

**УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *FOXP3* В КРОВИ
БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЁГКИХ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ
ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Малышева И. Е.^{1, 2},

Топчиева Л. В.²,

Балан О. В.^{1, 2},

Курбатова И. В.²,

Тихонович Э. Л.³

¹ Центр медико-биологических исследований Карельского научного центра Российской академии наук» (ЦМБИ КарНЦ РАН), г. Петрозаводск, Россия.

² Институт биологии - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", г. Петрозаводск, Россия.

³ Республиканская больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия.

**CYTOKINE LEVELS AND *FOXP3* GENE EXPRESSION IN THE BLOOD
OF PATIENTS WITH VARIOUS STAGE OF PULMONARY
SARCOIDOSIS**

Malysheva I. E. ^{a, b},

Topchieva L. V. ^b,

Balan O. V. ^{a, b},

Kurbatova I. V. ^b

^a Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences (KarRC RAS), Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russia.

^b Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia.

^c Republican Hospital named after. V. A. Baranov, Petrozavodsk, Russia.

Резюме

Содержание цитокинов может быть связано с уровнем воспаления, клинической картиной заболеваний. **Цель исследования** заключалась в оценке содержания $\text{TNF}\alpha$, sTNFR II , IL-1 β , IL-10 в плазме крови и количества транскриптов гена *FOXP3* в лейкоцитах периферической крови, у больных при разных клинических формах течения саркоидоза легких. **Материалы и методы.** В исследование включены больные саркоидозом лёгких (СЛ) с II-ой стадией развития заболевания, имеющие хроническое (ХСЛ), прогрессирующее (ПСЛ) и активное течение (АСЛ) заболевания. Контрольная группа сформирована условно здоровыми донорами. Содержание цитокинов ($\text{TNF}\alpha$, sTNFR II , IL-1 β , IL-10) в плазме крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ) была использована для анализа экспрессии гена *FOXP3* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК). **Результаты исследования.** Высокие уровни $\text{TNF}\alpha$ и его рецепторов II типа (sTNFR II) были обнаружены в плазме крови больных ПСЛ и АСЛ в сравнении с пациентами ХСЛ ($p=0,026$, $p=0,032$ и $p=0,001$, $p=0,001$ соответственно). У пациентов с активной формой течения заболевания (АСЛ) концентрация IL-1 β в плазме крови была выше, чем у пациентов с хроническим (ХСЛ) и прогрессирующим (ПСЛ) саркоидозом ($p<0,001$ и $p=0,002$, соответственно). Уровень IL-10 в плазме крови больных всех исследуемых групп (ХСЛ, ПСЛ и АСЛ) был ниже, чем у здоровых индивидов ($p=0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$, соответственно). Снижение количества транскриптов гена *FOXP3* выявлено в ЛПК больных ПСЛ и АСЛ ($p=0,001$ при сравнении со здоровыми индивидами и больными ХСЛ).

Заключение. Уровень цитокинов у больных саркоидозом лёгких определяется клинической картиной заболевания. Повышение уровня провоспалительных факторов в плазме крови ($\text{TNF}\alpha$, sTNFR II , IL-1 β), а также снижение экспрессии гена *FOXP3* и содержания IL-10 может

свидетельствовать об усилении воспалительных реакций у больных саркоидозом лёгких с прогрессирующим и активным течением заболевания.

Для уточнения клинической картины заболевания важное значение имеет информация о динамике молекулярных биомаркеров, отражающих степень развития воспаления при саркоидозе лёгких. Эта информация также необходима для назначения и коррекции проводимой терапии. Кроме того, результаты проведенного исследования могут быть использованы для изучения патогенетических механизмов развития и прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: саркоидоз лёгких, воспаление, транскрипционный фактор, содержание цитокинов, ген FOXP3, экспрессия.

Abstract

The cytokine concentration may be related to the level of inflammation and clinical features of diseases. **The study** was **aimed** to evaluate blood plasma level for TNF α , sTNFR II , IL-1 β , IL-10 and FOXP3 gene expression in patients with different clinical forms of pulmonary sarcoidosis. **Materials and methods.** Patients with pulmonary sarcoidosis (PS) enrolled in the study were characterized by chronic (CPS), progressive (PPS) and active (APS) forms at PS stage 2. Control group was formed by conditionally healthy individuals. The cytokine (TNF α , sTNFR II , IL-1 β , IL-10) concentration was examined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to analyze *FOXP3* gene expression in peripheral blood leukocytes (PBL). **Results of the study.** The high levels of plasma TNF α and sTNFR II were detected in patients with PSL and ASL vs. CSL ($p=0.0263$, $p=0.0321$ and $p=0.0012$, $p=0.0009$, respectively). Concentration of IL-1 β was higher in ASL rather than in CSL and PSL ($p=0.0002$ and $p=0.0020$, respectively). The IL-10 plasma level in patients from all studied groups (CSL, PSL and ASL) was lower compare to healthy individuals ($p=0.0009$, $p=0.00009$, $p=0.0004$, respectively). A decreased number of PBL FOXP3 gene transcripts was found in patients with PSL and ASL ($p=0.0008$ compared with healthy individuals and CSL patients). **Conclusion.** The level of cytokines in patients with pulmonary sarcoidosis is determined by disease clinical features. Upregulated proinflammatory factor (TNF α , sTNFR II , IL-1 β) level as well as downregulated *FOXP3* gene expression and the IL-10 concentration may suggest about potentiated inflammatory reactions in patients with progressive and active pulmonary sarcoidosis. To clarify disease clinical presentation, it is crucial to gain more information about the molecular biomarker dynamics mirroring magnitude of inflammation in pulmonary sarcoidosis. In addition, it is also required to propose proper therapy and its refinement. Moreover, the data obtained can be used to assess pathogenetic mechanisms underlying disease development and progression.

Keywords: pulmonary sarcoidosis, inflammation, chronic course of the disease, cytokine content, peripheral blood leukocytes, FOXP3 gene, expression.

