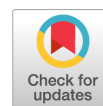


УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА FOXP3 В КРОВИ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ



И.Е. Малышева^{1,2}, Л.В. Топчиева², О.В. Балан^{1,2}, И.В. Курбатова², Э.Л. Тихонович³

¹ Центр медико-биологических исследований Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Россия

² Институт биологии — обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, Россия

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

Резюме. Содержание цитокинов может быть связано с уровнем воспаления и клинической картиной заболевания. Цель исследования заключалась в оценке содержания TNF α , 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 (СЛ). *Материалы и методы.* В исследование включены СЛ с II стадией развития заболевания с хроническим, прогрессирующим и активным течением заболевания. Контрольная группа сформирована условно здоровыми донорами. Содержание цитокинов (TNF α , 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. *Результаты.* Высокие уровни TNF α и его рецепторов II типа (sTNFR II) были обнаружены в плазме крови больных с прогрессирующим и активным течением заболевания в сравнении с пациентами с хронической формой ($p = 0,026$, $p = 0,032$ и $p = 0,001$, $p = 0,001$ соответственно). У пациентов с активной формой течения заболевания концентрация IL-1 β в плазме крови была выше, чем у пациентов с хроническим и прогрессирующим саркоидозом ($p < 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно). Уровень IL-10 в плазме крови больных всех исследуемых групп 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 прогрессирующим и активным СЛ ($p = 0,001$ при сравнении со здоровыми индивидами и больными хронической формой СЛ). *Заключение.* Уровень цитокинов у больных СЛ определяется клинической картиной заболевания. Повышение уровня провоспалительных факторов в плазме крови (TNF α , sTNFR II , IL-1 β), а также снижение экспрессии гена FOXP3 и содержания IL-10 может свидетельствовать об усилении воспалительных реакций у больных СЛ с прогрессирующим и активным течением заболевания. Для уточнения клинической картины заболевания важное значение имеет информация о динамике молекулярных биомаркеров, отражающих сте-

Адрес для переписки:

Малышева Ирина Евгеньевна
185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,
Центр медико-биологических исследований Карельского
научного центра РАН.
Тел.: 8 (8142) 57-31-07.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Contacts:

Irina E. Malysheva
185910, Russian Federation, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11,
Centre of Biomedical Research, Karelian Research Centre of the RAS.
Phone: +7 (8142) 57-31-07.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Для цитирования:

Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Балан О.В., Курбатова И.В.,
Тихонович Э.Л. Уровень цитокинов и экспрессия гена FOXP3 в крови
больных саркоидозом легких при разных вариантах течения
заболевания // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 6. С. 1121–1129.
doi: 10.15789/2220-7619-CLA-17932

Citation:

Malysheva I.E., Topchieva L.V., Balan O.V., Kurbatova I.V., Tikhonovich E.L.
Cytokine levels and FOXP3 gene expression in the blood of patients with
various stage of pulmonary sarcoidosis // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 6, pp. 1121–1129.
doi: 10.15789/2220-7619-CLA-17932

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

Financial support of the research was provided from the federal budget funds for the state assignment of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences (topic FMEN-2022-0017).

пень развития воспаления при СЛ. 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 легких, воспаление, транскрипционный фактор, содержание цитокинов, ген FOXP3, экспрессия.

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, Tikhonovich E.L.^c

^a Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russian Federation

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

^c V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation

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, progressive and active 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.* The high levels of plasma TNF α and sTNFR II were detected in patients with progressive and active PS vs chronic PS ($p = 0.0263$, $p = 0.0321$ and $p = 0.0012$, $p = 0.0009$, respectively). Concentration of IL-1 β was higher in active PS rather than in chronic and progressive PS ($p = 0.0002$ and $p = 0.0020$, respectively). The IL-10 plasma level in patients from all studied groups 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 progressive and active PS ($p = 0.0008$ compared with healthy individuals and patients with chronic PS). *Conclusion.* The level of cytokines in patients with PS 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 PS. To clarify disease clinical presentation, it is crucial to gain more information about the molecular biomarker dynamics mirroring magnitude of inflammation in PS. 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.

