

А.Г.Кадушкин¹, Т.В.Шман², В.П.Новиков³, Ж.А.Ибрагимова¹, А.Д.Таганович¹

Особенности количественного изменения регуляторных Т-лимфоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

1 – УО "Белорусский государственный медицинский университет": 220116, Республика Беларусь, Минск, пр. Дзержинского, 83;

2 – ГУ "Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии": 223040, Республика Беларусь, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

3 – УЗ "Минский консультационно-диагностический центр": 220116, Республика Беларусь, Минск, ул. Семашко, 10

A.G.Kadushkin, T.V.Shman, V.P.Novikov, Zh.A.Ibragimova, A.D.Taganovich

Quantitative change of regulatory T-lymphocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Summary

The study was aimed at investigation of regulatory T-lymphocytes (Treg) with CD4⁺CD25⁺CD127 phenotype in non-smoking and smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). We examined 21 non-smokers with COPD, 20 smokers with COPD, 20 healthy non-smokers, and 21 healthy smokers. T-lymphocyte subtypes were analyzed using flow cytometry. Treg percentage was significantly higher in non-smokers with COPD compared to non-smoking healthy controls. Blood Treg number in smokers with COPD was higher than in healthy smokers. Smokers with COPD had significantly higher proportion of Treg than non-smokers with COPD. We also found significant inverse correlation between Treg proportion and the CD8⁺ T-lymphocyte percentage in non-smoking COPD patients. The results of this study suppose a possible contribution of Treg to the systemic inflammation in COPD irrespectively of smoking.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, flow cytometry, regulatory T-lymphocytes, non-smokers.

Резюме

Проведена оценка особенностей количественного изменения регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) с фенотипом CD4⁺CD25⁺CD127⁻ в общей популяции лимфоцитов крови у курящих и некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Были обследованы 21 некурящий пациент с ХОБЛ, 20 курящих больных ХОБЛ, 20 некурящих здоровых людей и 21 здоровый курильщик. Анализ популяций лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Доля Treg была выше у некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими без ХОБЛ. У курящих пациентов с ХОБЛ также был увеличен процент этих клеток по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми. Относительное количество Treg было повышено у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими с ХОБЛ. Установлена отрицательная корреляционная связь средней силы между относительным количеством Treg и процентом CD8⁺ Т-лимфоцитов. Результаты исследования свидетельствуют о важной роли Treg в развитии ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, проточная цитометрия, регуляторные Т-лимфоциты, некурящие люди.

При хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) воспалительный процесс поражает проксимальные и периферические отделы дыхательных путей, легочную паренхиму и стенку легочных сосудов, что постепенно ограничивает скорость воздушного потока [1]. Долгое время ведущим фактором риска развития ХОБЛ признавалось курение. Однако результаты проведенных в последнее 10-летие обследований населения в разных странах показали, что до 68,6 % пациентов, страдающих ХОБЛ, никогда не курили [2].

Одна из главных проблем ХОБЛ – трудность лечения. Ее терапия на современном этапе носит большей частью симптоматический характер и имеет ограниченную эффективность. С целью поиска патогенетически направленной терапии продолжают изучаться механизмы развития этого заболевания. В частности, внимание исследователей сосредоточено на Т-лимфоцитах. Различают несколько субпопуляций этих клеток: цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры), Т-хелперы 1-го и 2-го типов, регуляторные Т-лимфоциты, Th17-клетки, NKT-клетки.

Т-лимфоциты причастны к повреждению клеток легких при ХОБЛ. Т-киллеры секретируют цитотоксические гранулы, содержащие протеолитические ферменты – перфорин В и гранзим, которые вызывают апоптоз клеток-мишеней [3]. Т-хелперы 1-го типа продуцируют интерферон- γ , который привлекает воспалительные клетки в легкие [4]. Особое место среди Т-клеток занимают регуляторные Т-лимфоциты (Treg). В нормальных условиях они осуществляют своеобразный надзор за другими Т-лимфоцитами, регулируя их функцию [5]. Поэтому выяснение закономерностей количественных изменений Treg при ХОБЛ приобретает патогенетическое значение.

