



Экспрессия генов *TSC1* и *TSC2* в лейкоцитах периферической крови больных с хроническим течением саркоидоза легких

И.Е. МАЛЫШЕВА¹, О.В. БАЛАН¹, Э.Л. ТИХОНОВИЧ²

¹ ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, РФ

² ГБУЗ РК «Республиканская больница им. В.А. Баранова», г. Петрозаводск, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить уровень экспрессии мРНК генов *TSC1* и *TSC2* в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких с хроническим течением.

Материалы и методы. Обследовано 58 человек – 28 больных с хроническим течением саркоидоза легких (II стадия заболевания) без лечения, средний возраст – $42,11 \pm 2,21$ года, и 30 человек из группы сравнения (здоровые люди), средний возраст – $43,03 \pm 1,84$ года. Уровень экспрессии мРНК гена *TSC1* и *TSC2* в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких и здоровых людей оценивали методом ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. В группе больных саркоидозом (II стадия заболевания) при исследовании лейкоцитов периферической крови установлено значимое снижение уровня экспрессии мРНК гена *TSC1* ($p=0,007$) и значимое повышение количества транскриптов гена *TSC1* ($p=0,0002$) по сравнению со здоровыми лицами, сопоставимыми по возрасту.

Ключевые слова: саркоидоз легких, хроническое течение заболевания, экспрессия, мРНК ген *TSC1*, мРНК ген *TSC2*.

Для цитирования: Малышева И.Е., Балан О.В., Тихонович Э.Л. Экспрессия генов *TSC1* и *TSC2* в лейкоцитах периферической крови больных с хроническим течением саркоидоза легких // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2025. – Т. 103, № 5. – С. 52–56. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2025-103-5-52-56>

Expression of the *TSC1* and *TSC2* Genes in Peripheral Blood Leukocytes of Patients with Chronic Pulmonary Sarcoidosis

I.E. MALYSHEVA¹, O.V. BALAN¹, E.L. TIKHONOVICH²

¹ Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

² V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russia

ABSTRACT

The objective: to study the level of mRNA expression of the *TSC1* and *TSC2* genes in peripheral blood leukocytes of patients with chronic pulmonary sarcoidosis and healthy individuals.

Subjects and Methods. A total of 58 people were examined, of them 28 people were patients with chronic pulmonary sarcoidosis (stage II of the disease) without treatment, their average age made 42.11 ± 2.21 years, and 30 people were included to Comparison Group (healthy individuals) with the average age of 43.03 ± 1.84 years. Real-time PCR was used to assess the level of mRNA expression of the *TSC1* and *TSC2* genes in peripheral blood leukocytes (PBL) of patients with pulmonary sarcoidosis and healthy individuals.

Results. In the group of patients with sarcoidosis (stage II of the disease), testing peripheral blood leukocytes revealed a significant decrease in expression of mRNA of the *TSC1* gene ($p=0.007$) and a significant increase in the number of transcripts of the *TSC1* gene ($p=0.0002$) compared to healthy individuals matched for age.

Key words: pulmonary sarcoidosis, chronic course of the disease, expression, mRNA of the gene *TSC1*, mRNA of the gene *TSC2*.

For citation: Malysheva I.E., Balan O.V., Tikhonovich E.L. Expression of the *TSC1* and *TSC2* genes in peripheral blood leukocytes of patients with chronic pulmonary sarcoidosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2025, vol. 103, no. 5, pp. 52–56. (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2025-103-5-52-56>

Для корреспонденции:
Малышева Ирина Евгеньевна
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Correspondence:
Irina E. Malysheva
Email: i.e.malysheva@yandex.ru