Key words: pulmonary sarcoidosis, inflammation, transcription factor, cytokine content, FOXP3 gene, expression.

Введение

Процесс воспаления играет важную роль в патогенезе многочисленных заболеваний, в том числе саркоидоза легких (СЛ). Это системное иммуновоспалительное заболевание неустановленной этиологии, характеризующееся образованием эпителиоидно-клеточных гранул в различных органах, преимущественно в легких. Предполагают, что образование саркоидных гранул 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 гранул, а также в развитии и поддержании воспалительного процесса, ключевую роль играют провоспалительные цитокины. Считается, что TNF α является основным цитокином при данном заболевании, поскольку он непосредственно вовлечен как в образова-

ние, так и в поддержание саркоидных гранул [3]. Важным источником этого цитокина в легких являются альвеолярные макрофаги и Т-лимфоциты, активация которых влияет на накопление клеток моноцитов-макрофагов, что играет важную роль в образовании гранул [44]. Показано, что высокий уровень TNF α связан с прогрессированием СЛ и колеблется в зависимости от активности заболевания [25, 35]. Провоспалительный эффект, который оказывает TNF α , зависит от связывания его со своими рецепторами: типа I (TNFR I ; TNFR 1) и типа II (TNFR II ; TNFR 2) [4, 12]. В зависимости от наличия того или иного внутриклеточного домена, надсемейство TNFR-рецепторов можно разделить на две подгруппы: рецепторы смерти (TNFR I), которые содержат в структуре рецептора домен смерти DD (Death Domain), и активирующие рецепторы (TNFR II), которые не содержат указанный домен [11]. Взаимодействие TNF α с рецепторами TNFR опосредует секрецию цитокинов, выживание клеток, развитие процессов апоптоза [30]. Биологическая активность указанных рецепторов зависит от со-

держания в плазме или других жидкостях организма их растворимых форм. Растворимые рецепторы взаимодействуют с мембранно-связанными рецепторами, тем самым ингибируя либо ослабляя сигнальный путь, участвующий в регуляции выживания клеток [30]. У больных СЛ, по сравнению со здоровыми людьми, содержание sTNFRII в плазме повышено, в то время как концентрация sTNFRI 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 Леффрена и рентгенологической стадией I, а также пациентами со спонтанным разрешением саркоидоза. К числу провоспалительных цитокинов, вовлеченных в патогенез СЛ, 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 легкого [18]. В патогенез саркоидоза также вовлечены такие провоспалительные цитокины, как IFN γ , IL-2, IL-17 и др. [6]. При участии цитокинов Th1-типа происходит необратимое моделирование ткани легкого, прогрессирует формирование легочных гранулем [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 путем подавления синтеза и секреции провоспалительных цитокинов Th1-лимфоцитами, активированными моноцитами, НК-клетками [32]. В ряде исследований показано, что количество IL-10 повышено в сыворотке крови и в жидкости бронхо-алвеолярного 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]. Treg 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 СЛ повышено количество Treg с фенотипом CD45RO⁺ (Т-клетки иммунологической памяти), активно экспрессирующих CD95 (Fas/APO-1) [7]. Treg в высокой сте-

пени экспрессируют рецептор TNFR2 на своей поверхности [38]. Таким образом, повышение уровня растворимой формы TNFR2 может быть связано с увеличением количества Treg при СЛ.

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

Материалы и методы

В исследование включено 33 больных СЛ со II стадией развития заболевания (19 женщин, 14 мужчин, средний возраст 44,33 \pm 2,25) и 23 человека из контрольной группы (условно здоровые люди) (14 женщин, 9 мужчин, средний возраст — 42,04 \pm 2,22). 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, перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания, курение табака, алкогольная зависимость, индекс массы тела \geq 28 кг/м². Включенные в исследование пациенты с СЛ были разделены на 3 группы: группа 1 — пациенты с СЛ II стадии и хроническим течением без терапии (19 человек); группа 2 — пациенты с СЛ II стадии и прогрессирующим течением (7 человек); группа 3 — пациенты с СЛ II стадии и активным течением (7 человек). Группа контроля (условно здоровые люди) включала 23 человека.