1 Введение

Процесс воспаления играет важную роль в патогенезе многочисленных заболеваний, в том числе саркоидоза лёгких. Это системное иммуновоспалительное заболевание неустановленной этиологии, характеризующееся образованием эпителиоидно-клеточных гранулём в различных органах, преимущественно в лёгких. Предполагают, что образование саркоидных гранулём происходит у генетически восприимчивых людей под влиянием неустановленных средовых факторов, чужеродных или собственных антигенов. Полагают, что инфекционные агенты, такие как *Mycobacterium tuberculosis* и *Propionibacterium acnes*, являются наиболее вероятными возбудителями данного заболевания [9, 16]. В формировании саркоидных гранулём, а также в развитии и поддержании воспалительного процесса, ключевую роль играют провоспалительные цитокины. Считается, что TNFα является основным цитокином при данном заболевании, поскольку он непосредственно вовлечён как в образование, так и в поддержание саркоидных гранулём [3]. Важным источником этого цитокина в лёгких являются альвеолярные макрофаги и T-лимфоциты, активация которых влияет на накопление клеток моноцитов-макрофагов, что играет важную роль в образовании гранулём [44]. Показано, что высокий уровень TNFα связан с прогрессированием саркоидоза лёгких и колеблется в зависимости от активности заболевания [35, 25]. Провоспалительный эффект, который оказывает TNFα, зависит от связывания его со своими рецепторами – рецепторы типа I (TNFR1; TNFR1) и типа II (TNFR2; TNFR2) [4, 12]. В зависимости от наличия того или иного внутриклеточного домена, надсемейство TNFR-рецепторов можно разделить на две подгруппы: рецепторы смерти (TNFR1), которые содержат в структуре рецептора домен смерти DD (Death Domain) и активирующие (TNFR2), которые не содержат указанный домен [11]. Взаимодействие TNFα с рецепторами TNFR опосредует секрецию цитокинов, выживание клеток, развитие процессов апоптоза [30].

Биологическая активность указанных рецепторов зависит от содержания в плазме или других жидкостях организма их растворимых форм. Растворимые рецепторы связываются с мембрано-связанными, таким образом, ингибируя или снижая силу сигнала, связанного с регуляцией выживания клеток [30]. У больных саркоидозом лёгких, по сравнению со здоровыми людьми, содержание sTNFR^{II} в плазме повышено, в то время как концентрация sTNFR^I не отличается [22]. У пациентов без острых симптомов саркоидоза, пациентов с рентгенологической стадией II/III, а также у пациентов с дальнейшим прогрессированием заболевания отмечена тенденция к повышению уровня sTNFRs в сыворотке крови по сравнению с пациентами с синдромом Лёфгрена и рентгенологической стадией I, а также пациентами со спонтанным разрешением саркоидоза. К числу провоспалительных цитокинов, вовлечённых в патогенез саркоидоза лёгких, относятся белки семейства IL-1, ключевые модуляторы воспаления [5]. Цитокин IL-1 индуцирует пролиферацию фибробластов, активирует лимфоциты и вызывает образование ряда хемотаксических цитокинов как иммунными, так и неиммунными клетками лёгкого [18]. Среди провоспалительных цитокинов, в патогенез саркоидоза также вовлечены белки IFN- γ , IL-2, IL-17 и другие [6]. При участии цитокинов Th1-типа, происходит необратимое моделирование ткани лёгкого, прогрессирующее формирование лёгочных гранулём [2].

В контроле процесса воспаления, обусловленного действием провоспалительных цитокинов, а также в модулировании иммунного ответа, важную роль играет противовоспалительный цитокин IL-10. Этот цитокин регулирует активность Th-клеток, путём подавления синтеза и секреции провоспалительных цитокинов Th1-лимфоцитами, активированными моноцитами, NK-клетками [32]. В ряде исследований показано, что количество IL-10 повышено в сыворотке крови и в жидкости бронхоалвеолярного лаважа (БАЛ) у больных саркоидозом [27]. Считается, что основными продуцентами IL-10 являются Т-регуляторные клетки (Treg),

основная функция которых в норме, это подавление воспаления и развития аутоиммунных реакций [8]. Регуляторные Т-клетки характеризуются экспрессией гена *FOXP3* (Forkhead box P3), который кодирует транскрипционный фактор, участвующий в регуляции, активации и дифференцировке этих клеток [14]. Установлено, что снижение уровня экспрессии этого гена усиливает аутоиммунные реакции и приводит к нарушению супрессорной функции Treg, превращая их в эффекторные клетки [39]. При саркоидозе легких повышено количество регуляторных Т-клеток (Treg) с фенотипом CD45RO⁺ (Т-клетки иммунологической памяти), активно экспрессирующих CD95 (Fas/APO-1) [7]. Treg в высокой степени экспрессируют рецептор TNFR2 на своей поверхности [38]. В связи с этим, повышение уровня растворимой формы TNFR2 может быть связано с увеличением количества Т-регуляторных клеток при саркоидозе легких.

Таким образом, содержание про- и противовоспалительных цитокинов при саркоидозе легких может меняться в зависимости от клинической картины заболевания, характера воспаления (острое или хроническое). Информация о том, как изменяются маркеры воспаления при разных вариантах течения саркоидоза лёгких II-ой стадии, которая наиболее часто рентгенологически диагностируется у большей части больных [10], может иметь важное значение, для корректировки и назначения проводимой терапии, а также для изучения патогенетических механизмов развития и прогрессирования указанного заболевания. Цель исследования заключалась в оценка изменения уровня цитокинов (TNF α , sTNFRII, IL-1 β , IL-10) в плазме крови и количества транскриптов гена *FOXP3* в лейкоцитах периферической крови у больных с диагностированным саркоидозом лёгких II-ой стадии, при разных клинических формах течения заболевания.

2 Материалы и методы

В исследование включено 33 больных саркоидозом лёгких с II-ой стадией развития заболевания (ср. возраст 44.33 ± 2.25); женщин-19, мужчин-14) и 23 человека из контрольной группы (условно здоровые люди) (ср. возраст $- 42.04 \pm 2.22$); женщин-14, мужчин-9). Образцы цельной венозной крови были использованы в качестве материала для исследования. Исследование выполнено с соблюдением этических норм согласно критериям этических обязательств, определенных Комитетом по этике публикаций (COPE). До включения в исследование у всех пациентов получено письменное информированное согласие. Выполнение исследований одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова» г. Петрозаводска, протокол №165 от 02.11.2023. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, выраженные нарушения функции внутренних органов, а также перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания, курение табака, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 28 кг/м². Среди данной категории пациентов были сформированы группы: Группа 1 - пациенты с саркоидозом легких стадия II, хроническое течение без терапии (19 человек); группа 2 - пациенты с саркоидозом лёгких стадия II, прогрессирующее течение (7 человек); группа 3-пациенты с саркоидозом лёгких стадия II, активное течение (7 человек). Группа контроля (условно здоровые люди) включала 23 человека.

Группа 1 - пациенты с изначально хроническим течением, которое характеризовалось отсутствием клинических проявлений и лабораторных признаков воспаления. Данным пациентам гормональная терапия не проводилась.

Группа 2 - пациенты с прогрессирующим течением саркоидоза легких по данным рентгенологических и клинико-функциональных исследований в динамике. Пациенты этой группы длительно получали поддерживающую дозу преднизолона (10 мг в сутки).

Группа 3 - пациенты с активностью саркоидоза, проявляющейся наличием клинико-лабораторных признаков воспаления. Образцы периферической крови были взяты у больных до лечения. Пациентам назначен преднизолон по схеме со снижением дозы с 45 мг в сутки до 12 мес.

