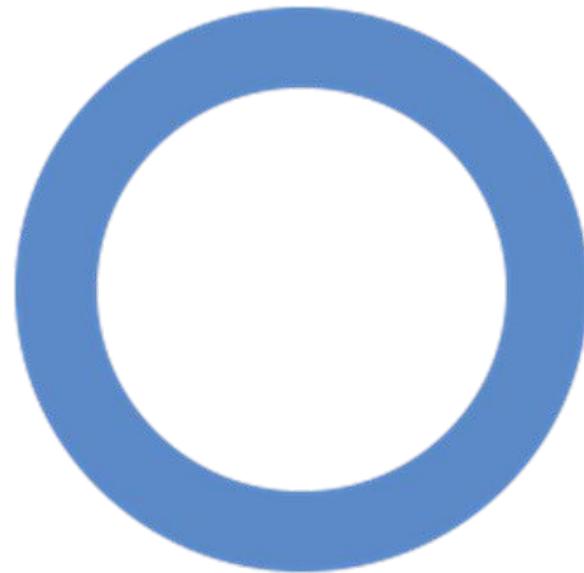


Метаболические и воспалительные пути в патогенезе диабета 2 типа



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

Содержание

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

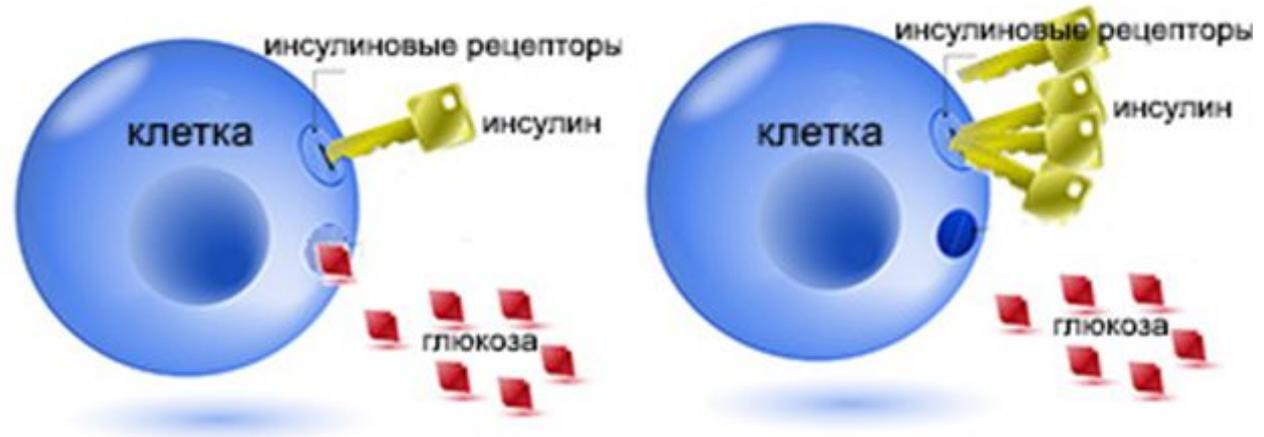
Понятие диабета 2 типа (T2D)

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)

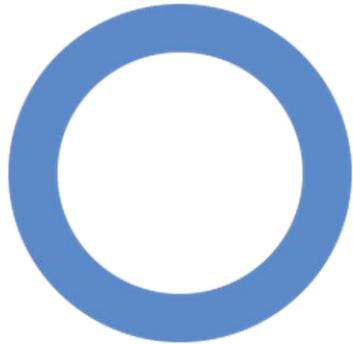
- T2D является результатом комбинации резистентности к инсулину и относительного дефицита производства инсулина



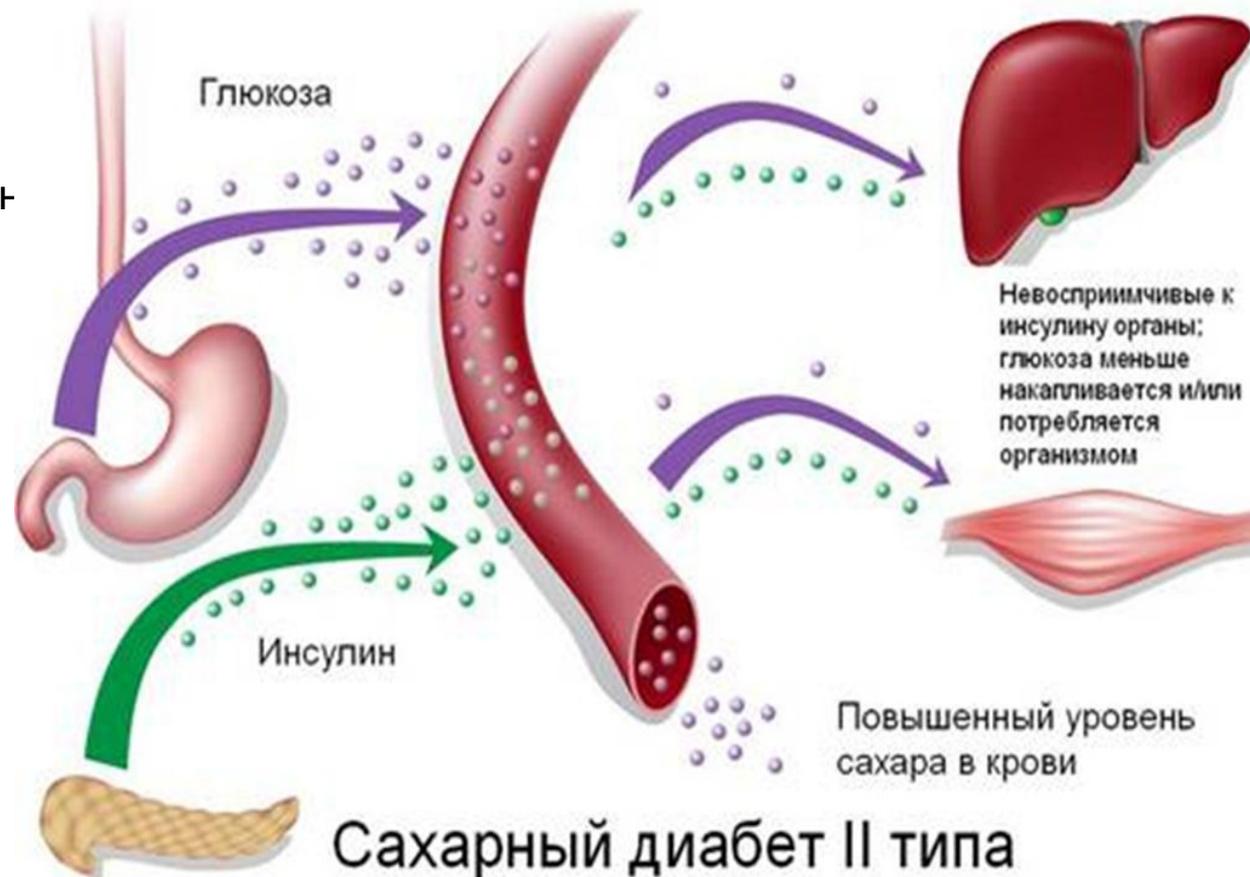
здоровый
организм

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 α



**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

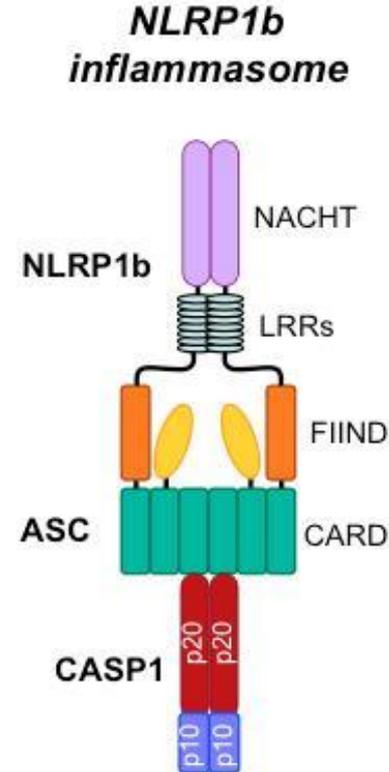
- Каспаза 1 (CASP1), также интерлейкин-1 превращающий фермент — консервативный фермент, который путём протеолиза расщепляет другие белки, такие как предшественники воспалительных цитокинов — интерлейкина 1β и интерлейкина 18.
- Каспаза 1 играет центральную роль в клеточном иммунитете.
- Каспаза 1 образуется 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

