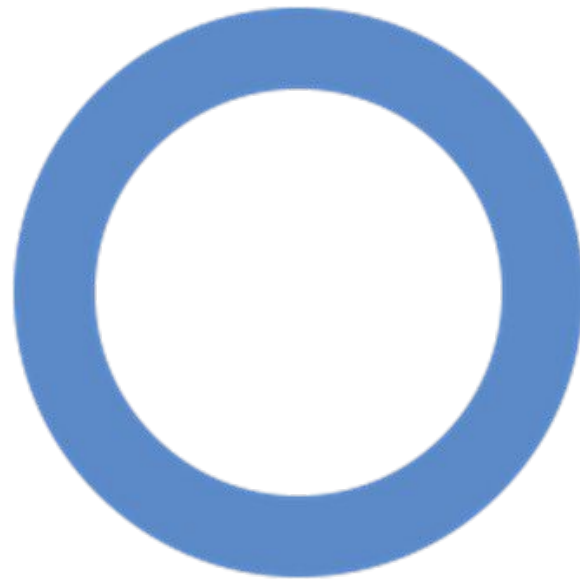


# Метаболические и воспалительные пути в патогенезе диабета 2 типа



Дариенко Кристина  
СТУДЕНТКА 6 КУРСА МБФ РНИМУ ИМ.Н.И.  
ПИРОВОА

# Содержание

- Понятие диабета 2 типа (T2D)
- Сборка инфламмосомы
- Активация каспазы-1
- Инфламмосома-зависимые реакции
- Виды инфламмосом

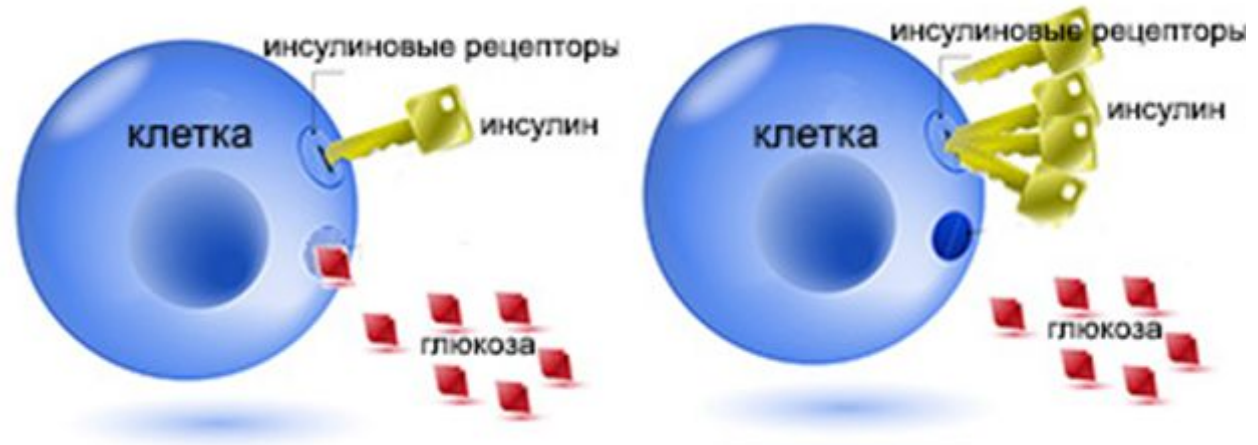
# Понятие диабета 2 типа (T2D)

**Сахарный диабет 2-го типа** (инсулиннезависимый диабет) — метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, развивающейся в результате нарушения взаимодействия инсулина с клетками тканей.

**T2D** - Type 2 diabetes

# Понятие диабета 2 типа (T2D)

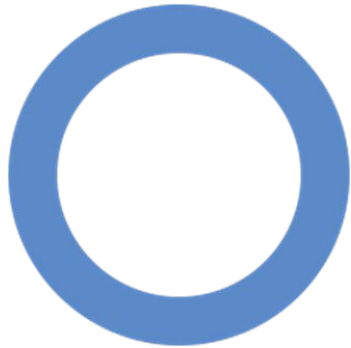
- T2D является результатом комбинации резистентности к инсулину и относительного дефицита производства инсулина



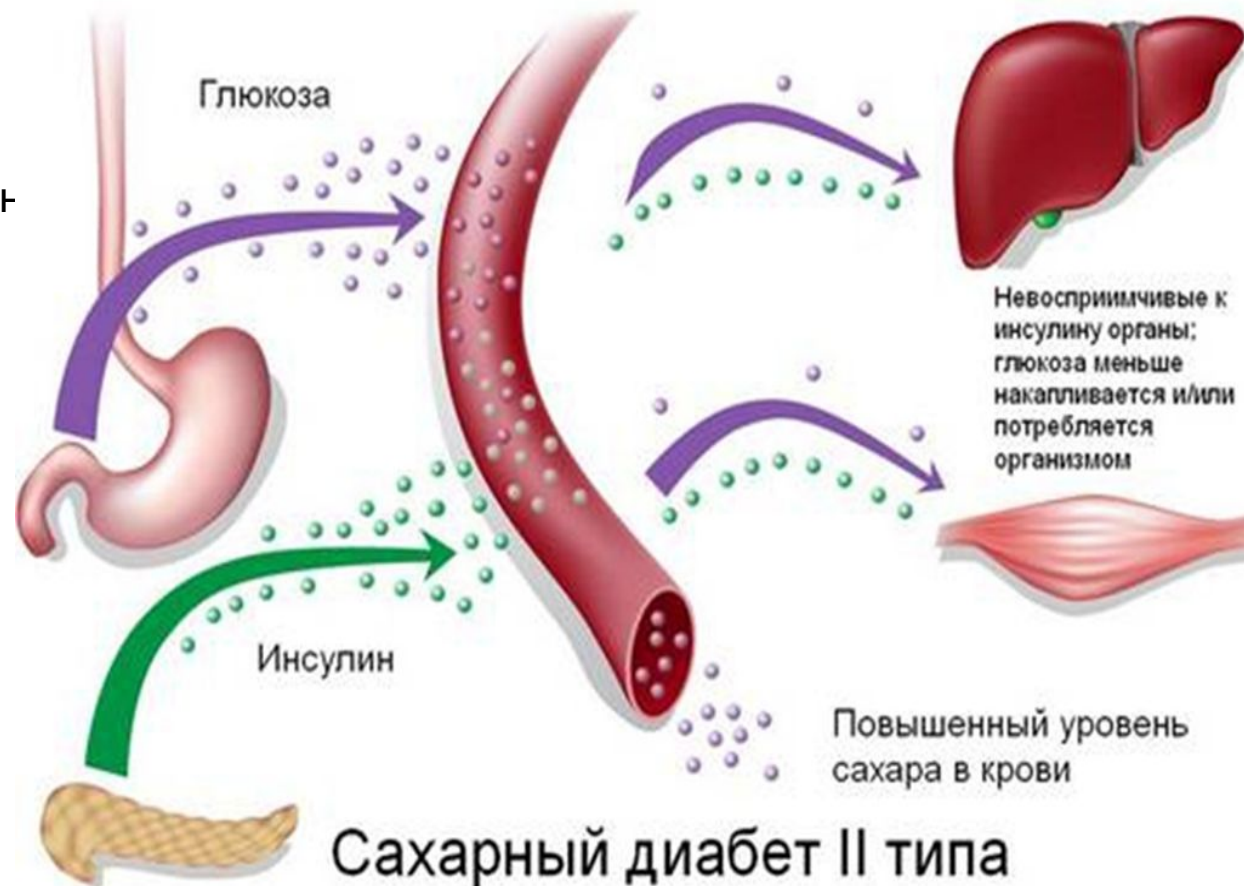
здоровый  
организм

диабет 2 типа

# Понятие диабета 2 типа (T2D)



Символ, утверждён



# Понятие диабета 2 типа (T2D)

Есть данные, показывающие, что воспаление также является важным механизмом, способствующим T2D

# Понятие диабета 2 типа (T2D)

- Существует связь между инфекциями и ухудшением метаболизма у пациентов
- Различные типы инфекции также могут повлиять на контроль уровня глюкозы в крови и метаболизм всего тела

# Строение инфламмосомы

В 1993 году было показано, что  $TNF\alpha$  вырабатывается в жировой ткани тучных грызунов, опосредуя часть эффектов диетических жиров для индуцирование инсулинорезистентности

$TNF\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$



**Диабет  
2-го типа:**

**у людей  
старше  
40 лет с  
избыточным  
весом**



# Строение инфламмосомы

- **NOD**-подобный рецептор (**NLR**) — класс цитоплазматических белков. Играют важную роль во врожденном иммунитете.
- Подсемейство NOD (NLRC) — рецепторы, содержащие CARD-домен (домен, рекрутирующий каспазу)
- Молекула включает два CARD-домена, NACHT-домен, 9 LRR (лейцин-обогащённых)-повторов и участок связывания АТФ.



# Строение инфламмосомы. ASC.

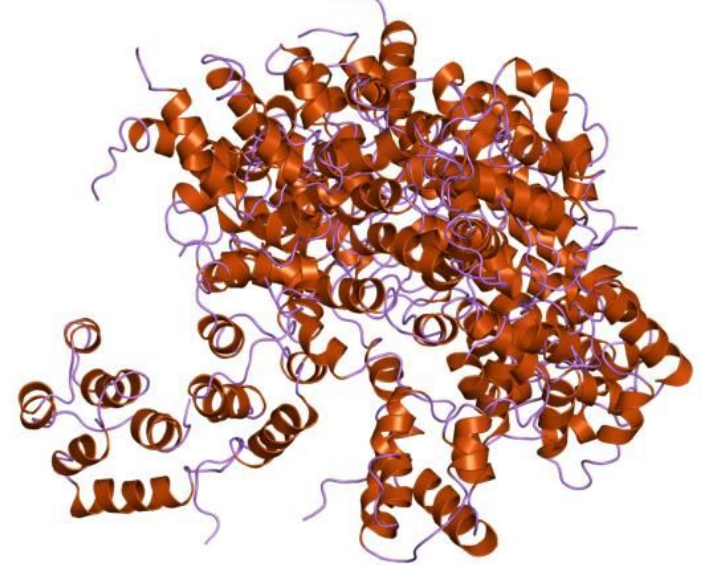
**PYCARD**, или **ASC** (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*) — цитозольный адаптерный [белок](#).

