

УДК 616.24-006 : 575.117.2

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ – РЕГУЛЯТОРОВ ИММУННОГО ОТВЕТА И ВОСПАЛЕНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

И. Е. Малышева^{1*}, Л. В. Топчиева¹, О. В. Балан¹, Э. Л. Тихонович²

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), *i.e.malysheva@yandex.ru

² Республиканская больница им. В. А. Баранова (ул. Пирогова, 3, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185019)

Проведен сравнительный анализ экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции иммунного ответа и воспалительных реакций, в группе больных саркоидозом легких (СЛ) с хроническим течением заболевания (II стадия), не получающих лечение, и здоровых людей (контроль). Установлены изменения в экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *FOXP3*, *RORC*, *NLRP3* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) доноров первой группы по сравнению с контролем. Были повышенными в ЛПК больных по сравнению со здоровыми индивидами уровень транскриптов генов Toll-подобных рецепторов (*TLR2* и *TLR4*) ($p < 0,001$) и содержание мРНК генов *FOXP3*, *RORC*, *NLRP3* ($p < 0,01$). В группе пациентов с саркоидозом легких выявлена тесная связь уровня экспрессии генов *RORC* с содержанием транскриптов генов *FOXP3* ($r = 0,74$; $p = 0,008$), *TLR4* ($r = 0,74$; $p = 0,008$), *TLR2* ($r = 0,76$; $p = 0,006$) и обнаружена положительная корреляция между уровнем экспрессии генов *TLR4* и *FOXP3* ($r = 0,578$; $p = 0,037$), генов *TLR2* и *TLR4* ($r = 0,64$; $p = 0,02$). Повышение содержания транскриптов генов *FOXP3*, *RORC* в ЛПК больных СЛ со стабильным течением без терапии по сравнению со здоровыми индивидами и выявленная их положительная корреляция с уровнем экспрессии генов *TLR2*, *TLR4* свидетельствуют об активации клеток адаптивного и врожденного иммунитета и развитии хронического воспаления при данном заболевании.

Ключевые слова: саркоидоз легких; гранулема; воспаление; Toll-подобные рецепторы; транскрипционные факторы; инфламмосома; экспрессия генов

Для цитирования: Малышева И. Е., Топчиева Л. В., Балан О. В., Тихонович Э. Л. Анализ экспрессии генов – регуляторов иммунного ответа и воспаления в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких при хроническом течении заболевания // Труды Карельского научного центра РАН. 2024. doi: 10.17076/eb1979

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0009).

**I. E. Malysheva^{1*}, L. V. Topchieva¹, O. V. Balan¹, E. L. Tikhonovich².
ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF THE GENES REGULATING IMMUNE
RESPONSE AND INFLAMMATION IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES
OF PATIENTS WITH PULMONARY SARCOIDOSIS DURING CHRONIC
COURSE OF THE DISEASE**

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences

(11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), *i.e.malysheva@yandex.ru

² Republican Hospital named after V. A. Baranov (3 Pirogova St., 185019 Petrozavodsk, Karelia, Russia)

A comparative analysis of the expression of the genes encoding proteins involved in the regulation of immune response and inflammatory reactions in the group of untreated patients with chronic (stage II) pulmonary sarcoidosis (PS) and in healthy people (control) was carried out. The expression of *TLR2*, *TLR4*, *FOXP3*, *RORC*, *NLRP3* genes in peripheral blood leukocytes (PBLs) of PS patients with chronic disease progression receiving no therapy differed from that in healthy individuals. The transcripts of Toll-like receptor genes (*TLR2* and *TLR4*) in PBLs of patients with PS were upregulated compared to healthy controls ($p < 0.001$). The mRNA content of *FOXP3*, *RORC*, *NLRP3* genes in PBLs of PS patients was higher than in healthy individuals ($p < 0.01$). The group of patients with PS exhibited a close correlation between the level of *RORC* gene expression and the content of *FOXP3* ($r = 0.74$; $p = 0.008$), *TLR4* ($r = 0.74$; $p = 0.008$), *TLR2* ($r = 0.76$; $p = 0.006$) transcripts. In this group, a positive correlation was found also between the expression level of *TLR4* and *FOXP3* genes ($r = 0.578$; $p = 0.037$), *TLR2* and *TLR4* genes ($r = 0.64$; $p = 0.02$). The elevated content of *FOXP3* and *RORC* gene transcripts in PBLs of untreated PS patients with a stable course of the disease compared to healthy individuals and their positive correlation with the level of *TLR2* and *TLR4* gene expression point to an activation of adaptive and innate immunity cells and the development of chronic inflammation in this disease.

Keywords: pulmonary sarcoidosis; granuloma; inflammation; Toll-like receptors; transcription factors; inflammasome; gene expression

For citation: Malysheva I. E., Topchieva L. V., Balan O. V., Tikhonovich E. L. Analysis of the expression of the genes regulating immune response and inflammation in peripheral blood leukocytes of patients with pulmonary sarcoidosis during chronic course of the disease. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2024. doi: 10.17076/eb1973

Funding. Studies were funded from the federal budget through state assignment to KarRC RAS (FMEN-2022-0009).