Саркоидоз легких относится к системным воспалительным заболеваниям неустановленной этиологии, характеризующийся образованием в легочной ткани неказеофицирующих эпителиально-клеточных гранул. Образование гранул может наблюдаться в любых органах и тканях, но в большинстве случаев воспалительный процесс локализуется в легких и внутригрудных лимфоузлах [1, 4]. В настоящее время установлена важная роль сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в патогенезе саркоидоза легких. Этот сигнальный каскад является ключевым регулятором роста и пролиферации клеток, интегрируя и координируя передачу внутриклеточных сигналов [9]. По данным литературы, в клетках гранул, полученных из разных тканей больных саркоидозом, отмечена активация mTOR (механистическая мишень рапамицина) [12]. У больных саркоидозом легких в лейкоцитах периферической крови значимо повышен уровень экспрессии гена *MTOR* ($p < 0,05$) [2]. Киназа mTOR образует каталитическую субъединицу двух белковых комплексов: mTOR1 (mTORC1) и mTOR2 (mTORC2), которые различаются по составу и регулируют различные процессы жизнедеятельности клетки, такие как синтез белка, пролиферация, аутофагия [3, 14]. Так, активация mTORC1 в макрофагах приводит к развитию гранул при саркоидозе путем усиления пролиферации этих клеток [5]. На мышинной модели показано, что активация mTOR вызывает образование у мышей саркоидоподобных гранул [12]. Установлено, что mTORC1 является ключевой сигнальной молекулой для развития гранулемы при саркоидозе и негативно регулируется белковым комплексом TSC1-TSC2 [10]. Белки этого комплекса (гамартин и туберин), кодируемые одноименными генами *TSC1* (TSC complex subunit 1; hamartin) и *TSC2* (TSC complex subunit 2; tuberlin), в норме выполняют роль опухолевых супрессоров [8]. Белковый комплекс TSC1-TSC2 ингибирует передачу сигнала к нижестоящим эффекторам мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR). Он является критическим негативным регулятором mTORC1 и чувствителен к изменениям условий клеточного роста [7]. Эксперименты с использованием мышинной модели показали, что формирование гранулемы может происходить спонтанно, когда истощается количество ингибитора mTORC1 TSC2.

Цель исследования

Изучить уровень экспрессии мРНК генов *TSC1* и *TSC2* в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких с хроническим течением.

В исследование включено 28 больных саркоидозом легких – группа СЛ. Критерии включения: хроническое течение саркоидоза легких с длительностью заболевания более 2 лет; II рентгенологическая стадия заболевания без тенденции к фиброзированию легочной ткани, со стабильным течением заболевания без рецидивов, без предшествующей глюкокортикостероидной терапии. Критерии невключения: наличие других заболеваний; перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания; курение табака; беременность и лактация; алкогольная зависимость; индекс массы тела ≥ 30 кг/м. Диагноз Саркоидоз легких у пациентов группы СЛ установлен в соответствии с критериями на основе клинико-рентгенологических и лабораторных изменений, а также у всех верифицированных гистологически на основании исследования биоптата легких. Для сравнения использована периферическая кровь от 30 здоровых лиц – группа ЗД, не имевших следующих состояний: перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания; курение табака; беременность и лактация; алкогольная зависимость; индекс массы тела ≥ 30 кг/м. Средний возраст в группе СЛ и группе ЗД был сопоставим $42,11 \pm 2,21$ и $43,03 \pm 1,84$ лет соответственно.

От всех лиц, включенных в обе группы исследования, было 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 г. Образцы венозной крови были использованы в качестве материала для исследования. Выделение тотальной РНК проводили из лейкоцитов периферической крови (ЛПК) с использованием реагента для выделения РНК PureZol (Bio-Rad). Для синтеза комплементарной ДНК использовали набор «MMLV RT kit» («Евроген», Россия). Экспрессию мРНК генов *TSC1* и *TSC2* в ЛПК определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на приборе «Light Cycler 96» (Roche, Германия), с помощью наборов «qPCRmix-HS SYBR». В качестве референсных генов были использованы *18sRNA* и *GAPDH*. Для каждого образца ПЦР-РВ проводили не менее трех раз. Для конструирования праймеров использовали программу Beacon Designer 5.0. Последовательность праймеров представлена в табл. 1.

Для статистической обработки данных использовали пакет программ StatGraphics Centurion XVI версия 16.1.11. С помощью непараметрического критерия U Вилкоксона-Манна-Уитни оценивали достоверность различий уровня транскриптов гена между группами. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для ПЦР-РВ
Table 1. Nucleotide sequence of primers for RT-PCR

Ген (№ в NCBI)	Праймер	Последовательность праймера 5'-3'	Источник
18sRNA (NR_145819.1)	прямой	agaaacgggtaccacatcca	Pinto, et al. 2010 [11]
	обратный	caccagactgtgcctcca	
GAPDH (NM_002046.7)	прямой	gaaggatgaaggctggagtc	Собственный дизайн
	обратный	gaagatgggtgatgggatttc	
TSC1 (NM_000368.5)	прямой	attaacgaatatgtgggcaaagc	Собственный дизайн
	обратный	agactgtggaatcattggtagc	
TSC2 (NM_000548.5)	прямой	cactggccttgacgcgtatt	Собственный дизайн
	обратный	tgtgtaccactctgtgggc	

