

Роль полиморфизма генов в чувствительности к саркоидозу легких

И.Е.Малышева¹, Л.В.Топчиева¹, Э.Л.Тихонович²

1 – Институт биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр “Карельский научный центр Российской академии наук”»: 185910, Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11;

2 – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Карелия «Республиканская больница им. В.А.Баранова»: 185019, Петрозаводск, ул. Пирогова, 3

Информация об авторах

Малышева Ирина Евгеньевна – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр “Карельский научный центр Российской академии наук”»; тел.: (8142) 57-18-79; e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Топчиева Людмила Владимировна – к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр “Карельский научный центр Российской академии наук”»; тел.: (8142) 57-18-79; e-mail: topchieva67@mail.ru

Тихонович Элла Леонидовна – заведующая отделением респираторной терапии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республики Карелия «Республиканская больница им. В.А.Баранова»; тел.: (8142) 76-39-10; e-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

Резюме

В обзоре обобщены сведения о роли полиморфных вариантов генов в формировании иммунного ответа при саркоидозе. Обозначены основные гены-кандидаты, однонуклеотидные замены, которые могут оказывать модулирующее действие на развитие иммунных реакций при данной патологии, а также определять не только восприимчивость людей к возникновению саркоидоза легких, но и оказывать влияние на клинические характеристики течения заболевания.

Ключевые слова: саркоидоз легких, полиморфизм генов, однонуклеотидные замены.

Для цитирования: Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. Роль полиморфизма генов в чувствительности к саркоидозу легких. *Пульмонология*. 2019; 29 (5): 596–603. DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-5-596-603

A role of gene polymorphism for susceptibility to pulmonary sarcoidosis

I.E.Malysheva¹, L.V.Topchiyeva¹, E.L.Tikhonovich²

1 – Institute of Biology, Karelian Federal Research Center, Russian Academy of Science: ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910, Russia;

2 – V.A.Baranov Republic Hospital of Kareliya Republic: ul. Pirogova 3, Petrozavodsk, 185019, Russia

Author information

Irina E. Malysheva, Candidate of Biology, Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology, Karelian Federal Research Center, Russian Academy of Science; tel.: (8142) 57-18-79; e-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Ljudmila V. Topchiyeva, Candidate of Biology, the Leading Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology, Karelian Federal Research Center, Russian Academy of Science; tel.: (8142) 57-18-79; e-mail: topchieva67@mail.ru

Ella L. Tikhonovich, Head of Department of Respiratory Therapy, V.A.Baranov Republic Hospital of Kareliya Republic; tel.: (8142) 76-39-10; e-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

Abstract

Authors of this review described gene polymorphism involved in the development of the immune response in sarcoidosis. Gene background could determine not only the subject's susceptibility to sarcoidosis, but also a clinical course of the disease. Currently, allele variants that could be used as prognostic markers to reveal subjects susceptible to sarcoidosis and to predict a clinical course of sarcoidosis are investigated. Published data on a relationship between the carriage of certain allele variants and the subject's susceptibility to sarcoidosis are scarce and controversial. Nevertheless, those data could be used to detect potential goals for targeted therapy of sarcoidosis and to develop measures to prevent this disease.

Key words: pulmonary sarcoidosis, gene polymorphisms, single nucleotide substitution.

For citation: Malysheva I.E., Topchiyeva L.V., Tikhonovich E.L. A role of gene polymorphism for susceptibility to pulmonary sarcoidosis. *Russian Pulmonology*. 2019; 29 (5): 596–603 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-5-596-603

Саркоидоз – это системное воспалительное заболевание, характеризующееся образованием в различных органах эпителиоидных гранулем [1]. В этих событиях решающую роль играет активация альвеолярных макрофагов и Т-клеточного ответа на появление определенных антигенов. Этиологический фактор саркоидоза к настоящему времени не идентифицирован, однако имеются сведения о том, что в качестве антигенных детерминант могут выступать

микобактериальные антигены, такие как mKatG или ESAT-6, антигены *Propionibacterium* или даже собственные антигены [2].

Принято считать, что генетические факторы, т. е. носительство аллельных вариаций определенных генов, играют значительную роль в этиологии и патогенезе саркоидоза. Среди генов-кандидатов, чьи продукты могут быть вовлечены в восприимчивость людей к формированию гранулемы (характерного

признака саркоидоза), – гены, кодирующие *Toll*-подобные рецепторы (*Toll-like receptors* – TLR), гены основного комплекса гистосовместимости (ГКГ), гены, кодирующие белки регуляторы активности иммунных клеток, в частности цитокины, транскрипционные факторы и т. п.

В настоящем обзоре рассматриваются полиморфные варианты генов, которые вовлечены в формирование иммунного ответа при саркоидозе.