На сегодня сведения о состоянии популяции Treg у пациентов с ХОБЛ противоречивы. Показано отсутствие изменений относительного количества этих клеток в крови у пациентов с ХОБЛ (курильщиков, экс-курильщиков и некурящих) по сравнению с соответствующей контрольной группой здоровых людей [6]. По сведениям других источников, доля регуляторных Т-лимфоцитов крови выше у курильщиков

с ХОБЛ, чем у курильщиков без таковой [7]. Результаты исследований содержания Treg в бронхоальвеолярной лаважной жидкости также противоречивы [8–10]. Одной из причин имеющихся противоречий является выбор маркеров этих клеток.

В основе фенотипирования регуляторных Т-лимфоцитов, как и других клеток, лежит определение их рецепторных структур. Т-клеточный рецептор (TCR, CD3) и корецептор CD4 этих клеток участвуют в распознавании аутоантигена (аутореактивных эффекторных клеток). Наличие рецептора интерлейкина-2 (IL-2) позволяет Treg поглощать этот цитокин [11]. Маркером этого рецептора является его α -полипептидная цепь (CD25). Регуляторные Т-клетки обладают большим числом молекул CD25, что отличает их от активированных Т-хелперов, несущих меньшее число таких молекул.

Отсутствие экспрессии CD127 (α -цепь рецептора IL-7) является еще одной важной характеристикой Treg. Гетеродимерный рецептор IL-7 включает в себя уникальную α -полипептидную цепь (CD127) и общую для других рецепторов γ -цепь. Поэтому иммунофенотип CD4⁺CD25⁺CD127⁻ адекватно описывает популяцию регуляторных Т-лимфоцитов и может быть использован для их детекции [12].

Целью исследования явилась оценка особенностей количественного изменения регуляторных Т-клеток с рецепторным фенотипом CD4⁺CD25⁺CD127⁻ в общей популяции лимфоцитов крови у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 21 некурящий пациент с ХОБЛ, 20 курящих пациентов с ХОБЛ, 20 некурящих здоровых людей и 21 здоровый курильщик (табл. 1). К некурящим, согласно определению Всемирной организации здравоохранения, были отнесены люди, которые выкурили < 100 сигарет за свою жизнь [13]. У некурящих пациентов ХОБЛ была обусловлена вдыханием производственных вредностей, а также перенесенными тяжелыми инфекционными заболеваниями дыхательных путей в раннем детстве и / или частыми острыми респираторными заболеваниями в зрелом возрасте. Все ку-

рящие пациенты с ХОБЛ и здоровые курильщики имели индекс курения > 10 пачко-лет. Для исключения острого влияния курения на результаты исследования курящие люди не курили в течение 12 ч, предшествующих взятию крови.

Критерием включения в исследование было отсутствие симптомов обострения ХОБЛ в течение последних 2 мес. до взятия крови. Из исследования были исключены пациенты с наличием в анамнезе бронхиальной астмы, атопии, аллергического ринита, злокачественного новообразования, принимавшие системные глюкокортикостероиды как минимум за 2 мес. до настоящего исследования, пациенты, не способные правильно выполнить дыхательный маневр при тестировании функции внешнего дыхания.

Диагностика ХОБЛ, включая оценку степени тяжести, осуществлялась на основании критериев GOLD (2011) [1]. Преобладали пациенты со средне-тяжелой и тяжелой степенью ХОБЛ. В контрольные группы вошли условно здоровые добровольцы с нормальным уровнем ОФВ₁ и отношения ОФВ₁ / ФЖЕЛ, не имевшие в анамнезе патологии бронхолегочной системы и других хронических заболеваний. Все обследуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании.

Спирометрия проводилась по стандартной методике на аппарате *SpiroUSB* с использованием программного обеспечения *Spida5* (*Micro Medical Ltd*, Англия) в соответствии с рекомендациями Американского торакального и Европейского респираторного сообществ [14].

