэн бүлэг – 24 цаг	27.9±9.2	40.4±9.0	25.1±5.6	30.4±1.0	31.1±9.4	0.90
Туршилтын II бүлэг : PEG гидрогель түрхсэн бүлэг – 8 цаг	125.4±25.3	117.4±6.3	104.2±13.8	101.2±8.2	112.1±16.6	0.255
Туршилтын II бүлэг : PEG гидрогель түрхсэн бүлэг – 24 цаг	135.9±10.1	98.1±11.3	121.2±9.6	121.8±19.0	119.3±18.0	0.94

Хяналтын болон туршилтын бүлгийн харьцуулсан үр дүнг Зураг 4-т харууллаа. Хулганы чихэнд түрхсэн гидрогелийн төрөл ($p<0.0001$) болон түрхсэн давтамж буюу тунгаас хамаарсан бүлгүүдэд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай үр дүн ажиглагдлаа ($p<0.004$) .



Зураг 4. Гидрогель түрхэсний дараа хулганы чихэнд Простагландин Е2 илрүүлсэн дүн

S.epidermidis-ийн ферментаци бүхий гидрогель түрхсэн бүлэгт хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад эхний 8 цагт болон 24 цагт түрхсэн эдэд простагландин Е2-ийн түвшин буурсан үзүүлэлт гарлаа. Бактери агуулаагүй буюу дан PEG-DMA агуулсан гидрогель түрхсэн бүлэгт хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад простагландин Е2-ийн түвшин гидрогелийн тун нэмэх тусам буюу 8 цаг тутамд түрхсэн бүлэгт нэмэгдсэн байна.

Хэлцэмж: Shemi D (2000) нарын судалгаанд хархны эдэд *Escherichia coli* -ийн 10 мкг/мл концентрацтай липополисахаридаар үйлчилж простагландин Е2 болон хавдрын үхжлийн хүчин зүйл альфа (TNF-α)-ын хэмжээ эдэд хэр хугацааны дараа нэмэгдэж байгааг судалсан. TNF-α-ийн өсөлтийн хугацаа богино байсан ба липополисахаридаар үйлчилснээс 6 цагийн дараа дээд хэмжээндээ хүрч, 24 цагийн дараа эргэн хэвийн хэмжээндээ хүрсэн. Харин простагландин Е2-ийн хэмжээ липополисахаридаар үйлчилснээс 6 цагийн дараа нэмэгдэж эхэлсэн ба 24 цагийн дараа 100 дахин нэмэгдсэн байсан[6]. Дээрх судалгааны үр дүнгээс үзэхэд бидний хулганы эдэд простагландин Е2-ийн түвшинг тодорхойлсон 24 цагийн хугацаа нь простагландин Е2-ийн ялгаралтыг хэмжихэд тохиромжтой байна. Бидний судалгааны үр дүнгээр ферментаци бүхий буюу богино гинжит өөхний хүчил агуулсан гель нь эдийн простагландин Е2-ийн түвшинг бууруулж байгаа нь тодорхойлогдлоо**.**

Keshari S (2019) нарын судлаачид хулганы нурууны арьсыг хэт ягаан туяагаар шарж арьсны эдэд үрэвслийн загвар үүсгэсэн. Хэт ягаан туяанд удаан хугацаагаар өртөх нь арьсанд үрэвсэл үүсгэдэг бөгөөд энэ нь интерлейкин-6 зэрэг үрэвслийн эсрэг цитокины ялгаралтыг өдөөдөг. Бутирийн хүчлийг дангаар нь эсвэл *S. epidermidis*-ийг глицеринтэй хамт хэрэглэх нь UVB-ээр өдөөгдсөн IL-6 нийлэгжилтийг мэдэгдэхүйц сайжруулсан. Хулганы арьсан дахь богино гинжин өөхний хүчлийн рецептор 2 (FFAR2)-гүй хулганад хийгдсэн туршилтаар UVB-ээр өдөөгдсөн IL-6 нийлэгжилтийг дарангуйлахад *S. epidermidis*-ийн пробиотик нөлөөг хаасан. Эдгээр үр дүн нь арьсны пробиотик бактерийн ферментациас үүссэн метаболит дахь бутирийн хүчил нь UVB-ээр өдөөгдсөн үрэвслийн эсрэг цитокинуудын нийлэгжилтийг зохицуулахын тулд FFAR2-тай холбогдож байгааг харууллаа[7]. Үүнээс харахад ферментациас үүссэн метаболитийн нэг богино гинжит өөхний хүчил болох бутирийн хүчил нь үрэвслийн цитокиныг зохицуулснаар просгландин Е2 багассан гэж үзлээ.

