

© Коллектив авторов, 2022

Быстрицкая Е.П.¹, Мурашкин Н.Н.^{2,3}, Материкин А.И.², Наумова Е.А.⁴,
Свитич О.А.^{1,3}

Полногеномный профиль метилирования ДНК и экспрессия генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* при atopическом дерматите у детей и подростков

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 105064, г. Москва, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119296, г. Москва, Российская Федерация

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», 119991, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Атопический дерматит (АтД) принадлежит к группе многофакторных заболеваний, которые, как полагают, возникают в результате сложных взаимодействий между генетическими факторами и проявлениями окружающей среды. Объяснить, каким образом окружающая среда влияет на риск развития аллергии, можно, опираясь на понимание эпигенетических механизмов, участвующих в регуляции экспрессии генов.

Цель исследования – проведение комплексного анализа механизмов иммунитета (метилом; экспрессионный профиль генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*) на локальном и системном уровнях при АтД среднетяжелого и тяжелого течения у детей и подростков.

Материал и методы. Проведено полногеномное исследование метилирования ДНК в образцах кожи пациентов с АтД с использованием технологии секвенирования нового поколения (Oxford Nanopore Technologies Ltd). В то же время с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени в образцах кожи и в мононуклеарных клетках крови был выявлен уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*.

Результаты. Анализ экспрессионного профиля таргетных генов показал достоверное ($p \leq 0,017$) повышение уровней экспрессии *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* в крови у пациентов с АтД по отношению к группе сравнения, а также снижение ($p \leq 0,05$) уровней экспрессии *TLR2*, *TLR9*, *IL4* в пораженной коже по отношению к группе сравнения. Были выявлены дифференциально метилированные участки, различающиеся у пациентов с АтД и у здоровых доноров.

Заключение. Выявление ассоциации эпигенетических и иммунологических маркеров с риском развития и тяжестью течения АтД позволит создать новые прогностические подходы при ведении пациентов с atopической патологией. В связи с этим важно иметь полное представление о патогенетических механизмах этого заболевания.

Ключевые слова: atopический дерматит; врожденный иммунитет; цитокины; Toll-подобные рецепторы; экспрессия генов; метилирование

Статья получена 10.04.2022. Принята в печать 27.05.2022.

Для цитирования: Быстрицкая Е.П., Мурашкин Н.Н., Материкин А.И., Наумова Е.А., Свитич О.А. Полногеномный профиль метилирования ДНК и экспрессия генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* при atopическом дерматите у детей и подростков. Иммунология. 2022; 43 (3): 255–265. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-3-255-265>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Концепция, дизайн исследования, анализ результатов – Свитич О.А., Мурашкин Н.Н.; обеспечение базы клинических образцов от пациентов – Материкин А.И.; биоинформатическая обработка данных по секвенированию, интерпретация результатов статистического анализа – Наумова Е.А.; проведение экспериментальной части исследования, статистический анализ и интерпретация его результатов – Быстрицкая Е.П.

Для корреспонденции
Быстрицкая Елизавета Петровна –
аспирант,
лаборатория молекулярной
иммунологии
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
Минобрнауки России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: lisabystritskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8430-1975>

Bystritskaya E.P.¹, Murashkin N.N.^{2,3}, Materikin A.I.², Naumova E.A.⁴,
Svitich O.A.^{1,3}

Genome-wide DNA methylation profile and expression of *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* genes in pediatric patients with atopic dermatitis

¹I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 105064, Moscow, Russian Federation

²Medical Research Center for Children's Health, Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119296, Moscow, Russian Federation

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russian Federation

⁴M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Atopic dermatitis (AD) is a multifactorial disease, resulted from complex interactions between genetic and environmental factors. Epigenetic mechanisms involved in the gene expression regulation may clarify how environmental exposure affects the risk of allergy development.

The aim of this study is to conduct a comprehensive analysis of the immune mechanisms (methylome; gene expression profile of *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*) locally and systematically in pediatric patients with moderate and severe AD.

Material and methods. With the use of DNA new generation sequencing technology (Oxford Nanopore Technologies Ltd) we performed a DNA methylation genome-wide study in atopic patients' biopsies. At the same time the expression level for genes *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* was assessed in the skin and mononuclear blood cells using real-time polymerase chain reaction.

Results. Targeted gene expression analysis revealed a significant ($p \leq 0.017$) increase in the levels of *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* expression in the blood of patients with AD compared with the group of comparison, as well as a decrease ($p \leq 0.05$) in the levels of *TLR2*, *TLR9*, *IL4* expression in affected skin compared to the group of comparison. We detected loci that were differentially methylated in atopic patients and healthy donors.

Conclusion. It is important to have a complete understanding of the AD pathogenic mechanisms. New insights on epigenetic and immunological markers associated with the risk of AD development will help to create new prognostic approaches in the management of patients with atopic pathology.

Keywords: atopic dermatitis; innate immunity; cytokines; Toll-like receptors; gene expression; methylation

Received 10.04.2022. Accepted 27.05.2022.

For citation: Bystritskaya E.P., Murashkin N.N., Materikin A.I., Naumova E.A., Svitich O.A. Genome-wide DNA methylation profile and expression of *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* genes in pediatric patients with atopic dermatitis. *Immunologiya*. 2022; 43 (3): 255–65. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-3-255-265> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interests.

Authors' contribution. The concept and design of the study, analysis of results – Svitich O.A., Murashkin N.N.; providing a database of clinical samples from patients – Materikin A.I.; bioinformatic processing of sequencing data, interpretation of the statistical analysis results – Naumova E.A.; conducting the experimental part of the research, statistical analysis and interpretation of its results – Bystritskaya E.P.

Введение

Атопический дерматит (АтД) – хроническое воспалительное заболевание кожи, характеризующееся рецидивом экзематозных поражений, сухостью кожи и сильным зудом [1]. Во всем мире от этого заболевания страдают ~15–20 % детей и 1–3 % взрослых, поэтому данная патология представляет собой серьезную социальную и экономическую проблему [2]. Наряду с пищевой аллер-

гией, аллергическим ринитом и атопической астмой АтД относится к группе атопических расстройств, характеризующихся выработкой IgE-антител в ответ на аллергены. Однако только у 70–80 % пациентов с АтД наблюдается повышение уровня общего или специфического IgE, в то время как у остальных сенсibilизации не наблюдается. У большинства пациентов АтД обычно возникает в раннем детстве и зачастую проходит уже в подростко-

For correspondence

Elizaveta P. Bystritskaya –
Post Graduate Student,
Laboratory of Molecular Immunology,
I.I. Mechnikov RIVS
of the MSHE of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: lisabystritskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8430-1975>

вом возрасте. С другой стороны, более чем у 60 % детей с течением времени развиваются аллергический ринит и астма. Такое явление получило название «атопический марш», где АтД у определенных групп пациентов (в частности, с генетической предрасположенностью к атопии) может стать отправной точкой для последующего развития астмы [3]. Основные звенья патогенеза АтД важно понимать для предотвращения и купирования atopического марша. Однако для достижения этого необходимо получить подробные сведения о сложных патогенетических механизмах, лежащих в основе развития АтД.

При АтД изучают цитокиновый профиль эпидермиса [4, 5]. Ранняя стадия заболевания характеризуется преобладанием Th2-клеток, продуцирующих ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13. При хронической стадии цитокиновый профиль в основном меняется в сторону Th1-ответа и характеризуется выработкой интерферона. Под влиянием ИЛ-4 и ИЛ-13 плазматические клетки продуцируют IgE. Также уделяется внимание изучению роли других субпопуляций Th-клеток, таких как Th17 и Th22 [6].