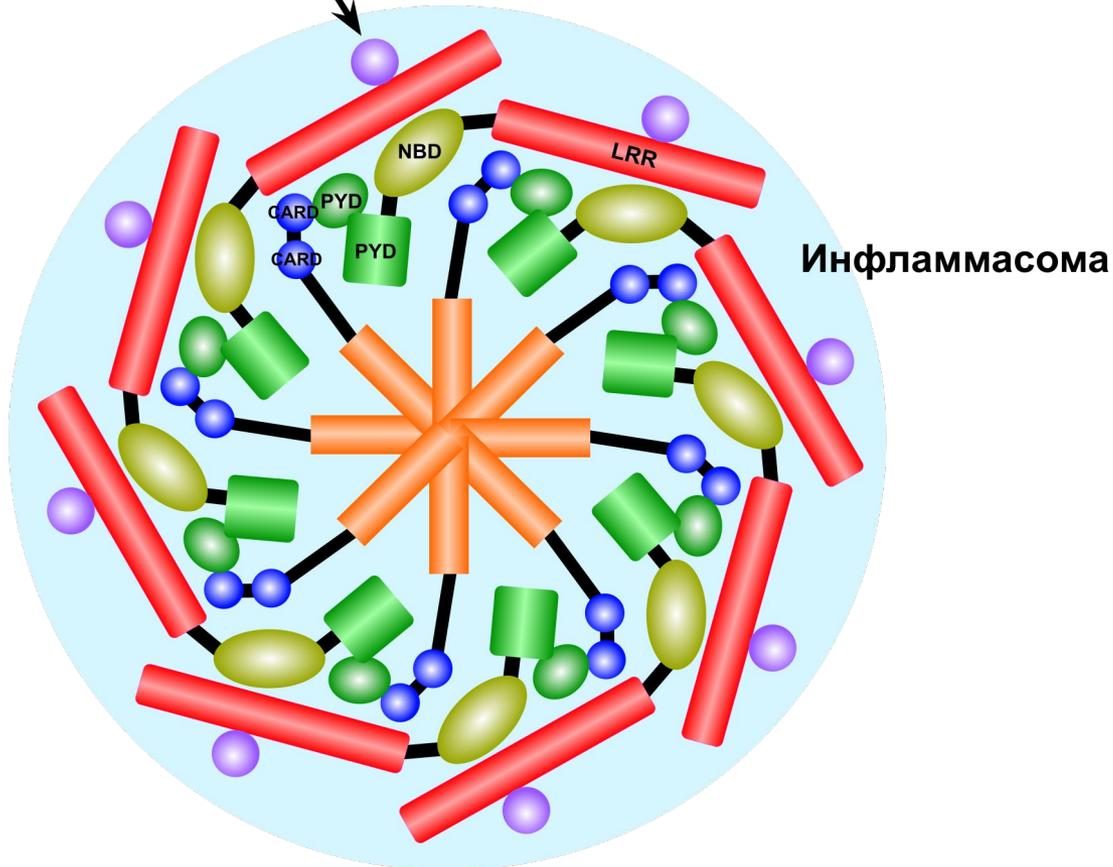
- **CASP1** взаимодействует с другими белками, содержащими CARD-домены, такими, как апоптоз-ассоциированный Speck-подобный белок, содержащий CARD (ASC) и Nod-подобный рецептор (NLR) NLRC4, посредством взаимодействий доменов CARD-CARD.