Введение

Воспаление играет важную роль в развитии и прогрессировании многих патологий, в том числе саркоидоза легких (болезнь Бенье-Бека-Шаумана). Это системное иммуновоспалительное заболевание с многообразием клинических проявлений и вариантов течения. Характерным признаком заболевания являются эпителиоидно-клеточные гранулемы, которые могут возникать в любых органах, но наиболее часто (примерно в 90 % случаев) встречаются в легких и средостении [Vaughan et al., 2003]. В настоящее время этиология саркоидоза до конца не установлена. Предполагают, что развитие воспалительного процесса и образование саркоидных гранул возникает у людей с генетически обусловленной чувствительностью к воздействию неустановленного этиологического

фактора(ов). В качестве возможного причинного фактора рассматривают инфекционные агенты. Так, в тканях, взятых от больных саркоидозом, в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), а также в саркоидных гранулемах обнаружены нуклеиновые кислоты и белки микроорганизмов [Oswald-Richter et al., 2010; Mortaz et al., 2017; Yamaguchi et al., 2021]. Исследования нескольких научных групп указывают на причастность микобактерий или пропионибактерий к этиологии саркоидоза на основе иммунологических реакций и анализа тканей [Mortaz et al., 2017]. У больных саркоидозом выявлен специфический иммунный ответ на микобактериальные антигены mKatG и ESAT-6 *M. tuberculosis* [Yamaguchi et al., 2021]. В средостенных или поверхностных лимфатических узлах пациентов с саркоидозом легких обнаружен более высокий уровень *P. acnes* [Oswald-Richter et al., 2009].

Полагают, что к развитию гранулематозного воспаления и образованию гранул при саркоидозе легких приводит дисрегуляция активности врожденного и адаптивного иммунного ответа [Weeratunga et al., 2024]. Известно, что начальные этапы этого заболевания связаны с активацией макрофагов после взаимодействия инфекционного агента или ассоциированных с повреждением молекул с рецепторами распознавания, к которым относятся трансмембранные белки, такие как Toll-подобные рецепторы (TLRs). Указанные рецепторы играют важную роль в распознавании лигандов молекул микроорганизмов, а также эндогенных молекул, которые образуются при патологических процессах в различных тканях [Nie et al., 2018]. Среди семейства Toll-подобных рецепторов значимую роль в патогенезе саркоидоза легких и в развитии воспаления играют TLR2, TLR4 [Schürmann et al., 2008; Julian et al., 2013]. По данным литературы, дифференцировка макрофагов на провоспалительный M1 или противовоспалительный M2 типы, участвующих в процессе формирования гранулемы, зависит от микроокружения (различных типов Т-клеток, хемокинов, цитокинов). Не исключено, что поляризация макрофагов, которая имеет место при саркоидозе, может зависеть от функциональных особенностей не только паттерн-распознающих вне- и внутриклеточных рецепторов, но и эффекторных систем клеток, участвующих в продукции провоспалительных цитокинов, в частности, олигомеризационной способности инфламмосомы NLRP3. Активация инфламмосом, а именно инфламмосомы NLRP3, приводит к индуцируемому каспазой-1 образованию активных форм провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-18 [Mortaz et al., 2014], участвующих в дальнейшей активации систем врожденного и адаптивного иммунитета. Среди клеточных элементов адаптивного иммунитета значимую роль в развитии и разрешении воспаления играют эффекторные и супрессорные Т-лимфоциты [Bennett et al., 2019]. Более того, считается, что нарушение их баланса может лежать в основе патогенеза саркоидоза легких [Miedema et al., 2024]. Отмечено повышение доли эффекторных Т-хелперов, в частности Th17-клеток, в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и периферической крови больных СЛ. Однако как изменяется пул супрессорных Т-лимфоцитов, в частности Т-регуляторных клеток (Treg), при данном заболевании, сказать сложно ввиду противоречивости имеющихся в литературе сведений. В ряде работ отмечено повышение количества этих клеток в периферической крови больных

саркоидозом легких [Kachamakova-Trojanowska et al., 2018]. В других же исследованиях, напротив, обнаружено, что Treg-клетки в жидкости бронхоальвеолярного лаважа больных саркоидозом легких функционально дефектны [Kumari et al., 2021]. В исследовании Zhang с соавторами показано, что у больных саркоидозом легких количество Treg-клеток в периферической крови выше, чем у условно здоровых людей, и этот показатель коррелирует с активностью заболевания и фиброзным рентгенологическим фенотипом [Zhang et al., 2023]. В то же время количество Treg в жидкости БАЛ у этих пациентов, напротив, значительно ниже, чем у здоровых индивидов. Характерными маркерами Th17-клеток и Т-регуляторных лимфоцитов являются транскрипционные факторы RAR related orphan receptor C (RORC), кодируемый геном *RORC*, и forkhead box P3 (FOXP3), кодируемый геном *FOXP3*. Предположительно, уровень экспрессии генов *RORC* и *FOXP3* в клетках периферической крови может отражать количество циркулирующих клеток, которые способны фильтровать ткани легких. Таким образом, важно было оценить, как изменяется уровень экспрессии этих генов у больных СЛ. Оценка экспрессии генов, участвующих в регуляции воспаления, может быть удобным подходом для мониторинга уровня воспалительных процессов при СЛ.

