



¹ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова

² Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии

³ Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии

Изменение экспрессии гена S100A8 под воздействием лазерного излучения низкой интенсивности у больных псориазом

В.В. Соболев, к.б.н.^{1,2}, Е.В. Денисова, к.м.н.^{2,3}, И.М. Корсунская, д.м.н., проф.^{2,3}

Адрес для переписки: Владимир Васильевич Соболев, vlsobolev@gmail.com

Для цитирования: Соболев В.В., Денисова Е.В., Корсунская И.М. Изменение экспрессии гена S100A8 под воздействием лазерного излучения низкой интенсивности у больных псориазом // Эффективная фармакотерапия. 2021. Т. 17. № 1. С. 14–16.

DOI 10.33978/2307-3586-2021-17-1-14-16

Белки S100 – это кальций-связывающие белки, расположенные в локусе 4 восприимчивости к псориазу. При данной патологии отмечается их высокая экспрессия в эпидермисе. Потенциально указанные белки могут являться медиаторами псориаза.

Цель исследования – изучить изменение уровня экспрессии S100A8 в пораженной псориазом коже по сравнению с непораженной до и после лечения лазерным излучением низкой интенсивности с длиной волны 1,27 мкм.

Материал и методы. В исследовании участвовали 12 больных псориазом. Для биопсии кожу с непораженных участков брали на расстоянии 3 см от пораженных. Анализ проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. После применения лазерного излучения низкой интенсивности наблюдалось достоверное снижение экспрессии гена S100A8 – до $20,23 \pm 5,69$ раза.

Вывод. Уровень экспрессии S100A8 может являться индикатором эффективности лечения псориаза на молекулярном уровне.

Ключевые слова: псориаз, S100A8, экспрессия гена, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, лазерное излучение низкой интенсивности

Введение

Псориаз – распространенное хроническое воспалительное заболевание кожи, которым страдает до 3% населения Земли [1]. Кожное поражение проявляется в виде чешуйчатой множественной эритемы на лице, волосистой части головы, туловище, верхних и нижних конечностях. Патология ассоциируется со значительной физической и психологической нагрузкой на больных, что неизбежно приводит к снижению качества их жизни [2]. Псориаз

часто сочетается с такими системными заболеваниями, как сахарный диабет 2 типа [3], артериальная гипертензия [4], ожирение [5] и сердечно-сосудистая патология [6]. В ряде ретроспективных исследований отмечена связь психических расстройств и патологической тревожности с псориазом [7–10]. Активное изучение генов, вовлеченных в псориагический процесс, позволило лучше понять патогенез псориаза. Этому способствовал анализ полиморфных вариан-

тов, функциональной активности генов [11–14].

Установлено, что S100-белки представляют собой кальций-связывающие белки, расположенные в локусе 4 восприимчивости к псориазу. Они высоко экспрессируются в эпидермисе при псориазе и являются потенциальными медиаторами псориаза [15, 16].

Гены S100A8 и S100A9 преимущественно экспрессируются эпителиальными клетками миелоидного происхождения и кератиноцитами при воспалительных процессах. Белок S100A8/S100A9 играет важную роль в миелоидной дифференциации, воспалении и проявляет антимикробную активность. Комплекс S100A8–S100A9 приводит к неконтролируемой активации иммунных клеток, ангиогенезу, гиперпролиферации кератиноцитов и, наконец, к хроническому воспалению, которое типично для псориаза [17].

Целью настоящего исследования стала оценка изменения уровня экспрессии гена S100A8 в пораженной псориазом коже по сравнению с непораженной до и после лечения лазерным излучением низкой интенсивности с длиной волны 1,27 мкм.

Материал и методы

Исследование одобрено Локальным комитетом по этике при Центре теоретических проблем физико-химиче-



ской фармакологии Российской академии наук. Оно также соответствует принципам, изложенным в декларации Хельсинкского соглашения.

Забор материала для биопсии осуществлялся у 12 пациентов с диагнозом «бляшечный псориаз» (*Psoriasis vulgaris*). Все они проходили лечение в клинике им. В.Г. Короленко Московского научно-практического центра дерматовенерологии и косметологии.

Средний возраст больных – $43,5 \pm 8,8$ года, тяжесть заболевания по Psoriasis Area and Severity Index (PASI) – $22,10 \pm 6,25$ балла. Диагноз устанавливался клинически и подтверждался результатами патоморфологического исследования биоптата кожи.

Забор пораженного и непораженного участков кожи проводили под местной анестезией с помощью дерматологического пробойника (4 мм). Кожу для биопсии с непораженных участков брали на расстоянии 3 см от пораженных.

Выделение РНК из биопсий проводили на колонках Qiagen по стандартному протоколу RNeasy Mini Kit® для кожи. Для освобождения препаратов РНК от примесей ДНК проводили обработку ДНКазой Qiagen. Концентрацию РНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США), после чего образцы выравняли по концентрации в ddH₂O.