Методом ИФА в плазме крови условно здоровых и больных саркоидозом лёгких (II-ой стадии) определяли содержание цитокинов (TNF α , TNFRII, IL-1 β , IL-10). Определение проводили с использованием набора Human TNF α ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), Human sTNFRII (TNFRSF1B) ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), Human IL-1 β ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), Human IL-10 ELISA Kit (ELK Biotechnology, Китай), согласно протоколам производителя.

Уровень мРНК гена *FOXP3* в лейкоцитах периферической крови условно здоровых людей и больных саркоидозом лёгких определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Тотальную РНК (тотРНК) из ЛПК выделяли с помощью реагента для выделения РНК PureZol (Bio-Rad, США). Для удаления остатков ДНК раствор тотРНК обрабатывали ДНКазой («Сибэнзим», Россия) (1 е.а.) при 37°C в течение 30 мин. Для синтеза кДНК использовали набор «MMLV RT kit» («Евроген», Россия). Синтез кДНК осуществляли с помощью набора «MMLV RT kit» («Евроген», Россия). Экспрессию мРНК гена *FOXP3* в ЛПК определяли с помощью ПЦР-РВ на приборе «Light Cycler» (Roche, Германия). Для амплификации использовали наборы «qPCRMix-HS SYBR» и праймеры фирмы «Евроген» (Россия). Последовательность праймеров для гена *FOXP3* указана в работе (Genre et al., 2009). В качестве референсных генов использовали *18sRNA* [28] и *GAPDH* (праймеры: прямой 5'-gaaggtgaaggtcggagtc-3'; обратный 5'-gaagatggtgatgggatttc-3'). Для дизайна праймеров использовали программу Beacon Designer 5.0.

Для статистической обработки данных использовали пакет программ Statgraphics Centurion XVI (version 16.1.11). Достоверность различий уровня экспрессии мРНК гена *FOXP3* в ЛПК и содержания исследуемых цитокинов в плазме крови между группами, оценивали с помощью непараметрического критерия U Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук»

3 Результаты исследования

У больных с активным течением саркоидоза лёгких уровень TNF α в плазме оказался выше, чем в плазме условно здоровых людей ($p < 0,001$) (Рисунок 1А).

Содержание данного цитокина также значимо выше у больных с хроническим без терапии и прогрессирующим течением заболевания, по сравнению с контролем: ($p < 0,001$, $p < 0,001$, соответственно) (Рисунок 1А). Выявлены различия в уровне TNF α у больных с разным течением саркоидоза лёгких. Содержание данного цитокина оказалось выше у больных с прогрессирующим и активным течением заболевания по сравнению с пациентами с хронической формой саркоидоза лёгких ($p = 0,026$ и $p = 0,032$, соответственно) (Рисунок 1А).

Показано, что уровень растворимого рецептора фактора некроза опухоли (sTNFRII), достоверно выше в плазме крови больных с активным течением саркоидоза лёгких по сравнению с условно здоровыми людьми ($p < 0,001$) (Рисунок 1Б).

Повышенная концентрация в плазме крови sTNFRII выявлена также у больных с прогрессирующим развитием заболевания по сравнению с

индивидами из контрольной группы ($p < 0,001$). Содержание sTNFRII в плазме крови больных с хроническим течением заболевания без терапии и у здоровых людей не отличалось ($p = 0,113$) (Рисунок 1Б). Уровень sTNFRII оказался выше в плазме пациентов с прогрессирующим и активным течением саркоидоза лёгких по сравнению с хронической формой данного заболевания ($p = 0,001$ и $p = 0,001$, соответственно) (Рисунок 1Б).

Содержание IL-1 β в плазме крови больных с активным, хроническим без терапии и прогрессирующим течением саркоидоза лёгких выше по сравнению с индивидами из контрольной группы ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$, соответственно) (Рисунок 1В).

У больных с активным течением саркоидоза лёгких содержание этого провоспалительного белка в плазме крови оказалось выше, чем у пациентов с хроническим без терапии и прогрессирующим развитием заболевания ($p < 0,001$ и $p = 0,002$, соответственно) (Рисунок 1В).

Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был ниже в плазме крови больных с активным, хроническим без лечения и прогрессирующим течением заболевания по сравнению с условно здоровыми людьми ($p = 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, соответственно) (Рисунок 1Г).

Концентрация этого цитокина в плазме крови у больных с хроническим течением заболевания без терапии отличалась от таковой у пациентов с активным и прогрессирующим развитием саркоидоза лёгких: ($p = 0,001$ и $p = 0,007$, соответственно) (Рисунок 1Г). В тоже время, значимых различий в содержании указанного цитокина при сравнении группы больных с активным и прогрессирующим развитием данной патологии не выявлено ($p = 0,662$) (Рисунок 1Г).

По результатам исследования уровень мРНК гена *FOXP3* значимо снижен в ЛПК пациентов с активным развитием саркоидоза лёгких и у

пациентов с прогрессирующим развитием данного заболевания при сравнении с индивидами из контрольной группы ($p=0,001$, $p=0,047$, соответственно) (Рисунок 2).

Количество транскриптов гена *FOXP3* в ЛПК больных с хроническим без терапии течением саркоидоза лёгких и условно здоровых людей было практически одинаковым ($p=0,381$) (Рисунок 2). Уровень экспрессии гена *FOXP3* в ЛПК больных с хроническим без терапии развитием саркоидоза лёгких был выше, чем в ЛПК пациентов с активным течением заболевания ($p=0,001$) (Рисунок 2). Количество транскриптов указанного гена в ЛПК больных с активным и прогрессирующим развитием саркоидоза лёгких не различалось ($p=0,373$) (Рисунок 2).

4 Обсуждение результатов

Развитие воспаления при саркоидозе лёгких сопровождается выработкой повышенного количества провоспалительных факторов, к числу которых относятся такие цитокины как $\text{TNF}\alpha$, IL-1 и др. В настоящем исследовании показано, что уровень $\text{TNF}\alpha$ в плазме крови значимо выше при активном течении саркоидоза лёгких (Рисунок 1А). Повышенное содержание этого провоспалительного белка наблюдается также при хроническом течении этого заболевания, без проведения терапии, а также при прогрессирующем развитии патологии (Рисунок 1А). Фактор некроза опухоли альфа ($\text{TNF}\alpha$), играет важную роль не только в развитии острого и хронического воспаления, но и принимает непосредственное участие в формировании саркоидных гранулём [2]. С использованием лабораторных животных было показано, что у дефицитных по $\text{TNF}\alpha$ мышей формировались гранулёмы с участками обширного некроза [34]. Повышенное количество $\text{TNF}\alpha$ отмечено в местах локализации саркоидных гранулём [42]. Как оказалось, у больных с прогрессирующим и острым течением данного заболевания уровень $\text{TNF}\alpha$ выше, чем у больных с хроническим протеканием этой легочной патологии.