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

Результаты

Согласно полученным данным, в лейкоцитах периферической крови больных группы СЛ был значимо снижен уровень экспрессии мРНК гена *TSC1* по сравнению с группой ЗД ($p=0,007$) (рис. 1). При этом, в ЛПК пациентов группы СЛ отмечено значимое повышение количества транскриптов гена *TSC2* ($p=0,002$) (рис. 1). Снижение уровня экспрессии мРНК гена *TSC1* в альвеолярных макрофагах показано у больных с прогрессирующей формой саркоидоза [10]. Авторами отмечено, что нарушения функционирования белка *TSC2* в моноцитах/макрофагах приводят к активации mTORC1 и образованию гранулем в легких и печени [10].

Возможно, пониженный уровень экспрессии мРНК гена *TSC1* и повышение количества транскриптов гена *TSC2* в ЛПК пациентов группы СЛ связаны с молекулярными механизмами патогенеза саркоидоза легких. Как было отмечено ранее, мембранный белок *TSC1*, взаимодействуя с белком *TSC2*, образует комплекс *TSC1-TSC2*, который интегрирует в клетке множество метаболических сигналов, регулируя активность mTORC1 [6]. Эта активность динамически регулируется такими факторами, как доступность аминокислот, факторов роста, энергии [13]. По данным литературы, N-концевая область *TSC2* важна для взаимодействия *TSC1* с *TSC2*. Она содержит белковый домен, активирующий ГТФазу (GAP), а комплекс *TSC1-TSC2* является GAP по отношению к Rheb (ГТФаза семейства RAS, присутствующая в большом количестве в мозге). RHEB-GTP связывающий белок активирует mTORC1, что приводит к фосфорилированию мишеней TORC1 [6, 7].

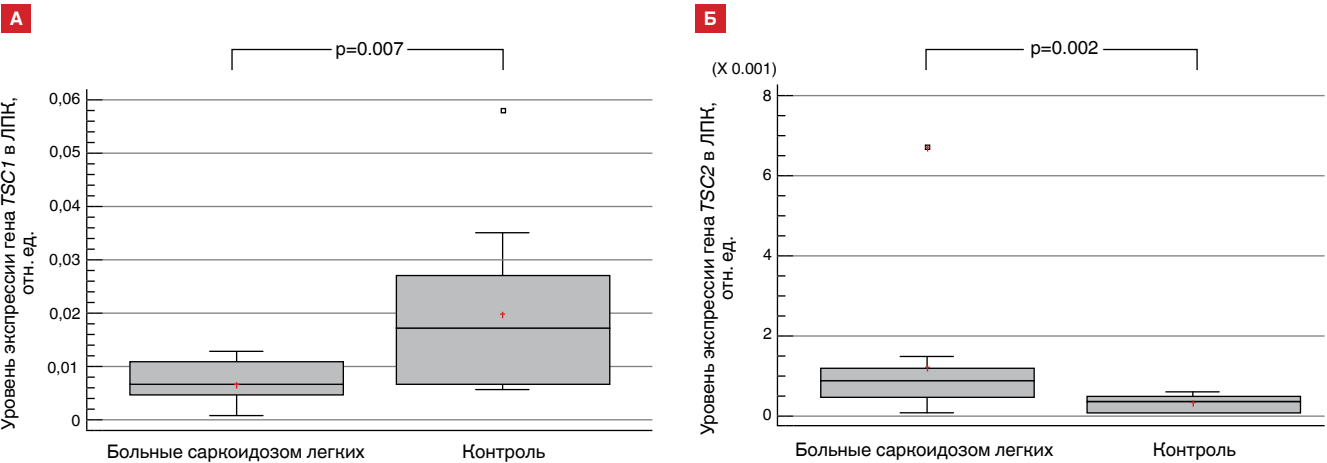


Рис. 1. Уровень экспрессии гена *TSC1* (А) и *TSC2* (Б) в ЛПК пациентов групп СЛ и здоровых лиц группы ЗД (контроль). Горизонтальная линия внутри прямоугольника – медиана
Fig. 1. The expression level of the *TSC1* (A) and *TSC2* (B) genes in PBL of patients in the PS Group and healthy individuals (Control Group). The horizontal line inside the rectangle is the median

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что при хроническом течении саркоидоза легких в лейкоцитах периферической крови значительно снижено количество транскриптов гена *TSC1*