Зачастую АтД осложняется рецидивирующей бактериальной или вирусной инфекцией. В таком случае имеет место нарушение механизмов врожденного иммунитета. Паттерн-распознающие рецепторы (PRR) распознают определенные молекулы бактерий, вирусов или грибов (так называемые молекулярные паттерны, связанные с патогенами, PAMP) и запускают врожденный иммунный ответ [7]. Речь идет о Toll- (TLR – Toll-like receptors), NOD- (NLR – Nod-like receptors) и RIG-I-подобных рецепторах (RLR – RIG-I-like receptors). Интересно, что полиморфизмы генов *PRR* вовлечены в патогенез различных аутоиммунных и воспалительных заболеваний, включая АтД. Так, в некоторых работах установлена связь между полиморфизмами в генах *TLR2*, *TLR9* и развитием АтД [8, 9].

К настоящему времени в ходе генетических исследований была установлена ассоциация АтД с генами, белковые продукты которых влияют на функции эпителиального барьера, PRR, вовлеченных во взаимодействие с окружающей средой, молекул, участвующих в хоминге Th2-клеток, а также сигнальных молекул, оказывающих влияние на ранние регуляторные Т-клетки [10]. Было проведено несколько полногеномных исследований, однако они не объясняют функциональный вклад большинства выявленных генов, а также не позволяют сделать индивидуальный прогноз течения заболевания [11]. В настоящее время все больше внимания уделяют эпигенетическим факторам (в частности метилированию), ассоциированным с патогенезом atopических заболеваний [12]. Есть основания полагать, что изменения в процессах метилирования наблюдаются у пациентов с АтД. Вероятно, такие эпигенетические механизмы способны влиять на течение и тяжесть проявления заболевания.

Цель данного исследования – проведение комплексного анализа механизмов иммунитета (метилирование; экспрессионный профиль генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*) на локальном и системном уровнях при АтД среднетяжелого и тяжелого течения у детей и подростков.

Материал и методы

Клинический материал от пациентов с atopическим дерматитом среднетяжелой и тяжелой степени. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» (протокол заседания локального совета по этике № 5 от 12 мая 2022 г.). В установленном порядке пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании и согласие на обработку персональных данных, после чего были получены биопсии кожи и образцы крови.

Из ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России был получен клинический материал от 50 пациентов обоих полов от 6 до 18 лет с диагнозом «Атопический дерматит среднетяжелой (SCORAD 25–50) и тяжелой (SCORAD \geq 50) степени». 45 пациентов получали топическую терапию (местные глюкокортикостероиды средней и высокой активности, топические ингибиторы кальциневрина); 5 пациентов проходили системную терапию с применением препарата дупилумаба.

Материалом для исследований послужили биопсии пораженных участков кожи и образцы цельной крови (собраны в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой). От пациентов материал взят до начала лечения; у некоторых пациентов образцы цельной крови взяты после лечения (в день окончания госпитализации). Полученный материал далее использовали при проведении экспериментов. Работа выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова Минобрнауки России. При анализе уровней экспрессии генов в образцах крови в группу «до лечения» вошли 33 пациента, в группу «после лечения» – 22 пациента; группу сравнения составили 17 здоровых доноров. При анализе уровней экспрессии генов в биопсиях кожи группу «до лечения» составили 6 пациентов (в данном случае повторную биопсию не брали), а группу сравнения – 9 здоровых добровольцев.

Анализ экспрессии генов. Из части биопсийного материала в соответствии с инструкцией к коммерческому реагенту «Extract RNA» (Евроген, Россия) была выделена РНК и проведена реакция обратной транскрипции (набор «OT-1», Синтол, Россия). Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из цельной крови методом седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколла ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$). Из них экстрагировали РНК и проводили реакцию обратной транскрипции.

Комплементарная ДНК (кДНК), полученная в ходе реакции обратной транскрипции, использовалась для определения уровня экспрессии выбранных генов (*TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Для этого с по-

мощью программы Primer-BLAST (NCBI) подбирали специфические последовательности для праймеров (Синтол, Россия), комплементарных сайтам определяемых генов. ПЦР-анализ в режиме реального времени проводили на приборе «Rotor-Gene Q» (QIAGEN Hiden, Германия). Реакция проводилась при следующих условиях: 1) 95 °C – 5 мин – 1 цикл; 2) 95 °C – 15 с, 60 °C (или 58 °C) – 50 с – 40 циклов. Обработка полученных данных (*Ct*) проводилась методом $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ относительно уровня экспрессии гена домашнего хозяйства β -актина (*ACTB*) [13].

Секвенирование с применением технологии Oxford Nanopore. Для полногеномного исследования метилома были взяты образцы от пациента и здорового донора. Из биопсии кожи была выделена геномная ДНК (Monarch Genomic DNA purification kit, New England Biolabs, США). Качество и концентрацию полученной ДНК оценивали при помощи спектрофотометра (NanoDrop 2000, Thermo Fisher, США).

Для проведения секвенирования использовался секвенатор III поколения MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания), позволяющий делать прямое прочтение цепей ДНК в онлайн-режиме. Использовался протокол лигирования ДНК (№ SQK-LSK109), (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Его основные этапы – восстановление концов высокомолекулярной ДНК (образца), восстановление ее целостности, лигирование белков-адаптеров и загрузка готового образца в прибор [14]. Использовались проточные ячейки для секвенирования SpotON Flow Cell (R9.4.1) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания).

Для обработки считываний нанопор в формате FASTA5 был использован пакет MEGALODON (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Далее данные были сопоставлены с эталонным геномом человека. После предварительной обработки данных с помощью программы русоMeth (Германия) сравнивали уровень метилирования между образцами пораженной и здоровой кожи, в ходе чего был получен интерактивный HTML-отчет для наиболее значимых дифференциально метилированных участков [15].

Статистический анализ полученных данных проводили в несколько этапов в программе MS Excel. В случае анализа экспрессии генов были посчитаны медианы значений $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ для каждого ряда данных с учетом типа клинического материала и периодом его забора. На основании этих данных строили графики медианных значений относительного уровня экспрессии каждого гена. Были построены диаграммы размаха (box-plots) для визуального представления групп числовых данных через квартили. Бокс-диаграммы размаха показывают квартили Q1 и Q3, линия между которыми обозначает медиану, а «планки» указывают на степень разброса данных. Статистическую достоверность между группами данных рассчитывали при помощи непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни, а также *H*-теста Краскела–Уоллиса.

Полногеномный анализ метилирования ДНК осуществлялся при помощи программы русоMeth 0.4.25 (Германия). При оценке дифференциально метилированных участков применялся тест логарифмического отношения правдоподобия, встроенный в данную программу.

Результаты

Данные по экспрессии генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*

В этом разделе представлены медианные значения относительных уровней экспрессии генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13* в крови (МНК) и в коже у пациентов с АтД и у здоровых доноров. Поскольку предварительное сравнение уровней экспрессии определяемых генов между пациентами данной выборки со среднетяжелым и тяжелым течением достоверной разницы не показало, было принято решение объединить их в одну группу. Уровни экспрессии по всем 4 генам представлены в относительных единицах: пациенты до и после лечения относительно группы здоровых индивидуумов (группы сравнения). Массивом данных послужили значения $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ каждой группы.