При анализе данных литературы мы видим, что зачастую в группы исследования включены больные СЛ на разных стадиях заболевания, с разной активностью воспалительных процессов и лекарственной терапией. В связи с этим представляется важным подбор однородных по клинической картине исследуемых групп, и в настоящем исследовании мы сформировали две группы: условно здоровых людей (контрольная группа) и больных СЛ с хроническим течением заболевания (II стадия) без терапии.

Цель исследования заключалась в оценке уровня экспрессии генов – регуляторов иммунного ответа и воспаления в ЛПК больных саркоидозом легких при хроническом течении заболевания (II стадия) без терапии.

Материалы и методы

Обследовано 45 человек – 20 больных с хроническим течением саркоидоза легких (II стадия заболевания) без терапии (ср. возраст 41,00 \pm 12,56 года) и 25 здоровых людей (контроль) (ср. возраст 45,86 \pm 2,13 года). Уровень экспрессии исследуемых генов изучали в ЛПК больных саркоидозом легких с хроническим течением заболевания (II стадия развития),

без проведения терапии, а также у условно здоровых людей (контрольная группа). Диагноз саркоидоз легких установлен в соответствии с критериями на основе клинко-рентгенологических и лабораторных изменений. У всех пациентов саркоидоз (100 %) был верифицирован гистологически на основании исследования биоптата. Больные саркоидозом легких со стабильным течением при отсутствии активности данного заболевания находились без терапии и не получали других видов лечения на момент проведения исследования. До проведения исследований письменное информированное согласие было получено от всех пациентов. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, выраженные нарушения функции внутренних органов, а также перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания, курение табака, беременность и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 30 кг/м. Работа выполнена с соблюдением этических норм согласно критериям Всемирной ассоциации медицинских редакторов (The World Association of Medical Editors – WAME) и одобрена локальным

этическим комитетом ГБУЗ «Республиканская больница им. В. А. Баранова» г. Петрозаводска, протокол № 165 от 02.11.2023 г. Образцы венозной крови использованы в качестве материала для исследования. Кровь взята утром, натощак.

Для выделения тотальной РНК (тотРНК) использовали реагент для выделения РНК PureZol (Bio-Rad, США). Для удаления остатков ДНК раствор тотРНК обрабатывали ДНКазой («Сибэнзим», Россия) (1 е. а.) при 37 °С в течение 30 мин. Синтез кДНК проводили с помощью набора MMLV RT kit («Евроген», Россия). Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) определяли количество транскриптов исследуемых генов в ЛПК на приборе LightCycler (Roche, Германия). Для проведения исследования использовали наборы qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия) и праймеры («Синтол», Россия). В качестве референсных генов были выбраны *18sRNA* и *GAPDH*. ПЦР-РВ для каждого образца проводили не менее трех раз. Дизайн праймеров осуществляли в программе Beacon Designer 5.0. Сиквенс праймеров представлен в таблице.

Нуклеотидная последовательность праймеров для ПЦР-РВ

Nucleotide sequence of primers for RT-PCR

Ген Gene	Праймер Primer	Последовательность праймера 5'-3' Primer sequence 5'-3'	Источник Source
<i>18sRNA</i>	прямой forward	agaaacggctaccacatcca	Pinto et al., 2010
	обратный reverse	caccagacttgccctcca	
<i>GAPDH</i>	прямой forward	gaaggtgaaggtcggagtc	Собственный дизайн Authors' design
	обратный reverse	gaagatggtgatgggatttc	
<i>TLR2</i>	прямой forward	tgatggtgtgggtcttg	Собственный дизайн Authors' design
	обратный reverse	aggcactgttgctaatgtagg	
<i>TLR4</i>	прямой forward	agggtattgtgtggtgc	Собственный дизайн Authors' design
	обратный reverse	ggtaagtgttcctgctgag	
<i>FOXP3</i>	прямой forward	gccacaacctgagtctgc	Huang et al., 2013
	обратный reverse	gttcgtccatcctctttcc	
<i>RORC</i>	прямой forward	ccaaggcagggctcaatg	Huang et al., 2013
	обратный reverse	gaagtccacatcggctcagg	
<i>NLRP3</i>	прямой forward	ggacaatgacagcatcgggt	Собственный дизайн Authors' design
	обратный reverse	tggtcagttaagaaagatagcgg	

Для статистической обработки данных использовали пакет программ Statgraphics Centurion XVI (v. 16.1.11). Достоверность различий уровня транскриптов гена между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия 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

Уровень транскриптов генов Toll-подобных рецепторов (*TLR2*, *TLR4*), гена *NLRP3* (NLR family pyrin domain containing 3) в лейкоцитах периферической крови на фоне хронического течения саркоидоза легких был выше, чем у здоровых людей ($p < 0,001$) (рис. 1).