223 Это свидетельствует о том, что содержание данного цитокина у больных
224 саркоидозом лёгких связано не только с формированием гранулём, но и
225 характером и/или силой воспалительного процесса.

226 Процесс воспаления при ряде патологий, в том числе и саркоидозе,
227 сопровождается повышением уровня растворимых рецепторов TNF, которые
228 обладают антагонистическим действием в отношении мембранно-связанных
229 рецепторов TNF, модулируя уровень сигнала от лиганда [30]. Можно
230 предположить, что повышенное содержание растворимых TNFII рецепторов
231 может быть связано с поддержанием саркоидных гранулём. В нашем
232 исследовании показано, что концентрация в плазме крови растворимого
233 рецептора фактора некроза опухоли (sTNFRII) повышена с активным и
234 прогрессирующим течением саркоидоза лёгких по сравнению с контролем
235 (Рисунок 1Б). Важно, что уровень этих молекул различается у пациентов с
236 разным течением саркоидоза лёгких второй стадии. В литературе имеются
237 сведения о том, что существует корреляция между уровнем sTNFR в
238 сыворотке и другими серологическими маркерами активности заболевания, а
239 также параметрами, полученными при радиологическом исследовании
240 пациентов. Показано повышение содержания sTNFRI и sTNFRII в сыворотке
241 пациентов с активным и неактивным саркоидозом легких. А прием
242 кортикостероидных препаратов способствует значительному уменьшению
243 содержания sTNFRI и sTNFRII в плазме пациентов, отвечающих на данный
244 тип лекарственной терапии [43]. Это позволяет рассматривать данный
245 показатель как потенциальный прогностический маркер характера течения
246 заболевания.

247 Развитие воспаления при саркоидозе лёгких ассоциировано с
248 накоплением в интерстициальной ткани лёгкого большого количества CD4+
249 Т-клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, в том числе
250 цитокины семейства IL-1 (IL-1 α и IL-1 β), относящихся к числу ключевых
251 модуляторов воспаления. По результатам наших исследований, уровень IL-1 β

в плазме крови повышен, при активном, прогрессирующем и хроническом без терапии развитии саркоидоза лёгких (Рисунок 1В). Данный цитокин стимулирует Т-лимфоциты, рекрутируя их в очаг воспаления, т.е. интерстициальную ткань и альвеолы [23]. В нашем исследовании мы выявили различия в уровне данного цитокина у больных саркоидозом лёгких с разным течением данного заболевания.

При исследовании цитокинового профиля при саркоидозе легких обращают внимание на содержание противовоспалительного и иммуносупрессорного цитокина IL-10. В продукции этого белка участвуют клетки как врожденного, так и адаптивного звена иммунной системы [32]. Он участвует в регуляции функций кровеносных сосудов посредством ингибирования взаимодействия лейкоцитов и эндотелиальных клеток и снижения продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов макрофагами и лимфоцитами [36]. Экспериментально показано, что при саркоидозе IL-10 может ингибировать гранулематозное воспаление [17]. Анализ данных литературы не позволяет однозначно ответить на вопрос, как изменяется уровень этого цитокина при саркоидозе лёгких и связан ли он с тяжестью или характером течения заболевания. В исследовании Alavi Foumani и соавторов выявлено трехкратное повышение содержания IL-10 в сыворотке больных саркоидозом лёгких при сравнении с условно здоровыми людьми [1]. В другом исследовании не выявлено значимых различий в содержании IL-10 в сыворотке здоровых людей и больных саркоидозом лёгких [37]. Возможно, противоречивость результатов связана с выбором групп исследования, количеством людей, включенных в них. В случае, когда авторы анализируют уровень IL-10 в плазме или жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) больных саркоидозом лёгких с разной тяжестью данного заболевания, удастся выявить связь между этими показателями. Результаты показали, что легочная инфильтрация не имела линейной корреляции с уровнями IL-10 в сыворотке. Более низкий уровень IL-10 в сыворотке крови, обнаружен на стадии,

характеризующейся практически полным поражением паренхимы легких, что может быть обусловлено также приемом стероидных препаратов или прогрессированием заболевания. Однако это только предположение, поскольку, по одним сведениям, стероиды способны снижать уровень IL-10 в сыворотке крови [13], по другим – кортикостероиды, которые обычно используются для лечения саркоидоза лёгких, обладают способностью усиливать продукцию IL-10 [29]. Подтверждением того, что уровень IL-10 у больных саркоидозом лёгких может быть связан с тяжестью заболевания, служат результаты исследований Saussine и соавторов [33]. По результатам наших исследований, уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был ниже в плазме крови больных с активным, хроническим без лечения и прогрессирующим течением заболевания по сравнению с условно здоровыми людьми ($p=0,001$, $p=0,001$, $p<0,001$, соответственно) (Рисунок 1Г). При этом значимых различий в содержании указанного цитокина при сравнении группы больных с активным и прогрессирующим развитием данной патологии не выявлено ($p=0,662$) (Рисунок 1Г).

Другой тип клеток, который продуцирует интерлейкин 10, это Т-регуляторные лимфоциты. Важной составляющей патогенеза саркоидоза лёгких является активация Т-хелперов 1 типа (Th1), которые участвуют в поддержании воспаления и в формировании гранулёмы [26]. Активность и пролиферация эффекторных Т-клеток в свою очередь определяется количеством и типом супрессорных клеток. Т-регуляторные клетки (Treg) представляют собой специализированную подгруппу CD4⁺ Т-клеток, развитие и функционирование которых зависит от транскрипционного фактора FOXP3 (Forkhead Box Protein P3) [41]. Они, как правило, обладают иммуносупрессивным действием и играют решающую роль в функционировании, установлении и поддержании иммунной толерантности посредством множества механизмов, включая выработку противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-2) [20]. Как уже отмечено ранее,

экспрессия *FOXP3* может отражать пул Treg клеток [15]. Необходимо отметить, что сведения о количестве и типах регуляторных Т-лимфоцитов у больных саркоидозом лёгких противоречивы. В ряде работ отмечено повышение количества этих клеток в периферической крови больных саркоидозом лёгких [21]. В других же исследованиях, напротив, обнаружено, что Treg-клетки в жидкости бронхоальвеолярного лаважа больных саркоидозом лёгких функционально дефектны [24]. В исследовании Zhang и соавторов показано, что у больных саркоидозом лёгких количество Treg клеток в периферической крови выше, чем у условно здоровых людей и этот показатель коррелирует с активностью заболевания [40]. В то же время количество Treg в жидкости БАЛ у этих пациентов, напротив, значительно ниже, чем у здоровых индивидов. Интересно, что у больных, находящихся на стадии регрессии заболевания, напротив, наблюдается супрессия иммунного ответа [19]. Обнаруженное нами снижение уровня транскриптов гена *FOXP3* в ЛПК пациентов с саркоидозом лёгких с активным и прогрессирующим течением, по сравнению с пациентами с хронической формой заболевания и условно здоровыми людьми, вероятно, связано со снижением количества циркулирующих Т-регуляторных лимфоцитов на фоне приема кортикостероидных препаратов.