У пациентов группы 1 изначально имело место хроническое течение СЛ, которое характе-

ризовалось отсутствием клинических проявлений и лабораторных признаков воспаления. Данным пациентам гормональная терапия не проводилась.

У пациентов группы 2 СЛ отмечалось прогрессирующее течение заболевания по данным рентгенологических и клиничко-функциональных исследований в динамике. Пациенты этой группы длительно получали поддерживающую дозу преднизолона (10 мг в сутки).

У пациентов группы 3 наблюдалась активная форма саркоидоза, проявлявшаяся наличием клиничко-лабораторных признаков воспаления. Образцы периферической крови были взяты у больных до лечения. Пациентам назначали преднизолон 45 мг/сут с постепенным снижением дозы на 5 мг каждые 2 недели до 10 мг/сут. Поддерживающую терапию, 10 мг/сут, проводили в течение 12 месяцев.

Методом ИФА в плазме крови условно здоровых и больных СЛ (II стадии) определяли содержание цитокинов (TNF α , TNFRII, IL-1 β , IL-10). Определение проводили с использованием наборов 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 СЛ 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 (Genge и соавт., 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»

Результаты

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

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

Показано, что уровень растворимого рецептора фактора некроза опухоли (sTNFRII) достоверно выше в плазме крови больных с активным течением СЛ по сравнению с данным показателем у условно здоровых людей ($p < 0,001$) (рис. 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 ($p = 0,113$) (рис. 1Б). Уровень sTNFRII оказался выше в плазме пациентов с прогрессирующим и активным течением СЛ по сравнению с хронической формой данного заболевания ($p = 0,001$ и $p = 0,001$, соответственно) (рис. 1Б).

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

У больных с активным течением СЛ содержание IL-1 β в плазме крови оказалось выше, чем у пациентов с хроническим без терапии и прогрессирующим развитием заболевания ($p < 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно) (рис. 1В).

Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 был ниже в плазме крови больных с активным, хроническим без лечения и прогрессирующим течением заболевания по сравнению

с данным показателем у условно здоровых людей ($p = 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ соответственно) (рис. 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 СЛ: ($p = 0,001$ и $p = 0,007$ соответственно) (рис. 1Г). В то же время значимых различий в содержании указанного цитокина при сравнении группы больных с активным и прогрессирующим развитием данной патологии не выявлено ($p = 0,662$) (рис. 1Г).

По результатам исследования уровень мРНК гена FOXP3 значимо снижен в ЛПК пациентов