В случае анализа экспрессионных данных по коже в 2 независимых выборках для оценки различий применялся *U*-критерий Манна–Уитни ($p \leq 0,05$). В отношении данных по крови применялся иной подход: поскольку исследуемые группы являются независимыми, а данные имеют ненормальное распределение, для проверки нулевой гипотезы о равенстве медианных значений уровней экспрессии описываемых генов у пациентов с АтД и здоровых доноров использовался *H*-критерий Краскела–Уоллиса [16]. При сравнении 3 групп критический уровень значимости уменьшился ($p \leq 0,017$). Расчеты осуществлялись с помощью онлайн-калькулятора [17]. Парные сравнения групп также проводили при помощи *U*-критерия Манна–Уитни.

На рис. 1 представлены уровни экспрессии гена *TLR2* у пациентов с АтД по отношению к группе сравнения в крови и в коже. Как видно из представленных графиков, экспрессия *TLR2* снижена у пациентов с АтД на локальном уровне: медианные значения составляют 0,2 и 1 в группе пациентов и у здоровых доноров соответственно ($p \leq 0,05$). На системном уровне, наоборот, наблюдается значительное повышение этого показателя как до терапии, так и после нее по отношению к группе сравнения (*H*-критерий = 23,02; 2, $n = 72$; $p = 0,00001$). Медианы в таком случае равны 2957,2; 75,6; 8,3 в группах до лечения, после лечения и в группе сравнения соответственно. Есть тенденция к снижению экспрессии *TLR2* с учетом терапии у пациентов с АтД, хотя статистической достоверности между этими группами не выявлено.

При анализе данных по гену *TLR9* наблюдается сходная с *TLR2* картина. В коже уровень экспрессии этого гена снижен примерно в 4 раза: медианные значения в группе пациентов и в группе сравнения составляют 0,1 и 1,8 соответственно ($p \leq 0,05$). В крови экспрессия

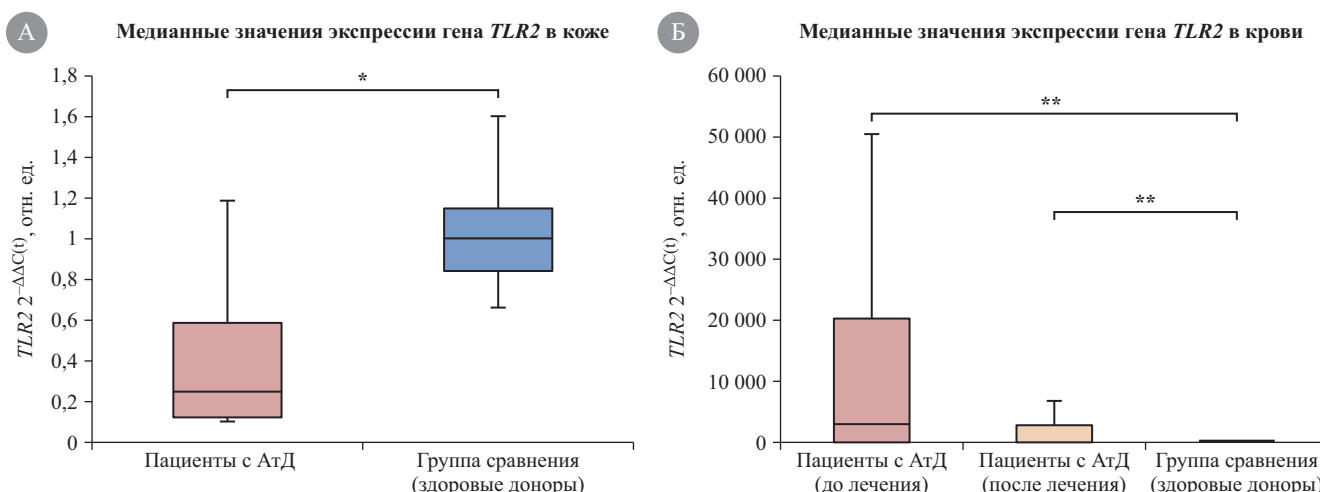


Рис. 1. Уровень экспрессии гена *TLR2* (отн. ед.) в коже (А) и мононуклеарных клетках (МНК) (Б) пациентов с atopическим дерматитом (АтД) по отношению к группе сравнения

Медианные значения $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ для группы сравнения в коже и МНК равны 1. Здесь и на рис. 2–4: значимые отличия между группами по U-критерию Манна–Уитни: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,017$.

этого показателя независимо от лечения превышает медианные значения группы сравнения. Медианы в группе до лечения, после лечения и в группе сравнения равны соответственно 588, 165 и 1,3 (рис. 2). *H*-критерий = 28,3; 2, $n = 72$; $p < 0,00001$.

На рис. 3 и 4 представлены уровни экспрессии генов *IL4* и *IL13* у пациентов с АтД. Экспрессия гена *IL4* у пациентов оказалась снижена примерно в 4 раза до лечения на локальном уровне: об этом свидетельствуют медианные значения, равные 0,2 и 0,9 соответственно в группе пациентов с АтД и в группе сравнения ($p \leq 0,01$). В случае гена *IL13* картина визуально схожа с результатами по гену *IL4*, однако при данном варианте в коже уровни медиан у пациентов и у здоровых доноров

практически не отличаются (1,5 и 1,3 соответственно), поэтому такая зависимость не имела статистической значимости. В МНК уровень обоих интерлейкинов значительно повышен ($p \leq 0,017$) как в группе до лечения, так и в группе после лечения по отношению к группе сравнения. Так, для групп пациентов до, после лечения и у здоровых индивидуумов медианные значения экспрессии *IL4* равны 455; 138,3; 0,4, а для *IL13* – 148; 16,4; 0,3 соответственно. *H*-критерий для *IL4* равен 30,5; 2, $n = 72$; $p < 0,00001$, а для *IL13* равен 31,4; 2, $n = 72$; $p < 0,00001$. В то же время при визуальном сравнении групп пациентов отмечается тенденция к снижению обоих показателей на фоне терапии, однако достоверной разницы в таком случае не выявлено.

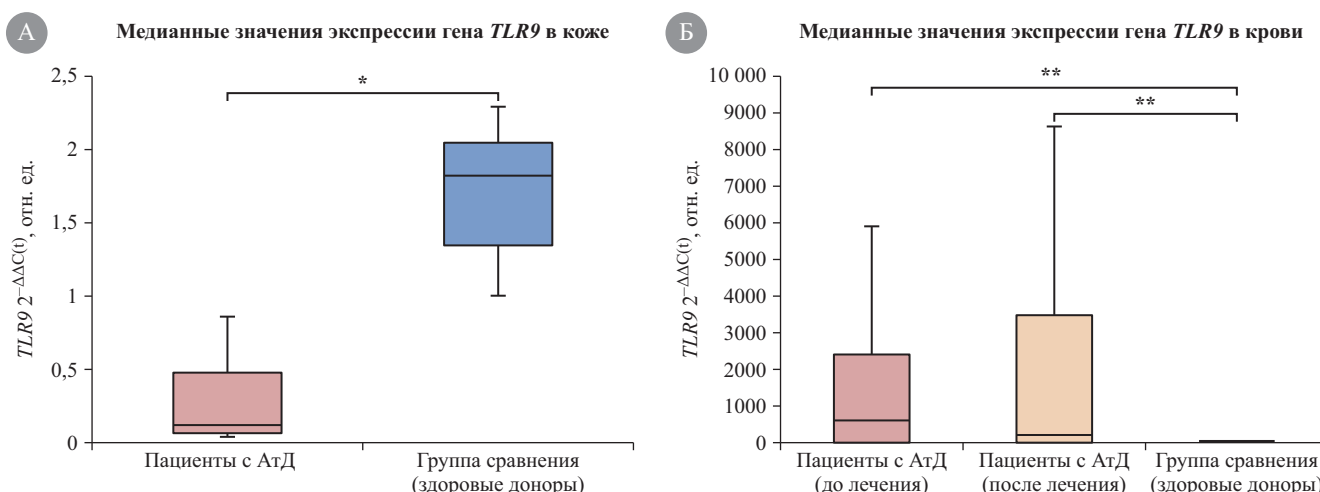


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *TLR9* (отн. ед.) в коже (А) и мононуклеарных клетках (МНК) (Б) пациентов с atopическим дерматитом (АтД) по отношению к группе сравнения

Медианные значения $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ для группы сравнения в коже и МНК равны 1,8 и 1,3 соответственно.