Венозную кровь у обследуемых пациентов забирала рано утром натощак в объеме 3–5 мл, в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацет калия в качестве антикоагулянта; 100 мкл крови помещали в пробирку, добавляли по 10 мкл моноклональных антител. Использовались панели антител: 1) CD3-APC / CD8-PE; 2) CD4-FITC / CD25-PC5 / CD127-PE (*R&D Systems, Beckman Coulter*, США). Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. После инкубации эритроциты лизировали путем добавления 2 мл лизирующего раствора *FACS Lysing Solution* (BD, США). Затем образцы тщательно перемешивали

Таблица 1
Характеристика участников исследования

Показатель	Некурящие пациенты с ХОБЛ, n = 21	Курящие пациенты с ХОБЛ, n = 20	Некурящие здоровые, n = 20	Курящие здоровые, n = 21
Возраст, годы	64,0 (61,0–68,0)	64,5 (62,0–67,0)	62,0 (59,0–64,5)	61,0 (59,0–63,0)
Пол, мужской / женский	12 / 9	18 / 2	3 / 17	14 / 7
Статус курения (курящие / бывшие курильщики)	–	12 / 8	–	13 / 8
Индекс курения, пачко-лет	0	43,2 (21,3–50,3)	0	29,0 (20,0–37,5)
Индекс массы тела, кг / м ²	30,8 (26,0–35,3)	25,4 (23,2–27,7)	27,0 (23,8–31,2)	28,7 (26,1–31,1)
ОФВ ₁ , % _{долж.}	54,0 (41,0–61,0)	49,5 (35,5–65,5)	101,0 (92,0–110,0)	96,0 (88,0–106,0)
ОФВ ₁ после ингаляции бронхолитика, % _{долж.}	58,0 (43,0–66,0)	54,0 (40,0–70,5)	–	–
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ, %	62,0 (56,0–65,0)	56,5 (51,0–65,0)	87,5 (82,0–94,0)	85,0 (80,0–89,0)
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ после ингаляции бронхолитика, %	64,0 (58,0–66,0)	57,0 (49,5–65,5)	–	–

Примечание: ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких.

и инкубировали в течение 5–7 мин в темноте. Клетки осаждали центрифугированием (2 200 об. / мин в течение 3 мин), надосадочную жидкость сливали, а осадок встряхивали. Добавляли фосфатно-солевой буфер *PBS Cell Wash* (BD, США), процедуру отмывки повторяли 2 раза. После этого к суспензии клеток добавляли 300 мкл 1%-го раствора параформальдегида. Анализ популяций лимфоцитов проводили на проточном цитометре *Cytomics FC500* с использованием программного обеспечения *CXP* (*Beckman Coulter*, США). Для каждой пробы учитывали ≥ 50 тыс. клеток.

По показателям прямого (*FSC*) и бокового (*SSC*) светорассеивания выделяли регион лимфоцитов. В пределах этого региона по маркерам *CD3*, *CD4* и *CD8* рассчитывали процент Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в общей популяции лимфоцитов. Далее анализировали процент регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом *CD4⁺CD25⁺CD127⁻* в популяции Т-хелперов (рис. 1).

Статистическую обработку осуществляли при помощи программного пакета *Statistica 8.0 for Windows*. Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения по критерию Колмогорова–Смирнова. Поскольку полученные данные не подчинялись нормальному распределению, анализ проводился методами непараметрической статистики. Рассчитывались медиана и интерквартильный размах. Для сравнения данных между группами использовался *U*-критерий Манна–Уитни. Для оценки взаимосвязей между показателями определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена (*R*). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Во многих лабораториях иммунофенотипирование Трег ограничивается 2 маркерами – *CD4* и *CD25* [8, 9]. По данным нашего исследования, относительное количество лимфоцитов, содержащих корцептор *CD4* и α -цепь рецептора *IL-2*, возрастало у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми (табл. 2). У некурящих пациентов с ХОБЛ выявлена лишь тенденция к повышению доли таких клеток в популяции Т-хелперов крови по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ.

Использование *CD25* в качестве маркера Трег обусловлено тем, что экспрессия α -цепи рецептора *IL-2* в Трег идет гораздо интенсивнее, чем в Т-хелперах. Однако возможности проточной цитометрии не всегда позволяют четко разделить популяции клеток с высокой и низкой экспрессией *CD25*. Поэтому для идентификации Трег предложено использовать 3-й маркер [15]. В частности, исключительной характеристикой этих клеток является отсутствие экспрессии α -цепи рецептора *IL-7* (*CD127*) [12].