Строение инфламмосомы

Субъединица
инфламмосомы NLRP3



Лиганд

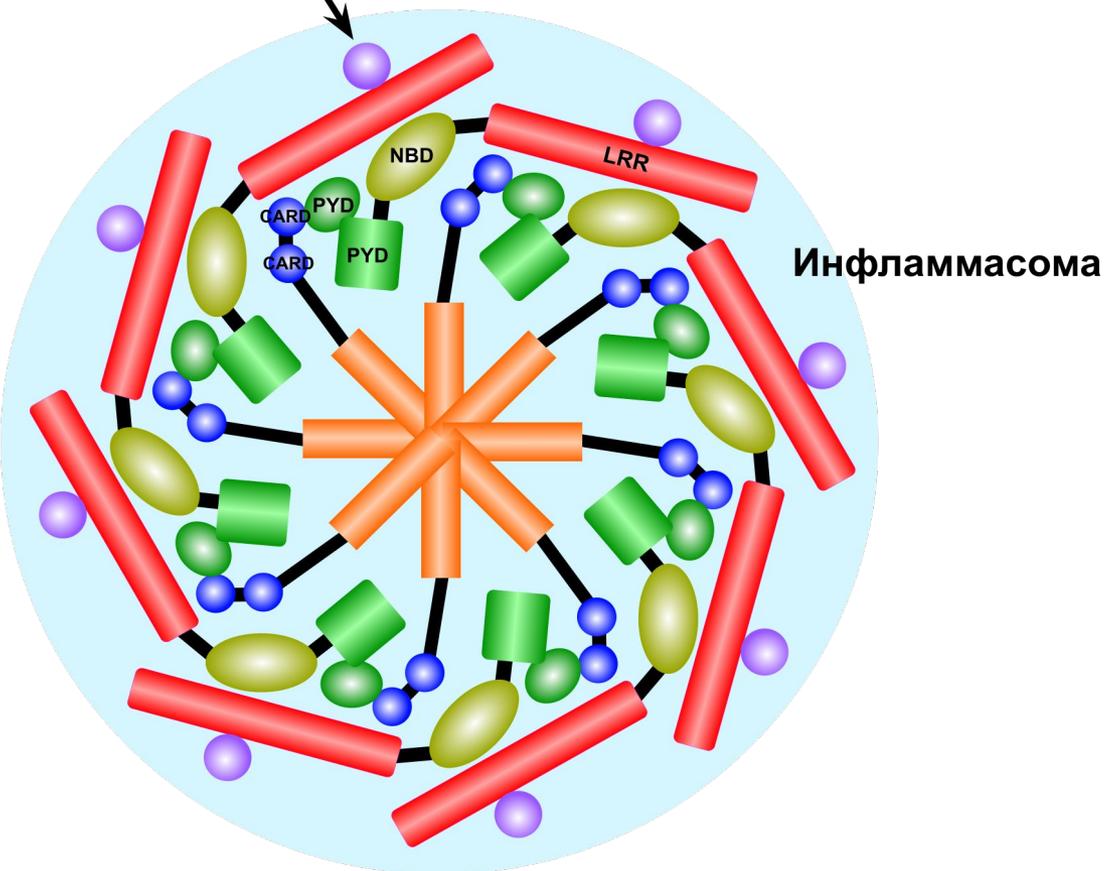


Строение инфламмосомы

Субъединица
инфламмосомы NLRP3



Лиганд

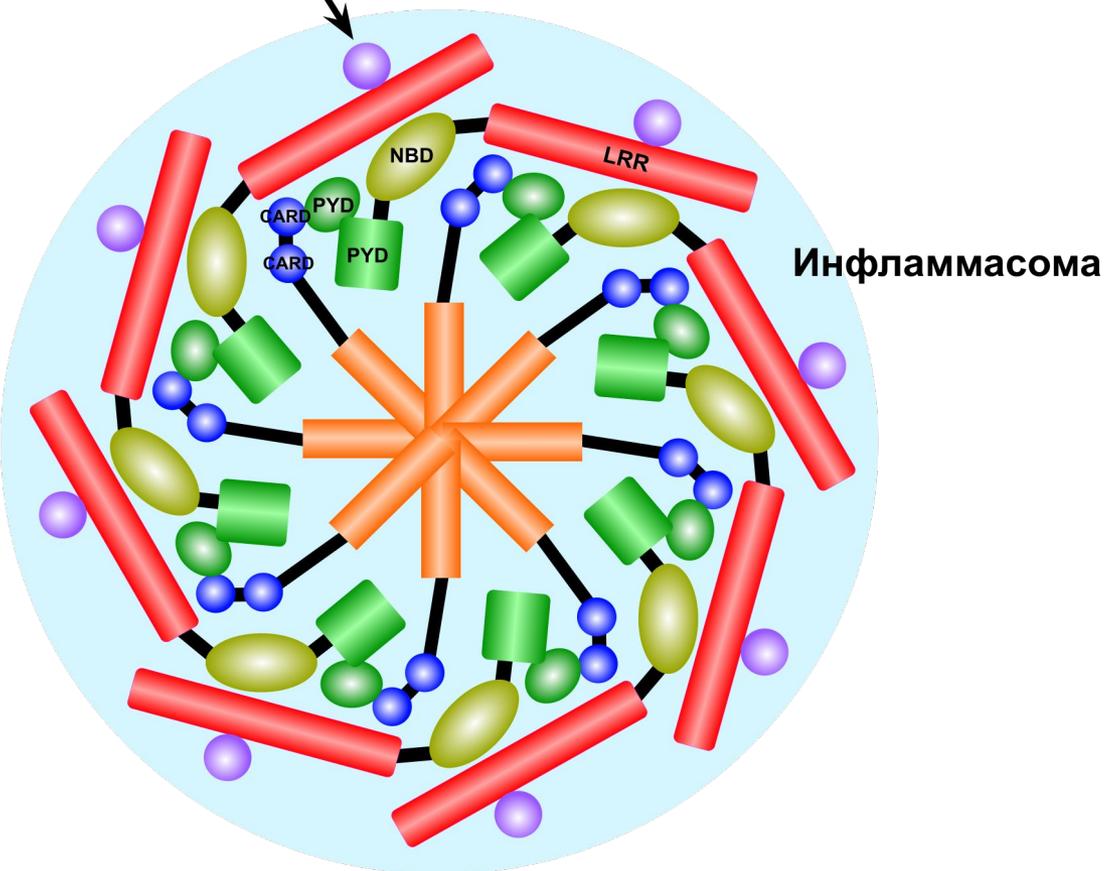


Строение инфламмосомы

Субъединица
инфламмосомы NLRP3



Лиганд

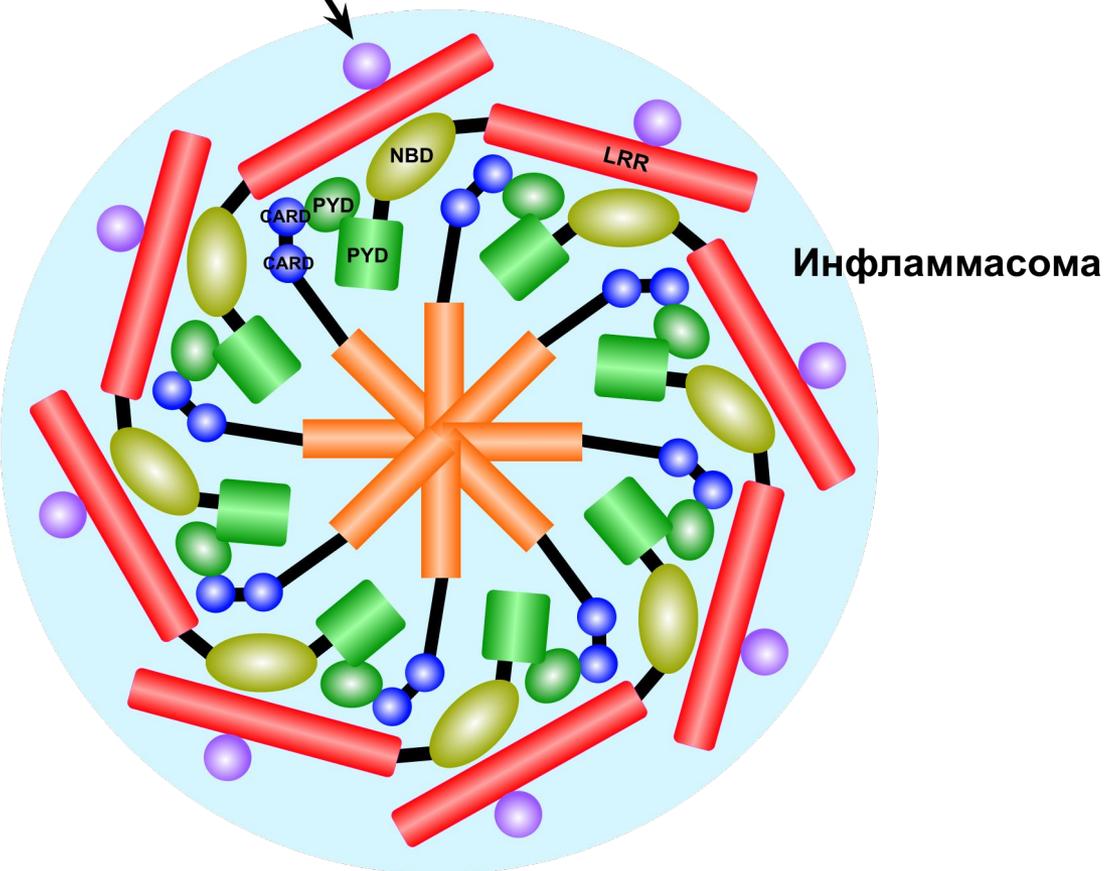


Строение инфламмосомы

Субъединица
инфламмосомы NLRP3



Лиганд



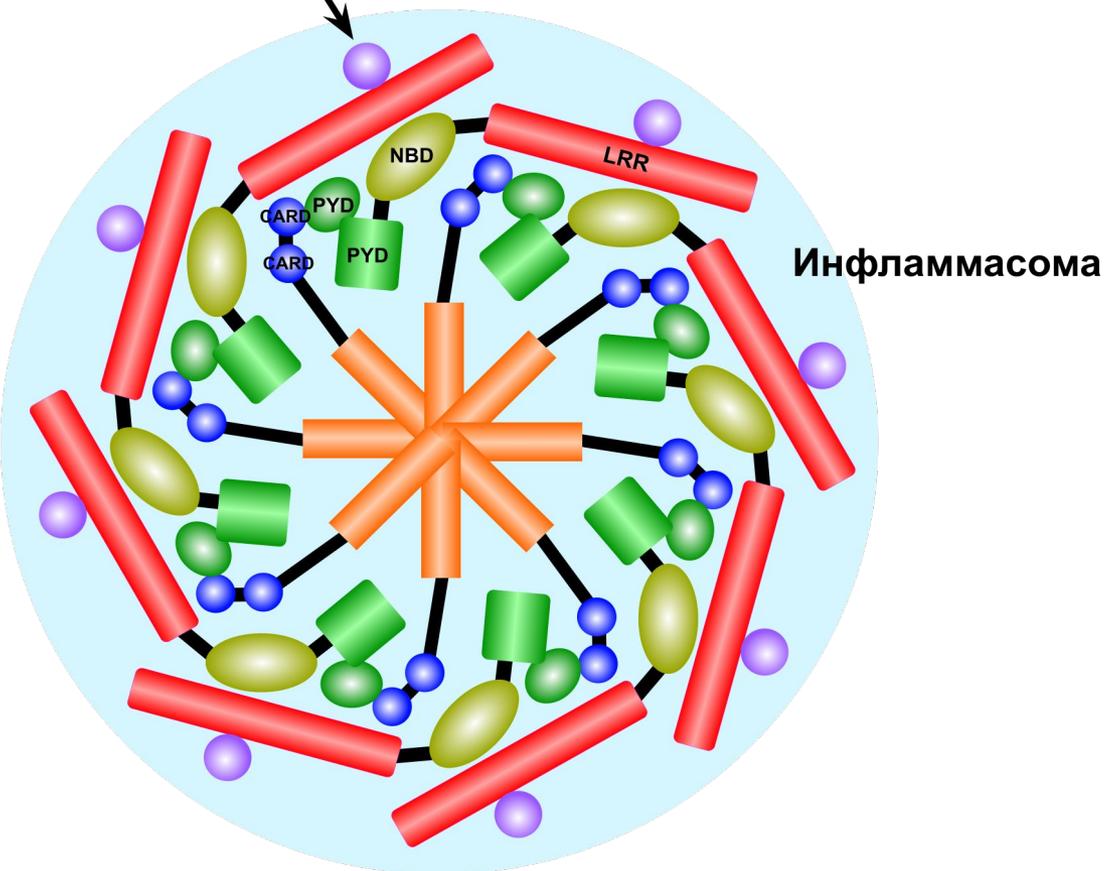
- рецепторы AIM-2 (отсутствующие в меланоме)