Отправной точкой в развитии саркоидоза является обнаружение антигена Т-клетками и активация макрофагов с помощью патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (*Pathogen-associated molecular patterns* – PAMPs), которые инициируют воспалительный ответ на инфекционный возбудитель, например бактерии, вирусы и др., или молекулярных паттернов, способных индуцировать неинфекционный воспалительный ответ (*Danger-associated molecular patterns* – DAMPs). К DAMPs относятся клеточные белки как результат повреждения собственных тканей организма, ДНК опухолевой клетки при ее попадании в межклеточное пространство и др. [3]. В организме PAMPs и DAMPs распознаются с помощью рецепторов клеток иммунной системы (*Pathogen Recognising Receptors* – PRRs), которые подразделяются на мембранные (рецепторы эндоцитоза и передающие сигнал), внутриклеточные, гуморальные (секреторные). Они представляют собой большую группу рецепторов, среди которых TLR, *scavenger*-рецепторы, рецепторы лектинов С-типа, NOD-подобные (*Nucleotide Oligomerizing Domains*) рецепторы, RIG-подобные рецепторы, маннозосвязывающий лектин или sCD14 и т. п. Эти рецепторы связываются с PAMP. Например, липополисахарид на поверхности грамотрицательных бактерий способен связываться с TLR4, обеспечивая активацию альвеолярных макрофагов. Эндоцитозные PRR (маннозные рецепторы и *scavenger*-рецепторы) обеспечивают процессы фагоцитоза с последующей доставкой патогена внутри фагосомы к лизосомам, давая начало адаптивному иммунному ответу. Среди сигнальных PRR наибольшее значение имеют 3 семейства – *Toll*-подобные, NOD-подобные (NLR) и RIG-подобные (RLR) рецепторы. TLR также распознают эндогенные лиганды, т. н. ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны. DAMP быстро высвобождаются поврежденными, но не апоптозными, а также некоторыми живыми клетками. Рецепторы, участвующие в распознавании DAMP – TLR (в основном TLR2 и TLR4) и рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE). Взаимодействие DAMP с их соответствующими рецепторами вызывает воспаление, которое по характеристикам близко к воспалительным реакциям, вызванным PAMP, включая активацию ядерного фактора *kappa* B (NF- κ B) и продукцию цитокинов [2].

Toll-подобные рецепторы

Известно, что связывание лиганда с его специфическим рецептором может быть модулировано

модификациями генов. У человека существуют 10 *Toll*-подобных рецепторов (TLR 1–10). Известны однонуклеотидные замены в генах *TLR9*, *TLR4* и *TLR2*, которые способствуют либо снижению, либо усилению рецепторных функций и соответственно изменению силы сигнала об обнаружении инфекционного агента [4]. Рецепторы, которые кодируются этими генами, экспрессируются на полиморфноядерных лейкоцитах, дендритных клетках, моноцитах, Т-лимфоцитах, макрофагах, моноцитах. У носителей определенных аллельных вариаций этих генов наблюдается либо увеличение, либо уменьшение продукции провоспалительных факторов в ответ на инфекцию [5].

Таким образом, полиморфизм генов *TLR* может обуславливать отсутствие обнаружения патогена, который обычно распознается врожденной иммунной системой. В этом случае микроорганизм избегает иммунного надзора и сохраняется у хозяина. Напротив, мутации, приводящие к чрезмерной стимуляции иммунной системы за счет усиления функций *TLR*, могут приводить к неадекватно сильной иммунной реакции в ответ на проникновение в организм непатогенных бактерий или грибов. Таким образом, полиморфизм генов *TLR* может быть связан с началом и прогрессированием заболевания [6, 7]. Различия в экспрессии рецепторов могут объяснять разные реакции со стороны врожденного и адаптивного иммунитета в отношении стимуляции *TLR*, наблюдаемой при саркоидозе [8].

Маннозные рецепторы

Маннозные рецепторы принадлежат к семейству лектинов С-типа (CLR). Они играют важную роль во врожденном иммунитете. Маннозные рецепторы преимущественно присутствуют на макрофагах и дендритных клетках и распознают гликановые структуры, содержащие маннозу, фруктозу и N-ацетилглюкозамин, которые обычно встречаются на клеточных стенках патогенных микроорганизмов [9]. Носительство определенных аллельных вариаций в гене *MRC1* может быть связано с риском развития ряда хронических воспалительных заболеваний [10]. Ген *MRC1* является также геном-кандидатом развития саркоидоза. Продемонстрирована связь между полиморфизмом гена *MRC1* (rs691005) и риском саркоидоза у японцев [10].

NOD-подобные рецепторы

Паттерн-распознающие рецепторы присутствуют не только на мембранах клетки и внутриклеточных гранул, но и в цитозоле. Такая локализация характерна для рецепторов группы NLR (*Nucleotide-like receptor oligomerizing domain* – NOD), в которую входят белки NOD1, NOD2, NALP1, NALP3, IPAF. Эти белки относятся к большому семейству CLR (*Caspase-leucine-rich recruitment domain* – CARD). Оpoznая патоген внутри клетки, рецепторы олигомеризуются и образуют инфламмасому, которая потенцирует

протеолитическую активацию провоспалительных цитокинов, например, интерлейкин-1 β . Рецепторы стимулируют также сигнальный путь NF- κ B и синтез цитокинов [11].