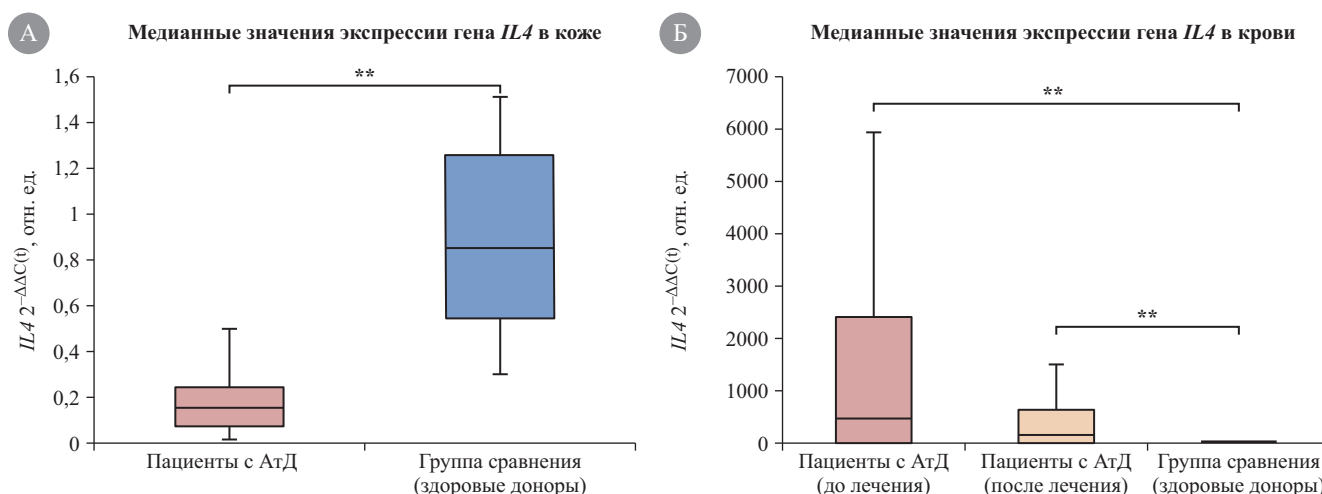


Рис. 3. Уровень экспрессии гена *IL4* (отн. ед.) в коже (А) и мононуклеарных клетках (МНК) (Б) пациентов с атопическим дерматитом (АтД) по отношению к группе сравнения

Медианные значения $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ для группы сравнения в коже и МНК равны 0,9 и 0,4 соответственно.

Данные по метилированию

Подобные данные по экспрессии некоторых генов, которые, в частности, показаны в предыдущем разделе, потенциально могут быть связаны с эпигенетическими модификациями, например, с метилированием некоторых участков генома. В этом предварительном исследовании в ходе обработки данных по коже было выявлено 44 дифференциально метилированных CpG-участка, 17 из них можно считать значимыми (согласно значениям p). Критерий значимости p устанавливался программой автоматически, с учетом того, что результаты сравнивали по 2 вариантам – пациенты и здоровые. На 1-м этапе обработки данных при сравнении 2 образцов пораженной (АтД) и здоровой кожи выявлено 16 участков, которые

были четко деметилированы в здоровой коже и метилированы в пораженной. На рис. 5А представлены общие данные по количеству метилированных CpG-участков по категориям для каждого типа образца в виде тепловой диаграммы. Здесь для каждой пары участков даны медианные показатели логарифмического отношения правдоподобия (Log Likelihood Ratio – LLR). Градиент цвета на диаграмме тем ярче, чем больше разница в этих показателях. Значения медиан для каждой области по образцам представлены непосредственно на диаграмме.

Диаграммы распределения метилирования CpG-участков по образцам представлены на рис. 5Б. Бокс-диаграммы размаха (представлен горизонтально на оси абсцисс) показывает квантили Q1 и Q3, а линия между

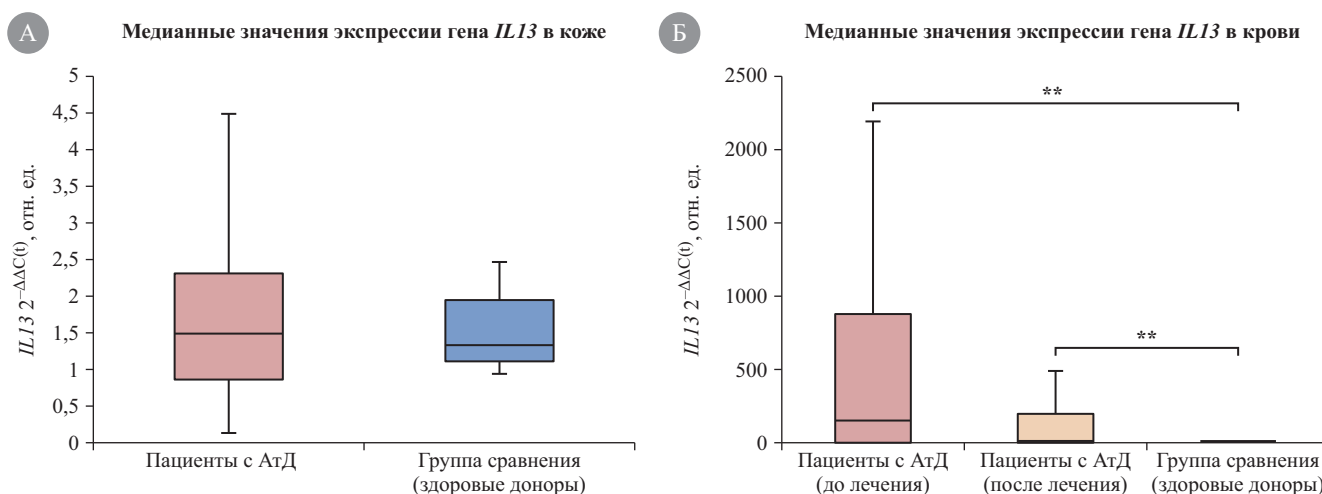


Рис. 4. Уровень экспрессии гена *IL13* (отн. ед.) в коже (А) и мононуклеарных клетках (МНК) (Б) пациентов с атопическим дерматитом (АтД) по отношению к группе сравнения

Медианные значения $2^{-\Delta\Delta C(t)}$ для группы сравнения в коже и МНК равны 1,3 и 0,3 соответственно.