Выявлено повышение содержания мРНК генов *FOXP3*, *RORC* в ЛПК больных людей по сравнению со здоровыми индивидами ($p < 0,01$) (рис. 2). В группе пациентов

с саркоидозом легких выявлена тесная связь уровня экспрессии генов *RORC* с содержанием транскриптов гена *FOXP3* ($r = 0,74$; $p = 0,008$), *TLR4* ($r = 0,74$; $p = 0,008$), *TLR2* ($r = 0,76$; $p = 0,006$). В этой же группе обследованных лиц обнаружена положительная корреляция между уровнем экспрессии генов *TLR4* и *FOXP3* ($r = 0,578$; $p = 0,037$), генов *TLR2* и *TLR4* ($r = 0,64$; $p = 0,02$).

Обсуждение

В развитии воспаления при СЛ важную роль играет обнаружение Т-клетками антигена и активация макрофагов с помощью PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) или DAMPs (Damage-associated molecular patterns). В организме PAMPs и DAMPs распознаются с помощью рецепторов клеток иммунной системы PRRs (Pathogen Recognising Receptors), к которым относятся трансмембранные белки, такие как Toll-подобные рецепторы (TLRs) [Barna et al., 2021]. Результаты, полученные в ходе нашего исследования, свидетельствуют о том, что хроническое воспаление, приводящее

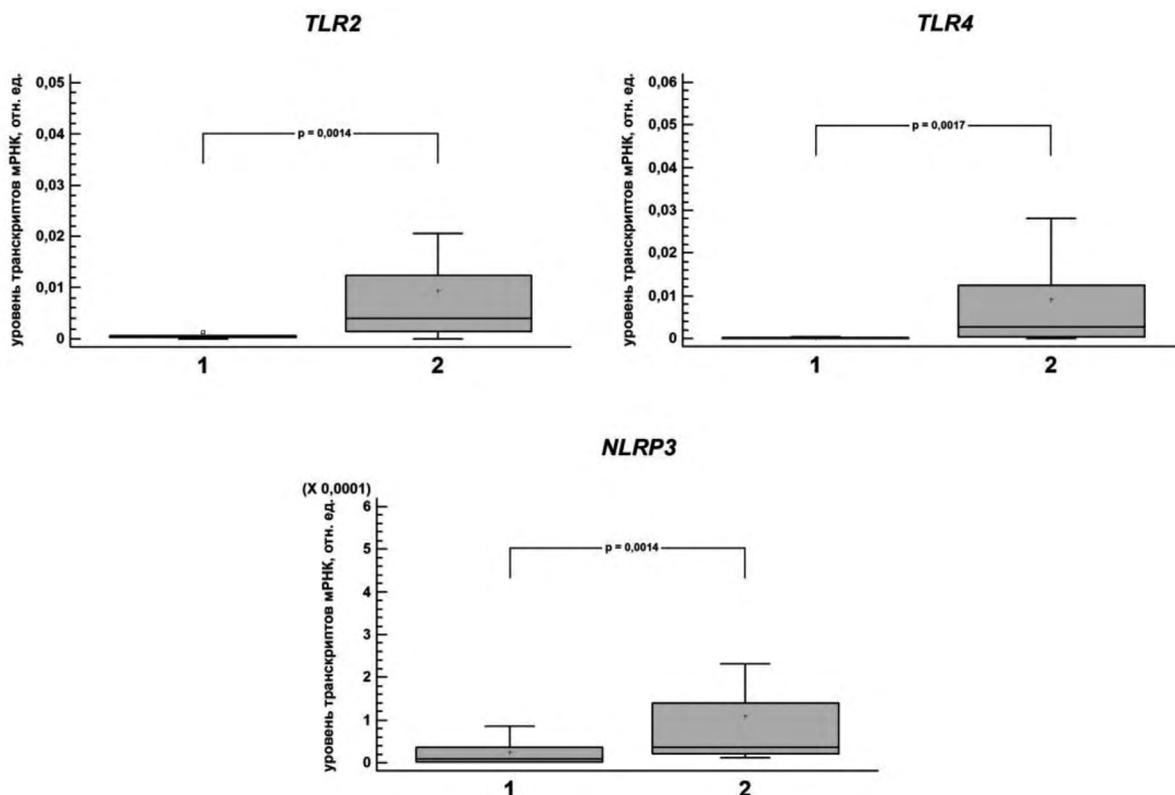


Рис. 1. Уровень транскриптов гена *TLR2*, *TLR4*, *NLRP3* в ЛПК условно здоровых людей (контрольная группа) и у больных саркоидозом легких при хроническом течении заболевания (стадия II) без терапии
Fig. 1. *TLR2*, *TLR4*, *NLRP3* gene transcript levels in the PBL of the conditionally healthy people (the control group) and the patients with chronic pulmonary sarcoidosis (stage II), without treatment