**ASC** включает два домена:

- PYD домен (пириновый) – связан с основанием инфламмосомы
- CARD домен – активирующий и усиливающий каспазу



# Строение инфламماسомы. CARD.



- **CARD (*Caspase activation and recruitment domains*)** – домены, опосредующие образование более крупных белковых комплексов посредством прямого взаимодействия между отдельными CARD-содержащими белками.



# Строение инфламмосомы

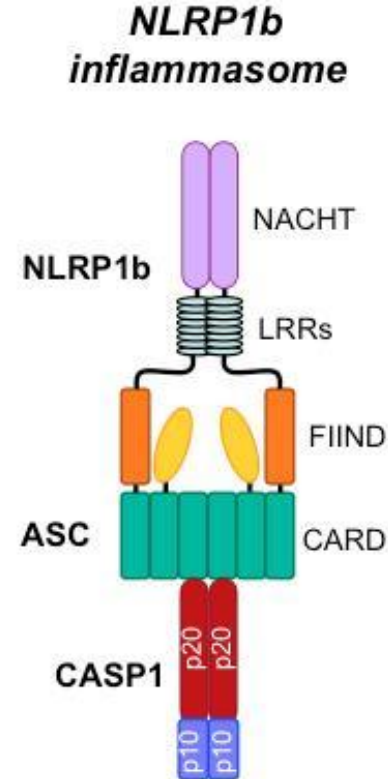
- Каспаза 1 (CASP1), также интерлейкин-1 превращающий фермент — консервативный фермент, который путём протеолиза расщепляет другие белки, такие как предшественники воспалительных цитокинов — интерлейкина 1β и интерлейкина 18.
- Каспаза 1 играет центральную роль в клеточном иммунитете.
- Каспаза 1 образуется в виде прокаспазы 1, которая затем может быть расщеплена на субъединицы 20 кДа (p20) и 10 кДа (p10), становясь частью активного фермента.



# Строение инфламмасомы

Активная каспаза включает:

- Каталитический домен с активным сайтом, который охватывает как p20, так и p10 субъединицы
- Некаталитический домен активации и рекрутирования каспазы ([CARD](#)).

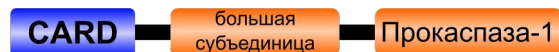


# Строение инфламмосомы

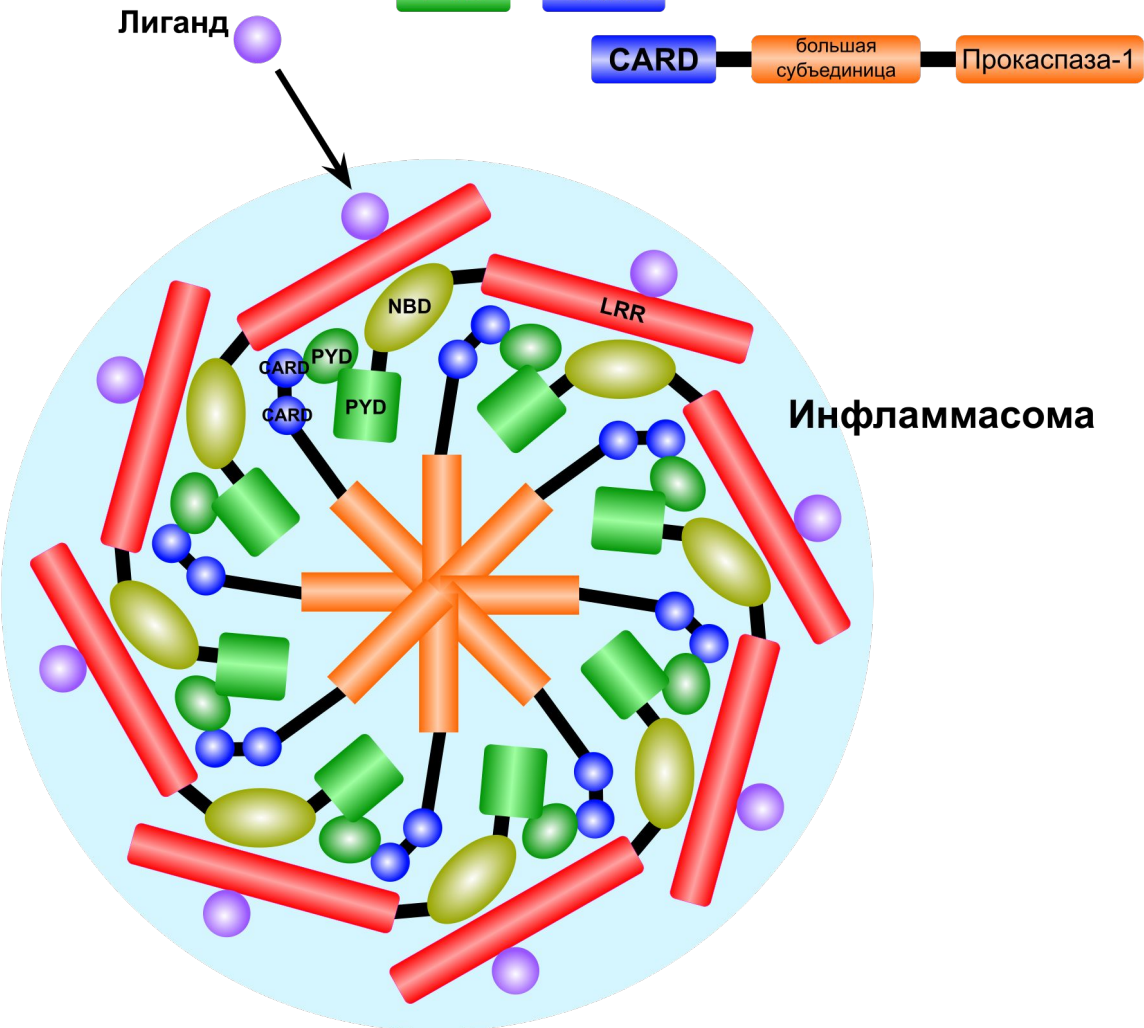
- **CASP1** взаимодействует с другими белками, содержащими CARD-домены, такими, как апоптоз-ассоциированный Speck-подобный белок, содержащий CARD (ASC) и Nod-подобный рецептор (NLR) NLRC4, посредством взаимодействий доменов CARD-CARD.

