

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ CLAUDIN И OCCLUDIN В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

© Гаврилко И.А., Сарматина М.И.

Научный руководитель: к.б.н., старший преподаватель Клейменова Т.С., аспирант Искра Е.Л.

Кафедра медицинской биологии

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

Контактная информация: Гаврилко Иван Александрович — студент 1 курса педиатрического факультета.

E-mail: i.gaver@mail.ru

Ключевые слова: atopический дерматит, окклюдины, клаудины, плотные контакты

Актуальность исследования: atopический дерматит (АД) — наследственное, хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи [4]. Ключевым механизмом развития АД является нарушение формирования плотных контактов или их врожденный дефицит, особенно выраженный при наличии мутации в гене филлаггрина [1]. Плотные контакты — комплексы из трансмембранных протеинов, обеспечивающих адгезию кератиноцитов и создающие дополнительный барьер под роговым слоем эпидермиса. Окклюдины и клаудины — группы основных белков фибриллярных структур плотного контакта, главным образом локализующиеся в клеточной мембране. Окклюдин представляет собой интегральный белок, относящийся к семейству ELL/occludin. Его структура способствует индуцированной цитокинами регуляции парacellularного барьера проницаемости с плотным соединением. Считается, что окклюдин предотвращает транспортировку макромолекул через плотное соединение. Клаудины функционируют как основные составляющие комплексов плотных соединений, которые регулируют проницаемость эпителия. В то время как некоторые члены семейства клаудинов играют важную роль в формировании непроницаемых барьеров, другие опосредуют проницаемость для ионов и малых молекул [2]. Для разбора механизма развития АД и исследования структуры плотных контактов, пораженных им, необходимо непосредственное изучение окклюдинов и клаудинов и уровень их экспрессии в культурах [3].

Цель исследования: верифицировать экспрессию белков в клеточных культурах фибробластов норме и при АД.

Материалы и методы: исследование проводилось на клеточной культуре АД и культуре фибробластов в качестве группы сравнения. Иммуноцитохимическое исследование было проведено с первичными антителами к маркерам Anti-Claudin Antibody (1:500, rabbit, abcam) и Anti-Occludin Antibody (1:1000, rabbit, abcam). В качестве вторичных антител использовали Alexa Fluor 448 (1:1000, abcam); ядра докрашивали Hoechst (Vector). Для изучения объектов получали спектры флуоресценции и определяли количественные и качественные характеристики на конфокальном микроскопе ZEISS LSM 980. Уровень экспрессии антител определяли с помощью программы ImageJ в качестве относительной площади экспрессии.

Результаты: экспрессия белка клаудина и окклюдина была снижена в клеточной культуре фибробластов с atopическим дерматитом по сравнению с группой контроля от 0,3 до 0,7 раз, но небольшая выборка не позволяет подтвердить данные статистически.

Вывод: По литературным данным [3] уровень экспрессии основных белков фибриллярных структур плотного контакта в культуре АД заметно снижен в сравнении с контрольной группой. Сопоставление уровня экспрессии белков плотных контактов в нормальной культуре фибробластов и культуре с АД под воздействием различных маркеров поможет глубже изучить патогенез данного заболевания. Полученные результаты позволяют предположить значительную роль белков клаудина и окклюдина в патогенезе АД, в дальнейшем планируется продолжить исследование и расширить выборку.

Литература

1. И. А. Горланов, Л. М. Леина, И. Р. Милявская. Atopический дерматит: учебное пособие. СПб, СПбГПМУ, 2019. — 44 с.
2. Chiba H, Osanai M, Murata M, Kojima T, Sawada N. Transmembrane proteins of tight junctions. Biochim Biophys Acta. 2008: pp. 588–600.

3. De Benedetto, N.M. Rafaels, L.Y. McGirt, A.I. Ivanov, S.N. Georas, C. Cheadle, et al. Tight junction defects in patients with atopic dermatitis J Allergy Clin Immunol, 2011, pp. 773–786.
4. Рисс, М. Е. Перспективы лечения атопического дерматита генно инженерными препаратами / М. Е. Рисс, А. П. Райкова // Forcipe. — 2021. — Т. 4. — № S1. — С. 287. — EDN BCZZYN.