Таким образом, результаты проведенного анализа свидетельствуют о том, что развитие и прогрессирование патологического процесса при саркоидозе лёгких характеризуется изменением спектра молекулярно-биохимических показателей крови.

5 Заключение

Для уточнения клинической картины заболевания важное значение имеет информация о динамике молекулярных биомаркеров, отражающих степень развития воспаления при саркоидозе лёгких. Эта информация также необходима для назначения и коррекции проводимой терапии. Кроме того,

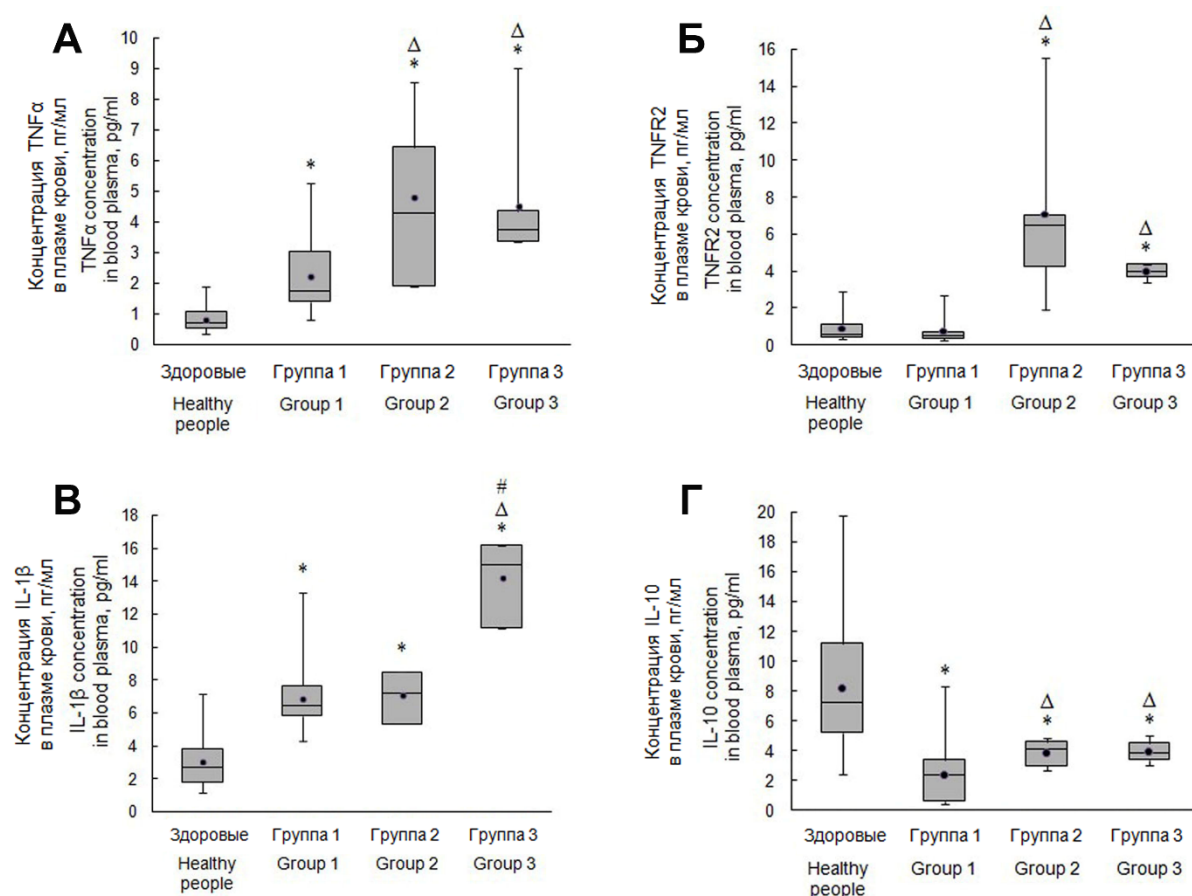
338 результаты проведенного исследования могут быть использованы для
339 изучения патогенетических механизмов развития и прогрессирования
340 заболевания.

341 Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств
342 федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского
343 научного центра Российской академии наук (тема FMEN-2022-0017).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Концентрации TNF- α (А), TNFR2 (Б), IL-1 β (В) и IL-10 (Г) в плазме крови здоровых людей и пациентов с саркоидозом легких.

Figure 1. TNF α (A), TNFR2 (Б), IL-1 β (В) and IL-10 (Г) concentration in the blood plasma of healthy people and patients with pulmonary sarcoidosis.



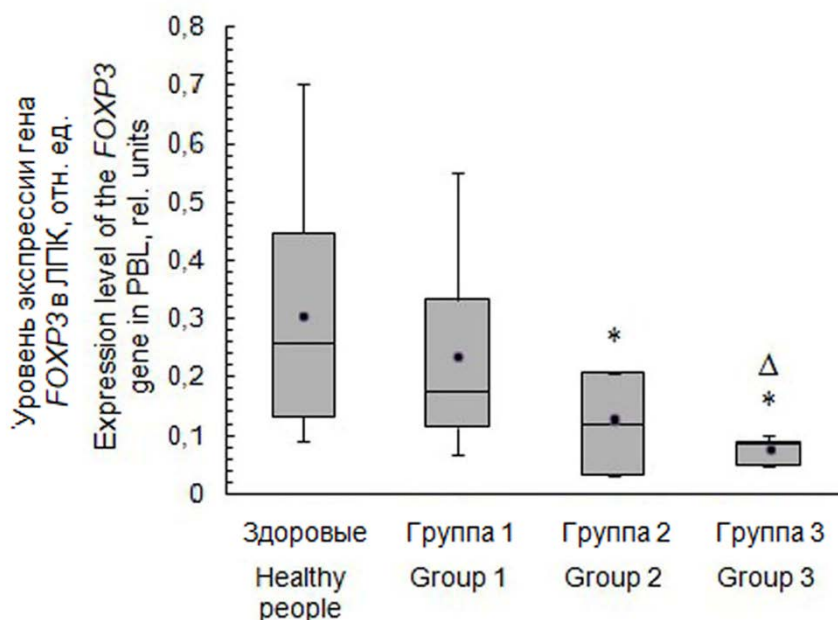
Примечание. Группа 1 - пациенты с саркоидозом легких стадия II хроническое течение без терапии, группа 2 - пациенты с саркоидозом легких стадия II прогрессирующее течение, группа 3 - пациенты с саркоидозом легких стадия II острое течение. Горизонтальная линия внутри прямоугольника – медиана, • – среднее значение. $p < 0,05$ по сравнению с *контролем, Δ группой 1, # группой 2 (U критерий Манна-Уитни).