Белки этого семейства имеют сходную структуру. N-концевую позицию в них занимает один или несколько доменов семейства CARD. Затем следует домен NOD, ответственный за олигомеризацию молекулы. С-концевая часть молекулы образована доменом LRR (богатым лейциновыми повторами). Способность NLR распознавать лиганды связывают с доменом LRR. Рецепторы этой группы обладают сродством к пептидогликанам клеточной стенки микроорганизмов. Известны 2 главных представителя этих рецепторов – NOD1 и NOD2, которые определяют специфические фрагменты бактериального пептидогликана (PGN) в цитоплазме и их минимальные мотивы – мурамилпептиды с концевой мезодиаминопимелиновой кислотой (meso-DAP) и мурамилдипептид соответственно [11]. Передача сигнала о связывании пептидогликана происходит через CARD-домен, однако для этого требуется его предварительная олигомеризация с участием домена NOD. Рецепторы NALP и IPAF участвуют в формировании инфламмосомы, в которой активируется каспаза-1. Домен CARD содержит адаптерный белок, который взаимодействует с серин / треонин-протеинкиназой-2 (RIPK2, также называемый RICK или RIP2), посредством гомотипических взаимодействий CARD-CARD [12]. Таким образом, активируется RIPK2 и запускает сигнальные каскады NF- κ B и MAPK [13]. Таким образом, NOD1 и NOD2 являются сильно регулируемыми молекулярными переключателями и мутации в их генах связаны с формированием некоторых аутоиммунных воспалительных заболеваний, в частности болезни Крона [14, 15]. NOD2 экспрессируется во множестве типов клеток, включая макрофаги и дендритные клетки [14]. Показано, что провоспалительные цитокины регулируют экспрессию NOD2 [16].

Ген *NOD2* оказался высокополиморфным с более чем 660 однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs) (*GeneCards – The Human Gene Database*). Частота аллелей различается от < 1 до > 30 %, показывая существенные отличия между этническими и географическими группами населения.

Выявлено 3 полиморфизма (SNP-8 (rs2066844), SNP-12 (rs2066845) и SNP-13 (rs41450053), которые связаны с развитием ряда воспалительных заболеваний [14]. У лиц, гетерозиготных по любому из трех SNP повышен риск развития болезни Крона в 2–4 раза. Он увеличивается примерно до 20 раз у лиц, гомозиготных по указанному полиморфному вариантам [15]. SNP-8, -12 и -13 расположены в экзонах 4, 8 и 11 гена *NOD2* соответственно. SNPs-8 и -12 являются несинонимическими нуклеотидными заменами, которые приводят к замене аминокислот. SNP-13 отличается тем, что он представляет собой инсерцию нуклеотида, что приводит к сдвигу рамки в кодирующей последовательности. Это приводит к синтезу усеченной формы белка. SNP-8 располо-

жен в области, соответствующей домену NOD/NBD, тогда как SNP-12 и -13 находятся в области LRR в доменах 7 и 10 соответственно [17]. Носительство SNP-8, -12 и -13 коррелирует с повышенным риском саркоидоза [18]. Указанные мутации в гене *NOD2*, по-видимому, уменьшают способность рецептора распознавать мурамилдипептиды и, следовательно, стимулировать сигнальный путь NF- κ B [19]. По-видимому, SNP 8, -12 и -13 связаны с повышенной проницаемостью слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, следовательно – с повышенным уровнем бактериальных пептидов в системном кровообращении [20].

RIG-подобные рецепторы

RIG-I-подобные рецепторы (RIG-I-like receptors – RLR) – внутриклеточные рецепторы, участвующие в распознавании вирусов системой врожденного иммунитета организма [21]. В эту группу входят 3 рецептора – RIG-I, MDA5 и LGP2, функционирующие как сенсоры вирусной репликации в клеточной цитоплазме и детектирующие репликацию вирусов путем прямого взаимодействия с молекулами двуцепочечной РНК из генома РНК-содержащих вирусов или РНК, образующейся при репликации последних. Два рецептора группы – RIG-I и MDA5 – способны индуцировать клеточный ответ, реализуемый через участие их CARD-домена. LGP2 не содержит CARD-домен и не способен сам инициировать ответ, но необходим для эффективного противовирусного клеточного ответа, опосредованного RIG-I или MDA5 [22]. Однако сведения о роли полиморфных вариантов генов, кодирующих эти рецепторы в чувствительности к саркоидозу, практически отсутствуют в литературе.

PPARs-рецепторы

PPARs (*Peroxisome proliferator-activated receptors* – PPARs) представляют собой группу ядерных рецепторов, которые являются лиганд-зависимыми факторами транскрипции. Эти рецепторы отличаются специфичностью лигандов, тканевым распространением и функциями [23]. У человека определено 3 вида ядерных рецепторов PPARs – PPAR α , PPAR β/δ и PPAR γ , которые кодируются различными генами [24].

Установлена важная роль PPAR γ в патогенезе саркоидоза как отрицательного регулятора хронического гранулематозного воспаления. Он регулирует функцию нескольких иммунных клеток, особенно альвеолярных макрофагов и дендритных клеток. При саркоидозе экспрессия PPAR γ снижена. Отмечено нарушение функций этих белков при данном заболевании [25]. Это может быть причиной повышения реактивности макрофагов в ответ на гранулогенные стимулы, например углеродные наночастицы, поскольку они индуцируют образование гранулем и повышенный уровень цитокинов [26]. Снижение экспрессии PPAR γ и нарушение их функ-

ций приводит к тому, что макрофаги перестают отвечать на ингибирующие сигналы. Таким образом, потеря функций или снижение экспрессии *PPAR γ* может быть фактором предрасположенности к индукции гранулемы. Как оказалось, в гене *PPAR γ* имеются мутации, например, Pro12Ala (rs1805192), оказывающие влияние на его транскрипционную активность и обуславливающие повышенный риск развития саркоидоза [27].