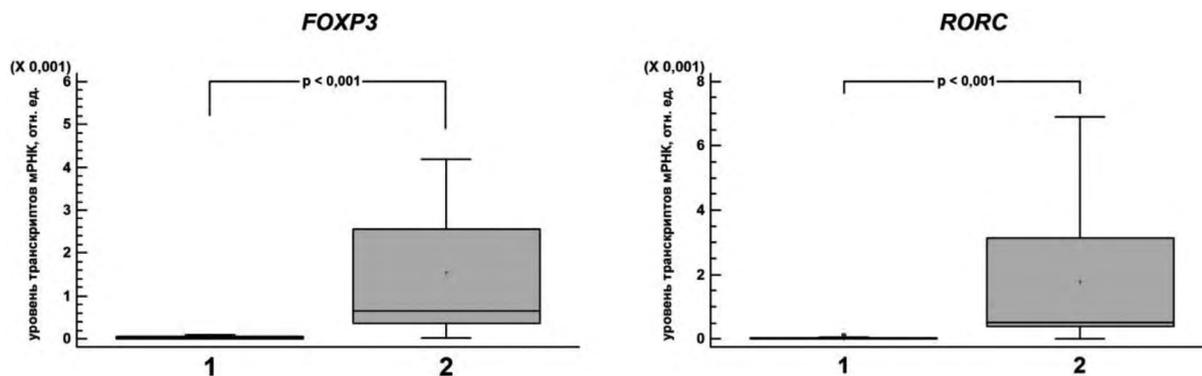


Рис. 2. Уровень транскриптов гена *FOXP3*, *RORC* в ЛПК условно здоровых людей (контрольная группа) и у больных саркоидозом легких при хроническом течении заболевания (стадия II) без терапии

Fig. 2. *FOXP3*, *RORC* gene transcript levels in the PBL of the conditionally healthy people (the control group) and the patients with chronic pulmonary sarcoidosis (stage II), without treatment

к формированию второй стадии СЛ, связано с увеличением уровня экспрессии генов *TLR2*, *TLR4* и *NLRP3*. В группе больных саркоидозом легких обнаружена положительная корреляция между уровнем экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* [Sutterwala et al., 2014]. Полученные нами данные корреспондируют с результатами исследований других авторов. Так, Викен с соавторами наблюдали повышение базового уровня экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в мононуклеарах крови больных саркоидозом [Wikén et al., 2009]. Повышение транскрипционной активности этих генов в ЛПК при СЛ может быть обусловлено увеличением количества клеток врожденного иммунитета, по большей части нейтрофилов. Известно, что нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение крови при саркоидозе легких повышается; нейтрофилы присутствуют и в бронхоальвеолярном лаваже, и в гранулемах. Установлена возможность рециркуляции нейтрофилов с вовлечением лимфоузлов (интересно, что для клинической картины саркоидоза легких тоже характерно обширное вовлечение лимфоузлов). Нейтрофилы периферической крови экспрессируют на заметном уровне *TLR4*, *TLR2*, *NLRP3*. Поэтому вполне вероятно, что наблюдаемое повышение уровня экспрессии данных транскриптов в суммарной фракции ЛПК может быть обусловлено и заметным вкладом нейтрофилов (в силу их количественного преобладания). По данным литературы, иницирующие сигналы от Toll-подобных рецепторов, после их взаимодействия с различными PAMPs или DAMPs, через адаптерные молекулы MyD88 (myeloid differentiation factor 88) передаются на соответствующие киназы (p38, IRAK1 и др.). Это, в свою очередь, приводит к дифференциальной активации транскрипционных

факторов (NFκB, AP1 и др.), ответственных за экспрессию различных провоспалительных цитокинов эпителиальными клетками и альвеолярными макрофагами [Mortaz et al., 2017]. Под влиянием медиаторов, продуцируемых активированными Т-лимфоцитами и макрофагами, возникают эпителиоидно-клеточные гранулемы. Формирующееся микроокружение и клеточный состав способствуют поляризации макрофагов фенотипа M1 и M2. При этом наблюдается также значительная активация Т-лимфоцитов, вырабатывающих интерлейкин-2. Вследствие этого происходит активация Т-эффекторных лимфоцитов и продукция ими ряда лимфокинов [Nienhuis, Grutters, 2022]. В образовании гранулемы у больных СЛ со стадией II, по всей видимости, играет роль изменение баланса Т-хелперов первого типа и второго типа (Th1/Th2) при усилении поляризации Т-хелперов в сторону провоспалительного Th1-фенотипа, а также Th17/Treg клеток [Ding et al., 2017]. В нашем исследовании установлено повышение содержания мРНК генов *FOXP3*, *RORC* в ЛПК больных людей по сравнению со здоровыми индивидами. Более того, в группе больных саркоидозом легких выявлена тесная связь уровня экспрессии генов *RORC* с содержанием транскриптов гена *FOXP3*. Эти данные свидетельствуют об активации системы адаптивного иммунитета у больных СЛ. Повышенная экспрессия IL-17A в гранулемах и присутствие Th-клеток IL-17A (+), IL-17A (+) IFN-γ (+) и IL-17A (+) IL-4 (+) в крови и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) у больных саркоидозом легких указывает на вовлечение Th17-клеток в индукцию или поддержание гранулемы [Ten Berge et al., 2012; Crouser, 2018]. Усиление воспалительного ответа в данном случае может осуществляться