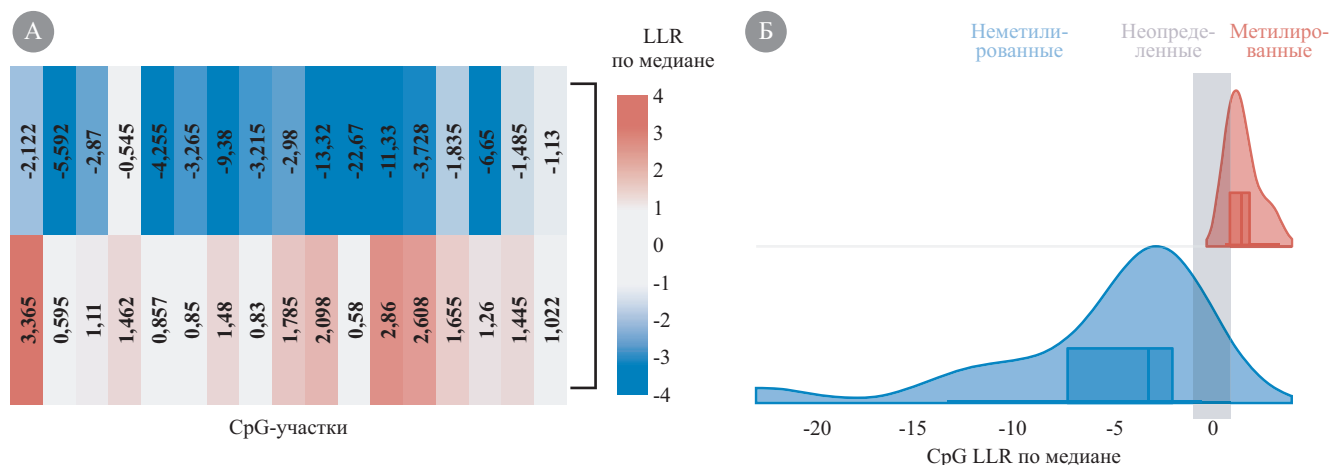


Рис. 5. Медианное значение логарифмического отношения правдоподобия для метилирования по образцам (А). Распределение метилированных/неметилированных CpG-участков для каждой категории образцов (Б)

Данные по образцу пораженной кожи представлены красным цветом, по образцу здоровой кожи – синим.

ними обозначает медиану; планки, или линии, идущие от бокса в разные стороны, указывают на степень разброса данных. Данные также представляют собой значения логарифмического отношения правдоподобия. Так, для 1-го образца минимальное значение логарифмического отношения правдоподобия составило -22,7, а максимальное – -0,5. Медиана равна -3,3; Q1 и Q3 – -7,3 и -2,1 соответственно. Для 2-го образца максимальное значение равно 3,4, а минимальное -0,6. Медиана – 1,4445; Q1 и Q3 – 0,9 и 1,9 соответственно. Область с неопределенными данными представлена серым прямоугольником, указывающим на пересечение значений в этой области по 2 категориям образцов.

Обсуждение

Экспрессионные профили генов *TLR2*, *TLR9*, *IL4*, *IL13*

Известно, что продукты гена *TLR2* участвуют в воспалительных процессах кожи. Эти рецепторы экспрессируются в клетках врожденного (дендритные клетки, макрофаги) и адаптивного (Т- и В-клетки) иммунитета, а также в кератиноцитах. Баланс микробиоты кожи у пациентов с АтД зачастую нарушается по причине лихенизации эпидермиса, повышения pH. *TLR2* распознают грам-положительные бактерии (в частности *S. aureus*). В работе K. Iwamoto с соавт. было показано значительное снижение экспрессии *TLR2* в эпидермальных клетках Лангерганса у пациентов с АтД по сравнению со здоровыми людьми [18]. В исследовании D. Jiao и соавт. была показана связь между стимуляцией NOD2/TLR2 и активацией базофилов и эозинофилов посредством взаимодействия с дермальными фибробластами [19].

Участие гена *TLR9* в патогенезе АтД также связано с измененной микробиотой кожи. Данный рецептор в основном экспрессируется в эндосомах, лизосомах клеток, в частности кератиноцитов кожи [20]. Дендрит-

ные клетки способны захватывать *S. aureus*, вызывая при этом индукцию цитокинов через *TLR9*. Было также доказано, что полиморфизм гена *TLR9* в промоторной области со значительно повышенной активностью были связаны с развитием АтД [8]. В исследовании M. Morigaki было показано, что *S. aureus* при АтД захватывался лизосомами кератиноцитов, что приводило к *TLR9*-опосредованной секреции провоспалительного цитокина ИЛ-1α [21].

Полученные нами данные об экспрессии генов описываемых рецепторов могут свидетельствовать о том, что на системном уровне имеет место активация структур врожденного иммунитета. Уровень экспрессии генов *TLR2* и *TLR9* в МНК значимо повышался в группах пациентов до и после лечения при сравнении со здоровыми людьми. АтД в стадии обострения имеет свой уникальный иммунологический профиль, который характеризуется активацией экспрессии генов *TLR2* и *TLR9* в клетках крови. Это, по всей видимости, обеспечивает в организме системную защиту, являясь компенсаторным механизмом, способствующим продукции широкого спектра цитокинов, хемокинов, антимикробных пептидов и костимулирующих факторов [22]. При применении терапии уровень экспрессии гена *TLR2* имеет тенденцию к снижению. Локально, в пораженной коже, наоборот, уровни экспрессии генов были ниже, чем в здоровой коже ($p \leq 0,05$) в 5 и 18 раз для генов *TLR2* и *TLR9* соответственно, что может свидетельствовать о нарушении защитной функции соответствующих рецепторов в очаге воспаления и способствовать присоединению инфекции.

ИЛ-4 и ИЛ-13 относятся к Th2-цитокинам. Их роль в патогенезе АтД доказана. Эти цитокины играют центральную роль в поддержании воспаления при АтД и являются мишенями при лечении дупилумабом, при-

менение которого приводит к блокированию молекул, участвующих в воспалительной реакции, проходящей по Th2-типу [23].

Опираясь на наши данные по экспрессии генов интерлейкинов в образцах, полученных из крови пациентов, можно заключить, что в данной выборке преобладает Th2-иммунный ответ. По отношению к группе сравнения в группе пациентов с АтД до лечения уровень экспрессии генов интерлейкинов значительно повышен ($p \leq 0,017$): более чем в 1000 раз для *IL4* и в 500 раз для *IL13*. Известно, что при АтД в стадии обострения в кожном воспалительном инфильтрате также отмечается повышение уровня Th2-клеток [6]. В нашем случае повышения уровня соответствующих интерлейкинов в коже не обнаружено, вероятно, из-за того, что от начала обострения прошло очень мало времени и инфильтрат не сформировался.

Нужно отметить, что в целом сниженные значения экспрессии изученных генов в коже могут свидетельствовать о супрессии иммунных факторов в кератиноцитах, а одной из вероятных причин таких изменений может быть метилирование определенных участков этих генов.

Метилирование

Метилирование ДНК – эпигенетический механизм, с помощью которого регулируется экспрессия генов без изменений нуклеотидной последовательности. Этот процесс способствует риску возникновения и развития сложных заболеваний с вовлечением аутоиммунных и воспалительных реакций [24].