Основной комплекс гистосовместимости

Основной шаг в генерации специфических Т-клеточных ответов – активация Т-клеток путем распознавания антигена – процесса, который зависит от антигенпрезентирующих клеток. Взаимодействие между Т-лимфоцитами и макрофагами в процессе иммунного ответа обеспечивается с помощью антигенов ГКГ (*Major Histocompatibility Complex* – МНС) или HLA класса II. Т-хелперы распознают чужеродный антиген лишь после его переработки макрофагами, соединения с антигенами ГКГ класса II и появления этого комплекса на поверхности макрофага. Ограничением по ГКГ называется способность Т-лимфоцитов распознавать чужеродные антигены только в комплексе с антигенами ГКГ. Имеется ограничение Т-клеточного рецептора у пациентов с саркоидозом, носителей подтипа ГКГ5. Согласно последним данным, некоторые антигены вызывают иммунную реакцию только при наличии определенного аллеля *HLA-DR6* [28].

Важными генами, представляющими интерес для исследования вопросов этиологии и патогенеза саркоидоза, являются гены, кодирующие белки ГКГ класса II. Согласно утверждениям *National Center for Biotechnology Information's* (NCBI), эти гены чрезвычайно полиморфны. Наблюдается их значительная вариабельность в зависимости от этнической принадлежности людей. Для некоторых этнических групп существуют только «свои» гены ГКГ [29]. Имеются достаточно полные сведения, посвященные роли генов ГКГ в формировании саркоидоза, поэтому роль аллельных вариаций этих генов в этиологии и патогенезе данного заболевания в данной работе обозначается лишь кратко [30].

Генотипирование по генам ГКГ имеет потенциал для предсказания клинических фенотипов саркоидоза. Тяжесть и определенные клинические характеристики течения заболевания связаны с носительством конкретных аллелей генов ГКГ. Например, вариация в локусе *HLA-DRB1* связана с тяжестью течения заболевания и тем, какой орган будет поражен гранулемами [31]. Показано, что при наличии в генотипе больных саркоидозом аллелей *DRB1*14* и *DRB1*15*, как правило, повышался риск прогрессирующего течения заболевания [31]. Носительство аллеля *DRB1*14* способствовало более выраженному эффекту у пациентов без синдрома Лефгрена, тогда как присутствие в генотипе аллеля *DRB1*15* оказывает большее влияние на пациентов с синдромом Лефгрена, имеющих одновременно аллель *DRB1*03*,

причем у европейского населения связь аллеля *DRB1*03* с острым заболеванием может быть более тесной, чем у представителей других народностей, например, китайцев.

Цитокины и транскрипционные факторы

Активация Т-клеток является обязательной для развития любого гранулематозного ответа. Подтверждением этому являются данные о том, что у мышей, у которых экспериментально было снижено количество Т-клеток, гранулемы в ответ на различные стимулы не образовывались [32]. Активация Т-клеток вызывает продукцию разнообразных субпопуляций Т-клеток: Т-хелпер (Th) -1 и -2, среди последних особую роль играют Th17 [33]. Th1 клетки развиваются в присутствии интерлейкина (IL)-12, высвобождаемого макрофагами и дендритными клетками. Их ведущим продуктом является интерферон (IFN)- γ , но они также секретируют лимфотоксин, фактор некроза опухоли (TNF) и другие медиаторы. Клетки Th1 также характеризуются усилением экспрессии транскрипционного фактора T-box (T-bet). Основным цитокином клеток Th2 является IL-4, необходимый для развития и активации В-клеток. Он снижает секрецию провоспалительных цитокинов макрофагами и индуцирует альтернативную активацию этих клеток. Характеризующим фактором транскрипции является GATA3. Th17 экспрессируют транскрипционный фактор ROR γ t. Их основными продуктами являются цитокины семейства IL-17, в основном IL-17A и IL-17F. Другими важными компонентами адаптивного иммунного ответа являются Т-регуляторные клетки. Они играют значительную роль в формировании иммунного ответа при саркоидозе. Увеличение количества Treg-клеток связаны с ослаблением воспалительных реакций при саркоидозе, что может потребоваться для эффективной элиминации антигена и выздоровления пациентов. Регуляторные Т-клетки характеризуются экспрессией гена *FOXP3* (*forkhead box P3*). Данный ген является ключевым транскрипционным фактором, участвующим в регуляции, активации и дифференцировке Treg-клеток [34]. Показано, что однонуклеотидные замены и микросателлитные повторы в разных областях гена *FOXP3* вовлечены в патогенез различных заболеваний, в т. ч. аутоиммунных патологий [35]. Однако вопрос о связи полиморфизма этого гена с формированием и тяжестью саркоидоза остается открытым. Так, не обнаружены различия в частотах аллелей и генотипов по (GT) $_n$ полиморфному варианту гена *FOXP3* (ассоциированному с повышением транскрипционной активности) в контрольной группе и группе больных саркоидозом [36]. Также не выявлена связь полиморфизма rs3761548 гена *FOXP3* с риском развития саркоидоза легких [37].

Оказалось, что клинические фенотипы саркоидоза могут соотноситься с количеством Treg-клеток в бронхоальвеолярном лаваже и зависеть от вариаций по генам ГКГ. Так, отмечено уменьшение

FOXP3⁺ Treg-клеток в бронхоальвеолярном лаваже у пациентов-носителей *HLA-DRB1*0301* с саркоидозом. Важно, у этих больных отмечен хороший прогноз в отношении эффективности терапии саркоидоза. Напротив, у пациентов, у которых отсутствовал этот аллель, наблюдались более высокие показатели пула FOXP3⁺ Treg-клеток [38]. Следует отметить, что такого рода различия при исследовании пула этих клеток в периферической крови больных не обнаружены, при этом сделан вывод о большей эффективности элиминации антигена у носителей *HLA-DRB1*0301*.