через высвобождение IL-17A и IFN γ [Ramstein et al., 2016]. Кроме того, в группе пациентов с саркоидозом легких установлена тесная связь уровня экспрессии генов *RORC* с содержанием транскриптов гена *TLR4* и гена *TLR2*. В группе больных СЛ также выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии генов *TLR4* и *FOXP3*. Это свидетельствует о тесной связи системы врожденного и адаптивного иммунитета в развитии СЛ.

Заключение

Экспрессия исследуемых генов иммунного ответа и воспаления в лейкоцитах крови больных саркоидозом легких при хроническом течении заболевания свидетельствует об их вовлечении в патогенез саркоидоза. Вероятно, белковые продукты, кодируемые генами *TLR2*, *TLR4*, *FOXP3*, *RORC*, *NLRP3*, вовлечены в модулирование иммунных реакций, которые могут вносить определенный вклад в развитие процесса воспаления при саркоидозе легких даже в условиях стабилизации состояния (хроническое течение без терапии).

Литература

- Barna B. P., Judson M. A., Thomassen M. J. Inflammatory pathways in sarcoidosis // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021. Vol. 304. P. 39–52. doi: 10.1007/978-3-030-68748-9_3
- Baughman R. P., Lower E. E., du Bois R. M. Sarcoidosis // *Lancet.* 2003. Vol. 361. P. 1111–1118. doi: 10.1016/S0140-6736(03)12888-7
- Bennett D., Bargagli E., Refini R.-M., Rottoli P. New concepts in the pathogenesis of sarcoidosis // *Expert Rev. Respir. Med.* 2019. Vol. 13, no. 10. P. 981–991. doi: 10.1080/17476348.2019.165540
- Crouser E. D. Role of imbalance between Th17 and regulatory T-cells in sarcoidosis // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2018. Vol. 24, no. 5. P. 521–526. doi: 10.1097/MCP.0000000000000498
- Ding J., Dai J., Cai H., Gao Q., Wen Y. Extensively disturbance of regulatory T cells - Th17 cells balance in stage II pulmonary sarcoidosis // *Int. J. Med. Sci.* 2017. Vol. 14, no. 11. P. 1136–1142. doi: 10.7150/ijms.18838
- Huang H., Lu Z., Jiang C., Liu J., Wang Y., Xu Z. Imbalance between Th17 and regulatory T-Cells in sarcoidosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14, no. 11. P. 21463–21473. doi: 10.3390/ijms141121463
- Julian M. W., Shao G., Schlesinger L. S., Huang Q., Cosmar D. G., Bhatt N. Y., Culver D. A., Baughman R. P., Wood K. L., Crouser E. D. Nicotine treatment improves Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 9 responsiveness in active pulmonary sarcoidosis // *Chest.* 2013. Vol. 143, no. 2. P. 461–470. doi: 10.1378/chest.12-0383
- 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. P. 56–69. doi: 10.1016/j.jaut.2018.07.012
- 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. P. 969–982. doi: 10.1016/j.chest.2021.04.032
- Miedema J., Cinetto F., Smed-Sørensen A., Spagnolo P. The immunopathogenesis of sarcoidosis // *J. Autoimmun.* 2024. Art. 103247. doi: 10.1016/j.jaut.2024.103247
- Mortaz E., Adcock I. M., Abedini A., Kiani A., Kazempour-Dizaji M., Movassaghi M., Garssen J. The role of pattern recognition receptors in lung sarcoidosis // *Eur. J. Pharmacol.* 2017. Vol. 808. P. 44–48. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.01.020
- Mortaz E., Masjedi M. R., Tabarsi P. Pourabdollah M., Adcock I. M. Immunopathology of sarcoidosis // *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2014. Vol. 13, no. 5. P. 300–306.
- Nie X., Kitaoka S., Tanaka K., Segi-Nishida E., Imoto Y., Ogawa A., Nakano F., Tomohiro A., Nakayama K., Taniguchi M., Mimori-Kiyosue Y., Kakizuka A., Narumiya S., Furuyashiki T. The innate immune receptors TLR2/4 mediate repeated social defeat stress-induced social avoidance through prefrontal microglial activation // *Neuron.* 2018. Vol. 99, no. 3. P. 464–479. doi: 10.1016/j.neuron.2018.06.035
- Nienhuis W., Grutters J. Potential therapeutic targets to prevent organ damage in chronic pulmonary sarcoidosis // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2022. Vol. 26, no. 1. P. 41–55. doi: 10.1080/14728222.2022.2022123
- Oswald-Richter K. A., Beachboard D. C., Zhan X., Gaskill C. F., Abraham S., Jenkins C., Culver D. A., Drake W. Multiple mycobacterial antigens are targets of the adaptive immune response in pulmonary sarcoidosis // *Respir. Res.* 2010. Vol. 11, no. 1. P. 161. doi: 10.1186/1465-9921-11-161
- Oswald-Richter K. A., Culver D. A., Hawkins C., Hajizadeh R., Abraham S., Shepherd B. E., Jenkins C. A., Judson M. A., Drake W. P. Cellular responses to mycobacterial antigens are present in bronchoalveolar lavage fluid used in the diagnosis of sarcoidosis // *Infect. Immun.* 2009. Vol. 77, no. 9. P. 3740–3748. doi: 10.1128/IAI.00142-09
- Pinto J., 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. P. 217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x
- Ramstein J., Broos C. E., Simpson L. J., Ansel K. M., Sun S. A., Ho M. E., Woodruff P. G., Bhakta N. R., Christian L., Nguyen C. P., Antalek B. J., Benn B. S., Hendriks R. W., van den Blink B., Kool M., Koth L. L. IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016. Vol. 193, no. 11. P. 1281–1291. doi: 10.1164/rccm.201507-1499OC
- Schürmann M., Kwiatkowski R., Albrecht M., Fischer A., Hampe J., Müller-Quernheim J., Schwinger E., Schreiber S. Study of Toll-like receptor gene loci in