Далее в пробирки для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) объемом 200 мкл вносили буфер, dNTP, 100 единиц обратной транскриптазы M_MLV (Promega), 20 единиц ингибитора РНКаз RNasin (Promega), 500 нг oligo(dT) праймеров («ДНК-Синтез») и РНК до конечной концентрации не более 100 нг/мкл. Смесь термостатировали один час при 37 °С.

ПЦР в режиме реального времени проводили в 96-луночных оптических планках с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green («Евроген», Россия). Праймеры и пробы были синтезированы фирмой «ДНК-Синтез». Амплификацию в ПЦР-амплификаторе (Bio-Rad, CFX96™) проводили поэтапно:

- 1) денатурация при 95 °С в течение четырех минут;
- 2) денатурация при 94 °С в течение 15 секунд;
- 3) отжиг при 55 °С в течение 15 секунд;
- 4) элонгация при 72 °С в течение 15 секунд;
- 5) повторение этапов со второго по четвертый 35 раз.

Экспрессию генов-мишеней нормализовали на ген домашнего хозяйства GAPDH.

Амплификация гена GAPDH и исследование генов проводилась в разных пробирках. Результаты ПЦР обрабатывали с помощью метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [18].

Результаты

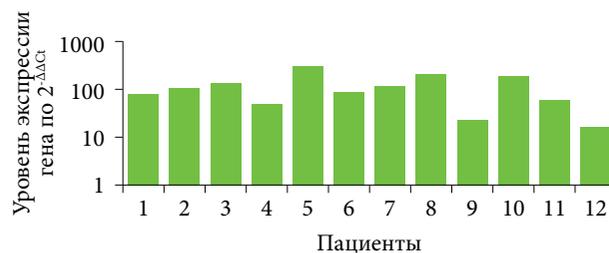
На первом этапе проведена оценка уровня экспрессии гена S100A8 на пораженном участке кожи по сравнению с таковым на визуально непораженном участке. Всего были проанализированы 24 биопсии, взятые у 12 больных. У всех пациентов уровень экспрессии гена S100A8 в зоне поражения был выше, чем в непораженной области. При этом значения увеличивались от 16,21 (12-й пациент) до 307,96 (пятый пациент) раза (рис. 1). В среднем экспрессия гена S100A8 у пациентов оказалась повышенной в $112,86 \pm 23,95$ раза.

На втором этапе проводилось лечение больных псориазом лазерным излучением низкой интенсивности с длиной волны 1,27 мкм (коротковолновая часть инфракрасного диапазона).

По завершении терапии у всех пациентов наблюдалась полная ремиссия. Субъективные жалобы отсутствовали.

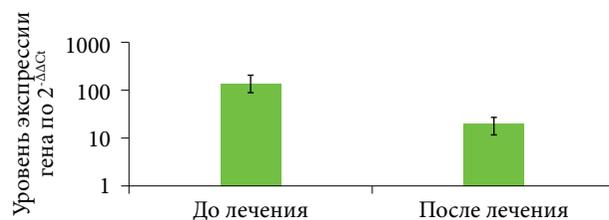
Переносимость лечения оценивалась как хорошая и очень хорошая. Каких-либо нежелательных явлений не зафиксировано.

После окончания терапии проведен повторный забор биопсий (24 штуки) из визуально пораженных и непораженных участков кожи. Затем оценена динамика уровня экспрессии гена S100A8 в пораженной и не пораженной псориазом коже до и после лечения.



Примечание. За 1 принят уровень экспрессии в визуально непораженной коже.

Рис. 1. Уровень экспрессии мРНК гена S100A8 в пораженной коже по отношению к таковому в визуально не пораженной псориазом коже



Примечание. За 1 принят уровень экспрессии в визуально непораженной коже.

Рис. 2. Сравнение уровня экспрессии гена S100A8 с помощью непараметрического метода Манна – Уитни в образцах пораженной псориазом кожи до и после лечения низкоинтенсивным лазерным излучением

У всех пациентов наблюдалось достоверное снижение экспрессии гена S100A8 – до $20,23 \pm 5,69$ раза ($p < 0,05$) (рис. 2).

Заключение

Установлено, что в пораженной псориазом коже происходит дефектная активация экспрессии гена S100A8. Это может поддерживать повреждающий кожу иммуновоспалительный ответ.

Согласно полученным результатам, лазерное излучение низкой интенсивности с длиной волны 1,27 мкм положительно влияет на кожный процесс при псориазе. Эффективность лечения подтверждена и на клиническом, и на молекулярном уровне. Так, у больных псориазом экспрессия S100A8 значительно снизилась.