После активации через ГКГ / ТКР Т-клетки должны получать стимулирующие сигналы для активации или ингибирующие сигналы – для прекращения иммунного ответа. Ингибирующий сигнал опосредуется влиянием гена бутирофилин-подобного фактора-2 (*BTNL2*), который кодирует белок, ингибирующий активацию Т-клеток и индукцию Treg [39]. В исследовании ассоциации геномных вариаций с саркоидозом идентифицирована однонуклеотидная замена, приводящая к формированию стоп-кодона для синтеза полипептидной цепи. Наличие этого стоп-кодона приводит к синтезу усеченной формы белка, в которой отсутствует трансмембранная область. У носителей этого варианта гена не генерируется интактный белок, который должен быть встроен в цитоплазматическую мембрану, что влечет за собой снижение регуляции активности Т-клеток [40]. Показана ассоциация этого полиморфного варианта гена *BTNL2* с семейным и спорадическим саркоидозом у белокожих европейцев и в меньшей степени – у представителей негроидной расы [41].

В качестве гена, вовлеченного в генетическую предрасположенность людей к саркоидозу может выступать и ген, кодирующий трансформирующий фактор роста (TGF)- β (*TGF- β*). Этот фактор является мощным противовоспалительным медиатором, связанным со спонтанной ремиссией саркоидоза и фиброзным ремоделированием легкого [42]. *TGF- β* существует в разных изоформах (*TGF- β_1* , *TGF- β_2* и *TGF- β_3*), которые обладают похожими функциями [43]. Интересно, что по результатам анализа влияния полиморфизма rs1800471 (25-й кодон) гена *TGFB1* на развитие саркоидоза и хронической бериллиевой болезни показано отсутствие разницы в частотах аллелей и генотипов по указанному полиморфному варианту этого гена между контрольной группой и группой пациентов с саркоидозом [44]. В то же время при изучении связи этого же полиморфного варианта с хронической бериллиевой болезнью обнаружено значительное повышение частоты С-аллеля (у носителей которого наблюдается снижение продукции *TGF- β*) в когорте пациентов с данным заболеванием [45]. Оказалось, что наличие в генотипе определенных аллелей этого гена влияет на тяжесть течения заболеваний. Частота некоторых аллелей генов *TGFB2* и *TGFB3* значительно увеличена в группе пациентов с фибромой по сравнению с лицами со спонтанной ремиссией или

хроническим заболеванием [46]. Таким образом, полиморфизм генов *TGFB* может также влиять на формирование саркоидоза.

INF- γ , также известный как интерферон 2-го типа, представляет собой цитокин, который является неотъемлемым и важнейшим компонентом иммунной системы с множеством функций, в основном связанных с ответом Т-хелперов 1-го типа (Th1) на инфекцию [47]. В ряде исследований показано, что INF- γ вовлечен в патогенез саркоидоза [47]. Саркоидная гранулема включает Th1 CD4⁺ лимфоциты, которые способствуют развитию иммунного ответа через высвобождение IL-2 и INF- γ с последующей активацией и дифференцировкой макрофагов [48]. Активирующее действие INF- γ на макрофаги опосредовано индукцией секреции этими клетками TNF- α [49]. Функциональная значимость INF- γ для дифференцировки Т-клеток в Th1 при саркоидозе показана в экспериментальной модели гиперчувствительного пульмонита. Установлено, что у мышей с нокаутом гена *INFG* после соответствующей антигенной стимуляции не наблюдалось образование гранул при развитии гиперчувствительного пульмонита [50]. В работе [51] отмечено, что у больных саркоидозом легких в биоптатах бронхоальвеолярного лаважа регистрировалось повышенное количество INF- γ . Мутации в гене, особенно в регуляторных областях, могут оказывать влияние на уровень его транскрипции. Так, однонуклеотидная замена в позиции -179 G на T промоторной области гена (*rs2069709*) приводит к изменению уровня транскрипционной активности указанного гена. Показано, что клетки, трансфицированные репортерным комплексом, содержащим тимин в позиции -179, продуцировали в 13 раз больше INF- γ , чем содержащие гуанин [52]. На изменение транскрипционной активности гена *INFG* также оказывают влияние однонуклеотидные замены в 3-м интроне данного гена – +2109A>G и +3810G>A. В связи с этим можно предположить, что мутации в гене *INFG* могут влиять на формирование и поддержание гранулемы. Кроме того, по данным ряда исследований обнаружено, что на уровень продукции INF- γ оказывают влияние наличие tandemных повторов в интронных областях гена *INFG*. Установлено, что число коротких tandemных повторов (STR) СА микросателлитного маркера в 1-м интроне гена *INFG* влияет на уровень продукции INF- γ *in vitro* [53]. Так, у индивидуумов, гомозиготных по аллелю 2 (12 tandemных СА повторов), в 1-м интроне гена *INFG* уровень продукции INF- γ был выше по сравнению с носителями аллеля 3 (13 СА повторов) гена *INFG*. В ряде исследований изучалось совместное действие STR и SNP в гене *INFG* у больных саркоидозом. Показано, что в генотипе носителей комбинации аллеля *DRB1*03* генов ГКГ с гомозиготами по аллелю 3 (13 tandemных повторов СА) 1-го интрона гена *INFG* повышен риск развития синдрома Лефгрена при саркоидозе [54].