Note. Group 1 - patients with pulmonary sarcoidosis stage II chronic course without therapy, group 2 - patients with pulmonary sarcoidosis stage II progressive course,

group 3 - patients with active pulmonary sarcoidosis stage II. The horizontal line inside the rectangle is the median, • is the average value. $p < 0,05$ compared with *control, Δgroup 1, #group 2 (Mann-Whitney *U* test).

Рисунок 2. Уровень экспрессии гена *FOXP3* в ЛПК здоровых людей и пациентов с саркоидозом легких.

Figure 2. The expression level of the *FOXP3* gene in the PBL of healthy people and patients with pulmonary sarcoidosis.



Примечание. Группа 1-пациенты с саркоидозом легких стадия II хроническое течение без терапии, группа 2-пациенты с саркоидозом легких стадия II прогрессирующее течение, группа 3-пациенты с саркоидозом легких стадия II острое течение. Горизонтальная линия внутри прямоугольника–медиана, • – среднее значение. $p < 0,05$ по сравнению с *контролем, Δгруппой 1 (U критерий Манна-Уитни).

Note. Group 1 - patients with pulmonary sarcoidosis stage II chronic course without therapy, group 2 - patients with pulmonary sarcoidosis stage II progressive course, group 3 - patients with active pulmonary sarcoidosis stage II. The horizontal line

inside the rectangle is the median, • is the average value. $p < 0,05$ compared with
*control, Δ group 1 (Mann-Whitney U test).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Малышева Ирина Евгеньевна (автор для переписки) –Центр медико-биологических исследований "Карельского научного центра Российской академии наук" (ЦМБИ КарНЦ РАН): к.б.н, старший научный сотрудник ЦМБИ КарНЦ РАН и старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии КарНЦ РАН.

адрес: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11;

факс: (8142)769810;

телефон: (8142)573107 (р.);

ORCID: 0000-0003-3583-0218;

e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Irina. Evgenyevna Malysheva - Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Cand. (PhD) of Biology, Senior Research Associate, laboratory of genetics, Petrozavodsk, Russia;

address: 185910, Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences (KarRC RAS), Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russia;

fax: (8142)769810;

telephone: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000-0003-3583-0218;

e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Топчиева Людмила Владимировна –к.б.н, ведущий научный сотрудник лаборатории генетики;

адрес: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11; Институт биологии КарНЦ РАН;

факс: (8142)769810;

телефон: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000-0001-8697-2086;

e-mail: topchieva67@mail.ru

Ludmila Vladimirovna Topchieva - Cand. (PhD) of Biology, Leading Research Associate, laboratory of genetics;

Address: 185910, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences;

fax: (8142)769810;

telephone: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000-0001-8697-2086;

e-mail: topchieva67@mail.ru

Балан Ольга Викторовна –к.б.н, старший научный сотрудник ЦМБИ КарНЦ РАН и старший научный сотрудник лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН

адрес: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11; Центр медико-биологических исследований Карельского научного центр Российской академии наук" (ЦМБИ КарНЦ РАН);

факс: (8142)769810;

телефон: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000-0002-4721-1089;

e-mail: ovbalan14@gmail.com

Olga Viktorovna Balan - Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences; Cand. (PhD) of Biology, Senior Research Associate, laboratory of genetics, Petrozavodsk, Russia;

address: 185910, Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences (KarRC RAS), Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russia;

fax: (8142)769810;

telephone: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000-0002-4721-1089;

e-mail: ovbalan14@gmail.com

Курбатова Ирина Валерьевна –к.б.н, старший научный сотрудник лаборатории генетики;

адрес: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11; Институт биологии КарНЦ РАН;

факс: (8142)769810;

телефон: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000–0001–7620–7065;

e-mail: irina7m@yandex.ru

Irina Valer'evna Kurbatova - Cand. (PhD) of Biology, Senior Research Associate, laboratory of genetics, Petrozavodsk, Russia;

address: 185910, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences;

fax: (8142)769810;

telephone: (8142)573107 (p.);

ORCID: 0000–0001–7620–7065;

e-mail: irina7m@yandex.ru

Тихонович Элла Леонидовна – зав. Отделением;

адрес: 185019, г. Петрозаводск, ул. Пирогова, д. 3. Республиканская больница
им. В.А. Баранова, Отделение респираторной терапии;

телефон: (8142)763910,

ORCID 0000-0002-5416-9536

e-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

Ella Leonidovna Tikhonovich - head of Department of respiratory therapy, Cand.
(PhD) of Medicine, Pirogova st., Petrozavodsk, Russia;

address: 185019, Republican Hospital named after. V. A. Baranov;

telephone: (8142)763910,

ORCID 0000-0002-5416-9536

e-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *FOXP3* В КРОВИ
БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЁГКИХ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ
ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

CYTOKINE LEVELS AND *FOXP3* GENE EXPRESSION IN THE BLOOD OF
PATIENTS WITH VARIOUS STAGE OF PULMONARY SARCOIDOSIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И ЭКСПРЕССИЯ FOXP3

CYTOKINE CONTENT AND *FOXP3* EXPRESSION

Ключевые слова: саркоидоз лёгких, воспаление, транскрипционный фактор,
содержание цитокинов, ген FOXP3, экспрессия.

Keywords: pulmonary sarcoidosis, inflammation, chronic course of the disease,
cytokine content, peripheral blood leukocytes, FOXP3 gene, expression.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 14,

количество таблиц – 0,

количество рисунков – 5.

07.05.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском языке	Полный интернет адрес (URL) цитируемой статьи
1	Alavi Foumani S.A., Geranmayeh S., Tangestani Nejad A., Pour Kazemi A., Kazem Nejad Leili E, Jafari A, Amooei Khanabbasi M. Comparison of serum interleukin-10 level of fungal exposure among patients with pulmonary sarcoidosis and healthy people. <i>Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.</i> , 2018, v. 35, no. 4, pp. 294-298.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32476916/ [doi: 10.36141/svdld.v35i4.6757]
2	Agostini C., Adami F., Semenzato G. <i>New pathogenetic insights into the sarcoid granuloma. Curr. Opin. Rheumatol.</i> , 2000, vol. 12, no. 1, pp. 71-6.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10647958/ [doi: 10.1097/00002281-200001000-00012]

3	Antoniou S.A. <i>Targeting the TNF-alpha pathway in sarcoidosis. Expert Opin. Ther. Targets</i> , 2010, vol. 14, no. 1, pp. 21-9.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20001207/ [doi: 10.1517/14728220903449244]
4	Atretkhany K., Gogoleva V., Drutskaya M., Nedospasov S. <i>Distinct modes of TNF signaling through its two receptors in health and disease. J. Leukoc. Biol.</i> , 2020, vol. 107, pp. 893–905.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32083339/ [doi: 10.1002/JLB.2MR0120-510R]
5	Borthwick L.A. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung. <i>Semin. Immunopathol.</i> , 2016, vol. 38, no. 4, pp. 517-34.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27001429/