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

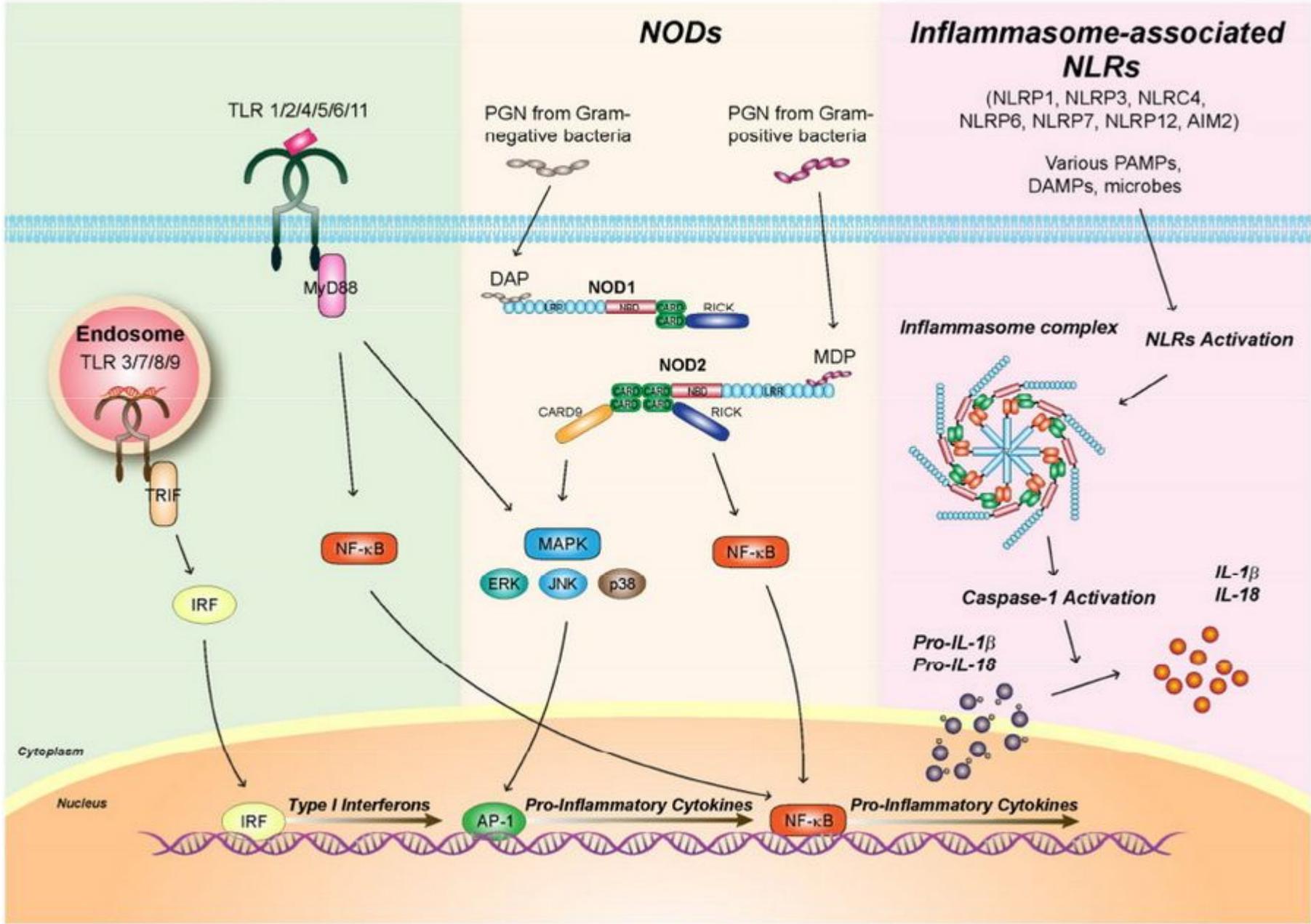
Активация каспазы-1

Для высвобождения IL-1 β из макрофагов необходимы 2 сигнала:

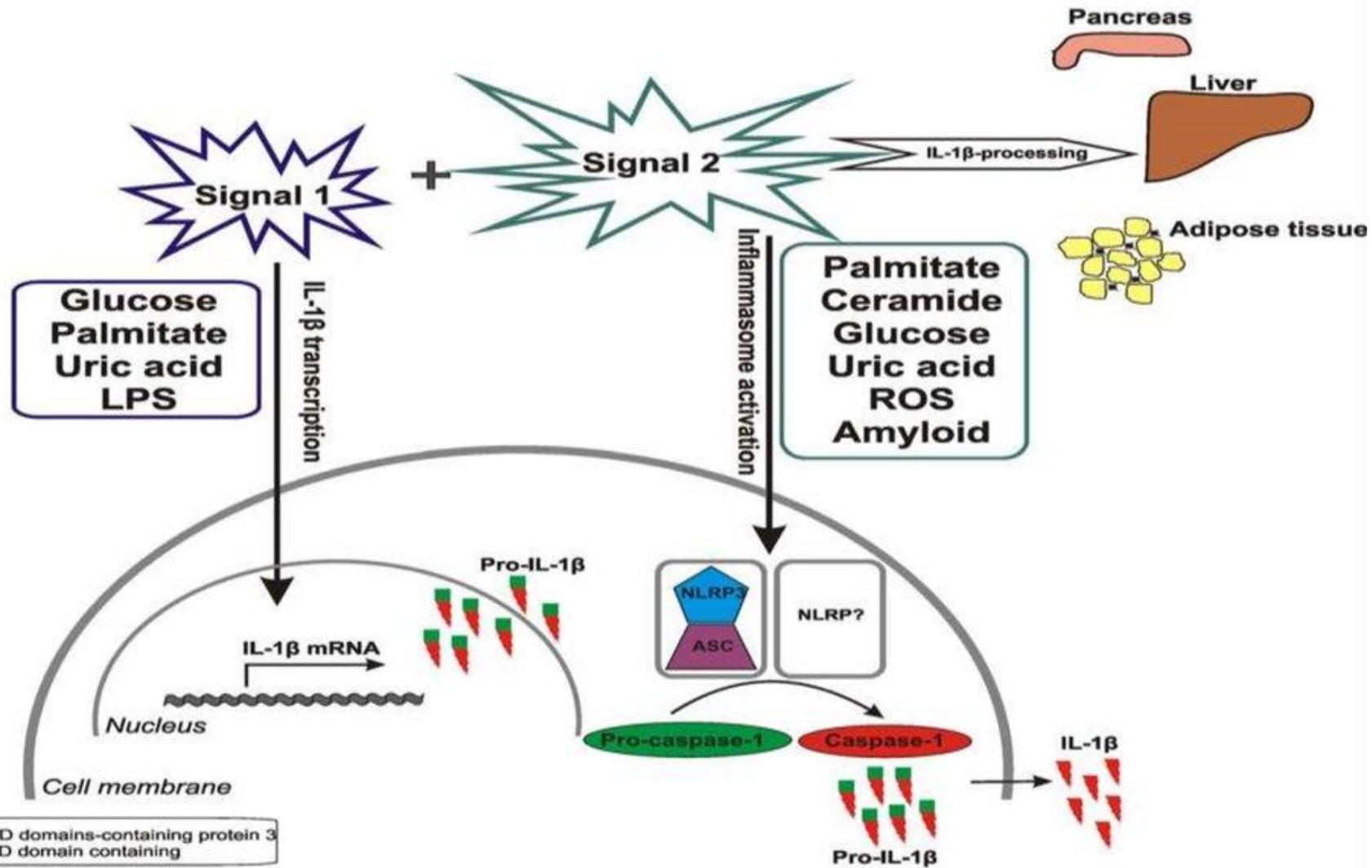
- Активация TLR, приводящая к транскрипции и трансляции про – IL-1 β
- NLR – индуцирующие процессинг и высвобождение активного IL-1 β через CASP1 – зависимый механизм.