и значимо повышено количество транскриптов гена *TSC2*. Дифференцированная экспрессия генов *TSC1* и *TSC2* в ЛПК больных с хроническим течением саркоидоза легких может свидетельствовать о вовлечении этих генов в патогенез данного заболевания.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (тема: FMEN-2022-0009).
This research was funded by the federal budget for implementation of the state task of Karelian Research Center of the Russian Academy of Science (Topic: FMEN-2022-0009).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare there is no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Визель А.А., Визель И.Ю. Современные аспекты эпидемиологии саркоидоза // Пульмонология. – 2010. – № 6. – С. 104-108. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2010-6-104-108>

2. Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. Исследование ассоциации полиморфных вариантов rs2295080 и rs1883965 гена MTOR с развитием и течением саркоидоза легких // Генетика. – 2023. – Т. 59, № 10. – С. 1165-1170.

3. Пархитко А.А., Фаворова О.О., Хабибуллин Д.И., Анисимов В.Н., Хенске Э.П. Киназа mTOR: регуляция, роль в поддержании клеточного гомеостаза, развитии опухолей и старении. Обзор // Биохимия. – 2014. – Т. 79, № 2. – С. 128-143.

4. Grunewald J., Grutters J.C., Arkema E.V., Saketkoo L.A., Moller D.R., Müller-Quernheim J. Sarcoidosis // Nat. Rev. Dis. Primers. – 2019. – Т. 5, № 1. – P. 45. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0096-x>

5. Hiranuma R., Sato R., Yamaguchi K., Nakamizo S., Asano K., Shibata T., Fukui R., Furukawa Y., Kabashima K., Miyake K. Aberrant monocytopoiesis drives granuloma development in sarcoidosis // Int Immunol. – 2024. – Vol. 36, № 4. – P. 183-196. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxad054>

6. Hoogeveen-Westerveld M., van Unen L., van den Ouweland A., Halley D., Hoogeveen A., Nellist M. The TSC1-TSC2 complex consists of multiple TSC1 and TSC2 subunits // BMC Biochem. – 2012. – № 13, P. 18. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-13-18>

7. Huang J., Manning B.D. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth // Biochem J. – 2008. – Vol. 412, № 2. – P. 179-190. <https://doi.org/10.1042/BJ20080281>

8. Kang Y J., Lu M-K., Guan K-L. The TSC1 and TSC2 tumor suppressors are required for proper ER stress response and protect cells from ER stress-induced apoptosis // Cell Death Differ. – 2011. – Vol. 18, № 1. – P. 133-144. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.82>

9. Laplante M., Sabatini D.M. mT.O.R. signaling in growth control and disease // Cell. – 2012. – № 149. – P. 274-293.

10. Linke M., Thanh Pham HT., Katholnig K., Schnöller T., Miller A., Demel F, et al. Chronic signaling via the metabolic checkpoint kinase mTORC1 induces macrophage granuloma formation and marks sarcoidosis progression // Nat Immunol. – 2017. – Vol. 18, № 3. – P. 293-302. <https://doi.org/10.1038/ni.3655>

11. Pinto J.P., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F, de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes // Immunology. – 2010. – Vol.130, № 2. – P. 217-230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x>

12. Redl A., Doberer K., Unterluggauer L., Kleissl L., Krall C., Mayerhofer C., Reininger B., Sary V., Zila N., Weninger W., Weichhart T., Bock C., Krausgruber T., Sary G. Efficacy and safety of mTOR inhibition in cutaneous sarcoidosis: a single-centre trial // Lancet Rheumatol. – 2024. – Vol. 6, № 2. – P. e81-e91. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(23\)00302-8](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(23)00302-8)

13. Saxton R.A., Sabatini D.M. mT.O.R. signaling in growth, metabolism, and disease // Cell. – 2017. – P. 960-976.

14. Szwed A., Kim E., Jacinto E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2 // Physiol Rev. – 2021. – Vol. 101, № 3. – P. 1371-1426. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020>

REFERENCES

1. Vigel A.A., Vigel I.Yu. Modern aspects of the epidemiology of sarcoidosis. *Pulmonologiya*, 2010, no. 6, pp. 104-108. (In Russ.)<https://doi.org/10.18093/0869-0189-2010-6-104-108>

2. Malysheva I.E., Topchieva L.V., Tikhonovich E.L. Study of the association of polymorphic variants rs2295080 and rs1883965 of the MTOR gene with the development and course of pulmonary sarcoidosis. *Genetika*, 2023, vol. 59, no. 10, pp. 1165-1170. (In Russ.)