Считается, что провоспалительный цитокин TNF- α играет значительную роль в патогенезе сар-

коидоза. Более того, уровень TNF- α , синтезируемого альвеолярными макрофагами, может служить в качестве прогностического маркера, с помощью которого можно выделить группу больных, у которых в ближайшее время заболевание будет прогрессировать и может перейти в стадию формирования пневмофиброза [55]. В связи с этим предпринимаются попытки обнаружить ассоциацию полиморфных вариантов генов *TNFB* и *TNFA* с формированием и тяжестью этого заболевания. [56]. Некоторые аллельные вариации гена *TNF* можно рассматривать как фактор риска развития саркоидоза легких [56]. Однако имеются весьма противоречивые данные о вовлечении полиморфных вариантов гена *TNF* в генетическую предрасположенность населения к саркоидозу. Оказалось, что аллель А по -308G>А полиморфному маркеру гена *TNF* (rs1800629) встречается чаще у пациентов с синдромом Лефгрена, чем при других формах саркоидоза [57]. Согласно данным исследования [58], с повышенным риском развития этой патологии ассоциированы AG/GG-генотипы по указанному полиморфному маркеру. Особое внимание при анализе ассоциации аллельных вариаций гена *TNF* с развитием саркоидоза обращено на однонуклеотидные замены в промоторной области гена, которые могут быть связаны с изменением его транскрипционной активности и уровнем кодируемого им белка соответственно. По данным метаанализа [56], существенной связи между носительством полиморфных вариантов гена *TNF*-307G>А, -1031T>С, -238G>А и -857C>Т и риском развития саркоидоза не установлено. Аналогичные данные получены и по результатам работы [58]. Показано, что полиморфный вариант 252A>G гена *TNFB* может быть потенциальным фактором риска развития саркоидоза [56].

Однако связать носительство определенных аллельных вариаций гена *TNF* с уровнем кодируемого им цитокина в бронхоальвеолярном лаваже пока не удалось [5], поэтому вопрос о связи полиморфизма этого гена с развитием саркоидоза легких остается открытым.

Нельзя не упомянуть, что имеется еще ряд генов-кандидатов, которые могут быть вовлечены в этиологию и патогенез саркоидоза легких. Среди них ген аннексина А11 (*ANXA11*), гены матриксных металлопротеиназ (*MMP*-2, -7, -9), ген рецептора к IL-23, ген рецептора витамина D (*VNDR*), ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*) и т. п.

Заключение

Генетический фон может определять не только восприимчивость людей к возникновению саркоидоза легких, но и клинические характеристики течения данного заболевания. В связи с этим предпринимаются попытки найти аллельные вариации, которые могли бы выступать в качестве прогностических маркеров предрасположенности населения к данному заболеванию и характеризовали бы особенности его течения. Однако как видно из представленных

материалов, сведения о связи носительства аллельных вариаций генов с восприимчивостью людей к саркоидозу легких еще весьма малочисленны и зачастую противоречивы. Тем не менее они бы помогли выявить потенциальные мишени для т. н. таргетной терапии и разработки превентивных мер развития данного заболевания.

Конфликт интересов

Авторы статьи не имеют финансовых или других взаимоотношений, которые могут привести к конфликту интересов.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук»» (0221-2014-0034).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest in relation to this study. The study was supported from a budget of Karelian Federal Research Center, Russian Academy of Science.

Литература / References

1. Визель А.А., ред. Саркоидоз. М.: Атмосфера, 2010. / Vizel' A.A., ed. [Sarcoidosis]. Moscow: Atmosfera, 2010 (in Russian).
2. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81 (1): 1–5. DOI: 10.1189/jlb.0306164.
3. Mortaz E., Adcock I.M., Abedini A. et al. The role of pattern recognition receptors in lung sarcoidosis. *Eur. J. Pharmacol.* 2017; 808: 44–48. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.01.020.
4. Kubarenko A.V., Ranjan S., Rautanen A. et al. A naturally occurring variant in human TLR9, P99L, is associated with loss of CpG oligonucleotide responsiveness. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 36486–36494. DOI: 10.1074/jbc.M110.117200.
5. Somoskövi A., Zissel G., Seitzer U. et al. Polymorphisms at position -308 in the promoter region of the TNF-alpha and in the first intron of the TNF-beta genes and spontaneous and lipopolysaccharide-induced TNF alpha release in sarcoidosis. *Cytokine.* 1999; 11 (11): 882–887. DOI: 10.1006/cyto.1999.0498.
6. Veltkamp M., Wijnen P.A., van Moorsel C.H. et al. Linkage between Toll-like receptor (TLR) 2 promotor and intron polymorphisms: functional effects and relevance to sarcoidosis. *Clin. Exp. Immunol.* 2007; 149 (3): 453–462. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03428.x.
7. Pabst S., Bradler O., Gillissen A. et al. Toll-like receptor-9 polymorphisms in sarcoidosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 756: 239–45. DOI: 10.1007/978-94-007-4549-0_30.
8. Wiken 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.
9. East L., Isacke C.M. The mannose receptor family. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002; 1572 (2-3): 364–386. DOI: 10.1016/S0304-4165(02)00319-7.
10. Hattori T., Konno S., Takahashi A. et al. Genetic variants in mannose receptor gene (MRC1) confer susceptibility to increased risk of sarcoidosis. *BMC Med. Genet.* 2010; 11: 151. DOI: 10.1186/1471-2350-11-151.
11. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J. et al. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP)