# Строение инфламмосомы

Субъединица  
инфламмосомы NLRP3

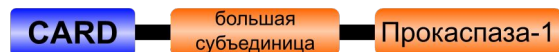


Лиганд

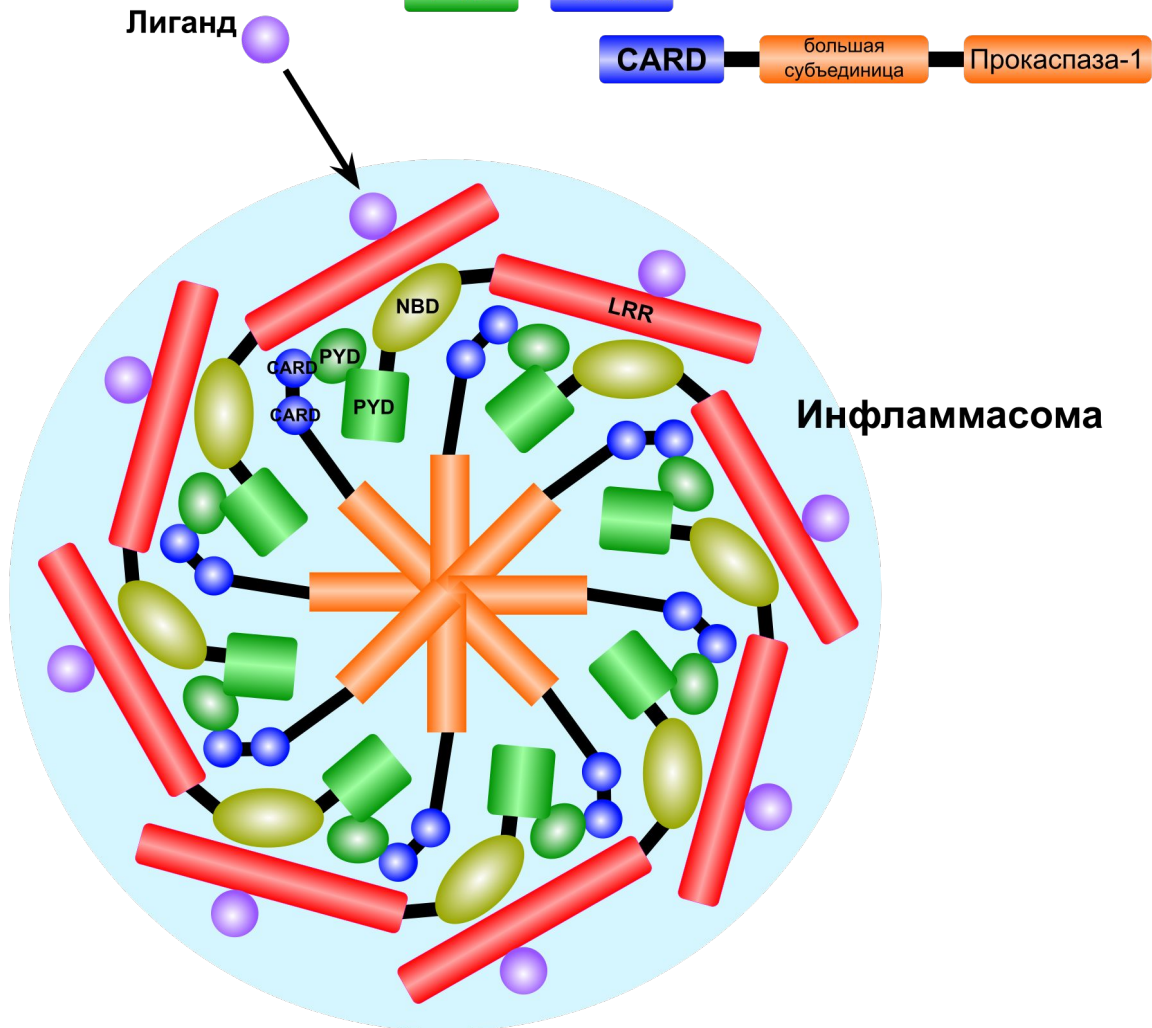


# Строение инфламмосомы

Субъединица  
инфламмосомы NLRP3



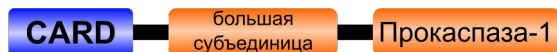
Лиганд



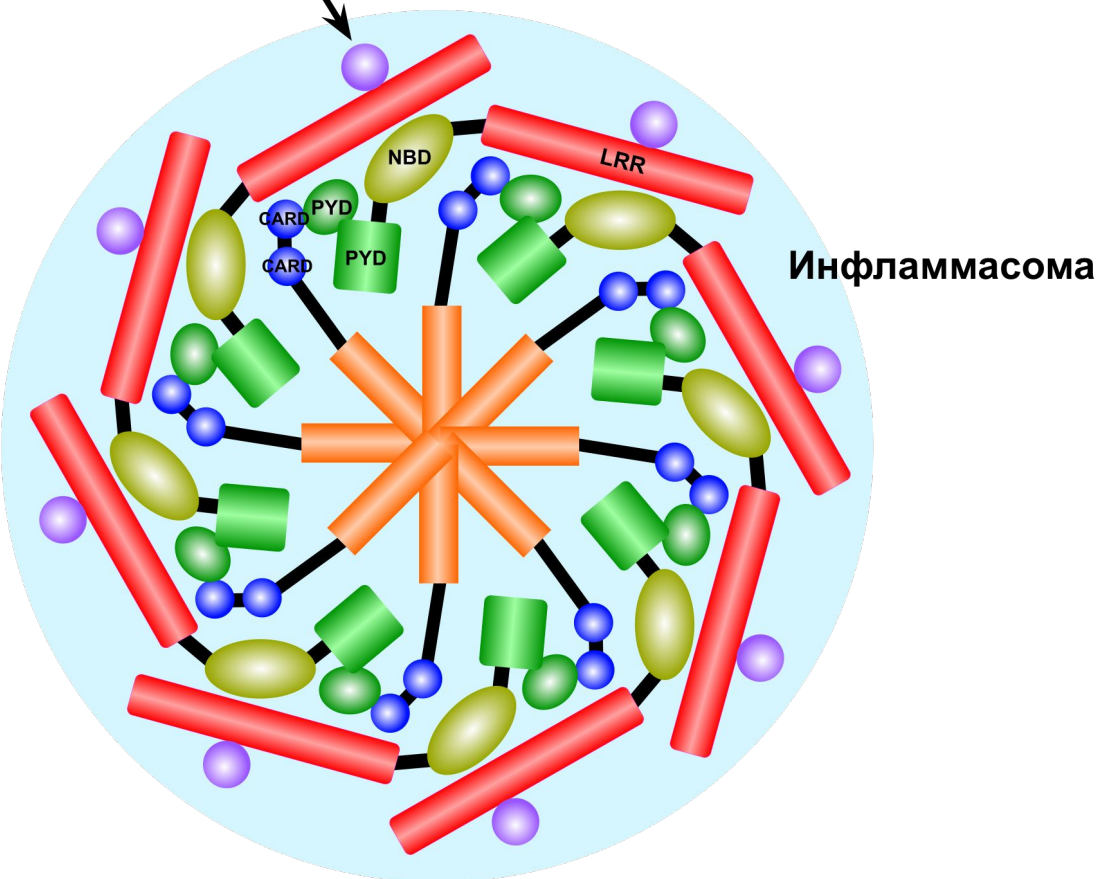


# Строение инфламмосомы

Субъединица  
инфламмосомы NLRP3

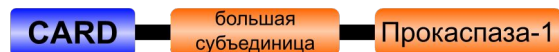


Лиганд

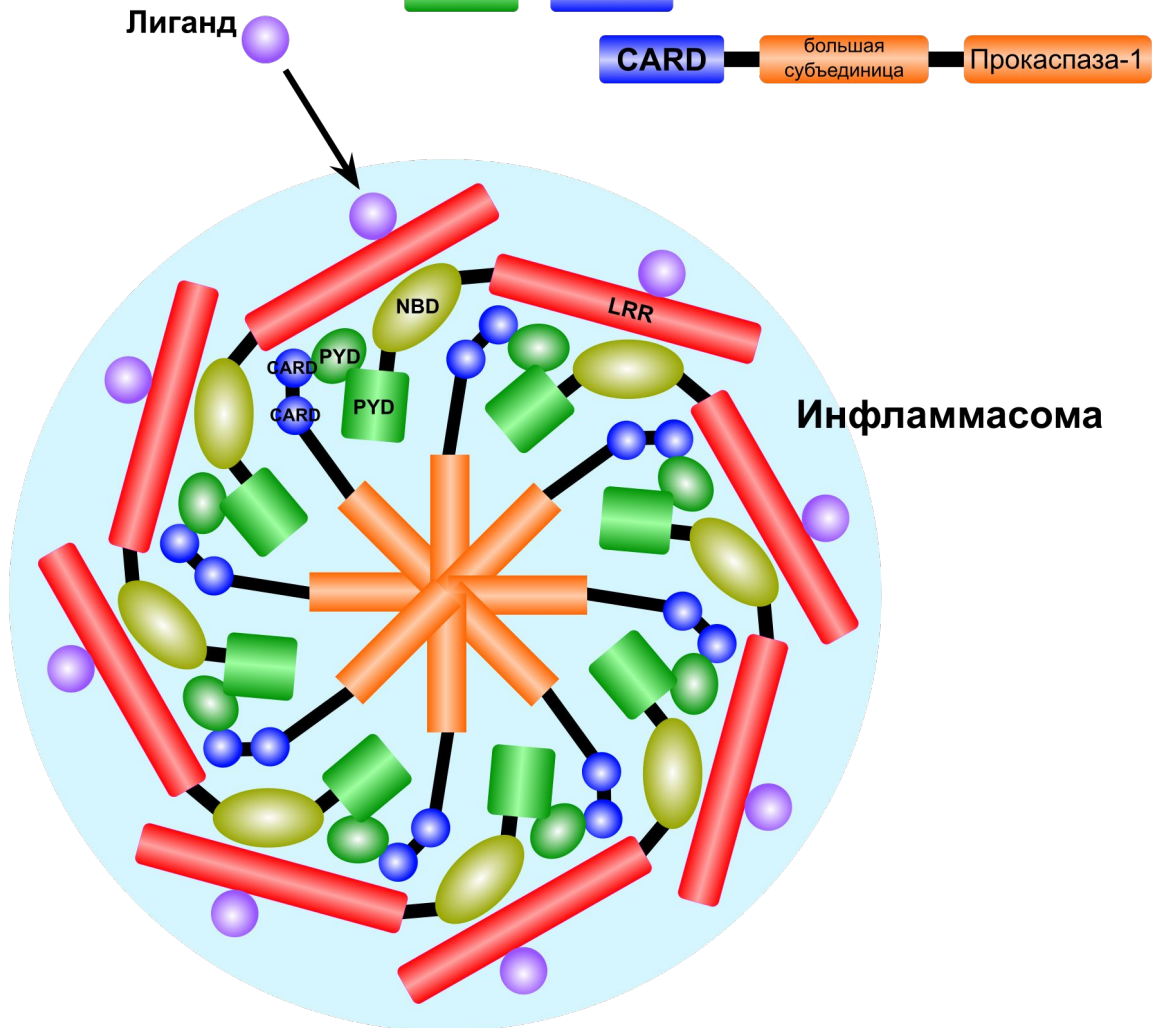


# Строение инфламмосомы

Субъединица  
инфламмосомы NLRP3



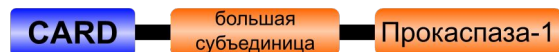
Лиганд



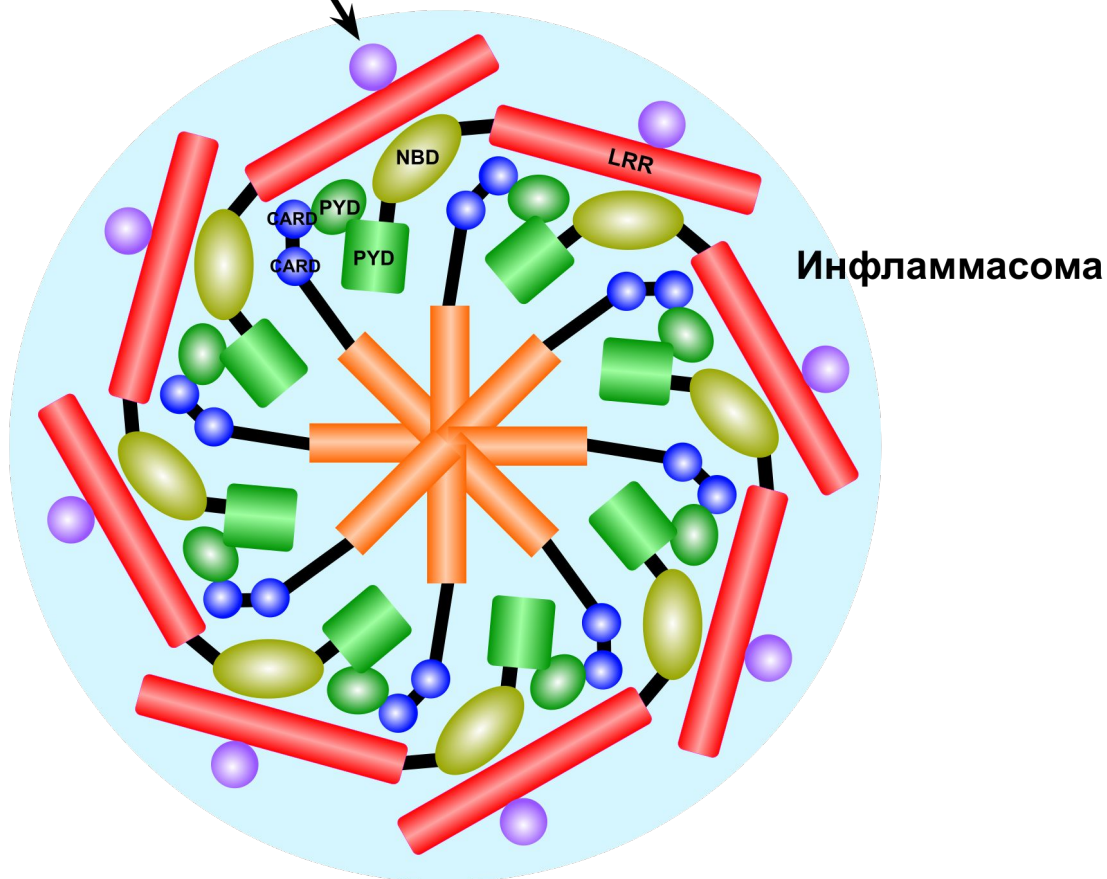
- рецепторы AIM-2 (отсутствующие в меланоме)

# Строение инфламмосомы

Субъединица  
инфламмосомы NLRP3



Лиганд



# Содержание

- Понятие, строение инфламмосомы
- Сборка инфламмосомы
- Активация каспазы-1
- Инфламмосома-зависимые реакции
- Виды инфламмосом