Действительно, у некурящих пациентов с ХОБЛ доля Трег с фенотипом *CD4⁺CD25⁺CD127⁻* была существенно выше ($p < 0,05$), по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ (см. табл. 2). У курящих пациентов с ХОБЛ также был увеличен процент этих клеток по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми. Полученные данные согласуются с результатами, продемонстрированными в другой лаборатории, когда у курящих пациентов с ХОБЛ в крови наблюдали повышенное относительное количество клеток-носителей корцептора *CD4*,

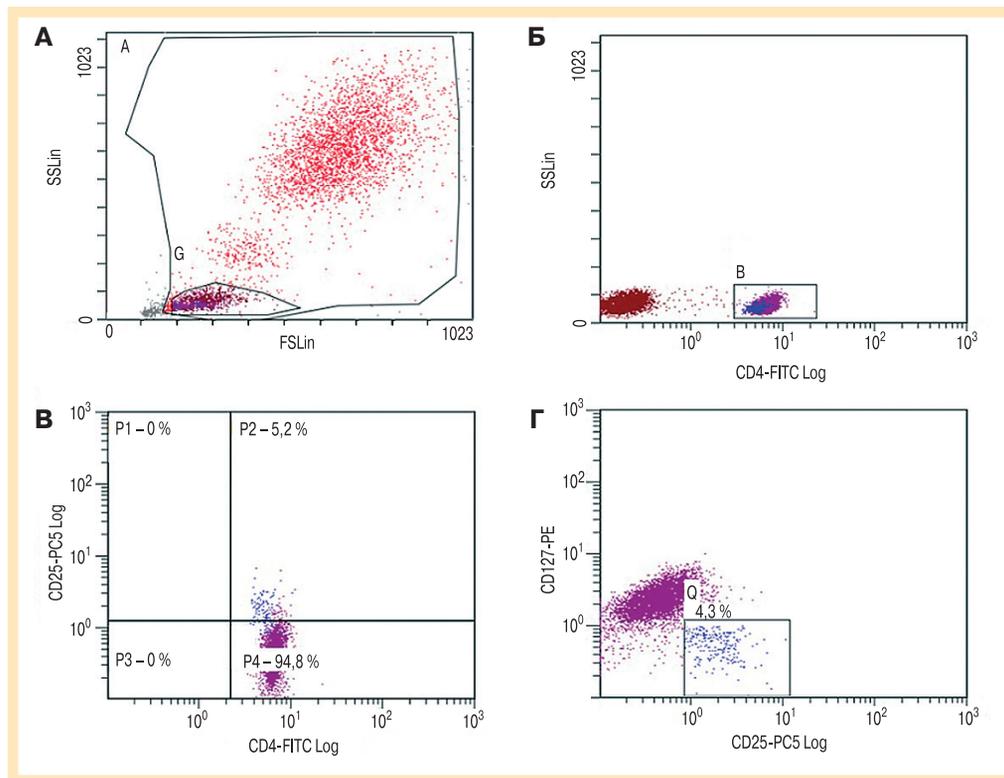


Рис. 1. Анализ регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови: А – выделение региона лимфоцитов среди клеток крови; Б – определение популяции Т-хелперов; В – распределение *CD4* и *CD25* после логического ограничения по *CD4*; Г – распределение *CD127* и *CD25* после логического ограничения по *CD4*

Таблица 2
Доля регуляторных Т-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ

Субпопуляция Т-хелперов, %	Некурящие		Курящие	
	ХОБЛ	Группа контроля	ХОБЛ	Группа контроля
CD4 ⁺ CD25 ⁺	6,1 (4,9–8,7)	5,2 (4,0–7,1)	7,7 (5,9–9,8)**	6,1 (4,7–7,6)
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	6,0 (4,1–6,8)***	4,5 (3,9–6,0)	7,1 (5,8–8,3)**	5,4 (4,3–6,9)

Примечание: данные представлены как медиана (25–75 %); * – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми некурящими людьми; ** – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми курящими людьми; *** – $p < 0,05$ по сравнению с курящими пациентами с ХОБЛ; CD4⁺CD25⁺ – Т-хелперы, обладающие α -цепью рецептора IL-7 (CD25); CD4⁺CD25⁺CD127⁻ – регуляторные Т-лимфоциты.