- detection. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 8869–8872. DOI: 10.1074/jbc.C200651200.
12. Manon F., Favier A., Núñez G. et al. Solution structure of NOD1 CARD and mutational analysis of its interaction with the CARD of downstream kinase RICK. *J. Mol. Biol.* 2007; 365 (1): 160–174. DOI: 10.1016/j.jmb.2006.09.067.
 13. Strober W., Murray P.J., Kitani A., Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6 (1): 9–20. DOI: 10.1038/nri1747.
 14. Ogura Y., Inohara N., Benito A. et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (7): 4812–4818. DOI: 10.1074/jbc.M008072200.
 15. Economou M., Trikalinos T., Loizou K. et al. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am. J. Gastroenterol.* 2004; 99 (12): 2393–2404.
 16. Rosenstiel P., Fantini M., Bräutigam K. et al. TNF- α and IFN- γ regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology.* 2003; 124 (4): 1001–1009. DOI: 10.1053/gast.2003.50157.
 17. Tanabe T., Chamailard M., Ogura Y. et al. Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition. *EMBO J.* 2004; 23 (7): 1587–1597. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600175.
 18. Kanazawa N., Okafuji I., Kambe N. et al. Early-onset sarcoidosis and CARD15 mutations with constitutive nuclear factor-kappaB activation: common genetic etiology with Blau syndrome. *Blood.* 2005; 105 (3): 1195–1197.
 19. Hedl M., Li J., Cho J.H., Abraham C. Chronic stimulation of Nod2 mediates tolerance to bacterial products. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (49): 19440–19445. DOI: 10.1073/pnas.0706097104.
 20. Buhner S., Buning C., Genschel J. et al. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut.* 2006; 55 (3): 342–347. DOI: 10.1136/gut.2005.065557.
 21. Loo Y.M., Gale M. Immune signaling by RIG-I-like receptors. *Immunity.* 2011; 34 (5): 680–692. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.05.003.
 22. Satoh T., Kato H., Kumagai Y. et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (4): 1512–1517. DOI: 10.1073/pnas.0912986107.
 23. Wagner K.D., Wagner N. Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta (PPARbeta/delta) acts as regulator of metabolism linked to multiple cellular functions. *Pharmacol. Ther.* 2010; 125 (3): 423–435. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2009.12.001.
 24. Maciejewska-Karłowska A. Polymorphic variants of the PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) genes: relevance for athletic performance. *Trends Sport Sci.* 2013; 1 (20): 5–15.
 25. Culver D.A., Barna B.P., Raychaudhuri B. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity is deficient in alveolar macrophages in pulmonary sarcoidosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2004; 30 (1): 1–5. DOI: 10.1165/rmb.2003-0304RC.
 26. Huizar I., Malur A., Patel J. et al. The role of PPAR-gamma in carbon nanotube-elicited granulomatous lung inflammation. *Respir. Res.* 2013; 14: 7. DOI: 10.1186/1465-9921-14-7.
 27. Maver A., Medica I., Salobir B. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma/Pro12Ala polymorphism and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha/Gly482Ser polymorphism in patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2008; 25 (1): 29–35.
 28. Ikeda T., Hayashi S., Kamikawaji N. et al. Adverse effect of chronic tonsillitis on clinical course of sarcoidosis in relation to HLA distribution. *Chest.* 1992; 101 (3): 758–762. DOI: 10.1378/chest.101.3.758.
 29. Rybicki B.A., Maliarik M.J., Poisson L.M., et al. The major histocompatibility complex gene region and sarcoidosis susceptibility in African Americans. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167 (3): 444–449. DOI: 10.1164/rccm.2112060.
 30. Wolin A., Lahtela E.L., Anttila V. et al. SNP Variants in major histocompatibility complex are associated with sarcoidosis susceptibility – a joint analysis in four European populations. *Front. Immunol.* 2017; 8: 422. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00422.
 31. Grunewald J., Brynedal B., Darlington P. et al. Different HLA-DRB1 allele distributions in distinct clinical subgroups of sarcoidosis patients. *Respir. Res.* 2010; 11: 25. DOI: 10.1186/1465-9921-11-25.
 32. Hänsch H.C., Smith D.A., Mielke M.E. et al. Mechanisms of granuloma formation in murine Mycobacterium avium infection: the contribution of CD4⁺ T cells. *Int. Immunol.* 1996; 8 (8): 1299–1310. DOI: 10.1093/intimm/8.8.1299.
 33. Sallusto F., Lanzavecchia A. Heterogeneity of CD41+ memory T cells: functional modules for tailored immunity. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39 (8): 2076–2082. DOI: 10.1002/eji.200939722.
 34. Tao J.H., Cheng M., Tang J.P. et al. Foxp3, Regulatory T-cell, and autoimmune diseases. *Inflammation.* 2017; 40 (1): 328–339. DOI: 10.1007/s10753-016-0470-8.
 35. Lee M., Bae S., Lee Y. Association between FOXP3 polymorphisms and susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Autoimmunity.* 2015; 48 (7): 445–452. DOI: 10.3109/08916934.2015.1045582.
 36. Takano Y., Niimi T., Sato S. et al. Effects of FOXP3 gene polymorphism in sarcoidosis patients. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2007; 24 (2): 102–105.
 37. Мальшева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. и др. Ассоциация полиморфизма – 3279 C>A гена FOXP3 с риском развития саркоидоза легких. *Терапевтический архив.* 2017; 89 (12): 64–67. DOI: 10.17116/terarkh2017891264-67. / Malysheva I.E., Topchieva L.V., Tikhonovich E.L. et al. [Association of FOXP3 gene –3279 C>A polymorphism with the risk of pulmonary sarcoidosis]. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2017; 89 (12): 64–67. DOI: 10.17116/terarkh2017891264-67 (in Russian).
 38. Wikén M., Grunewald J., Eklund A., Wahlström J. Multi-parameter phenotyping of T-cell subsets in distinct subgroups of patients with pulmonary sarcoidosis. *J. Intern. Med.* 2012; 271 (1): 90–103. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2011.02414.x.
 39. Nguyen T., Liu X.K., Zhang Y., Dong C. BTNL2, a butyrophilin-like molecule that functions to inhibit T-cell activation. *J. Immunol.* 2006; 176 (12): 7354–7360. DOI: 10.4049/jimmunol.176.12.7354.
 40. Zissel G., Ernst M., Schlaak M., Müller-Quernheim J. Accessory function of alveolar macrophages from patients with sarcoidosis and other granulomatous and nongranulomatous lung diseases. *J. Investig. Med.* 1997; 45 (2): 75–86.
 41. Rybicki B.A., Walewski J.L., Maliarik M.J. et al. The BTNL2 gene and sarcoidosis susceptibility in African Americans and Whites. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 77 (3): 491–499. DOI: 10.1086/444435.
 42. Krein P.M., Winston B.W. Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-beta in fibrotic lung