# Сборка инфламмосомы

- Активация CASP1 посредством NLRP (NOD-like receptor protein) в целом вызвана стимуляцией PAMP и DAMP.

# Сборка инфламмосомы. Молекулярные паттерны

PAMP	DAMP
Бактериальные ЛПС	АТФ
Вирусные, грибковые инфекции	Мочевая кислота
	БТШ

# Сборка инфламмосомы.

- Сборка инициируется при связывании PAMP или DAMP с NLR или ALR (AIM2-like receptors)
- AIM2 - absent in melanoma 2



# Содержание

- Понятие, строение инфламмосомы
- Сборка инфламмосомы
- Активация каспазы-1
- Инфламмосома-зависимые реакции
- Виды инфламмосом

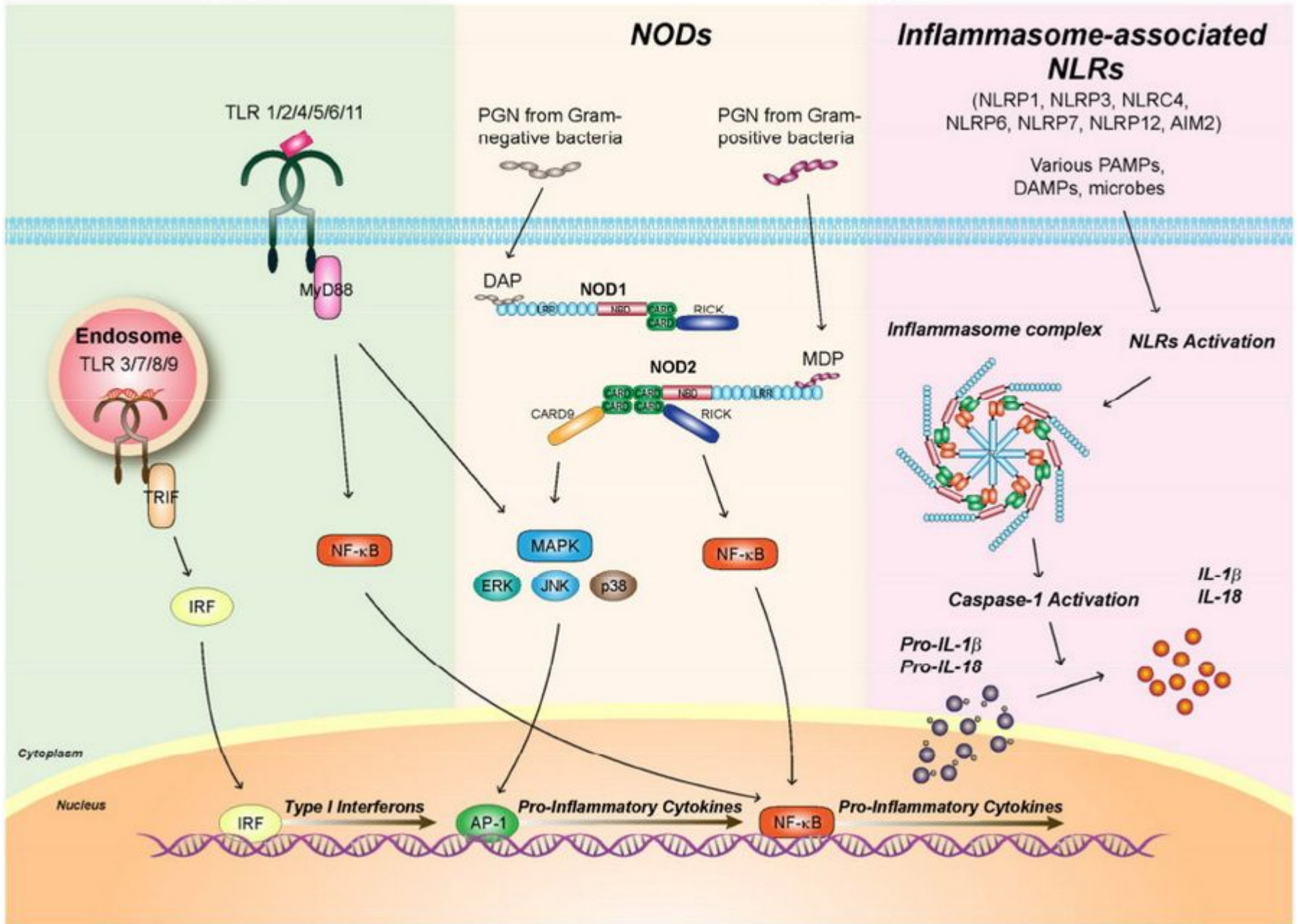
# Активация каспазы-1

Для высвобождения IL-1 $\beta$  из макрофагов необходимы 2 сигнала:

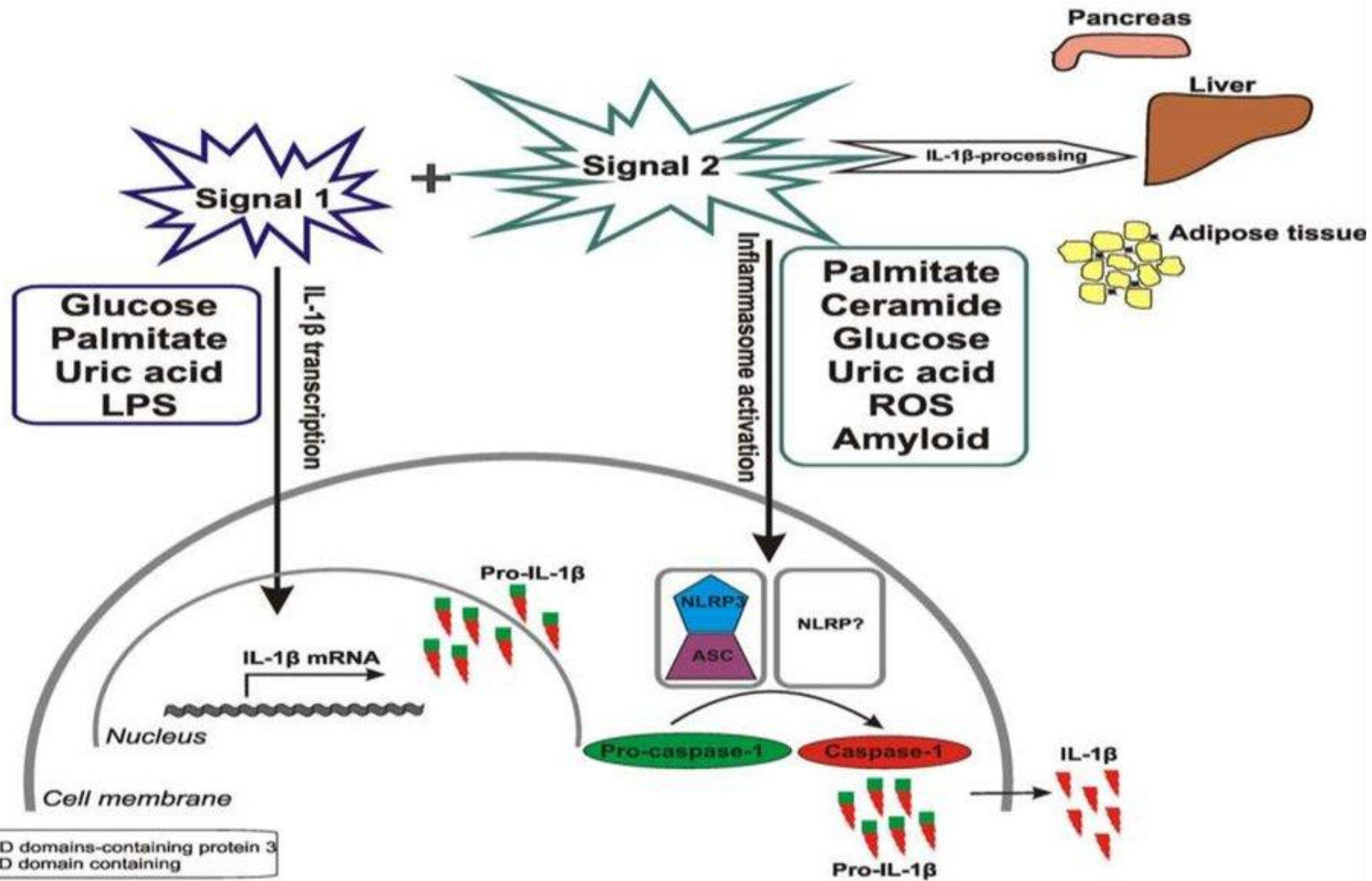
- Активация TLR, приводящая к транскрипции и трансляции про – IL-1 $\beta$
- NLR – индуцирующие процессинг и высвобождение активного IL-1 $\beta$  через CASP1 – зависимый механизм.