Полагаем, что транскрипционную активность гена S100A8 можно рассматривать в качестве потенциальной терапевтической мишени при псориазе и маркера эффективности лечения. ●

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



Литература

1. Boehncke W.-H., Schön M.P. Psoriasis // Lancet. 2015. Vol. 386. № 9997. P. 983–994.
2. Furue K., Ito T., Tsuji G. et al. Autoimmunity and autoimmune co-morbidities in psoriasis // Immunology. 2018. Vol. 154. № 1. P. 21–27.
3. Wan M.T., Shin D.B., Hubbard R.A. et al. Psoriasis and the risk of diabetes: a prospective population-based cohort study // J. Am. Acad. Dermatol. 2018. Vol. 78. № 2. P. 315–322.e1.
4. Kim H.-N., Han K., Song S.-W., Lee J.H. Hypertension and risk of psoriasis incidence: an 11-year nationwide population-based cohort study // PLoS One. 2018. Vol. 13. № 8. P. e0202854.
5. Snekvik I., Smith C.H., Nilsen T.I.L. et al. Obesity, waist circumference, weight change, and risk of incident psoriasis: prospective data from the HUNT study // J. Invest. Dermatol. 2017. Vol. 137. № 12. P. 2484–2490.
6. Sobolev V.V., Starodubtseva N.L., Piruzyan A.L. et al. Comparative study of the expression of ATF-3 and ATF-4 genes in vessels involved into atherosclerosis process and in psoriatic skin // Bull. Exp. Biol. Med. 2011. Vol. 151. № 6. P. 713–716.
7. Климов Е.А., Третьяков А.В., Гапанович Е.С. и др. Оценка роли полиморфных вариантов генов NO-синтаза в патогенезе псориаза // Молекулярная медицина. 2018. Т. 16. № 4. С. 62–64.
8. Климов Е.А., Малахова А.В., Коробейникова Л.А. и др. Ассоциации полиморфных вариантов генов холецистокинергической системы с паническим расстройством // Медицинский совет. 2018. № 12. С. 190–194.
9. Сакания Л.Р., Третьяков А.В., Шевцова А.А. и др. Полиморфизм гена DBH у пациентов с псориазом // Молекулярная медицина. 2019. Т. 17. № 14. С. 62–65.
10. Sobolev V., Klimov E., Tretiakov A. et al. 218 Polymorphism of dopamine related genes in the light of psychodermatology: association with psoriasis // J. Invest. Dermatol. 2017. Vol. 137. P. S230.
11. Klimov E., Tretiakov A., Gapanovich E. et al. Assessment of the role of NO synthase genes polymorphisms in the pathogenesis of psoriasis // JAMMR. 2018. Vol. 26. № 4. P. 1–6.
12. Sobolev V., Sakaniya L., Tretiakov A. et al. Association of GA genotype of SNP rs4680 in COMT gene with psoriasis // Arch. Dermatol. Res. 2019. Vol. 311. № 4. P. 309–315.
13. Sobolev V., Nesterova A., Soboleva A. et al. The Model of PPAR γ -downregulated signaling in psoriasis // PPAR Res. 2020. Vol. 2020. ID 6529057.
14. Соболев В.В., Денисова Е.В., Корсунская И.М. Изменение экспрессии гена STAT3 при лечении псориаза // Медицинский совет. 2020. № 12. P. 71–74.
15. Schonthaler H.B., Guinea-Viniegra J., Wculek S.K. et al. S100A8-S100A9 protein complex mediates psoriasis by regulating the expression of complement factor C3 // Immunity. 2013. Vol. 39. № 6. P. 1171–1181.
16. Ekman A.K., Vegfors J., Eding C.B., Enerbäck C. Overexpression of psoriasin (S100A7) contributes to dysregulated differentiation in psoriasis // Acta Derm. Venereol. 2017. Vol. 97. № 4. P. 441–448.
17. Benoit S., Toksoy A., Ahlmann M. et al. Elevated serum levels of calcium-binding S100 proteins A8 and A9 reflect disease activity and abnormal differentiation of keratinocytes in psoriasis // Br. J. Dermatol. 2006. Vol. 155. № 1. P. 62–66.
18. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method // Methods. 2001. Vol. 25. № 4. P. 402–408.

Changes in S100A8 Gene Expression Exposed to Low-Intensity Laser Radiation in Psoriasis Patients

V.V. Sobolev, PhD^{1,2}, Ye.V. Denisova, PhD^{2,3}, I.M. Korsunskaya, MD, PhD, Prof.^{2,3}

¹ Scientific-Research Institute of Vaccines and Serums named after I.I. Mechnikov

² Center for Physical and Chemical Pharmacology Theoretical Problems

³ Moscow Scientific-Practical Center of Dermatovenereology and Cosmetology

Contact person: Vladimir V. Sobolev, vlsobolev@gmail.com

S100 proteins are calcium-binding proteins located at locus 4 of psoriasis susceptibility. In this pathology, their high expression in the epidermis is noted. Potentially, these proteins can be mediators of psoriasis.

Objective: to study the change in the expression level of S100A8 in psoriasis-affected skin compared to unaffected skin before and after treatment with low-intensity laser radiation with the wavelength of 1.27 microns.

Material and methods. The study involved 12 patients with psoriasis. Biopsy from unaffected skin areas was taken at a distance of 3 cm from the affected areas. The analysis was made by real-time polymerase chain reaction.

Results. After the application of low-intensity laser radiation, a significant decrease in the expression of the S100A8 gene was observed-up to 20.23 ± 5.69 times.

Conclusion. The level of S100A8 expression can be the indicator of the effectiveness of psoriasis treatment at the molecular level.

Key words: psoriasis, S100A8 gene expression, real-time polymerase chain reaction, low-intensity laser radiation