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

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

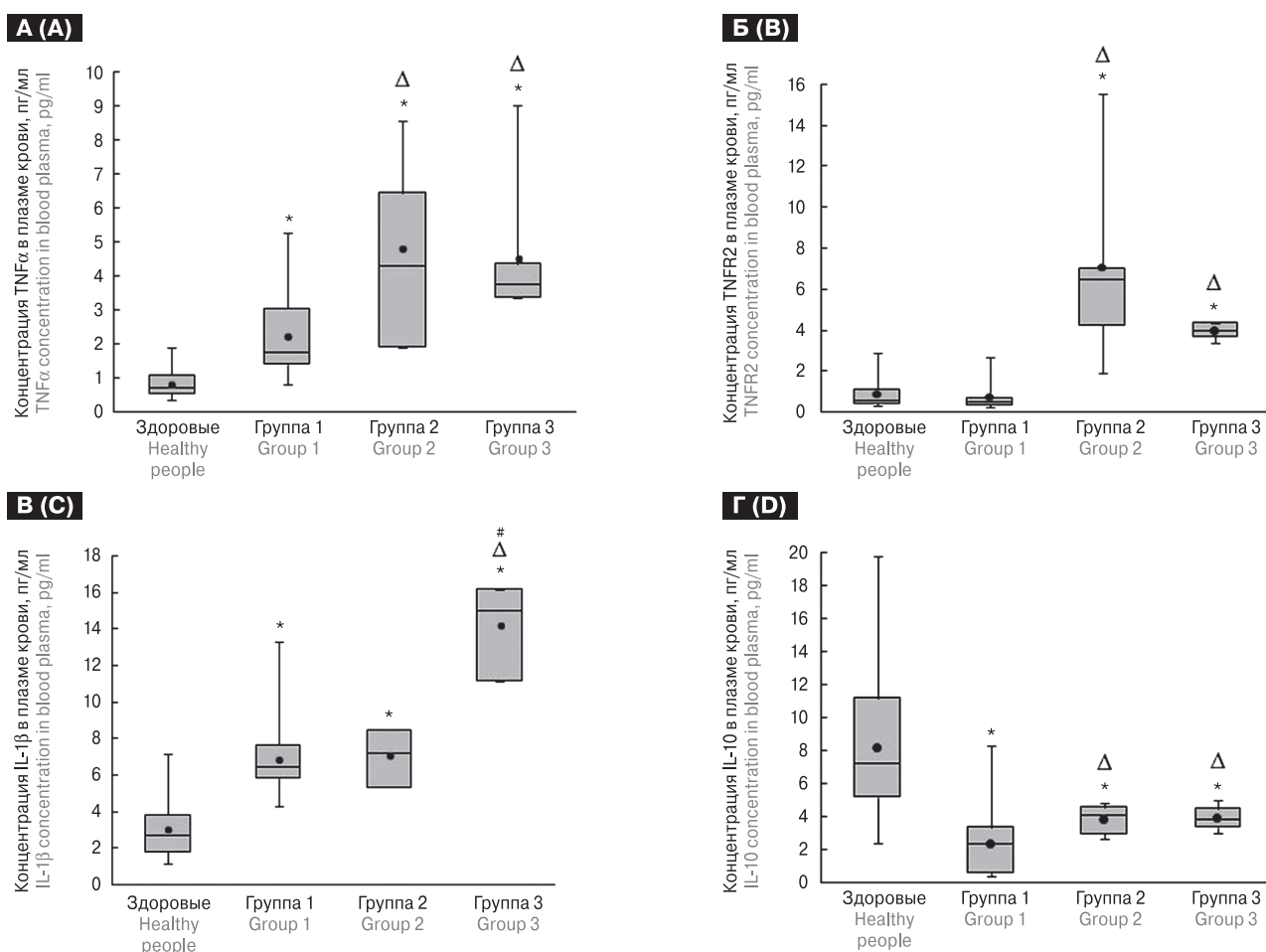


Рисунок 1. Концентрации TNFα (А), TNFR2 (Б), IL-1β (В) и IL-10 (Г) в плазме крови здоровых людей и пациентов с СЛ

Figure 1. TNFα (A), TNFR2 (B), IL-1β (C) and IL-10 (D) concentration in the blood plasma of healthy people and patients with pulmonary sarcoidosis

Примечание. Группа 1 — пациенты с СЛ II стадии и хроническим течением без терапии, группа 2 — пациенты с СЛ II стадии и прогрессирующим течением, группа 3 — пациенты с СЛ II стадии и активным течением. 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, Δ group 1, # group 2 (Mann-Whitney U test).