Jeong S (2019) нарын судлаачид арьс болон зөөлөн эдийн халдварын гол шалтгаан болох метициллинд тэсвэртэй *S.aureus*-ийн арьсанд халдвар үүсгэх нөлөөг хулганы эдэд загварчлан судалсан[8]. Туршилтын хулганы арьсан дор метициллинд тэсвэртэй *S.aureus*-г натрийн ацетат, натрийн пропионат, эсвэл натрийн бутираттай хамт тарьж халдварлуулсан. Халдварлуулсны дараа 3 дахь өдөр буглаа үүссэн болохыг шинжилж тодорхойлсон. Метициллинд тэсвэртэй *Staphylococcus aureus* -тай хамт натрийн пропионат тарьсан бүлэг хулганад үүссэн буглааны хэмжээ бага байсан бол натрийн ацетат болон натрийн бутираттай хамт тарьсан бүлэг хулганад төдийлөн нөлөөлөөгүй. Натрийн пропионаттай хамт тарьсан бүлэг хулганы эд дэх *S. aureus* буглааг үүсгэдэг цитокин болох интерлейкин-1β-ийн хэмжээг бусад 2 бүлэгтэй харьцуулахад бага хэмжээтэй байсан. Мөн натрийн пропионат тарьсан хулганы интерлейкин-6-н түвшин бусад хоёр бүлэгтэй харьцуулахад бага байсан. Натрийн бутират тарьсан хулганы эдийн гэмтлийн зэрэг болон цитокины ялгаралтад нөлөөлөөгүй боловч *in vitro* орчинд метициллинд тэсвэртэй *S.aureus*-ийн өсөлтийг дарангуйлж байв.

Гистологийн шинжилгээгээр *S.aureus*-аар халдварласан хулганы эдэд үрэвслийн нэвчдэс их хэмжээтэй байсан. Натрийн пропионат тарьсан хулганы бүлэгт үүссэн буглаа нь бусад бүлэгтэй харьцуулахад үрэвслийн нэвчдэс бага ажиглагдсан.

Эдгээр үр дүн нь натрийн пропионат нь цитокины үүсэлт болон буглааны хэмжээг бууруулах замаар арьсны метициллинд тэсвэртэй *S.aureus*-ын халдварын үеийн эмгэгтөрөгч чанарыг бууруулж болохыг харуулж байна[8]. Дээрх судалгааны үр дүн нь хэдийгээр биднийхтэй ижил гелийг хэрэглээгүй боловч богино гинжит өөхний хүчил агуулсан бүтээгдэхүүн нь үрэвслийн олон медиаторыг саатуулах нөлөө ойролцоо үр дүн тодорхойлогдлоо.

Rutting S (2018) нарын судлаачид богино гинжит өөхний хүчлүүд (БГӨХ) нь уушгины анхдагч мезенхим эсэд хавдрын үхжлийн хүчин зүйл-α-аар өдөөгдсөн үрэвслийг дарангуйлах эсэхийг судалсан. Пропионы хүчил болон бутирийн хүчил нь уушгины анхдагч мезенхим эдэд хавдрын үхжлийн хүчин зүйл α-р өдөөгсөн үрэвслийг дарангуйлаагүй, эсрэгээрээ үрэвслийн шатанд үүссэн интерлейкин-6 цитокины ялгаралтыг нэмэгдүүлж байсан[9]. Энэхүү үр дүн нь богино гинжит өөхний хүчил үрэвслийг өдөөж байгаа хүчин зүйлээс хамааран үрэвслийн эсрэг үйлчлэл харилцан адилгүй байх боломжтойг харуулжээ. Бидний судалгаанд үрэвслийн ямар нэг загвар үүсгээгүй боловч хяналтын бүлгийн хулганы эдтэй харьцуулахад бактерийн ферментаци бүхий PEG-DMA гидрогель нь простагландин Е2-ийн хэмжээг бууруулж, харин дан PEG-DMA гидрогель нь нэмэгдүүлж байгаа сонирхолтой үр дүн гарлаа. Гидрогелийн тунгаас хамаарч бүлгүүдийн хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаж байгаа тул цаашид илүү нарийвчлан судлан механизмыг тодорхойлох шаардлагатай байна.

Дүгнэлт: Хулганы эдэд ферментаци бүхий поли(этилен гликол) диметакрилат гидрогелийг түрхэхэд эд дэх простагландин Е2-ийн хэмжээ үрэвсэл үүсгэх хэмжээнд нэмэгдэхгүй харин эдийн простагландин Е2-ийг бууруулж байна. Хулганы эдэд поли(этилен гликол) диметакрилат гидрогель нь эдийн простагландин Е2-ийг нэмэгдүүлж байна.