TLRs

NLRs



Активация инфламмосомы (из Stienstra et al., 2012)



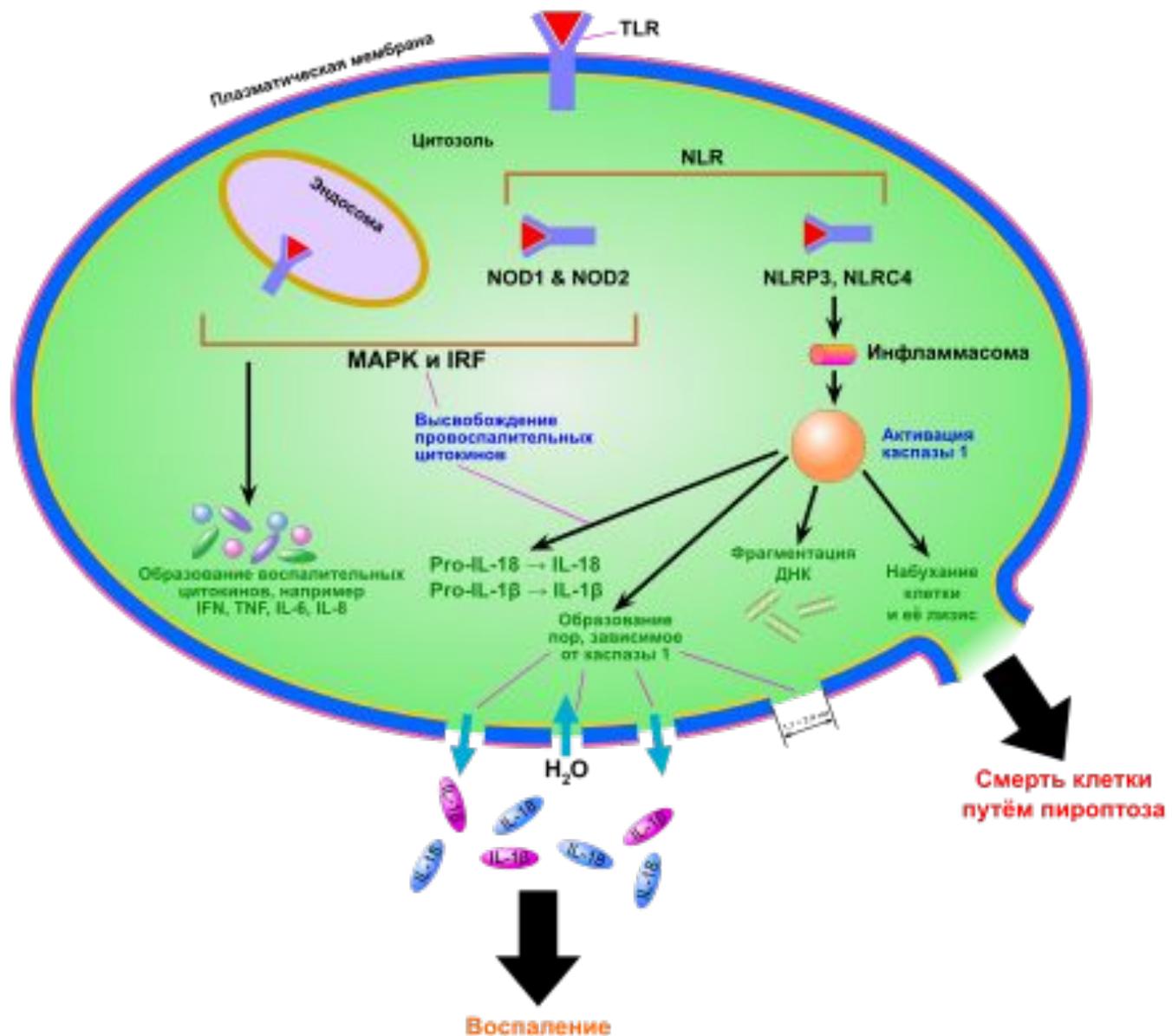
Активация каспазы-1

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

Содержание

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

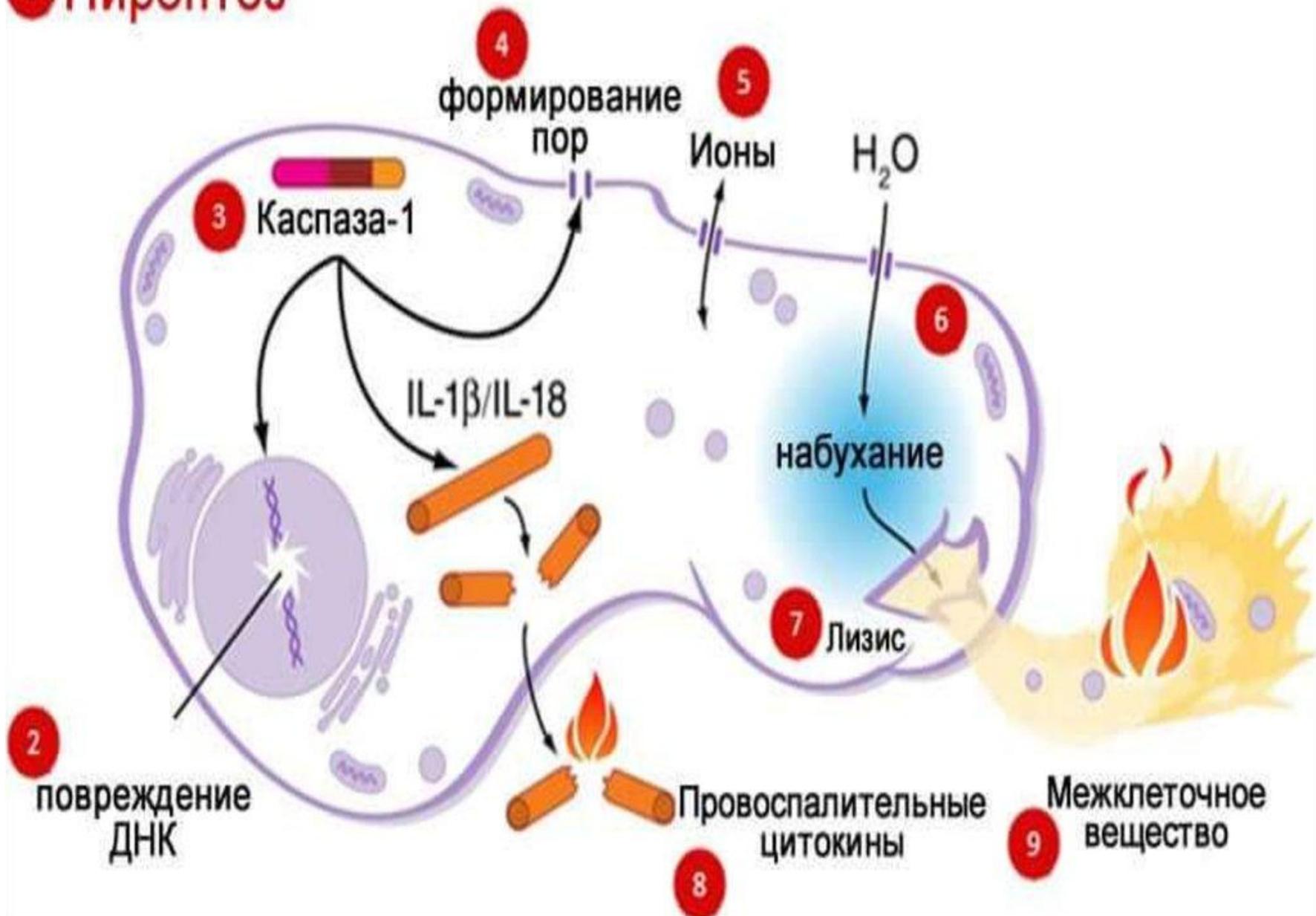