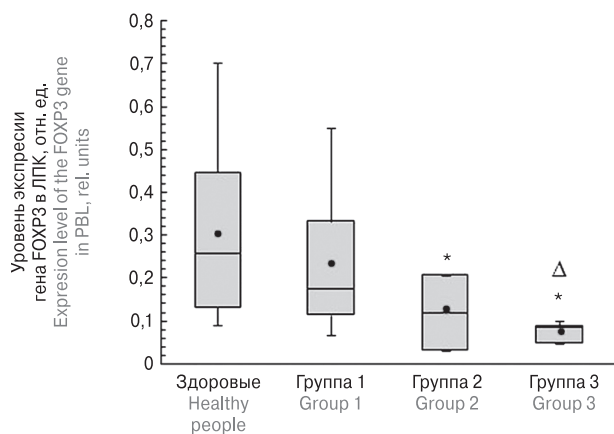


Рисунок 2. Уровень экспрессии гена FOXP3 в ЛПК здоровых людей и пациентов с СЛ

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 СЛ II стадии и хроническим течением без терапии, группа 2 — пациенты с СЛ II стадии и прогрессирующим течением, группа 3 — пациенты с СЛ II стадии и активным течением. Горизонтальная линия внутри прямоугольника — медиана, • — среднее значение. $p < 0,05$ по сравнению с *контролем, Δ группой 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).

Обсуждение

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

у больных с хроническим протеканием этой легочной патологии. Это свидетельствует о том, что содержание данного цитокина у больных СЛ связано не только с формированием гранулем, но и с характером и/или силой воспалительного процесса.

Процесс воспаления при ряде патологий, в том числе и саркоидозе, сопровождается повышением уровня растворимых рецепторов TNF , которые обладают антагонистическим действием в отношении мембранно-связанных рецепторов TNF , модулируя уровень сигнала от лиганда [30]. Можно предположить, что повышенное содержание растворимых $TNFII$ -рецепторов может быть связано с поддержанием саркоидных гранулем. В нашем исследовании показано, что концентрация в плазме крови растворимого рецептора фактора некроза опухоли ($sTNFRII$) повышена у пациентов с активным и прогрессирующим течением СЛ по сравнению с пациентами контрольной группы (рис. 1Б). Важно, что уровень этих молекул различается у пациентов с разным течением СЛ II стадии. В литературе имеются сведения о том, что существует корреляция между уровнем $sTNFR$ в сыворотке и другими серологическими маркерами активности заболевания, а также параметрами, полученными при радиологическом исследовании пациентов. Показано повышение содержания $sTNFRI$ и $sTNFRII$ в сыворотке крови пациентов с активным и неактивным СЛ. А прием кортикостероидных препаратов способствует значительно уменьшению содержания $sTNFRI$ и $sTNFRII$ в плазме пациентов, отвечающих на данный тип лекарственной терапии [43]. Это позволяет рассматривать данный показатель как потенциальный прогностический маркер характера течения заболевания.

Развитие воспаления при СЛ ассоциировано с накоплением в интерстициальной ткани легкого большого количества $CD4^+$ Т-клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, в том числе цитокины семейства $IL-1$ ($IL-1\alpha$ и $IL-1\beta$), относящиеся к числу ключевых модуляторов воспаления. По результатам наших исследований уровень $IL-1\beta$ в плазме крови повышен при активном, прогрессирующем и хроническом без терапии развитии СЛ (рис. 1В). Данный цитокин стимулирует Т-лимфоциты, рекрутируя их в очаг воспаления, то есть в интерстициальную ткань и альвеолы [23]. В нашем исследовании мы выявили различия в уровне данного цитокина у больных СЛ с разным течением данного заболевания.

При исследовании цитокинового профиля при СЛ обращают внимание на содержание противовоспалительного и иммуносупрессорного цитокина $IL-10$. В продукции этого белка участвуют клетки как врожденного, так и адап-

тивного 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 данной литературы не позволяет однозначно ответить на вопрос, как изменяется уровень этого цитокина при СЛ и связан ли он с тяжестью или характером течения заболевания. В исследовании Alavi Foumani G.S. и соавт. выявлено трехкратное повышение содержания IL-10 в сыворотке больных СЛ при сравнении с условно здоровыми людьми [1]. В другом исследовании не выявлено значимых различий в содержании IL-10 в сыворотке здоровых людей и больных СЛ [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 БАЛ больных СЛ разной степени тяжести 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 легких, обладают способностью усиливать продукцию IL-10 [29]. Подтверждением того, что уровень IL-10 у больных СЛ может быть связан с тяжестью заболевания, служат результаты исследований Saussine A. и соавт. [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 данным показателем у условно здоровых людей ($p = 0,001$, $p = 0,001$, $p < 0,001$ соответственно) (рис. 1Г). При этом значимых различий в содержании указанного цитокина при сравнении группы больных с активным и прогрессирующим развитием СЛ не выявлено ($p = 0,662$) (рис. 1Г).