3. Parkhitko A.A., Favorova O.O., Khabibullin D.I., Anisimov V.N., Khenske E.P. mTOR kinase: regulation, role in maintaining cellular homeostasis, tumor development, and aging. A review. *Biokhimiya*, 2014, vol. 79, no. 2, pp. 128-143. (In Russ.)

4. Grunewald J., Grutters J.C., Arkema E.V., Saketkoo L.A., Moller D.R., Müller-Quernheim J. *Sarcoidosis. Nat. Rev. Dis. Primers*, 2019, vol. 5, no. 1, pp. 45. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0096-x>

5. Hiranuma R., Sato R., Yamaguchi K., Nakamizo S., Asano K., Shibata T., Fukui R., Furukawa Y., Kabashima K., Miyake K. Aberrant monocytopoiesis drives granuloma development in sarcoidosis. *Int. Immunol.*, 2024, vol. 36, no. 4, pp. 183-196. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxad054>

6. Hoogeveen-Westerveld M., van Unen L., van den Ouweland A., Halley D., Hoogeveen A., Nellist M. The TSC1-TSC2 complex consists of multiple TSC1 and TSC2 subunits. *BMC Biochem.*, 2012, no. 13, pp. 18. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-13-18>

7. Huang J., Manning B.D. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J.*, 2008, vol. 412, no. 2, pp. 179-190. <https://doi.org/10.1042/BJ20080281>

8. Kang Y J., Lu M-K., Guan K-L. The TSC1 and TSC2 tumor suppressors are required for proper ER stress response and protect cells from ER stress-induced apoptosis. *Cell Death Differ.*, 2011, vol. 18, no. 1, pp. 133-144. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.82>

9. Laplante M., Sabatini D.M. mT.O.R. signaling in growth control and disease. *Cell*, 2012, no. 149, pp. 274-293.

10. Linke M., Thanh Pham HT., Katholnig K., Schnöller T., Miller A., Demel F et al. Chronic signaling via the metabolic checkpoint kinase mTORC1 induces macrophage granuloma formation and marks sarcoidosis progression. *Nat. Immunol.*, 2017, vol. 18, no. 3, pp. 293-302. <https://doi.org/10.1038/ni.3655>

11. Pinto J.P., 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x>

12. Redl A., Doberer K., Unterluggauer L., Kleissl L., Krall C., Mayerhofer C., Reininger B., Sary V., Zila N., Weninger W., Weichhart T., Bock C., Krausgruber T., Sary G. Efficacy and safety of mTOR inhibition in cutaneous sarcoidosis: a single-centre trial. *Lancet Rheumatol.*, 2024, vol. 6, no. 2, pp. e81-e91. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(23\)00302-8](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(23)00302-8)

13. Saxton R.A., Sabatini D.M. mT.O.R. signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, 2017, pp. 960-976.

14. Szwed A., Kim E., Jacinto E. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol Rev.*, 2021, vol. 101, no. 3, pp. 1371-1426. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБУН Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр Российской академии наук»
185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11
Тел.: +7 (8142) 76-60-40

Мальшиева Ирина Евгеньевна

К. б. н., старший научный сотрудник лаборатории
генетики Института биологии КарНЦ РАН
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Балан Ольга Викторовна

К. б. н., старший научный сотрудник
лаборатории генетики
Института биологии КарНЦ РАН
E-mail: ovbalan@mail.ru

ГБУЗ РК «Республиканская больница им. В.А. Баранова»
185002, г. Петрозаводск, ул. Пирогова, д. 3
Тел.: +7 (8142) 76-39-10

Тихонович Элла Леонидовна

Заведующая отделением респираторной терапии
E-mail: tikhonovich.ella@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., Petrozavodsk, 185910
Phone: +7 (8142) 76-60-40

Irina E. Malysheva

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of Genetics
Laboratory, Institute of Biology, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences
Email: i.e.malysheva@yandex.ru

Olga V. Balan

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of Genetics
Laboratory, Institute of Biology, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences
Email: ovbalan@mail.ru

V.A. Baranov Republican Hospital
3 Pirogova St., Petrozavodsk, 185002
Phone: +7 (8142) 76-39-10

Ella L. Tikhonovich

Head of Respiratory Therapy Department
Email: tikhonovich.ella@mail.ru

Поступила 19.06.2024

Submitted as of 19.06.2024