

РОЛЬ TLR9 И КОМПОНЕНТОВ ИНФЛАММАСОМНОГО КОМПЛЕКСА В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ПСОРИАЗА

© 2019 г. Е. Д. Меркушова^{1*}, Е. М. Хасанова¹, О. А. Свитич¹,
Н. В. Баткаева², М. М. Гитинова², Л. В. Ганковская¹

*E-mail: rina.karmin@outlook.com

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

²Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 29.03.2019

В настоящее время псориаз рассматривают как заболевание, в патогенезе которого участвуют как аутоиммунные, так и аутовоспалительные реакции. В настоящем исследовании с помощью метода ПЦР-РВ была исследована экспрессия генов TLR9, компонентов инфламмасомного комплекса (NLRP1, NLRP3), а также эффекторных молекул IL-1 β и IL-18 в биоптатах здоровой и пораженной кожи у 35 пациентов с тяжелым течением псориаза. В псориазическом очаге было выявлено повышение уровня экспрессии генов TLR9 в 4,1 раза, NLRP1 – в 6 раз. Анализ экспрессии генов интерлейкинов выявил 10-кратное увеличение экспрессии гена IL-18 в псориазическом очаге, при этом экспрессия гена IL-1 β была сопоставима с его экспрессией в биоптатах здоровой кожи.

Ключевые слова: псориаз, TLR9, инфламмасома, IL-1 β , IL-18, экспрессия гена

DOI: 10.31857/S102872210006912-8

Адрес: 117997 Москва, ул. Островитянова, д.1, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия, кафедра иммунологии МБФ, Меркушова Екатерина Дмитриевна. Тел: 89152569694 (моб.).

E-mail: rina.karmin@outlook.com

Авторы:

Меркушова Е. Д., ассистент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

Хасанова Е. М., студент 6 курса МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

Свитич О. А., д.м.н., член-корр. РАН, доцент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

Баткаева Н. В., к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии РУДН, Москва, Россия;

Гитинова М. М., ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии РУДН, Москва, Россия;

Ганковская Л. В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

Псориаз является хроническим, аутоиммунным, воспалительным заболеванием кожи, характеризующимся нарушением дифференцировки кератиноцитов. В настоящее время псориаз рассматривают как заболевание, в патогенезе

которого участвуют как аутоиммунные, так и аутовоспалительные реакции. Активно исследуется роль механизмов врожденного иммунитета в иммунопатогенезе псориаза. В последние годы появились исследования свидетельствующие о том, что передача сигналов через Toll-подобные рецепторы (TLR) и Nod-подобные рецепторы (NLR) может играть роль в инициации или прогрессировании течения псориаза, способствуя развитию воспаления [1]. Известно, что разрушение кератиноцитов при псориазе приводит к выработке противомикробного пептида LL-37, который при связывании с собственной ДНК превращает ее в мощный активирующий лиганд для TLR9 [2]. Взаимодействие TLR9 с эндогенными лигандами приводит к активации транскрипционного фактора Nf-kB, который запускает экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как TNF α , IL-6, семейства IL-1, среди которых IL-1 β и IL-18 [3]. Однако, для выработки функционально зрелых цитокинов IL1 β и IL-18 необходим их предварительный процессинг, включающий сборку инфламмасомного комплекса и активацию каспаз, необходимых для

их расщепления до функциональных цитокинов. Важную роль в развитии псориазического воспаления отводят активации инфламмосы, основная функция которой состоит в распознавании стрессорных молекул и процессинге провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18 [4]. Доказана синергичная роль IL-18 и IL-12 в ответе Th1 посредством индукции IFN γ в псориазической бляшке [1]. IL-1 β является провоспалительным цитокином, который участвует в активации и регуляции воспаления, способствуя пролиферации нейтрофилов, дифференцировке наивных Т-хелперов в Т-хелперы 17, являющиеся доказанным ключевым звеном в патогенезе псориаза [5].