Инфламмасома-зависимые реакции



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.

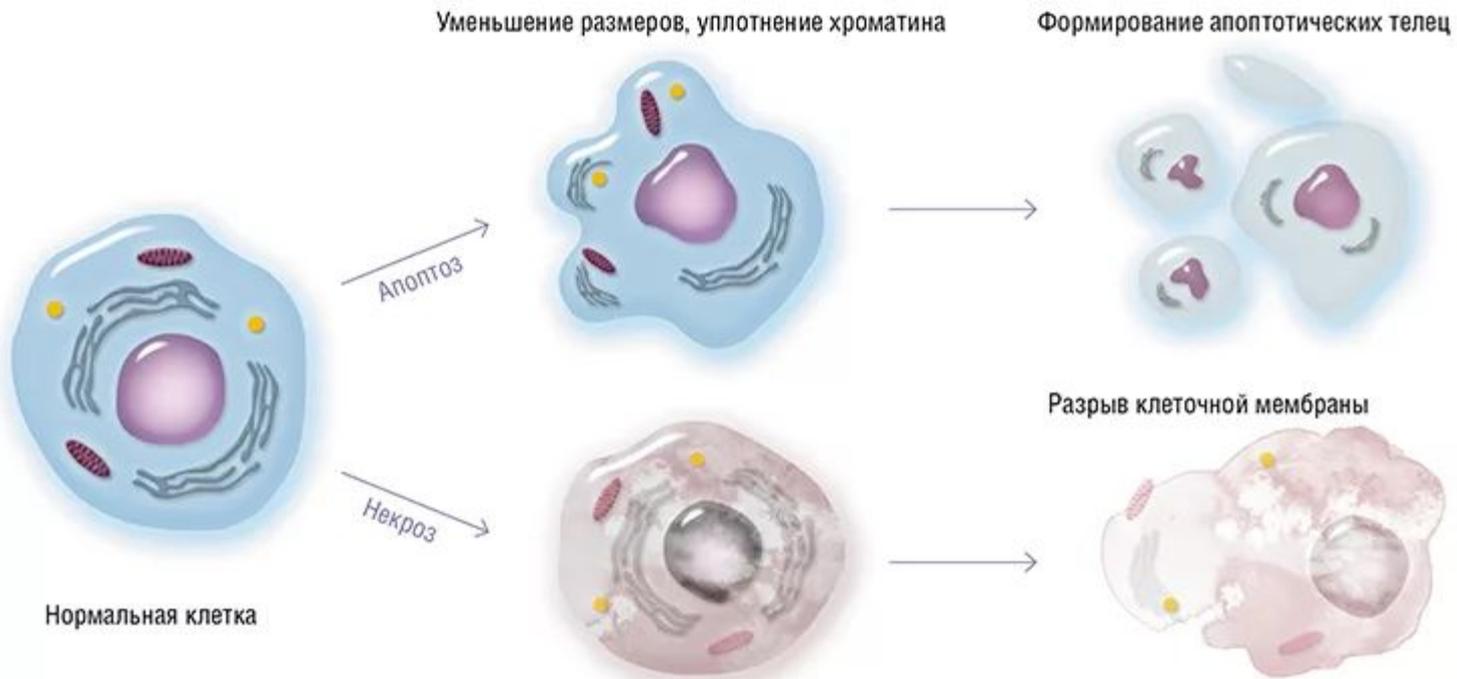
Особенности пироптоза

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

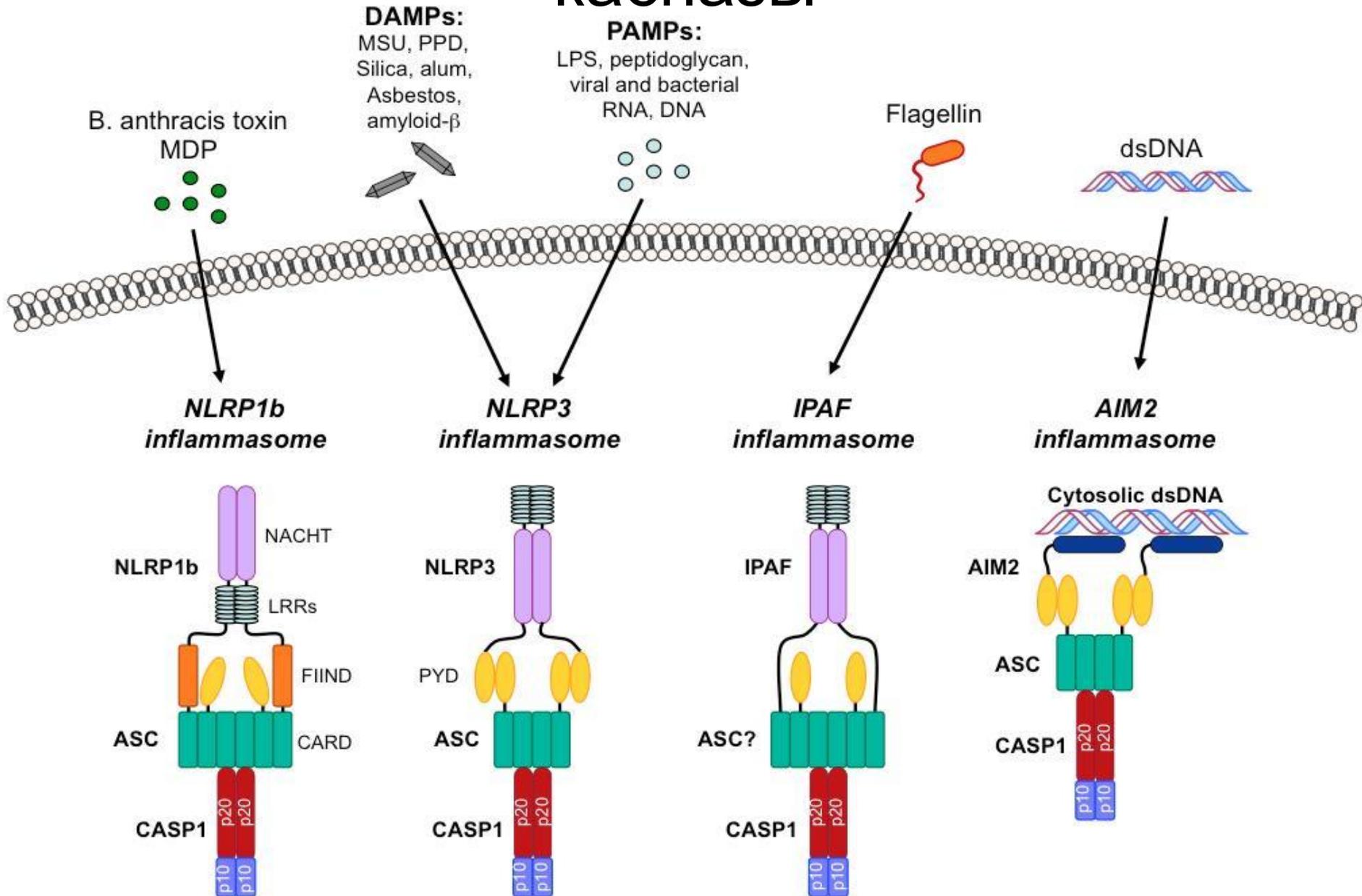


Содержание

- 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]