α -цепи рецептора IL-2 и фактора транскрипции Foxp3 по сравнению со здоровыми курильщиками [7].

Foxp3, как известно, является предпочтительным маркером Treg, однако его внутриклеточная локализация существенно затрудняет подготовку проб для измерения этих клеток [16]. Вместе с тем еще в 2006 г. было показано, что 86,6 % популяции CD4⁺CD25⁺CD127⁻ лимфоцитов экспрессируют Foxp3 [12]. Впоследствии эту закономерность подтвердили в других лабораториях [17]. Тем самым были получены веские доказательства возможности судить о количестве Treg с использованием фенотипа, включающего CD127.

Сообщается о выявленной тенденции к повышению доли Treg, оцененных по фенотипу CD4⁺CD25⁺CTLA4⁺, в крови у пациентов с ХОБЛ (курильщиков, экс-курильщиков и некурящих) по сравнению с соответствующей контрольной группой здоровых людей [6]. Мембраносвязанный рецептор CTLA4 располагается на поверхности Treg и является еще одним маркером этих клеток.

Результаты проведенного исследования показывают, что относительное число Treg было повышено у курящих больных ХОБЛ по сравнению с некурящими пациентами с ХОБЛ. У курящих людей без ХОБЛ имелась тенденция к повышению относительного числа лимфоцитов, содержащих корецептор CD4 и α -цепь рецептора IL-2, но без α -цепи рецептора IL-7, по сравнению с некурящими здоровыми людьми. Это свидетельствует о том, что у курящих пациентов с ХОБЛ курение усиливает повышение числа Treg, вызванное заболеванием.

Поскольку Treg регулируют функционирование эффекторных Т-лимфоцитов, были сопоставлены обнаруженные изменения Treg с количественными изменениями CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток при ХОБЛ.

У курящих больных отмечалось снижение доли носителей корецептора CD4 (Т-хелперов) в общей популяции лимфоцитов периферической крови по сравнению со здоровыми курящими и некурящими

лицами (табл. 3). О снижении абсолютного числа CD4⁺ Т-лимфоцитов крови у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими здоровыми людьми сообщали другие исследователи [18].

У некурящих пациентов с ХОБЛ наблюдалась выраженная тенденция к снижению относительного количества Т-хелперов по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ. Это совпадает с данными литературы [19, 20].

В крови у курящих пациентов с ХОБЛ доля лимфоцитов – носителей рецептора CD3 и корецептора CD8 (цитотоксических Т-лимфоцитов) была выше по сравнению с курильщиками без ХОБЛ. У некурящих пациентов с ХОБЛ также наблюдалось повышение процента CD8⁺-лимфоцитов в крови по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ. Разнонаправленные сдвиги доли Т-хелперов и Т-киллеров явились причиной снижения отношения CD4⁺ / CD8⁺-лимфоцитов у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими и некурящими здоровыми людьми, а также у некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ (см. табл. 3). Эти результаты соответствуют данным, полученным другими исследователями [6, 21].

При дальнейшем анализе результатов обнаружено, что у некурящих пациентов с ХОБЛ имеется отрицательная корреляционная связь средней силы между относительным числом Treg и процентом Т-лимфоцитов ($R = -0,46$; $p < 0,05$), а также между процентом Treg и долей лимфоцитов, обладающих корецептором CD8 (рис. 2). Эти данные в совокупности с изменением относительного количества CD8⁺ Т-лимфоцитов означают, что повышение числа Treg в крови сопровождается подавлением активации и цитолизом чрезмерно пролиферирующих при ХОБЛ цитотоксических Т-лимфоцитов. Это наводит на мысль о том, что увеличение Т-киллеров могло бы быть гораздо большим в отсутствие супрессирующего действия Treg, т. е. нарастающее число Treg сдерживает чрезмерную продукцию цитотокси-