			[doi: 10.1007/s00281-016-0559-z]
6	Broos C., Hendriks R., Kool M. T-cell immunology in sarcoidosis: Disruption of a delicate balance between helper and regulatory T-cells. Curr. Opin. Pulm. Med., 2016, vol. 22, no. 5, pp. 476-83.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27379969/ [doi: 10.1097/MCP.0000000000000303]
7	Broos C., van Nimwegen M., Kleinjan A., ten Berge B., Muskens F., in 't Veen J., Annema J., Lambrecht B., Hoogsteden H., Hendriks R., Kool M., van den Blink B. Impaired survival of regulatory T cells in pulmonary sarcoidosis. Respiratory research, 2015, vol. 16, pp. 108.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26376720/ [doi: 10.1186/s12931-015-0265-8]

8	<i>Chaudhry A., Rudensky A. Control of inflammation by integration of environmental cues by regulatory T cells. J. Clin. Invest., 2013, vol. 123, no. 3, pp. 939-44.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23454755/ [doi: 10.1172/JCI57175]
9	<i>Chen E., Moller D. Etiologies of Sarcoidosis. Clin. Rev. Allergy Immunol., 2015, vol. 49, no. 1, pp. 6-18.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25771769/ [doi: 10.1007/s12016-015-8481-z]
10	<i>Criado E., Sánchez M., Ramírez J., Arguis P., de Caralt T.M., Perea R.J., Xaubet A. Pulmonary sarcoidosis: typical and atypical manifestations at high-resolution CT with pathologic correlation. Radiographics, 2010, vol. 30, no. 6. pp. 1567-86.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21071376/ [doi: 10.1148/rg.306105512]
11	<i>Dong Y., Dekens W., Deyn Naudé P., Eisel U. Targeting of Tumor Necrosis Factor Alpha Receptors as a Therapeutic</i>		https://www.mdpi.com/2073-4468/4/4/369

	<i>Strategy for Neurodegenerative Disorders. Antibodies</i> , 2015, vol. 4, no. 4, pp. 369-408.		[https://doi.org/10.3390/antib4040369]
12	<i>Fischer R., Kontermann R.E., Pfizenmaier K. Selective targeting of TNF receptors as a novel therapeutic approach. Front. Cell Dev. Biol.</i> , 2020, vol. 8, pp.401.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32528961/ [doi: 10.3389/fcell.2020.00401]
13	Fuse K, Kodama M, Okura Y, Ito M, Aoki Y, Hirono S, et al. Levels of serum interleukin-10 reflect disease activity in patients with cardiac sarcoidosis. <i>Jpn Circ J</i> 2001; 64(10): 755-9.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11059615/ [doi: 10.1253/jcj.64.755]
14	<i>Georgiev P., Charbonnier L.M., Chatila T. Regulatory T Cells: The Many Faces of Foxp3. Clin. Immunol.</i> , 2019, vol. 39, no. 7, pp. 623-640.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31478130/ [doi: 10.1007/s10875-019-00684-7]

15	Genre J., Errante P., Kokron C., Toledo-Barros M., Câmara N., Rizzo L. <i>Reduced frequency of CD4(+)CD25(HIGH)FOXP3(+) cells and diminished FOXP3 expression in patients with Common Variable Immunodeficiency: a link to autoimmunity. Clinical immunology (Orlando, Fla.)</i> , 2009, vol.132, no. 2, pp. 215-21.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19394278/ [doi: 10.1016/j.clim.2009.03.519]
16	Grunewald J. <i>Genetics of sarcoidosis. Cur.r Opin. Pulm. Med.</i> , 2008, vol. 14, pp. 434-439.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18664974/ [doi: 10.1097/MCP.0b013e3283043de7]
17	Herfarth H.H., Mohanty S.P., Rath H.C., Tonkonogy S., Sartor R.B. <i>Interleukin 10 suppresses experimental</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9038666/

	<i>chronic, granulomatous inflammation induced by bacterial cell wall polymers. Gut., 1996, vol. 39, no. 6, pp. 836–845.</i>		[doi: 10.1136/gut.39.6.836]
18	<i>Hutyrová B., Pantelidis P., Drábek J., Zůrková M, Kolek V., Lenhart K., Welsh K., Bois R., Petrek M. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2002, vol. 165, no. 2, pp. 148-151.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11790645/ [doi: 10.1164/ajrccm.165.2.2106004]
19	<i>Idali F., Wikén M., Wahlström J., Mellstedt H., Eklund A., Rabbani H., Grunewald J. Reduced Th1 response in the lungs of HLA-DRB1*0301 patients with pulmonary sarcoidosis. Eur. Respir. J., 2006, vol. 27, pp. 451–459.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16507843/ [doi: 10.1183/09031936.06.00067105]

20	<i>Josefowicz S.Z., Lu L.F., Rudensky A.Y. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. Annu. Rev. Immunol., 2012, vol. 30, pp. 531–564.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22224781/ [doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623]
21	<i>Kachamakova-Trojanowska N., Jazwa-Kusior A., Szade K., Kasper L., Soja J., Andrychiewicz A., Jakiela B., Plutecka H., Sanak M., Jozkowicz A., Sladek K., Dulak J. Molecular profiling of regulatory T cells in pulmonary sarcoidosis. J. Autoimmun., 2018, vol. 94, pp. 56-69.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30049532/ [doi: 10.1016/j.jaut.2018.07.012]
22	<i>Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S., Bojarska-Junak A., Jankowska O., Król A., Roliński J., Milanowski J. Tumor necrosis factor receptors (TNFRs) on T</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16889950/

	<i>lymphocytes and soluble TNFRs in different clinical courses of sarcoidosis. Respiratory Medicine, 2007, vol. 101, pp. 645–654.</i>		[doi: 10.1016/j.rmed.2006.06.004]
23	<i>Kolb M., Margetts P.J., Anthony D.C., Pitossi F., Gauldie J. Transient expression of IL-1beta induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. J. Clin. Invest., 2001, vol. 107, no. 12, pp. 1529-36.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11413160/ [doi: 10.1172/JCI12568]
24	<i>Kumari R., Chakraborty S., Jain R., Mitra S., Mohan A., Guleria R., Pandey S., Chaudhury U., Mitra DK. Inhibiting OX40 Restores Regulatory T-Cell Function and Suppresses Inflammation in Pulmonary Sarcoidosis. Chest, 2021, vol. 160, no. 3, pp. 969-982.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33901497/ [doi: 10.1016/j.chest.2021.04.032]
25	<i>Lepzien R., Liu S., Czarnewski P., Nie M., Österberg B., Baharom F., Pourazar J., Rankin G., Eklund A., Bottai M., Kullberg S., Blomberg A., Grunewald J., Smed-Sörensen A.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33446605/