# TLRs

# NLRs



# Активация инфламмосомы (из Stienstra et al., 2012)



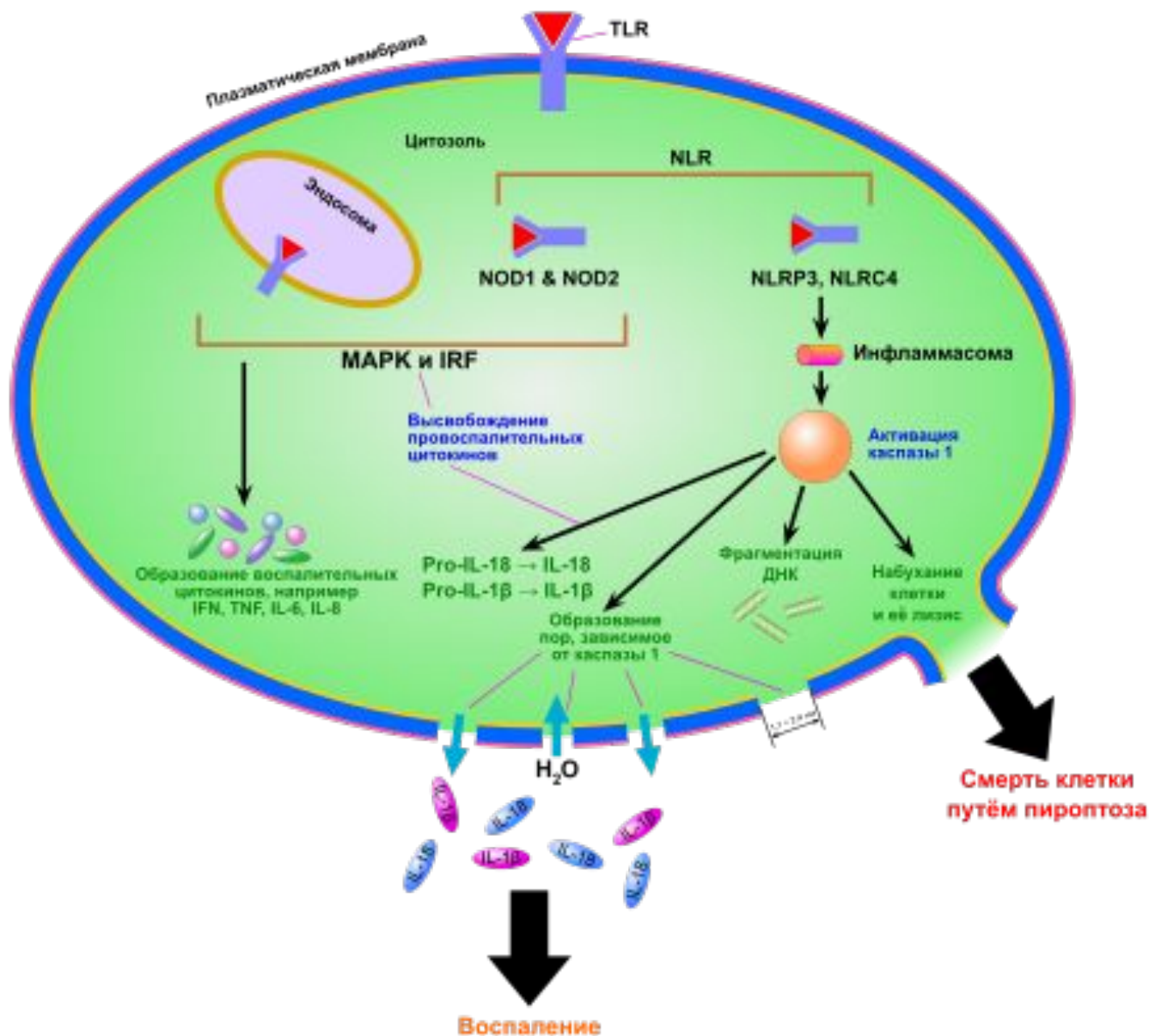
# Активация каспазы-1

- Активированная каспаза 1 протеолитически расщепляет про-IL-1 $\beta$  и про-IL-18 в их активные формы — IL-1 $\beta$  и IL-18.
- Активные цитокины приводят к воспалительному ответу

# Содержание

- Понятие, строение инфламмосомы
- Сборка инфламмосомы
- Активация каспазы-1
- Инфламмосома-зависимые реакции
- Виды инфламмосом

# Инфламмасома-зависимые реакции

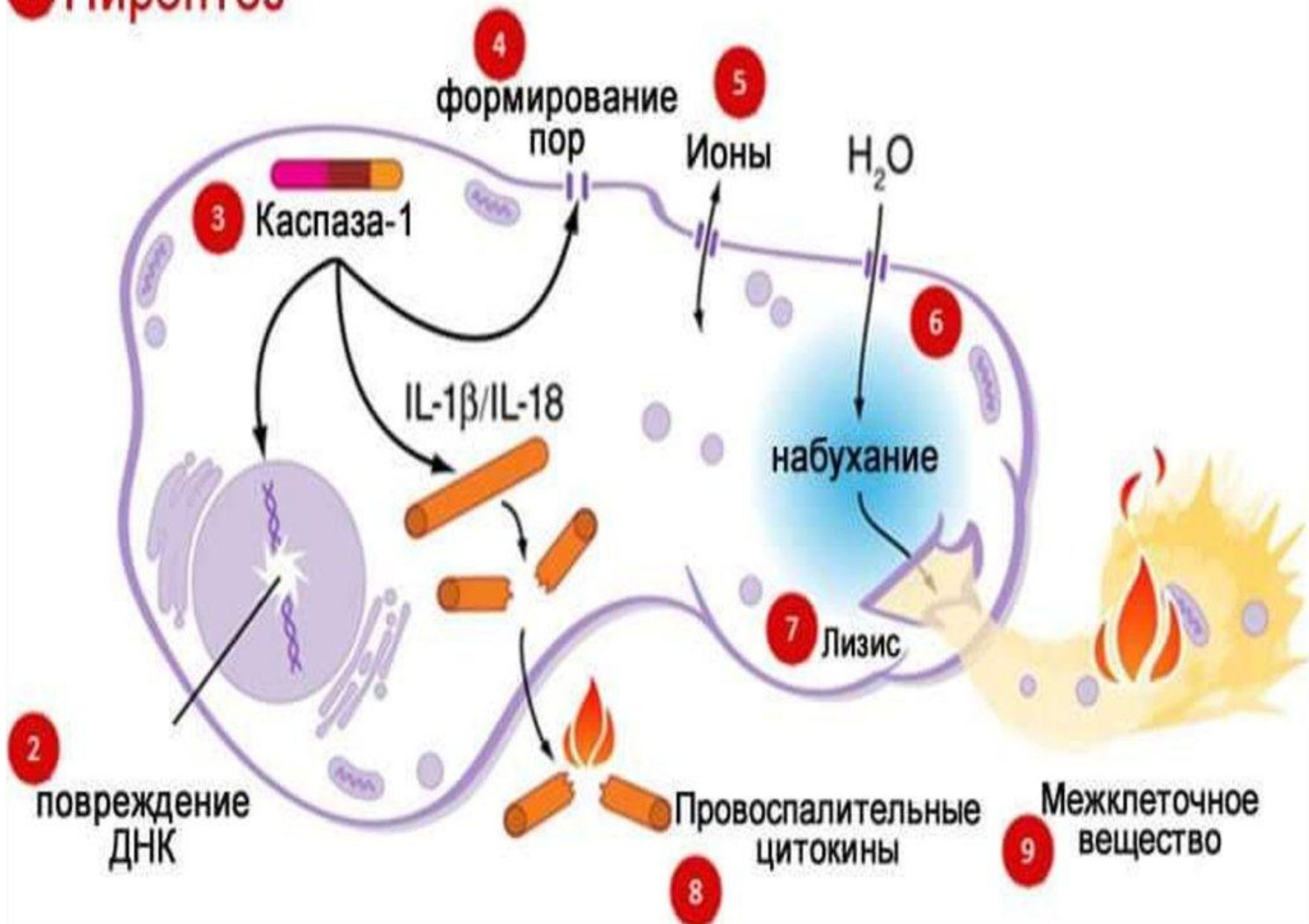


# Инфламмасома-зависимые реакции

- Воспаление
- Пироптоз
- Фрагментация ДНК



# 1 Пироптоз



# Инфламмасома-зависимые реакции.

## Пироптоз

- Пиропто́з - вид программируемой некротической гибели клетки, при котором в результате активации каспазы-1 нарушается целостность плазматической мембраны и идет высвобождение наружу содержимого клетки.