Пока имеется не так много данных по полногеномному метилированию ДНК [25]. Han J. и соавт. провели исследование профиля метилирования полногеномной ДНК наивных CD4⁺-Т-клеток у пациентов с АтД. Гипометилирование ДНК (более чем в 4 раза) было обнаружено в образцах Т-клеток, выделенных от пациентов с псориазом и здоровых людей, в 26 областях генома. Эти данные впервые указывают на важность таких изменений в развитии иммуноопосредованных кожных заболеваний [26].

Исследовательской группой E. Rodríguez и соавт. была проверена ДНК цельной крови, Т- и В-клеток, а также пораженного и непораженного эпидермиса пациентов с АтД и здоровых людей из группы сравнения с применением HumanMethylation27 BeadChip [27]. При сравнении сходной ткани у разных индивидуумов для различных сайтов CpG уровень метилирования в них частично коррелировал с измененными уровнями транскриптов генов, главным образом относящихся к процессам дифференцировки эпидермиса и реакциям врожденного иммунитета. Таким образом, данное исследование подтверждает высокий уровень тканеспецифичности паттернов ДНК-метилирования.

О.Ю. Олисовой и соавт. проведено полногеномное исследование метилирования ДНК с использованием технологии Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip. При сравнении пораженной дерматитом

кожи с кожей здоровых доноров были выделены дифференциально метилированные гены областей *TSS200* и *TSS1500*, белковые продукты которых были вовлечены в патогенез АтД и связанные с ним процессы: биосинтез стероидных гормонов и клеточный метаболизм (*HSD17B14*, *HSD17B*), дифференцировку эпителия (*KRT31*, *LCE3D*), регуляцию ДНК-зависимой транскрипции и РНК-процессинга (*DMBX1*, *MTO1*, *SNORD93*, *WDR36*), иммунный ответ и активацию лимфоцитов (*AIM2*, *CD300E*, *CLEC1A*, *DEFB135*, *IL23A*), активацию трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (*LTBP1*), клеточную пролиферацию и апоптоз (*SERPINE3*, *EPR1*) [28].

CpG-островки – это участки генома, содержащие большое количество динуклеотидных повторов CpG. Они расположены внутри промоторных областей и рядом с ними примерно в 40 % генов млекопитающих. Динуклеотиды в кластерах CpG обычно деметилированы, и это важная особенность промоторных областей генов, связанная с контролем экспрессии.

Представленные нами данные по изучению метилирования являются первым этапом обработки результатов, полученных в ходе сравнения 2 вариантов образцов кожи: пораженной и здоровой. В целом в образцах здоровой кожи деметилированных, или активных, участков больше, чем в образцах пораженной кожи. Можно предположить, что процессы регуляции экспрессии генов при патологии несколько искажаются, и в сходных с группой сравнения случаях имеет место подавление экспрессии генов.

В нашей работе были показаны изменения уровня метилирования не точно по отдельным генам, а по CpG-участкам. Мы предполагаем, что это говорит о более постоянном характере таких изменений, поскольку единичные случайные модификации могут не нести функциональной значимости в патогенезе заболевания.

При данной нозологии изменения уровня метилирования в коже могут быть информативны и вносить определенный вклад в экспрессию ряда генов. Следующим нашим шагом к пониманию роли метилирования в патогенезе АтД будет служить определение конкретных генов в найденных участках и каскадов регуляции, в которых они задействованы, а также попытка объяснить связь между значениями уровней экспрессии изучаемых генов и вероятными эпигенетическими изменениями, затрагивающими их.

Заключение

Итак, выявление ассоциации эпигенетических и иммунологических маркеров с риском развития и тяжестью течения АтД позволит создать новые прогностические подходы при ведении пациентов с atopической патологией. Есть основания рассчитывать, что выяснение механизмов эпигенетической регуляции при АтД позволит выявить мишени для таргетного терапевтического воздействия. В связи с этим важно иметь полное представление о патогенетических механизмах аллергического заболевания.