	<i>Monocytes in sarcoidosis are potent tumour necrosis factor producers and predict disease outcome. Eur. Respir. J., 2021, vol. 58, no. 1, pp. 2003468.</i>		[doi: 10.1183/13993003.03468-2020]
26	<i>Mortaz E., Rezayat F., Amani D., Kiani A., Garssen J., Adcock I.M., Velayati A., Iran J. The Roles of T Helper 1, T Helper 17 and Regulatory T Cells in The Pathogenesis of Sarcoidosis. Allergy Asthma Immunol., 2016, vol. 15, no. 4, pp. 334-339.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27921415/ [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27921415/]
27	<i>Oltmanns U., Schmidt B., Hoernig S., Witt C., John M. Increased spontaneous interleukin-10 release from alveolar macrophages in active pulmonary sarcoidosis. Exp. Lung Res., 2003, vol. 29, no. 5, pp. 315-28.</i>		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12746045/ [doi: 10.1080/01902140303786]

28	Pinto J., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. <i>Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. Immunology</i> , 2010, vol. 130, no. 2, pp. 217-230.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20102409/ [doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x]
29	Richards D., Fernandez M., Caulfield J., Hawrylowicz C.M. Glucocorticoids drive human CD8+ T cell differentiation towards a phenotype with high IL-10 and reduced IL-4, IL-5, and IL-13 production. <i>European Journal of Immunology</i> , 2000, vol. 30, no. 8, pp. 2344–2354.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10940925/ [doi: <a href="https://doi.org/10.1002/1521-4141(2000)30:8<2344::AID-IMMU2344>3.0.CO;2-7">10.1002/1521-4141(2000)30:8<2344::AID-IMMU2344>3.0.CO;2-7]
30	Ruiz A., Palacios Y., Garcia I., Chavez-Galan L. <i>Transmembrane TNF and Its Receptors TNFR1 and TNFR2 in Mycobacterial Infections. Int. J. Mol. Sci.</i> , 2021, vol. 22, pp. 5461.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34067256/ [doi: 10.3390/ijms22115461]

31	<i>Sabat R. IL-10 family of cytokines. Cytokine and Growth Factor Reviews, 2010b, vol. 21, no. 5, pp. 315–324.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21112807/ [doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.11.001]
32	<i>Sabat R., Grütz G., Warszawska K., Kirsch S., Witte E., Wolk K., Geginat J. Biology of interleukin-10. Cytokine Growth Factor Rev. 2010a, vol. 5, pp. 331-44.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21115385/ [doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002]
33	<i>Saussine A., Tazi A., Feuillet S., Rybojad M., Juillard C., Bergeron A., Dessirier V., Bouhidel F., Janin A.,</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22927996/

	Bensussan A., Bagot M., Bouaziz J.D. Chronic Sarcoidosis is Characterized by Increased Transitional Blood B Cells, Increased IL-10-Producing Regulatory B Cells and High BAFF Levels. PLoS ONE, 2012, vol. 7, no. 8, pp. e43588.		[doi: 10.1371/journal.pone.0043588]
34	Sharma S., Ghosh B., Sharma S.K. Association of TNF polymorphisms with sarcoidosis, its prognosis and tumour necrosis factor (TNF)-alpha levels in Asian Indians. Clin. Exp. Immunol., 2008, vol. 151, no. 2, pp. 251-9.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18062795/ [doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03564.x]
35	Sharma S., Rathored J., Ghosh B., Sharma S. Genetic polymorphisms in TNF genes and tuberculosis in North Indians. BMC Infect. Dis., 2010, vol. 10, pp. 165.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20537163/ [doi: 10.1186/1471-2334-10-165]

36	Smith D., Irving S., Sheldon J., Cole D., Kaski J. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. <i>Circulation</i> , 2001, vol. 104, no. 7, pp. 746–749.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11502695/ [doi: 10.1161/hc3201.094973]
37	Terčelj M., Stopinšek S., Ihan A., Salobir B., Simčič S., Rylander R. Fungal exposure and low levels of IL-10 in patients with sarcoidosis. <i>Pulm. Med.</i> , 2014a;2014. pp. 164565.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25180094/ [doi: 10.1155/2014/164565]
38	Verowoerd A., Hijdra D., Vorselaars ADM., Crommelin HA., van Moorsel CHM., Grutters J.C., Claessen AME. Infliximab therapy balances regulatory T cells, tumour necrosis factor receptor 2 (TNFR2) expression and soluble TNFR2 in sarcoidosis. <i>Clin. Exp. Immunol.</i> , 2016, vol. 185, no. 2, pp. 263-70.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27158798/ [doi: 10.1111/cei.12808]

39	<i>Yamaguchi T., Wing J., Sakaguchi S. Two modes of immune suppression by Foxp3(+) regulatory T cells under inflammatory or non-inflammatory conditions. Seminars in immunology, 2011, vol. 23, no. 6, pp. 424-30.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22055883/ [doi: 10.1016/j.smim.2011.10.002]
40	<i>Zhang H., Jiang D., Zhu L., Zhou G., Xie B., Cui Y., Costabel U., Dai H. Imbalanced distribution of regulatory T cells and Th17.1 cells in the peripheral blood and BALF of sarcoidosis patients: relationship to disease activity and the fibrotic radiographic phenotype. Front. Immunol., 2023, vol. 14, pp. 1185443.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37520566/ [doi: 10.3389/fimmu.2023.1185443]
41	<i>Zhang L., Zhao Y. The regulation of Foxp3 expression in regulatory CD4(+)CD25(+)T cells: multiple pathways on the road. J. Cell Physiol., 2007, vol. 3, pp. 590-597.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17311282/

			[doi: 10.1002/jcp.21001]
42	Zheng L., Teschler H., Guzman J., Hübner K., Striz I., Costabel U. Alveolar macrophage TNF- release and BAL cell phenotypes in sarcoidosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1995, vol. 152, pp. 1061–1066.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7663784/ [doi: 10.1164/ajrccm.152.3.7663784]
43	Ziegenhagen M.W., Fitschen J., Martinet N., Schlaak M., Müller-Quernheim J. (Medical Hospital, Borstel, Germany and INSERM U.14, Vandoeuvre-Les-Nancy, France). Serum level of soluble tumour necrosis factor receptor II (75 kDa) indicates inflammatory activity of sarcoidosis. J. Intern. Med., 2000, vol. 248, pp. 33–41.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10947879/ [doi: 10.1046/j.1365-2796.2000.00685.x]

44	<i>Zissel G., Prasse A., Müller-Quernheim J. Immunologic response of sarcoidosis. Semin. Respir. Crit. Care Med., 2010, vol. 31, no. 4, pp. 390-403.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20665389/ [doi: 10.1055/s-0030-1262208]
----	--	---	--