# Инфламмасома-зависимые реакции. Особенности пироптоза

Каспазы активирует не аутопротеолитический процессинг, а непосредственное участие особого комплекса — инфламмасомы, содержащей домен CARD.

NOD1



NOD2



# Инфламмасома-зависимые реакции.

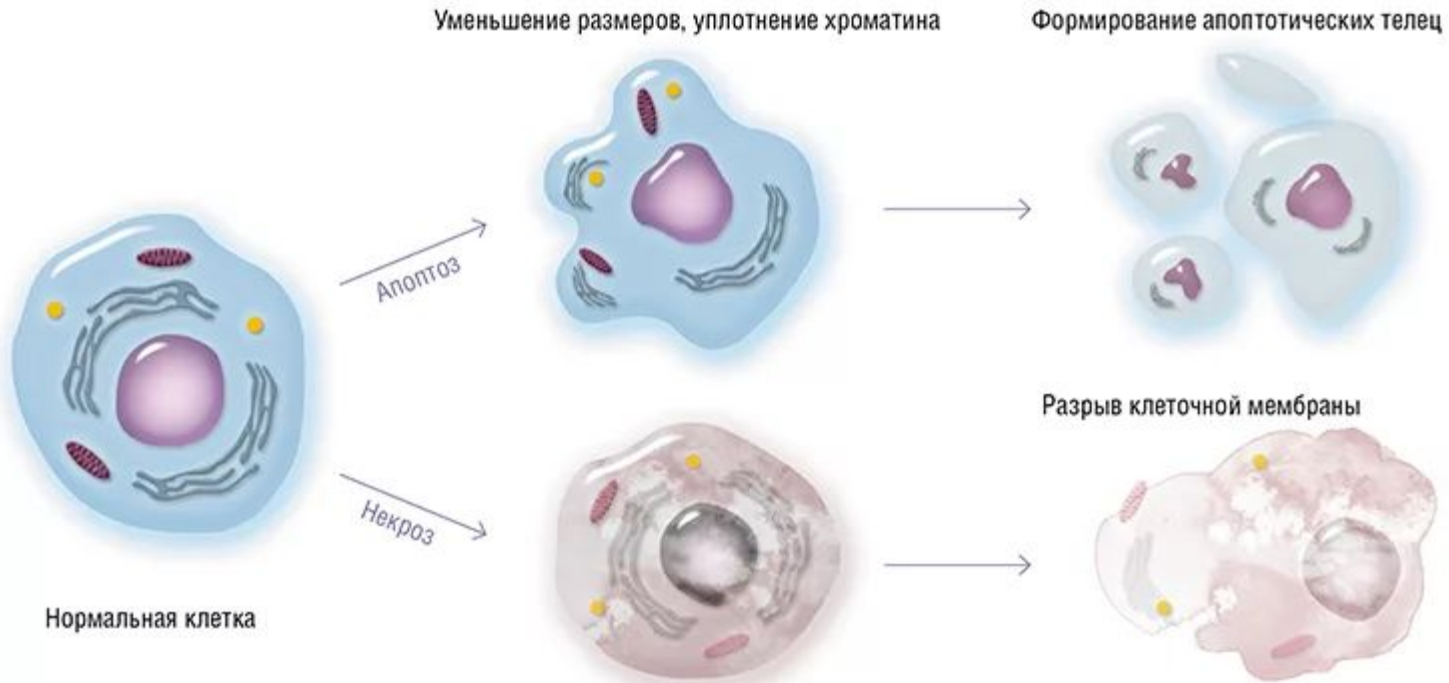
## Особенности пироптоза

Активация воспалительных каспаз приводит к образованию пор в плазматической мембране, и клетка при этом становится проницаемой для красителей с малой молекулярной массой, например для 7-аминоактиномицина D (7-AAD)

# Инфламмасома-зависимые реакции.

## Особенности пироптоза

- При апоптозе, наоборот, клеточная мембрана остаётся интактной и клетка распадается на апоптотические тельца, которые не окрашиваются 7-AAD

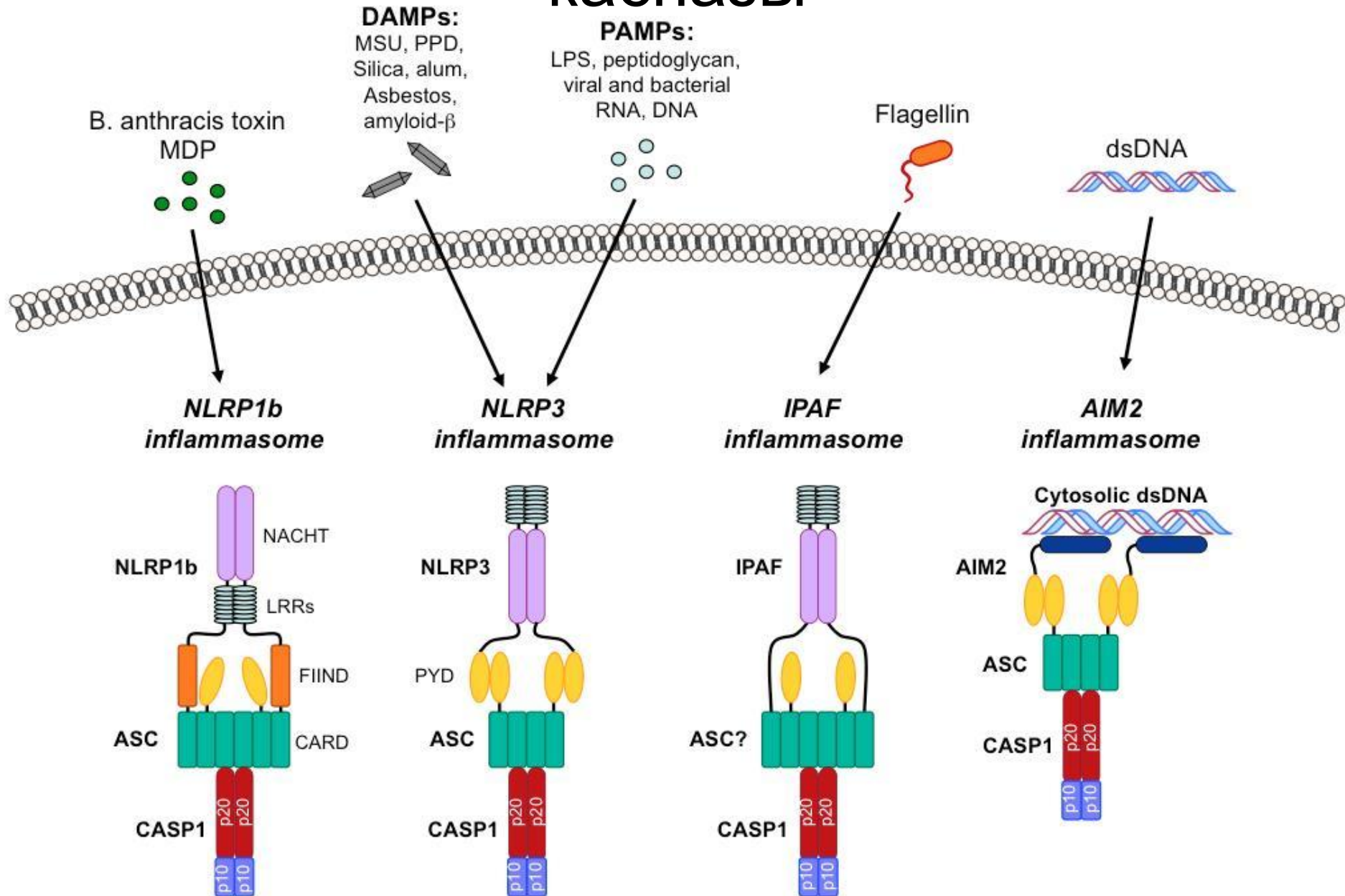


# Содержание

- Понятие, строение инфламмосомы
- Сборка инфламмосомы
- Активация каспазы-1
- Инфламмосома-зависимые реакции
- Виды инфламмосом

# Различные стимулы-различные

## каспазы





# Экспрессия инфламмасом в тканях

Таблица 1. Экспрессия инфламмасом в тканях человека [40]

Тип инфламмасомы	Ткань
<i>Первая линия (полная готовность экспрессии всех компонентов инфламмасомы)</i>	
NLRP1-инфламмасома (NLRP1, ASC, каспаза-1 и каспаза-5)	Мозг, плацента
NLRP3-инфламмасома (NLRP3, ASC и каспаза-1, CARDINAL )	Кровь, мозг
NLRC4/IPAF-инфламмасома (NLRC4/IPAF, NAIP, ASC, каспаза-1)	Кровь, тимус
<i>Вторая линия (неполная готовность экспрессии всех компонентов инфламмасомы, отсутствие одного компонента)</i>	
NLRP1-инфламмасома	Кровь, поджелудочная железа, плацента, трахея
NLRP3-инфламмасома	Сосуды, лимфатические узлы, поджелудочная железа, плацента, трахея, тимус
NLRC4/IPAF-инфламмасома	Мозг, лимфатические узлы, поджелудочная железа, плацента, селезенка
<i>Третья линия (для функционирования инфламмасомы необходим стимул экспрессии для двух ее компонентов)</i>	
NLRP1-инфламмасома	Костный мозг, сосуды, сердце, селезенка, тимус
NLRP3-инфламмасома	Костный мозг, сердце, селезенка, трахея
NLRC4/IPAF-инфламмасома	Костный мозг, сосуды, сердце, плацента, трахея