Ном зүй:

1. *Phillips CJ, Humphreys I, Fletcher J, Harding K, Chamberlain G, Macey S. Estimating the costs associated with the management of patients with chronic wounds using linked routine data. International Wound Journal. 2016;13(6):1193-7.*
2. *Richmond NA, Maderal AD, Vivas AC. Evidence-based management of common chronic lower extremity ulcers. Dermatol Ther. 2013;26(3):187-96.*
3. *Mei L, Zhang D, Shao H, Hao Y, Zhang T, Zheng W, et al. Injectable and Self-Healing Probiotics-Loaded Hydrogel for Promoting Superbacteria-Infected Wound Healing. ACS Applied Materials & Interfaces. 2022;14(18):20538-50.*
4. *Che J, Okeke CI, Hu ZB, Xu J. DSPE-PEG: a distinctive component in drug delivery system. Curr Pharm Des. 2015;21(12):1598-605.*
5. *Kao M-S, Huang S, Chang W-L, Hsieh M-F, Huang C-J, Gallo RL, et al. Microbiome precision editing: Using PEG as a selective fermentation initiator against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Biotechnology Journal. 2017;12(4).*
6. *Shemi D, Azab AN, Kaplanski J. Time-dependent effect of LPS on PGE2 and TNF-alpha production by rat glial brain culture: influence of COX and cytokine inhibitors. J Endotoxin Res. 2000;6(5):377-81.*
7. *Keshari S, Balasubramaniam A, Myagmardoloonjin B, Herr DR, Negari IP, Huang CM. Butyric Acid from Probiotic Staphylococcus epidermidis in the Skin Microbiome Down-Regulates the Ultraviolet-Induced Pro-Inflammatory IL-6 Cytokine via Short-Chain Fatty Acid Receptor. Int J Mol Sci. 2019;20(18).*
8. *Jeong S, Kim HY, Kim AR, Yun CH, Han SH. Propionate Ameliorates Staphylococcus aureus Skin Infection by Attenuating Bacterial Growth. Front Microbiol. 2019;10:1363.*
9. *Rutting S, Xenaki D, Malouf M, Horvat JC, Wood LG, Hansbro PM, et al. Short-chain fatty acids increase TNFα-induced inflammation in primary human lung mesenchymal cells through the activation of p38 MAPK. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2018;316(1):L157-L74.*

Does an Inactivated Probiotic Hydrogel cause skin inflammation?

Binderya G[1], Amartuvshin Z[2], Zorigtbaatar B[2], Amgalan B[2], Enkhtur Ya[2], Huang Chung-Ming[3], Battogtokh Ch[2]

[1]Gyals medical center, Mongolia
[2]School of Bio-Medicine, MNUMS, Mongolia
[3]National Central University, Taiwan
E-mail: binderya@gyals.mn, Tel: +976-91966966

Background: *S. epidermidis* consumes poly (ethylene glycol) dimethacrylate (PEG-DMA) as a carbohydrate source and can produce short chain fatty acids (SCFAs). It has not been clearly identified that applying the hydrogel that contains inactivated probiotic bacterial PEG-DMA on skin can induce cutaneous cell inflammation or not.
Aim: We aimed to identify inflammation inducing potential of S. epidermidis-PEG-DMA fermented hydrogel in a mouse tissue model.
Materials and Methods: Moreover, we applied PEG-DMA hydrogels with and without *S. epidermidis* 3 times for 24 hours in the right ear and 1 time for 24 hours in the left ear of the experimental groups of mice. Four mice were selected as a control group which did not apply any substances. After an experiment, PGE2 concentration was determined in mice ear's tissue supernatant for 3 times repeated. Kruskal-Wallis test was used to test for statistically significant differences between the median values of the continuous variables of the ELISA concentration.
Results: The tissue PGE2 concentration was detected 44.78 [95%CI 41.51 47.19] in PEG-DMA probiotic hydrogel applied group and 91.29 [95%CI 79.89 95.67] in PEG-DMA only hydrogel applied group and 73.00 [95%CI 69.79 78.00] in control group mice. The PGE2 concentration was different not only in the groups of mice ($p<0.0001$) and also the applied numbers (the amount of hydrogel) of the hydrogels ($p<0.004$).
Conclusion: Interestingly, PEG-DMA probiotic hydrogel does not cause skin inflammation furthermore it decreases the PGE2 level, but PEG-DMA only hydrogel does the opposite effect.

Keywords: *Staphylococcus epidermidis*, Fermentation, Polyethylene glycol dimethacrylate, Hydrogel, Prosglandin E2