■ Литература

1. Российское общество дерматовенерологов и косметологов; Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов; Союз педиатров России. Атопический дерматит: Клинические рекомендации. 2020. URL: https://www.nrcii.ru/specialistam/klinrecommend/atopic_dermatitis_2020.pdf.
2. Luger T., Adaskevich U., Anfilova M., Dou X., Murashkin N.N., Namazova-Baranova L., Nitochko O., Reda A., Svyatenko T. V., Tamay Z., Tawara M., Vishneva E. A., Vozianova S., Wang H., Zhao Z. Practical algorithm to inform clinical decision-making in the topical treatment of atopic dermatitis. *J. Dermatol.* 2021; 48 (8): 1139–48. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/1346-8138.15921>
3. Tham E.H., Leung D.Y. Mechanisms by which atopic dermatitis predisposes to food allergy and the atopic march. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019; 11 (1): 4–15. DOI: <https://www.doi.org/10.4168/air.2019.11.1.4>
4. Кубанов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Хаитов Р.М., Ильина Н.И., Алексеева Е.А., Амбарцян Э.Т., Артемьева С.И., Аршинский М.И., Астафьева Н.Г., Вишнева Е.А., Волнухин В.А., Данилычева И.В., Елисютина О.Г., Епишев Р.В., Жестков А.В., Жилова М.Б., Жукова О.В., Заславский Д.В., Знаменская Л.Ф., Карамова А.Э., Короткий Н.Г., Кохан М.М., Круглова Л.С., Кунгуров Н.В., Левина Ю.Г., Львов А.Н., Материкин А.И., Мишина О.С., Монахов К.Н., Мурашкин Н.Н., Ненашева Н.М., Пампура А.Н., Плахова К.И., Потеев Н.Н., Прутило О.А., Разноватский К.И., Сапунцова С.Г., Селимзянова Л.Р., Скороходкина О.В., Феденко Е.С., Фомина Д.С., Фриго Н.В., Фролова З.В., Хаитов М.Р., Чикин В.В. Атопический дерматит. Клинические рекомендации. Российский аллергологический журнал. 2021; 18 (3): 44–92. DOI: <https://www.doi.org/10.36691/RJA1474>
5. Елисютина О.Г., Феденко Е.С., Болдырева М.Н., Гудима Г.О. Особенности иммунного ответа и роль некоторых цитокинов при atopическом дерматите. Российский аллергологический журнал. 2015. № 1. С. 3–14.
6. Ahn K., Kim B.E., Kim J., Leung D.Y. Recent advances in atopic dermatitis. *Curr. Opin. Immunol.* 2020; 66: 14–21. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.coi.2020.02.007>
7. Sun L., Liu W., Zhang L.-J. The role of toll-like receptors in skin host defense, psoriasis, and atopic dermatitis. *J Immunol Res.* 2019; 2019:1824624. DOI: <https://www.doi.org/10.1155/2019/1824624>
8. Novak N., Yu C.-F., Bussmann C., Maintz L., Peng W.-M., Hart J., Hagemann T., Diaz-Lacava A., Baurecht H.J., Klopp N., Wagenpfeil S., Behrendt H., Bieber T., Ring J., Illig T., Weidinger S. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema: TLR9 polymorphisms and atopic eczema. *Allergy.* 2007; 62 (7): 766–72. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01358.x>
9. Potaczek D., Nastalek M., Okumura K., Wojas-Pelc A., Undas A., Nishiyama C. An association of TLR2-16934A>T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis: TLR2-16934A>T polymorphism and AD severity/phenotype. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2011; 25 (6): 715–21. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03812.x>
10. Елисютина О.Г., Феденко Е.С., Болдырева М.Н., Гудима Г.О. Генетические аспекты иммунопатогенеза atopического дерматита. *Иммунология.* 2015; 36 (2): 122–8.
11. Ghosh D., Bernstein J.A., Khurana Hershey G.K., Rothenberg M.E., Mersha T.B. Leveraging multilayered «omics» data for atopic dermatitis: a road map to precision medicine. *Front. Immunol.* 2018; 9: 2727. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2018.02727>
12. Тимошенко Д.О., Кофиади И.А., Гудима Г.О., Курбачева О.М. Эпигенетика бронхиальной астмы. *Иммунология.* 2021; 42 (2): 93–101. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-93-101>
13. 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; 25(4): 402–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
14. Ligation sequencing gDNA (SQK-LSK109). URL: <https://nanoporetech.com/community>
15. PycoMeth. URL: <https://a-slide.github.io/pycoMeth/>
16. Унгуряну Т.Н., Гржибовский А.М. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса в программе Stata. *Экология человека.* 2014; (6): 55–8.
17. Kruskal-Wallis Test Calculator. URL: <https://www.socscistatistics.com/tests/kruskal/default.aspx>
18. Iwamoto K., Nümm T.J., Koch S., Herrmann N., Leib N., Bieber T. Langerhans and inflammatory dendritic epidermal cells in atopic dermatitis are tolerized toward TLR2 activation. *Allergy.* 2018; 73 (11): 2205–13. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/all.13460>
19. Jiao D., Wong C.-K., Qiu H.-N., Dong J., Cai Z., Chu M., Hon K. L., Tsang M.S., Lam C.W. NOD2 and TLR2 ligands trigger the activation of basophils and eosinophils by interacting with dermal fibroblasts in atopic dermatitis-like skin inflammation. *Cell Mol. Immunol.* 2016; 13 (4): 535–50. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/cmi.2015.77>
20. Меркушова Е.Д., Хасанова Е.М., Ганковская Л.В. Гиперэкспрессия генов инфламасомного комплекса NLRP1 и цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-18 в биоптатах пораженной и непораженной кожи больных с псориазом. *Иммунология.* 2021; 42 (1): 21–8. DOI: <https://www.doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-21-28>
21. Moriaki M., Iwamoto K., Niitsu Y., Matsushima A., Yanase Y., Hisatsune J., Sugai M., Hide M. Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1α secretion via TLR9. *Allergy.* 2019; 74 (3): 560–71. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/all.13622>
22. Yu Y., Lin D., Cai X., Cui D., Fang R., Zhang W., Yu B., Wang X. Enhancement of chemokine mRNA expression by toll-like receptor 2 stimulation in human peripheral blood mononuclear cells of patients with atopic dermatitis. *Biomed Res. Int.* 2020; 2020: 1497175. DOI: <https://www.doi.org/10.1155/2020/1497175>
23. Ricciardolo F.L.M., Bertolini F., Carriero V. The role of dupilumab in severe asthma. *Biomedicine.* 2021; 9 (9): 1096. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/biomedicine9091096>
24. Козлов В.А. Метилирование ДНК клетки и патология организма. Медицинская иммунология. 2008; 10 (4-5): 307–18. DOI: <https://www.doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-307-318>
25. Sobolev V., Bystritskaya E., Svitich O. Epigenetic studies of atopic dermatitis. In: atopic dermatitis – essential issues. Pereira C., ed. IntechOpen, 2021. DOI: <https://www.doi.org/10.5772/intechopen.94092>
26. Han J., Park S.G., Bae J.B., Choi J., Lyu J.M., Park S.H., Kim H.S., Kim Y.J., Kim S., Kim T.Y. The characteristics of genome-wide DNA methylation in naïve CD4⁺ T cells of patients with psoriasis or atopic dermatitis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 422 (1): 157–63. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.04.128>
27. Rodríguez E., Baurecht H., Wahn A.F., Kretschmer A., Hotze M., Zeilinger S., Klopp N., Illig T., Schramm K., Prokisch H., Kühnel B., Gieger C., Harder J., Cifuentes L., Novak N., Weidinger S. An integrated epigenetic and transcriptomic analysis reveals distinct tissue-specific patterns of DNA methylation associated with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (7): 1873–83. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/jid.2014.87>
28. Olisova O.Y., Kochergin N.G., Kayumova L.N., Zavarykina T.M., Dmitriev A.A., Asanov A.Y. Skin DNA methylation profile in atopic dermatitis patients: a case-control study. *Exp. Dermatol.* 2020; 29 (2): 184–9. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/exd.14064>

■ References

1. Atopic dermatitis: clinical recommendations. 2020. URL: https://www.nrcii.ru/specialistam/klinrecommend/atopic_dermatitis_2020.pdf (in Russian)
2. Luger T., Adaskevich U., Anfilova M., Dou X., Murashkin N.N., Namazova-Baranova L., Nitochko O., Reda A., Svyatenko T. V., Tamay Z., Tawara M., Vishneva E. A., Vozianova S., Wang H., Zhao Z. Practical algorithm to inform clinical decision-making in the topical treatment of atopic dermatitis. *J Dermatol.* 2021; 48 (8): 1139–48. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/1346-8138.15921>
3. Tham E.H., Leung D.Y. Mechanisms by which atopic dermatitis predisposes to food allergy and the atopic march. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2019; 11 (1): 4–15. DOI: <https://www.doi.org/10.4168/air.2019.11.1.4>