Важной составляющей патогенеза СЛ является активация Т-хелперов 1 типа (Th1), которые участвуют в поддержании воспаления и в формировании гранулемы [26]. Активность

и пролиферация эффекторных Т-клеток в свою очередь определяется количеством и типом супрессорных клеток. 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 было отмечено ранее, экспрессия FOXP3 может служить показателем пула Treg [15]. Необходимо отметить, что сведения о количестве и типах регуляторных Т-лимфоцитов у больных СЛ противоречивы. В ряде работ отмечено повышение количества этих клеток в периферической крови больных СЛ [21]. В других же исследованиях, напротив, обнаружено, что Treg-клетки в жидкости бронхоальвеолярного лаважа больных СЛ функционально дефектны [24]. В исследовании Zhang H. и соавт. показано, что у больных СЛ 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. Примечательно, что у больных на стадии регрессии заболевания, в свою очередь, отмечается супрессия иммунного ответа [19]. Обнаруженное нами снижение уровня транскриптов гена FOXP3 в ЛПК пациентов с СЛ с активным и прогрессирующим течением, по сравнению с их уровнем у пациентов с хронической формой заболевания и условно здоровыми людьми, вероятно, связано со снижением количества циркулирующих Treg на фоне приема кортикостероидных препаратов.

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

Заключение

Для уточнения клинической картины заболевания важное значение имеет информация о динамике молекулярных биомаркеров, отражающих степень развития воспаления при СЛ. 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.