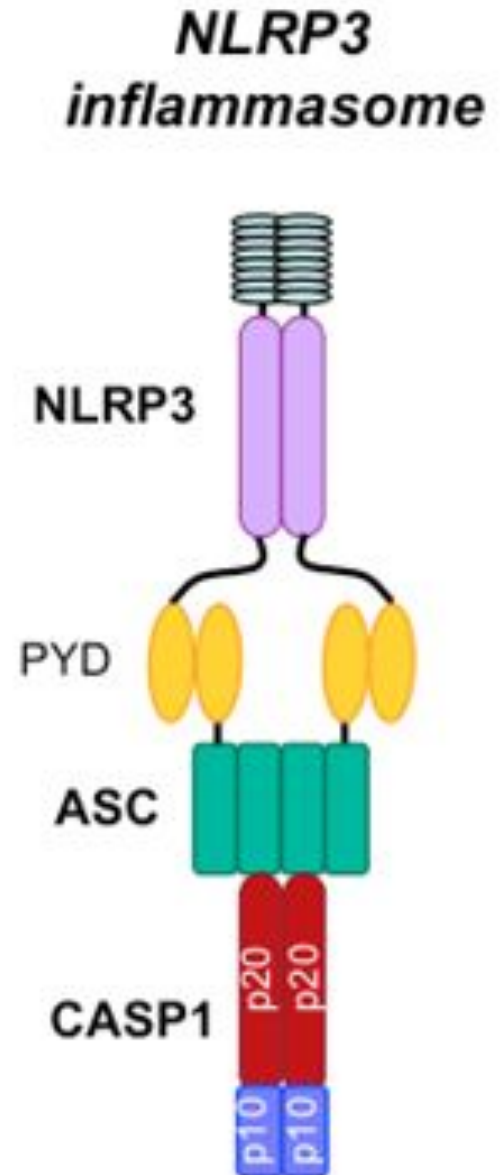


# NLRP3 инфламмасомы

- **NLRP3**, или **криопирин** (англ. cryopyrin) — цитозольный белок, Nod-подобный рецептор семейства NALP, основной компонент одноимённого типа инфламмасом (NLRP3-инфламмасом)
- Известными лигандами этого рецептора являются бактериальная и вирусная РНК, кристаллы мочевой кислоты и др.

# NLRP3 инфламмасомы

- Сигналинг:
- Активация TLR, NOD2 или TNFR, и NF-κB-опосредованная экспрессия NLRP3
- PAMP или DAMP активирует NLRP3 для запуска сборки инфламмасомы, высвобождения IL-1 и IL-18 и пироптоза



# NLRP3 инфламмасомы

- Вероятнее всего, активатором NLRP3, является снижение концентрации внутриклеточного калия, которое отвечает за активацию воспаления NLRP3.
- Если это так, то предполагают, что способ активации NLRP3 аналогичен инициации образования апоптосомы, так как образование этого комплекса ингибируется увеличением концентрации внутриклеточного калия.

# NLRP3 инфламмосомы

- Фармакологическое ингибирование каспазы-8 останавливало воспаление, индуцируемое NLRP3.
- Это явилось доказательством того, что каспаза-8 является компонентом NLRP3-воспаления.
- Генетические исследования показали, что мутации в гене NLRP3 связаны с развитием группы аутовоспалительных состояний, известных как ассоциированные с криопирином синдромы (CAPS)

- Пациенты с CAPS производят увеличенное количество IL-1 $\beta$  по сравнению со здоровыми людьми
- Исследования на мышах показали, что связанные с CAPS мутации NLRP3, каспазы-1, IL-1 $\beta$  и IL-18 в совокупности вносят свой вклад в болезнь
- Есть данные о роли воспаления-NLRP3 при подагре, диабете типа 2, ожирении, атеросклерозе, ревматоидном артрите, неалкогольном жировом заболевании печени, болезни костей, воспалительных заболеваниях кишечника, колоректальном раке, болезни Альцгеймера и старении.

# NLRP1 инфламмасомы

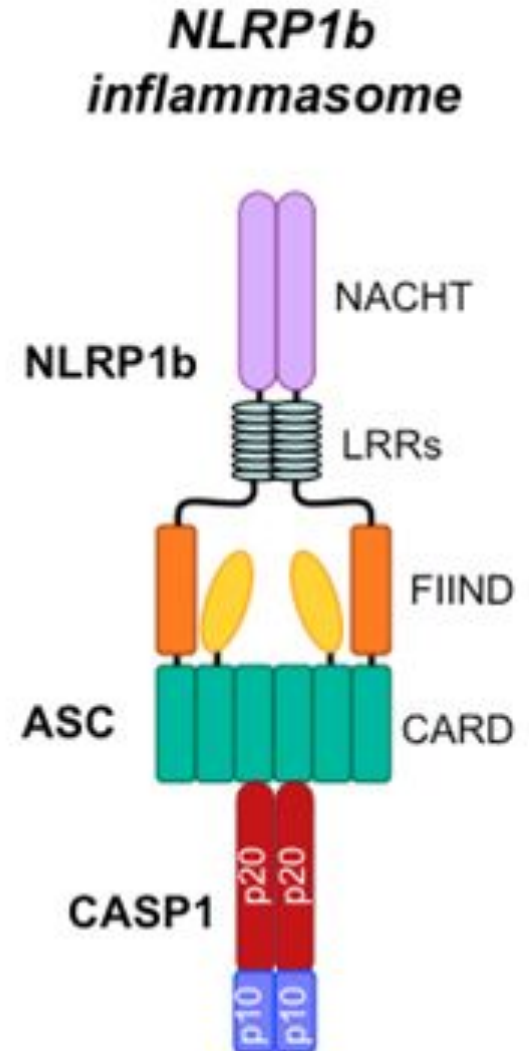
- **NLRP1** — цитозольный белок, Nod-подобный рецептор подсемейства NALP.
- Как компонент NLRP1-инфламмасомы активирует провоспалительную каспазу 1, что приводит к внутриклеточному процессингу, образованию зрелой активной формы и высвобождению интерлейкинов 1 бета и 18.



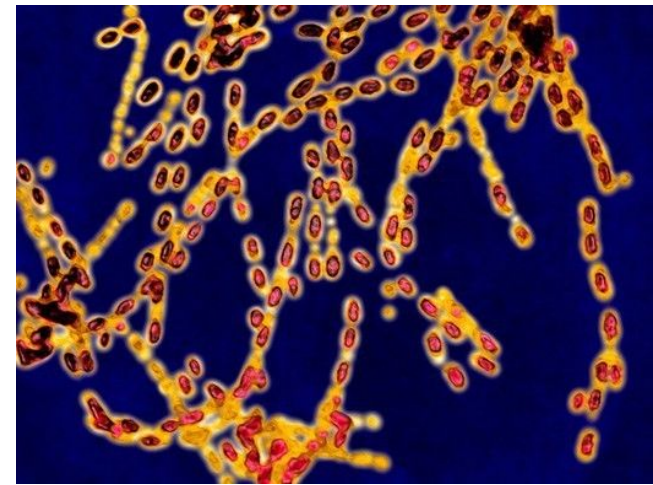
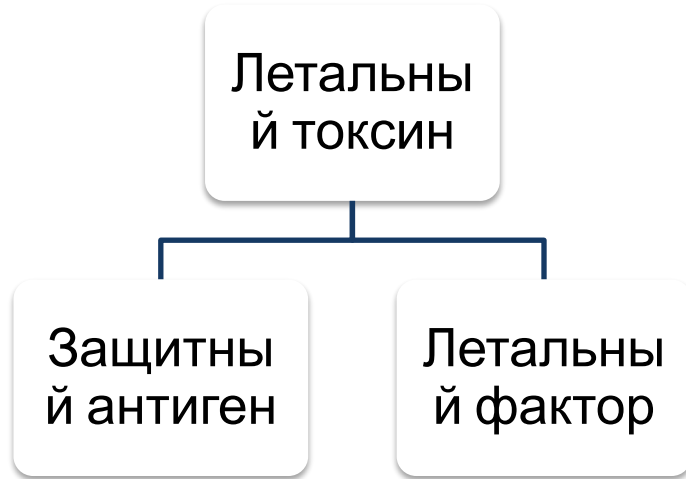
# Строение NLRP1 инфламмосомы

Белок NLRP1 человека содержит:

- N-концевой пириновый домен (PYD)
- NACHT(нуклеотидсвязывающий домен)
- LRR (богатый лейцином домен)
- FIIND-домен ('function to find')
- CARD-домен