sarcoidosis // Clin. Exp. Immunol. 2008. Vol. 152, no. 3. P. 423–431. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03621.x

Sutterwala F. S., Haasken S., Cassel S. L. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Ann. NY Acad. Sci.* 2014. Vol. 1319, no. 1. P. 82–95. doi: 10.1111/nyas.12458

Ten Berge B., Paats M. S., Bergen I. M., van den Blink B., Hoogsteden H. C., Lambrecht B. N., Hendriks R. W., Kleinjan A. Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis // *Rheumatology (Oxford)*. 2012. Vol. 51, no. 1. P. 37–46. doi: 10.1093/rheumatology/ker316

Weeratunga P., Moller D. R., Ho L. P. Immune mechanisms of granuloma formation in sarcoidosis and tuberculosis // *J. Clin. Invest.* 2024. Vol. 134, no. 1. e175264. doi: 10.1172/JCI175264

Wikén M., Grunewald J., Eklund A., Wahlström J. Higher monocyte expression of TLR2 and TLR4, and enhanced pro-inflammatory synergy of TLR2 with NOD2 stimulation in sarcoidosis // *J. Clin. Immunol.* 2009. Vol. 29, no. 1. P. 78–89. doi: 10.1007/s10875-008-9225-0

Yamaguchi T., Costabel U., McDowell A., Guzman J., Uchida K., Ohashi K., Eishi Y. Immunohistochemical detection of potential microbial antigens in granulomas in the diagnosis of sarcoidosis // *J. Clin. Med.* 2021. Vol. 10, no. 5. P. 983. doi: 10.3390/jcm10050983

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. P. 1185443. doi: 10.3389/fimmu.2023.1185443

References

Barna B. P., Judson M. A., Thomassen M. J. Inflammatory pathways in sarcoidosis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021;304:39–52. doi: 10.1007/978-3-030-68748-9_3

Baughman R. P., Lower E. E., du Bois R. M. Sarcoidosis. *Lancet.* 2003;361:1111–1118. doi: 10.1016/S0140-6736(03)12888-7

Bennett D., Bargagli E., Refini R-M., Rottoli P. New concepts in the pathogenesis of sarcoidosis. *Expert Rev. Respir. Med.* 2019;13:981–991. doi: 10.1080/17476348.2019.165540

Crouser E. D. Role of imbalance between Th17 and regulatory T-cells in sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2018;24(5):521–526. doi: 10.1097/MCP.0000000000000498

Ding J., Dai J., Cai H., Gao Q., Wen Y. Extensively disturbance of regulatory T cells - Th17 cells balance in stage II pulmonary sarcoidosis. *Int. J. Med. Sci.* 2017;14(11):1136–1142. doi: 10.7150/ijms.18838

Huang H., Lu Z., Jiang C., Liu J., Wang Y., Xu Z. Imbalance between Th17 and regulatory T-Cells in sarcoidosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14(11):21463–73. doi: 10.3390/ijms141121463

Julian M. W., Shao G., Schlesinger L. S., Huang Q., Cosmar D. G., Bhatt N. Y., Culver D. A., Baughman R. P., Wood K. L., Crouser E. D. Nicotine treatment improves Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor

9 responsiveness in active pulmonary sarcoidosis. *Chest.* 2013;143(2):461–470. doi: 10.1378/chest.12-0383