Список литературы/References

1. Alavi Foumani G.S., Geranmayeh S., Tangestani Nejad A., Pour Kazemi A., Kazem Nejad Leili E., Jafari A., Amooei Khanabباسي M. Comparison of serum interleukin-10 level of fungal exposure among patients with pulmonary sarcoidosis and healthy people. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2018, vol. 35, no. 4, pp. 294–298. doi: 10.36141/svdl.v35i4.6757
2. Agostini C., Adami F., Semenzato G. New pathogenetic insights into the sarcoid granuloma. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2000, vol. 12, no. 1, pp. 71–76. doi: 10.1097/00002281-200001000-00012
3. Antoniu S.A. Targeting the TNF-alpha pathway in sarcoidosis. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2010, vol. 14, no. 1, pp. 21–29. doi: 10.1517/14728220903449244
4. Atretkhany K.S., Gogoleva V., Drutskaya M.S., Nedospasov S.A. Distinct modes of TNF signaling through its two receptors in health and disease. *J. Leukoc. Biol.*, 2020, vol. 107, pp. 893–905. 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. *Semin. Immunopathol.*, 2016, vol. 38, no. 4, pp. 517–534. doi: 10.1007/s00281-016-0559-z
6. Broos C., Hendriks R.W., 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. 476–483. doi: 10.1097/MCP.0000000000000303
7. Broos C.E., van Nimwegen M., Kleinjan A., ten Berge B., Muskens F., in 't Veen J.C., Annema J.T., Lambrecht B.N., Hoogsteden H.C., Hendriks R.W., Kool M., van den Blink B. Impaired survival of regulatory T cells in pulmonary sarcoidosis. *Respir. Res.*, 2015, vol. 16: 108. doi: 10.1186/s12931-015-0265-8
8. Chaudhry A.A., Rudensky A.Y. Control of inflammation by integration of environmental cues by regulatory T cells. *J. Clin. Invest.*, 2013, vol. 123, no. 3, pp. 939–944. doi: 10.1172/JCI57175
9. Chen E.I., Moller D.R. Etiologies of sarcoidosis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2015, vol. 49, no. 1, pp. 6–18. doi: 10.1007/s12016-015-8481-z
10. Criado E., Sánchez M., Ramírez J., Arguis P., de Caralt T.M., Perea R.J., Xaubert A. Pulmonary sarcoidosis: typical and atypical manifestations at high-resolution CT with pathologic correlation. *Radiographics*, 2010, vol. 30, no. 6, pp. 1567–1586. doi: 10.1148/rgr.306105512
11. Dong Y., Dekens W.L., Deyn Naudé P., Eisel U.L.M. Targeting of tumor necrosis factor alpha receptors as a therapeutic strategy for neurodegenerative disorders. *Antibodies*, 2015, vol. 4, no. 4, pp. 369–408. doi: 10.3390/antib4040369
12. Fischer R., Kontermann R.E., Pfizenmaier K. Selective targeting of TNF receptors as a novel therapeutic approach. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2020, vol. 8: 401. doi: 10.3389/fcell.2020.00401
13. Fuse K., Kodama M., Okura Y., Ito M., Aoki Y., Hirono S., Kato K., Hanawa H., Aizawa Y. Levels of serum interleukin-10 reflect disease activity in patients with cardiac sarcoidosis. *Jpn. Circ. J.*, 2001, vol. 64, no. 10, pp. 755–759. doi: 10.1253/jcj.64.755
14. Georgiev P.A., Charbonnier L.M., Chatila T.A. Regulatory T cells: the many faces of Foxp3. *Clin. Immunol.*, 2019, vol. 39, no. 7, pp. 623–640. doi: 10.1007/s10875-019-00684-7
15. Genre J.L., Errante P.G., Kokron C., Toledo-Barros M., Câmara N.O.S., Rizzo L.V. Reduced frequency of CD4(+)/CD25(HIGH) FOXP3(+) cells and diminished FOXP3 expression in patients with common variable immunodeficiency: a link to autoimmunity. *Clin. Immunol.*, 2009, vol. 132, no. 2, pp. 215–221. doi: 10.1016/j.clim.2009.03.519
16. Grunewald J. Genetics of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2008, vol. 14, pp. 434–439. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283043de7
17. Herfarth H.H., Mohanty S.P., Rath H.C., Tonkonogy S.L., Sartor R.B. Interleukin 10 suppresses experimental chronic, granulomatous inflammation induced by bacterial cell wall polymers. *Gut*, 1996, vol. 39, no. 6, pp. 836–845. doi: 10.1136/gut.39.6.836
18. Hutyrová B., Pantelidis P., Drábek J., Zůrková M., Kolek V., Lenhart K., Welsh K.I., Bois R.M., 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. doi: 10.1164/ajrccm.165.2.2106004
19. 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. doi: 10.1183/09031936.06.00067105
20. 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. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623
21. Kachamakova-Trojanowska N., Jazwa-Kusior A., Szade K., Kasper L.M., 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. doi: 10.1016/j.jaut.2018.07.012
22. Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S., Bojarska-Junak A., Jankowska O., Król A., Roliński J., Milanowski J. Tumor necrosis factor receptors (TNFRs) on T lymphocytes and soluble TNFRs in different clinical courses of sarcoidosis. *Respir. Med.*, 2007, vol. 101, pp. 645–654. doi: 10.1016/j.rmed.2006.06.004
23. Kolb M., Margetts P.J., Anthony D.C., Pitossi F., Gauldie J. Transient expression of IL-1β induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 2001, vol. 107, no. 12, pp. 1529–1536. doi: 10.1172/JCI12568
24. Kumari R., Chakraborty S., Jain R., Mitra S., Mohan A., Guleria R., Pandey S., Chaudhury U., Mitra D.K. Inhibiting OX40 restores regulatory T-cell function and suppresses inflammation in pulmonary sarcoidosis. *Chest*, 2021, vol. 160, no. 3, pp. 969–982. doi: 10.1016/j.chest.2021.04.032
25. 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. Monocytes in sarcoidosis are potent tumour necrosis factor producers and predict disease outcome. *Eur. Respir. J.*, 2021, vol. 58, no. 1: 2003468. doi: 10.1183/13993003.03468-2020
26. Mortaz E., Rezayat F., Amani D., Kiani A., Garssen J., Adcock I.M., Velayati A. 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
27. 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. 315–328. doi: 10.1080/01902140303786
28. Pinto J.M., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunology*, 2010, vol. 130, no. 2, pp. 217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x