# NLRP1 инфламмасомы



Bacillus anthracis

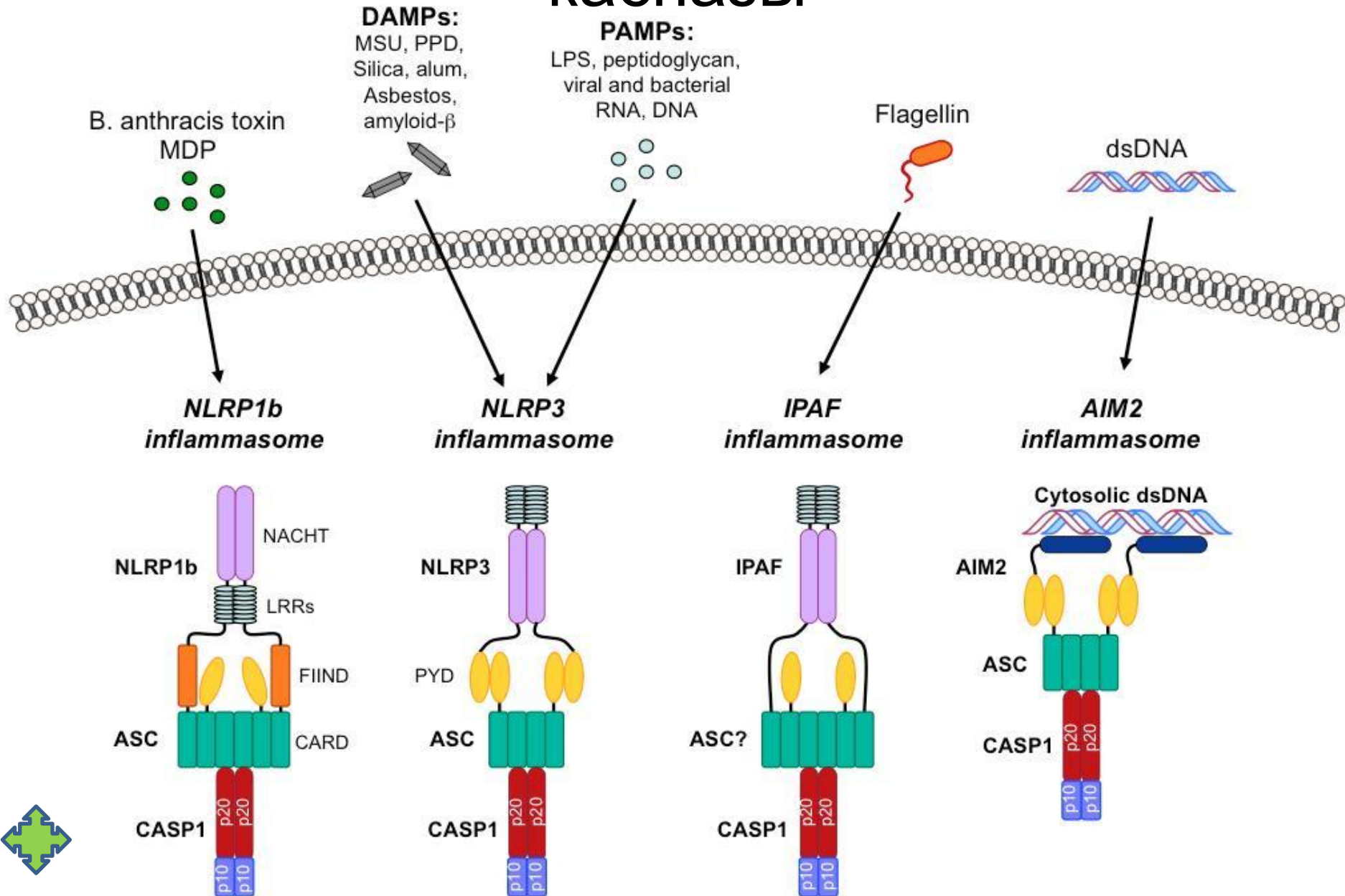
- Защитный антиген генерирует поры на мембране клетки-хозяина, через которую летальный фактор входит в клетку.
- Исследования показали, что смертельный фактор расщепляет мышинный NLRP1b и крысиный NLRP1, чтобы индуцировать активацию воспаления





# Различные стимулы-различные

## каспазы



# NLRP1 инфламмасомы

- Как восприимчивые, так и устойчивые формы мышиноного NLRP1b расщепляются летальным фактором, но только макрофаги, содержащие восприимчивую форму NLRP1b, приводят к активации каспазы-1 и пироптоза

# NLRP1 инфламмосомы

- В макрофагах мыши опосредованное NLRP1b продуцирование IL-1 в ответ на летальный токсин сибирской язвы происходит независимо от ASC-зависимого протеолиза каспазы-1, т.к. CARD в составе домена FIIND NLRP1 могут непосредственно взаимодействовать с CARD прокаспазы-1.

# NLRP1 инфламмасомы

- Мыши, имеющие восприимчивый вариант NLRP1b, реагирующий на летальный токсин, более защищены от инфекции *B. anthracis* по сравнению с мышами, содержащими резистентный вариант NLRP1b

# NLRP1 инфламмасомы

- Мутация □ гиперактивация мышиноного NLRP1a (замещение глутамина на пролин) в области связывания NACHT и LRR-домена □ летальное системное воспаление
- В том же случае, но с дефицитом CASP1 или IL-1, мыши имели резистентность к заболеваниям, вызванным гиперактивацией NLRP1a (Витилиго, болезнь Аддисона)

# AIM2-инфламмасомы

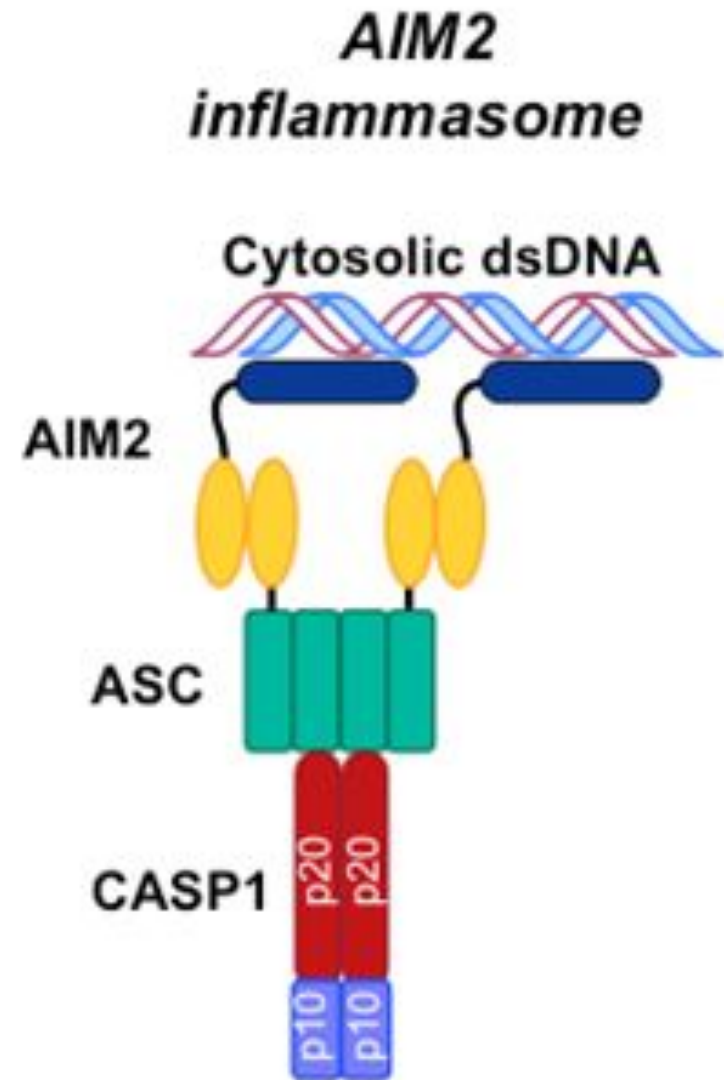
- AIM2-инфламмасомы отличаются от NLR-инфламмасом по основному распознающему белку.
- Они называются также ДНК-инфламмасомы, так как способны распознавать инородную ДНК за счёт HIN200 домена, который связывает ДНК, и PYD домена, который рекрутирует адаптерный белок ASC при формировании инфламмасомы.

# AIM2-инфламмасомь

Олигомеризация комплекса происходит в присутствии:

- бактериальной ДНК
- вирусной ДНК
- собственной повреждённой ДНК

Последнее приводит в результате к аутоиммунной реакции.



# Экспрессия AIM2

- Повышенная экспрессия AIM2: развитие псориаза, аневризмы брюшной аорты и системной красной волчанки
- Пониженная экспрессия AIM2: колоректальный рак и рак предстательной железы



# AIM2-инфламмосомы

- Было показано, что ДНК, накопленная в кератиноцитах, активирует AIM2-воспаление, стимулирует высвобождение IL-1 $\beta$  при псориатических поражениях
- Это свидетельствует о том, что AIM2 может реагировать на собственную ДНК, высвобождаемую при повреждении клетки, развивая хроническое воспалительное заболевание.

# Двойная роль инфламмасом

NLRP1	NLRP3	NLRC4	AIM2	Pyrin
-------	-------	-------	------	-------

## Вредная роль

Detrimental	Addison's disease	Arthritis	FCAS-like	Systemic lupus erythematosus	Familial Mediterranean fever
	Autoimmune thyroid disease	Celiac disease	MAS-like	Type 1 diabetes	
	Systemic lupus erythematosus	CAPS	SCAN4		
	Type 1 diabetes	Schnitzler's disease			
	Vitiligo	Systemic lupus erythematosus			
	Type 1 diabetes				

## Защитная роль от инфекций

Protective			<i>L. pneumophila</i>		
			<i>P. aeruginosa</i>		
		<i>C. rodentium</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>F. tularensis</i>	
		<i>E. coli</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>L. monocytogenes</i>	
	<i>B. anthracis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Y. pestis</i>	Cytomegalovirus	
	IBD	IBD	Vaccinia virus	<i>B. cenocepacia</i>	

Protective and detrimental roles of inflammasomes in disease.

Saavedra PH, Demon D, Van Gorp H, Lamkanfi M. Semin Immunopathol (2015) 37:313–322) adapted

# Перспективы

- Из 22 NLR в человеческих и 34 NLR у мышей функции большинства из них неизвестны. Основная цель в этой области - определить, сколько рецепторов способны индуцировать воспаление, каковы их соответствующие лиганды и каковы их функции в отношении здоровья и болезней.