Целью нашей работы является изучение роли TLR9 и TLR9-опосредованной активации инфламмосного комплекса в пораженной и здоровой коже пациентов с тяжелым течением псориаза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 35 пациентов – 7 мужчин и 28 женщин (средний возраст 34 \pm 11), которые проходили обследование в Московском научно-практическом центре дерматовенерологии и косметологии филиал Коломенский (заведующий филиала – Маляренко Е. Н.). Критериями включения в группу являлись наличие у пациентов тяжелого течения псориаза, индекс PASI > 10 (Psoriasis area and severity index), длительность течения кожного процесса, составляющая более двух лет. Критерии исключения: наличие тяжелой соматической патологии, острых и хронических заболеваний. Забор биоптатов из пораженного очага и из участков здоровой кожи проводили под местной анестезией с помощью дерматологического пробойника [3]. Выделение РНК осуществляли с помощью «Набора для выделения РНК из клинического материала» (Интерлабсервис, Россия). Для постановки реакции обратной транскрипции использовали «Набор для проведения обратной транскрипции (ОТ)» (Синтол, Россия) в соответствии с набором производителя. Далее проводили ПЦР в реальном времени в присутствии SYBR Green (ДТ-96). Праймеры и реактивы для ПЦР реакции были синтезированы фирмой Синтол (Россия). Экспрессию целевых генов нормализовали на ген домашнего хозяйства – β -актин, оценивали по методу $\Delta\Delta C_t$ [3]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения «Statistica 6.1».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для сборки инфламмосы необходима ее первичная активация. Известно, что TLR-опосредованный сигналинг способен влиять на инициацию и экспрессию инфламмосного комплекса, поэтому на первом этапе исследования нами был изучен уровень экспрессии гена TLR9 в псориазическом очаге и в здоровой коже. Было выявлено, что в пораженной коже по сравнению со здоровой экспрессия гена TLR9 достоверно увеличена в 4,1 раза ($p=0,0098$). Исходя из того, что активация TLR может приводить к индукции сборки инфламмосы разных типов, нами была оценена экспрессия генов инфламмосного комплекса NLRP1, NLRP3. Обнаружено, что уровень экспрессии NLRP3 не отличался в образцах здоровой и пораженной кожи у пациентов с псориазом. Напротив, экспрессия гена NLRP1 в пораженных кератиноцитах превышала таковую в образцах здоровой кожи в 6 раз ($p=0,0067$). В результате активации инфламмосы, как известно, происходит процессинг и образование функционально зрелых молекул IL-1 β и IL-18. В связи с этим представлялось целесообразным оценить уровни экспрессии генов этих провоспалительных цитокинов. В результате исследования выявлена тенденция к увеличению уровня экспрессии гена IL-1 β в пораженной коже, однако, она оказалась статистически недостоверной. В то же время уровень экспрессии гена IL-18 в псориазическом очаге был повышен в 10,1 раза ($p=0,0078$). В работе [4] было показано, что NLRP1 обладает способностью рекрутировать каспазу-5, которая преимущественно процессирует IL-18, что может объяснить значительное увеличение его экспрессии. Исследование молекулярных механизмов развития воспаления при псориазическом поражении может дать представление о патогенезе заболевания, а также выявить новые мишени для эффективного применения таргетной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yun Liang, Mrinal K. Sarkar, Lam C Tsoi and Johann E. Gudjonsson. Psoriasis: A mixed autoimmune and autoinflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. 2017 Dec; 49: 1–8.
2. Lande R., Gregorio J., Facchinetti V., Chatterjee B., Wang Y. H., Homey B., Cao W., Wang Y. H., Su B., Nestle F. O., Zlotnik T., Mellman I., Schröder J. M., Liu Y. J., Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. // *Nature* 2007; 449: 7162: 564–569.

3. Ганковская Л. В., Свитич О. А., Хамаганова И. В., Гюльалиев Д. М. Изменение показателей врожденного иммунитета при очаговой склеродермии. Вестник Российского государственного медицинского университета – 2015. – № 4. – С. 20–23. [Gankovskaya L. V., Svitich O. A., Khamaganova I. V., Gyulaliev D. M. A change in innate immune factors expression in localized scleroderma // Bulletin of Russian State Medical University. – 2015. – № 4. – С. 20–23.]
4. Maria L. Salskov-Iversen, Claus Johansen, Knud Kragballe and Lars Iversen. Caspase-5 Expression Is Upregulated in Lesional Psoriatic Skin Journal of Investigative Dermatology; 2011; V-131.
5. Chung Y., Chang S. H., Martinez G. J., Yang X. O., Nurieva R., Kang H. S., Ma L., Watowich S. S., Jetten A. M., Tian Q., Dong C. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. Immunity; 2009; 30:576–587.

THE ROLE OF TLR9 AND COMPONENTS OF THE INFLAMMASOMA COMPLEX IN IMMUNOPATHOGENESIS OF PSORIASIS

© 2019 E. D. Merkusheva^{1*}, E. M. Khasanova¹, O. A. Switch¹,
N. V. Batkaeva², M. M. Gitinova², L. V. Gankovskaya¹

*E-mail: rina.karmin@outlook.com

¹Pirogov Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. **Accepted:** 29.03.2019

Psoriasis is an autoimmune disease in pathogenesis of which are involved autoinflammatory reaction too. An important role in the development of psoriatic inflammation is given to the activation of inflammasome. In this study, we investigate the expression of TLR9 genes, components of the inflammasome complex (NLRP1, NLRP3), and effector molecules IL-1 β and IL-18 in healthy and affected skin biotates in 35 patients with severe psoriasis was studied using PCR-RT. In the psoriatic focus was found increasing the level expression of TLR9 genes 4.1 fold, NLRP1–6 fold. Analysis of interleukin gene expression revealed a 10-fold increase in IL-18 gene expression in the psoriatic focus, while IL-1 β gene expression was comparable to its expression in healthy skin biotates.

Key words: psoriasis, TLR9, inflammasome, IL-1 β , IL-18, gene expression

Authors:

Merkushova E. D., ✉ assistant of Department of Immunology, Russian National N. Pirogov Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia. **E-mail:** rina.karmin@outlook.com;

Khasanova E. M., student of Medicobiologic Faculty, RNRMU, Moscow, Russia;

Svitich O. A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member Russian Academy of Sciences, Assistant Professor, RNRMU, Moscow, Russia;

Batkaeva N. M., PhD, Assistant Professor, Department of dermatovenerology and cosmetology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Gitinova M. M., assistant of Department of dermatovenerology and cosmetology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Gankovskaya L. V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, RNRMU, Moscow, Russia.