29. Richards D.M., 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. *Eur. J. Immunol.*, 2000, vol. 30, no. 8, pp. 2344–2354. doi: 10.1002/1521-4141(2000)30:8<2344::AID-IMMU2344>3.0.CO;2-7
30. Ruiz A., Palacios Y., Garcia I., Chavez-Galán L. Transmembrane TNF and its receptors TNFR1 and TNFR2 in mycobacterial infections. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22: 5461. doi: 10.3390/ijms22115461
31. Sabat R. IL-10 family of cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2010, vol. 21, no. 5, pp. 315–324. doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.11.001
32. Sabat R., Grütz G., Warszawska K., Kirsch S., Witte E., Wolk K., Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2010, vol. 5, pp. 331–344. doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002
33. Saussine A., Tazi A., Feuillet S., Rybojad M., Juillard C., Bergeron A., Dessirier V., Bouhidel F., Janin A., 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: e43588. doi: 10.1371/journal.pone.0043588
34. Sharma S.K., 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. 251–259. 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: 165. 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. *Circulation*, 2001, vol. 104, no. 7, pp. 746–749. 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. *Pulm. Med.*, 2014: 164565. doi: 10.1155/2014/164565
38. Verwoerd A., Hijdra D., Vorselaars A.D.M., Crommelin H.A., van Moorsel C.H.M., Grutters J.C., Claessen A.M.E. Infliximab therapy balances regulatory T cells, tumour necrosis factor receptor 2 (TNFR2) expression and soluble TNFR2 in sarcoidosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2016, vol. 185, no. 2, pp. 263–270. doi: 10.1111/cei.12808
39. Yamaguchi T., Wing J.B., Sakaguchi S. Two modes of immune suppression by Foxp3(+) regulatory T cells under inflammatory or non-inflammatory conditions. *Semin. Immunol.*, 2011, vol. 23, no. 6, pp. 424–430. doi: 10.1016/j.smim.2011.10.002
40. 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: 1185443. doi: 10.3389/fimmu.2023.1185443
41. 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. 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. doi: 10.1164/ajrccm.152.3.7663784
43. Ziegenhagen M.W., Fitschen J., Martinet N., Schlaak M., Müller-Quernheim J. 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. doi: 10.1046/j.1365-2796.2000.00685.x
44. Zissel G., Prasse A., Müller-Quernheim J. Immunologic response of sarcoidosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, vol. 31, no. 4, pp. 390–403. doi: 10.1055/s-0030-1262208

Авторы:

Малышева И.Е., к.б.н., старший научный сотрудник Центра медико-биологических исследований Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Топчиева Л.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Балан О.В., к.б.н., старший научный сотрудник Центра медико-биологических исследований Карельского научного центра Российской академии наук, г. Петрозаводск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Курбатова И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Тихонович Э.Л., к.м.н., зав. отделением респираторной терапии Республиканской больницы им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия.

Authors:

Malysheva I.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Topchieva L.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Balan O.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Centre of Biomedical Research, Petrozavodsk, Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Kurbatova I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Tikhonovich E.L., PhD (Medicine), Head of the Respiratory Therapy Department, V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.05.2025
Отправлена на доработку 18.06.2025
Принята к печати 23.06.2025

Received 07.05.2025
Revision received 18.06.2025
Accepted 23.06.2025