- disease. *Chest*. 2002; 122 (6, Suppl.): 289S–293S. DOI: 10.1378/chest.122.6_suppl.289s.
43. Prud'homme G.J. Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. *Lab. Invest*. 2007; 87 (11): 1077–1091.
44. Muraközy G., Gaede K.I., Zissel G. et al. Analysis of gene polymorphisms in interleukin-10 and transforming growth factor-beta 1 in sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis*. 2001; 18 (2): 165–169.
45. Gaede K.I., Amicosante M., Schürmann M. et al. Function associated transforming growth factor-beta gene polymorphism in chronic beryllium disease. *J. Mol. Med. (Berlin)*. 2005; 83 (5): 397–405. DOI: 10.1007/s00109-004-0626-0.
46. Kruit A., Grutters J.C., Ruven H.J. et al. Transforming growth factor-beta gene polymorphisms in sarcoidosis patients with and without fibrosis. *Chest*. 2006; 129 (6): 1584–1591. DOI: 10.1378/chest.129.6.1584.
47. Smith N.L., Denning D.V. Clinical implications of interferon-gamma genetic and epigenetic variants. *Immunology*. 2014; 143 (4): 499–511. DOI: 10.1111/imm.12362.
48. Saltini C., Spurzem J.R., Lee J.J. et al. Spontaneous release of interleukin 2 by lung T lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis is primarily from the Leu3+DR+ T cell subset. *J. Clin. Invest*. 1986; 77 (6): 1962–1970. DOI: 10.1172/JCI112525.
49. Broos C.E., van Nimwegen M., Hoogsteden H.C. et al. Granuloma formation in pulmonary sarcoidosis. *Front. Immunol*. 2013; 4: 437. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00437.
50. Gudmundsson G., Hunninghake G.W. Interferon-gamma is necessary for the expression of hypersensitivity pneumonitis. *J. Clin. Invest*. 1997; 99 (10): 2386–2390. DOI: 10.1172/JCI119420.
51. Moller D.R., Forman J.D., Liu M.C. et al. Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in active pulmonary sarcoidosis. *J. Immunol*. 1996; 156 (12): 4952–4960.
52. Bream J.H., Ping A., Zhang X. et al. A single nucleotide polymorphism in the proximal IFN-gamma promoter alters control of gene transcription. *Genes Immun*. 2002; 3: 165–169. DOI: 10.1038/sj.gene.6363870.
53. Pravica V., Perrey C., Stevens A. et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human INF-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high INF-gamma production. *Hum. Immunol*. 2000; 61 (9): 863–866. DOI: 10.1016/S0198-8859(00)00167-1.
54. Wysoczanska B., Bogunia-Kubik K., Lange A. INF-gamma and HLA polymorphisms in sarcoidosis. *Gen. Immun*. 2003; 4: S44.
55. Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S. et al. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in Polish patients with sarcoidosis. Connection with susceptibility and prognosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis*. 2010; 27 (2): 131–137.
56. Feng Y., Zhou J., Gu C. et al. Association of six well-characterized polymorphisms in TNF- α and TNF- β genes with sarcoidosis: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013; 8 (11): e80150. DOI: 10.1371/journal.pone.0080150.
57. Mrazek F., Holla L.I., Hutyrova B. et al. Association of tumour necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha and HLA-DRB1 gene polymorphisms with Löfgren's syndrome in Czech patients with sarcoidosis. *Tissue Antigens*. 2005; 65 (2): 163–171. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2005.00370.x.
58. Xie H.J., Wu M., Niu Y. et al. Associations between tumor necrosis factor alpha gene polymorphism and sarcoidosis: a meta-analysis. *Mol. Biol. Rep*. 2014; 41 (7): 4475–4480. DOI: 10.1007/s11033-014-3318-z.

Поступила 31.05.18
Received May 31, 2018