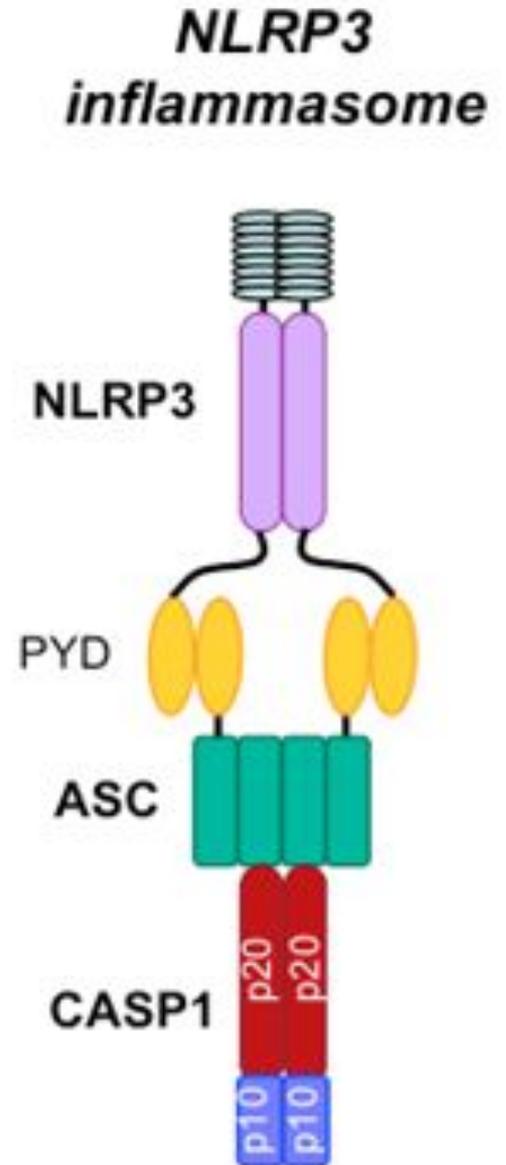
Тип инфламмасомы	Ткань
<i>Первая линия (полная готовность экспрессии всех компонентов инфламмасомы)</i>	
NLRP1-инфламмасома (NLRP1, ASC, каспаза-1 и каспаза-5)	Мозг, плацента
NLRP3-инфламмасома (NLRP3, ASC и каспаза-1, CARDINAL)	Кровь, мозг
NLRC4/IPAF-инфламмасома (NLRC4/IPAF, NAIP, ASC, каспаза-1)	Кровь, 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.

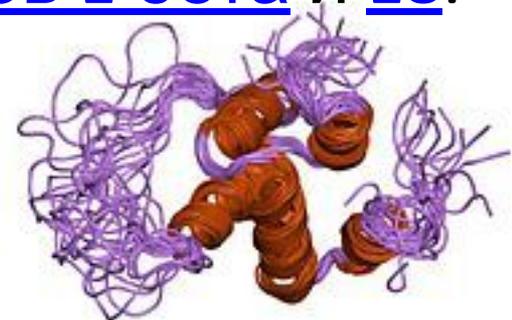
NLRP3 инфламмасомы

- 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 β по сравнению со здоровыми людьми
- Исследования на мышах показали, что связанные с CAPS мутации NLRP3, каспазы-1, IL-1 β 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

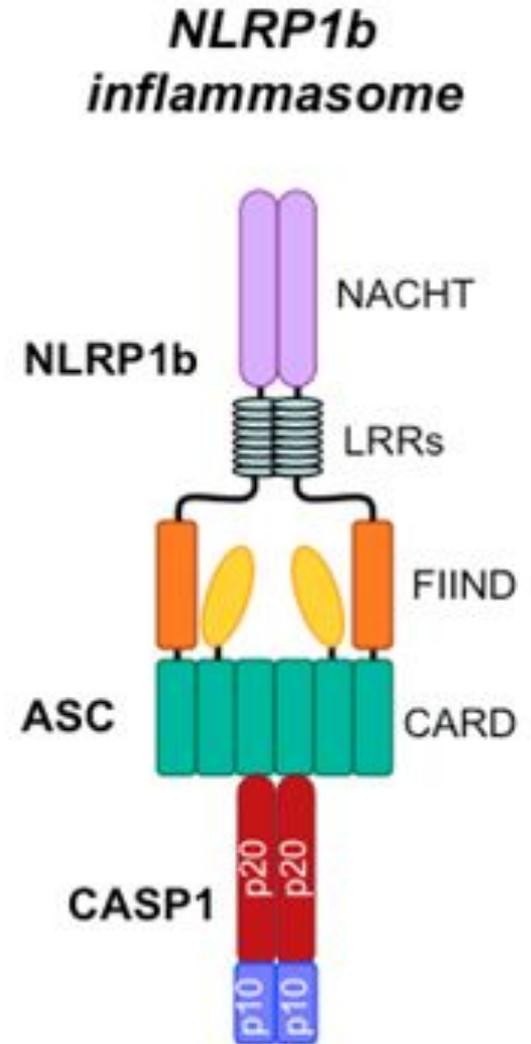
- **NLRP1** — цитозольный белок, Nod-подобный рецептор подсемейства NALP.
- Как компонент NLRP1-инфламмасомы активирует провоспалительную каспазу 1, что приводит к внутриклеточному процессингу, образованию зрелой активной формы и высвобождению интерлейкинов 1 бета и 18.



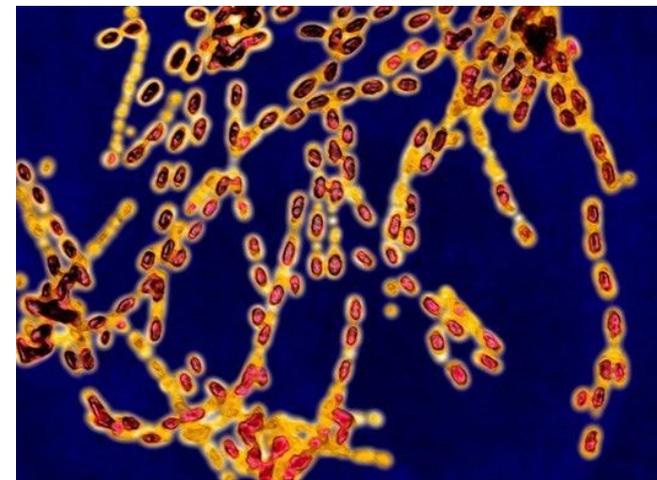
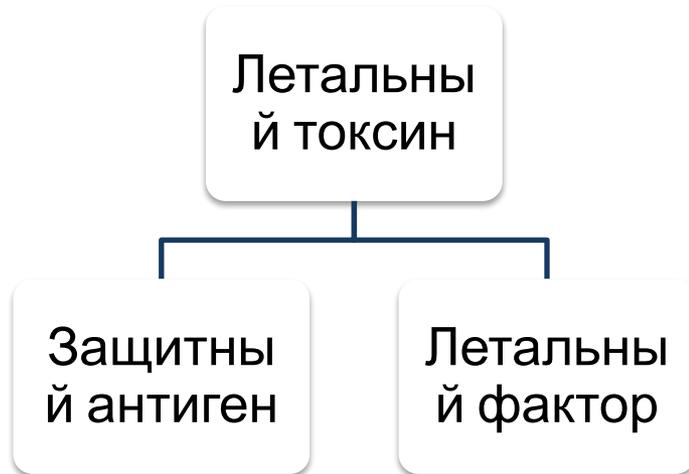
Строение NLRP1 инфламмасомы