4. Kubanov A.A., Namazova-Baranova L.S., Khaitov R.M., Ilina N.I., Alekseeva E.A., Ambarchian E.T., Artemieva S.I., Arshinskiy M.I., Astafieva N.G., Vishneva E.A., Volnukhin V.A., Danilicheva I.V., Elisutina O.G., Epishev R.V., Zhestkov A.V., Zhilova M.B., Zhukova O.V., Zaslavsky D.V., Znamenskaya L.F., Karamova A.E., Korotky N.G., Kokchan M.M., Kruglova L.S., Kungurov N.V., Levina J.G., Lvov A.N., Materikin A.I., Mishina O.S., Monakhov K.N., Murashkin N.N., Nenasheva N.M., Pampura A.N., Plakhova X.I., Potekaev N.N., Prytulo O.A., Raznatovskiy K.I., Sapuntsova S.G., Selimzianova L.R., Skorokhodkina O.V., Fedenko E.S., Fomina D.S., Frigo N.V., Frolova Z.V., Khaitov M.R., Chikin V.V. Atopic dermatitis. Russian Journal of Allergy. 2021; 18 (3): 44–92. DOI: <https://www.doi.org/10.36691/RJA1474> (in Russian)
5. Elisutina O.G., Fedenko E.S., Boldyreva M.N., Gudima G.O. Characteristics of immune response and role of cytokines in atopic dermatitis. Russian Journal of Allergy. 2015; (1): 3–14. (in Russian)
6. Ahn K., Kim B.E., Kim J., Leung D.Y. Recent advances in atopic dermatitis. Curr Opin Immunol. 2020; 66: 14–21. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.coi.2020.02.007>
7. Sun L., Liu W., Zhang L.-J. The role of toll-like receptors in skin host defense, psoriasis, and atopic dermatitis. J Immunol Res. 2019; 2019: 1824624. DOI: <https://www.doi.org/10.1155/2019/1824624>
8. Novak N., Yu C.-F., Bussmann C., Maintz L., Peng W.-M., Hart J., Hagemann T., Diaz-Lacava A., Baurecht H.J., Klopp N., Wagenpfeil S., Behrendt H., Bieber T., Ring J., Illig T., Weidinger S. Putative association of a TLR9 promoter polymorphism with atopic eczema: TLR9 polymorphisms and atopic eczema. Allergy. 2007; 62 (7): 766–72. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01358.x>
9. Potaczek D., Nastalek M., Okumura K., Wojas-Pelc A., Undas A., Nishiyama C. An association of TLR2-16934A>T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis: TLR2-16934A>T polymorphism and AD severity/phenotype. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2011; 25 (6): 715–21. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03812.x>
10. Elisutina O.G., Fedenko E.S., Boldyreva M.N., Gudima G.O. Genetic aspects of immunopathogenesis of atopic dermatitis. Immunologiya. 2015; 36 (2): 122–8. (in Russian)
11. Ghosh D., Bernstein J.A., Khurana Hershey G.K., Rothenberg M.E., Merisha T.B. Leveraging multilayered “omics” data for atopic dermatitis: a road map to precision medicine. Front Immunol. 2018; 9: 2727. DOI: <https://www.doi.org/10.3389/fimmu.2018.02727>
12. Timoshenko D.O., Kofiadi I.A., Gudima G.O., Kurbacheva O.M. Epigenetics of bronchial asthma. Immunologiya. 2021; 42 (2): 93–101. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-93-101> (in Russian)
13. 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; 25 (4): 402–8. DOI: <https://www.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
14. Ligation sequencing gDNA (SQK-LSK109). URL: <https://nanoporetech.com/community>
15. PycoMeth. URL: <https://a-slide.github.io/pycoMeth/>
16. Unguryanu T.N., Grjibovski A.M. Analysis of three independent groups using non-parametric Kruskal–Wallis test in stata software. Ekologiya cheloveka. 2014; (6): 55–8. (in Russian)
17. Kruskal-Wallis Test Calculator. URL: <https://www.socscistatistics.com/tests/kruskal/default.aspx>
18. Iwamoto K., Nümm T.J., Koch S., Herrmann N., Leib N., Bieber T. Langerhans and inflammatory dendritic epidermal cells in atopic dermatitis are tolerized toward TLR2 activation. Allergy. 2018; 73 (11): 2205–13. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/all.13460>
19. Jiao D., Wong C.-K., Qiu H.-N., Dong J., Cai Z., Chu M., Hon K. L., Tsang M.S., Lam C.W. NOD2 and TLR2 ligands trigger the activation of basophils and eosinophils by interacting with dermal fibroblasts in atopic dermatitis-like skin inflammation. Cell Mol Immunol. 2016; 13 (4): 535–50. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/cmi.2015.77>
20. Merkusheva E.D., Khasanova E.M., Gankovskaya L.V. Hyperexpression of NLRP1 inflammasome complex genes and cytokines IL-1β, IL-18 in biopsies of lesion and healthy skin of patients with psoriasis. Immunologiya. 2021; 42 (1): 21–8. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-21-28> (in Russian)
21. Moriawaki M., Iwamoto K., Niitsu Y., Matsushima A., Yanase Y., Hisatsune J., Sugai M., Hide M. Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1α secretion via TLR9. Allergy. 2019; 74 (3): 560–71. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/all.13622>
22. Yu Y., Lin D., Cai X., Cui D., Fang R., Zhang W., Yu B., Wang X. Enhancement of chemokine mRNA expression by toll-like receptor 2 stimulation in human peripheral blood mononuclear cells of patients with atopic dermatitis. Biomed Res Int. 2020; 2020: 1497175. DOI: <https://www.doi.org/10.1155/2020/1497175>
23. Ricciardolo FLM., Bertolini F., Carriero V. The role of dupilumab in severe asthma. Biomedicine. 2021; 9 (9): 1096. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/biomedicine9091096>
24. Kozlov V.A. Methylation of cellular DNA and pathology of the organism. Medical Immunology. 2008; 10 (4-5): 307–18. (in Russian)
25. Sobolev V., Bystritskaya E., Svitich O. Epigenetic studies of atopic dermatitis. In: atopic dermatitis – essential issues. Pereira C., ed. IntechOpen. 2021. DOI: <https://www.doi.org/10.5772/intechopen.94092>
26. Han J., Park S. G., Bae J. B., Choi J., Lyu J. M., Park S. H., Kim H. S., Kim Y. J., Kim S., Kim T. Y. The characteristics of genome-wide DNA methylation in naïve CD4⁺ T cells of patients with psoriasis or atopic dermatitis. Biochem Biophys Res Commun. 2012; 422 (1): 157–63. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.04.128>
27. Rodríguez E., Baurecht H., Wahn A.F., Kretschmer A., Hotze M., Zeilinger S., Klopp N., Illig T., Schramm K., Prokisch H., Kühnel B., Gieger C., Harder J., Cifuentes L., Novak N., Weidinger S. An integrated epigenetic and transcriptomic analysis reveals distinct tissue-specific patterns of DNA methylation associated with atopic dermatitis. J Invest Dermatol. 2014; 134 (7): 1873–83. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/jid.2014.87>
28. Olisova O.Y., Kochergin N.G., Kayumova L.N., Zavarykina T.M., Dmitriev A.A., Asanov A.Y. Skin DNA methylation profile in atopic dermatitis patients: A case-control study. Exp Dermatol. 2020; 29 (2): 184–9. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/exd.14064>

Сведения об авторах

Быстрицкая Елизавета Петровна – аспирант, лаб. молекулярной иммунологии, ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова Минобрнауки России, Москва, Российская Федерация
E-mail: lisabystritskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8430-1975>

Мурашкин Николай Николаевич – д-р мед. наук, гл. науч. сотр., проф., зав. отд. дерматологии с группой лазерной хирургии, зав. лаб. патологии кожи у детей отд. научных исследований в педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: m_nn2001@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2252-8570>

Authors' information

Elizaveta P. Bystritskaya – Post Graduate Student, Molecular Immunology Lab., I.I. Mechnikov RIVS of the MSHE of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: lisabystritskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8430-1975>

Nikolay N. Murashkin – MD, PhD., Senior Researcher, Prof., Head of the Dept. of Dermatology, Head of the Lab. of Skin Pathology in Children, Scientific Center for Children's Health, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: m_nn2001@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2252-8570>

Материкин Александр Игоревич – канд. мед. наук, врач-дерматовенеролог отд. дерматологии с группой лазерной хирургии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: al_m86@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6034-8231>

Наумова Елена Александровна – науч. сот. каф. генетики, биологический факультет МГУ им. И.М. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: zverik_n@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5186-1930>

Свитич Оксана Анатольевна – член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., директор ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова Минобрнауки России, проф. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация
E-mail: svitichoa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Alexander I. Materikin – PhD, Dermatovenereologist of the Dept. of Dermatology, Scientific Center for Children's Health, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: al_m86@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6034-8231>

Elena A. Naumova – Researcher of the Genetics Chair, M.V. Lomonosov MSU, Moscow, Russian Federation
E-mail: zverik_n@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5186-1930>

Oksana A. Svitich – Corr. Member of RAS, MD, PhD, Prof., Director of I.I. Mechnikov RIVS of the MSHE of Russia; Prof. of the Microbiology, Virology and Immunology Chair, I.M. Sechenov 1st MSMU of the MOH of Russia (Sechenov University), Moscow, Russian Federation
E-mail: svitichoa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>