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;94:56–69. doi: 10.1016/j.jaut.2018.07.012

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;160(3):969–982. doi: 10.1016/j.chest.2021.04.032

Miedema J., Cinetto F., Smed-Sørensen A., Spagnolo P. The immunopathogenesis of sarcoidosis. *J. Autoimmun.* 2024:103247. doi: 10.1016/j.jaut.2024.103247

Mortaz E., Adcock I. M., Abedini A., Kiani A., Kazempour-Dizaji M., Movassaghi M., Garssen J. The role of pattern recognition receptors in lung sarcoidosis. *Eur. J. Pharmacol.* 2017;808:44–48. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.01.020

Mortaz E., Masjedi M. R., Tabarsi P., Pourabdollah M., Adcock I. M. Immunopathology of sarcoidosis. *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2014;13(5):300–306.

Nie X., Kitaoka S., Tanaka K., Segi-Nishida E., Imoto Y., Ogawa A., Nakano F., Tomohiro A., Nakayama K., Taniguchi M., Mimori-Kiyosue Y., Kakizuka A., Narumiya S., Furuyashiki T. The innate immune receptors TLR2/4 mediate repeated social defeat stress-induced social avoidance through prefrontal microglial activation. *Neuron.* 2018;99(3):464–479. doi: 10.1016/j.neuron.2018.06.035

Nienhuis W., Grutters J. Potential therapeutic targets to prevent organ damage in chronic pulmonary sarcoidosis. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2022;26(1):41–55. doi: 10.1080/14728222.2022.2022123

Oswald-Richter K. A., Beachboard D. C., Zhan X., Gaskill C. F., Abraham S., Jenkins C., Culver D. A., Drake W. Multiple mycobacterial antigens are targets of the adaptive immune response in pulmonary sarcoidosis. *Respir. Res.* 2010;11(1):161. doi: 10.1186/1465-9921-11-161

Oswald-Richter K. A., Culver D. A., Hawkins C., Hajizadeh R., Abraham S., Shepherd B. E., Jenkins C. A., Judson M. A., Drake W. P. Cellular responses to mycobacterial antigens are present in bronchoalveolar lavage fluid used in the diagnosis of sarcoidosis. *Infect. Immun.* 2009;77(9):3740–3748. doi: 10.1128/IAI.00142-09

Pinto J., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunology.* 2010;130(2):217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x

Ramstein J., Broos C. E., Simpson L. J., Ansel K. M., Sun S. A., Ho M. E., Woodruff P. G., Bhakta N. R., Christian L., Nguyen C. P., Antalek B. J., Benn B. S., Hendriks R. W., van den Blink B., Kool M., Koth L. L. IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016;193(11):1281–1291. doi: 10.1164/rccm.201507-1499OC

Schürmann M., Kwiatkowski R., Albrecht M., Fischer A., Hampe J., Müller-Quernheim J., Schwinger E.,

Schreiber S. Study of Toll-like receptor gene loci in sarcoidosis. *Clin. Exp. Immunol.* 2008;152(3):423–31. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03621.x

Sutterwala F. S., Haasken S., Cassel S. L. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Ann. NY Acad. Sci.* 2014;1319(1):82–95. doi: 10.1111/nyas.12458

Ten Berge B., Paats M. S., Bergen I. M., van den Blink B., Hoogsteden H. C., Lambrecht B. N., Hendriks R. W., Kleinjan A. Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(1):37–46. doi: 10.1093/rheumatology/ker316

Weeratunga P., Moller D. R., Ho L. P. Immune mechanisms of granuloma formation in sarcoidosis and tuberculosis. *J. Clin. Invest.* 2024;134(1):e175264. doi: 10.1172/JCI1175264

Wikén M., Grunewald J., Eklund A., Wahlström J. Higher monocyte expression of TLR2 and TLR4, and enhanced pro-inflammatory synergy of TLR2 with NOD2 stimulation in sarcoidosis. *J. Clin. Immunol.* 2009;29(1):78–89. doi: 10.1007/s10875-008-9225-0

Yamaguchi T., Costabel U., McDowell A., Guzman J., Uchida K., Ohashi K., Eishi Y. Immunohistochemical detection of potential microbial antigens in granulomas in the diagnosis of sarcoidosis. *J. Clin. Med.* 2021;10(5):983. doi: 10.3390/jcm10050983

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;14:1185443. doi: 10.3389/fimmu.2023.1185443

Поступила в редакцию / received: 30.10.2024; принята к публикации / accepted: 19.11.2024.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Малышева Ирина Евгеньевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

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

Топчиева Людмила Владимировна

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник

e-mail: topchieva67@mail.ru

Балан Ольга Викторовна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник

e-mail: ovbalan@mail.ru

Тихонович Элла Леонидовна

канд. мед. наук, заведующая отделением респираторной терапии

e-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Malysheva, Irina

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Topchieva, Lyudmila

Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher

Balan, Olga

Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

Tikhonovich, Ella

Cand. Sci. (Med.), Head of Department