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



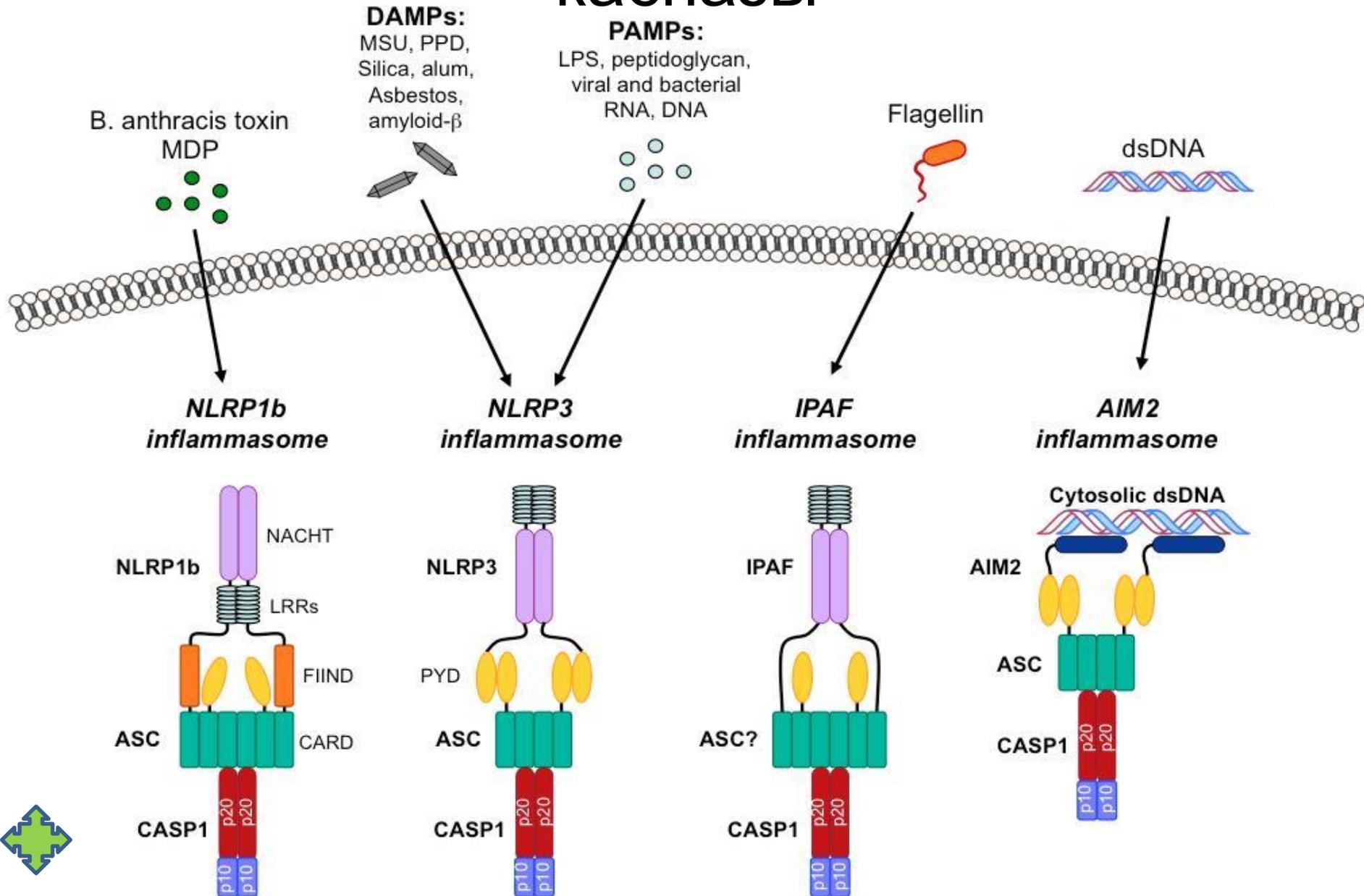
Bacillus anthracis

- 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 инфламмосомы

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

NLRP1 инфламмасомы

- 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 мышинового 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

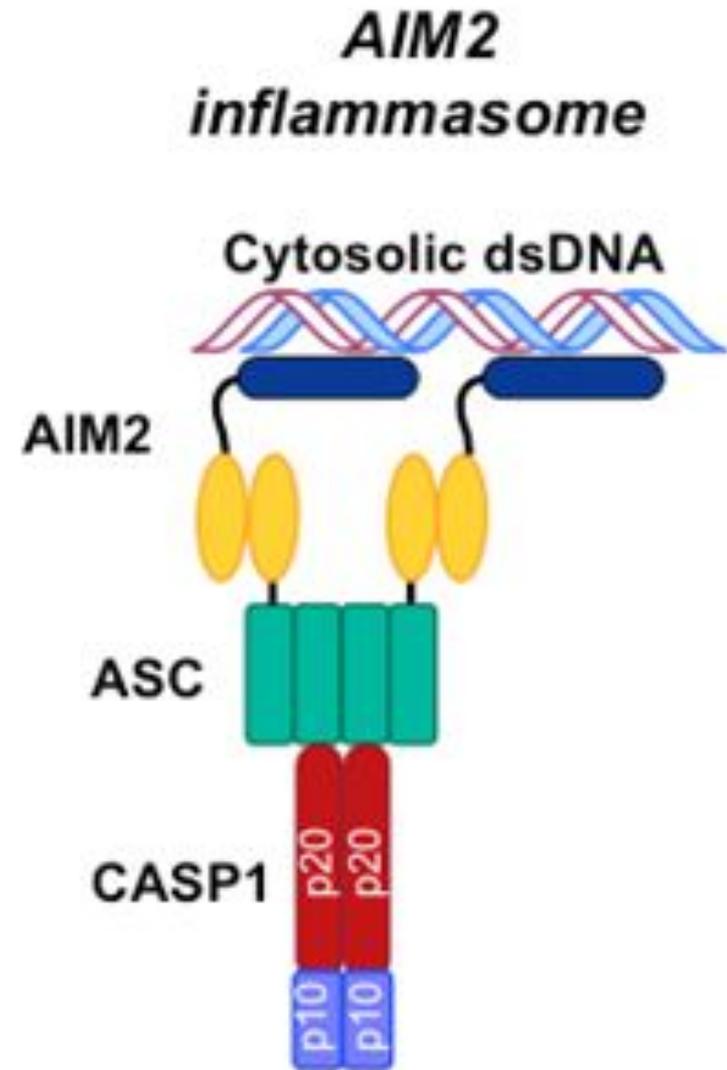
- AIM2-инфламмасомы отличаются от NLR-инфламмасом по основному распознающему белку.
- Они называются также ДНК-инфламмасомы, так как способны распознавать инородную ДНК за счёт HIN200 домена, который связывает ДНК, и PYD домена, который рекрутирует адаптерный белок ASC при формировании инфламмасомы.

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 β 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
Autoimmune thyroid disease
Systemic lupus erythematosus
Type 1 diabetes
Vitiligo

Arthritis
Celiac disease
CAPS
Schnitzler's disease
Systemic lupus erythematosus
Type 1 diabetes

FCAS-like
MAS-like
SCAN4

Systemic lupus erythematosus
Type 1 diabetes

Familial Mediterranean fever

Защитная роль от инфекций

Protective

B. anthracis

C. rodentium
E. coli
S. Typhimurium
IBD

L. pneumophila
P. aeruginosa
S. Typhimurium
S. flexneri
Y. pestis
IBD

F. tularensis
L. monocytogenes
Cytomegalovirus
Vaccinia virus

B. cenocepacia

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.