Таблица 3
Сравнение субпопуляций лимфоцитов крови у больных ХОБЛ и контрольных групп

Субпопуляция лимфоцитов	Некурящие		Курящие	
	ХОБЛ	Группа контроля	ХОБЛ	Группа контроля
CD4 ⁺ , %	32,5 (28,5–39,1)	36,9 (34,4–42,1)	29,9 (25,8–34,7)**	36,8 (33,1–39,6)
CD8 ⁺ , %	32,3 (23,6–36,3)*	25,3 (18,5–30,2)	33,0 (23,5–40,6)**	25,6 (21,6–31,1)
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	1,1 (0,8–1,6)*	1,6 (1,3–2,2)	1,0 (0,6–1,4)**	1,4 (1,0–2,0)

Примечание: данные представлены как медиана (25–75 %); * – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми некурящими людьми; ** – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми курящими людьми; CD4⁺ – лимфоциты, имеющие корецептор CD4 (Т-хелперы); CD8⁺ – лимфоциты, содержащие корецептор CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты / Т-киллеры).

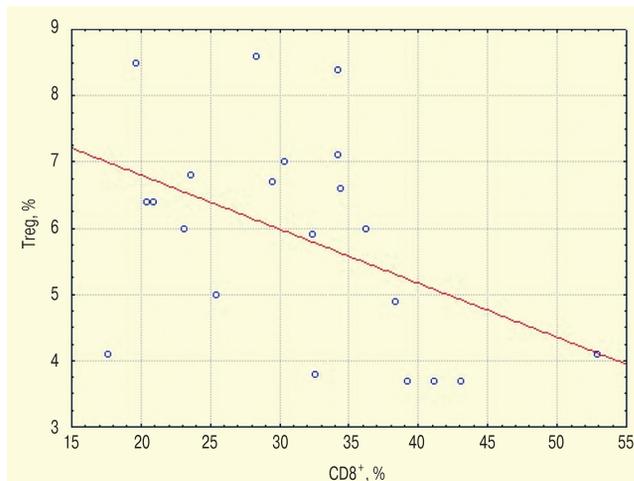


Рис. 2. Зависимость относительного количества Treg от процента CD8⁺ лимфоцитов в крови у некурящих пациентов с ХОБЛ ($R = -0,47, p < 0,05$)

ческих Т-лимфоцитов. Значение обнаруженной закономерности для патогенеза ХОБЛ предстоит осмыслить в будущем.

Супрессирующий эффект Treg на Т-лимфоциты реализуется посредством поверхностных белковых структур. В частности, рецепторы CTLA-4 и LAG-3, а также эктоэнзимы CD39 и CD73 регуляторных Т-лимфоцитов ингибируют необходимый для активации Т-клетки вторичный сигнал, поступающий от дендритной клетки [22]. Рецептор IL-2 позволяет Treg, подобно мусорщикам, поглощать этот цитокин и снижать его концентрацию в микроокружении. Это ингибирует активацию других Т-клеток и вызывает их апоптоз [11]. Treg могут вызывать апоптоз эффекторных Т-лимфоцитов также при помощи перфорин / гранзимных путей [23]. Кроме того, регуляторные Т-лимфоциты секретируют IL-10, IL-35, трансформирующий фактор роста β , а также галектин-1 (член семейства белков, связывающих β -галактозидазу), которые, связываясь с рецепторами на поверхности Т-клеток, ингибируют их пролиферацию [24, 25].

Подавление активации и апоптоз Т-киллеров может служить причиной замедления прогрессирования ХОБЛ. Одновременно снижение количества носителей рецептора CD3, вызываемое регуляторными Т-клетками, может приводить к ослаблению резистентности организма пациента с ХОБЛ к инфекционным заболеваниям [26]. Тем самым создаются условия для обострения заболевания.

Заключение

Таким образом, при ХОБЛ увеличивается относительное число регуляторных Т-лимфоцитов. У курящих пациентов процент этих клеток больше, чем у некурящих больных. Такое повышение Treg у курящих пациентов свидетельствует о том, что сигаретный дым у них способствует еще большему увеличению числа этих клеток.

Увеличение Treg происходит на фоне повышения доли цитотоксических Т-лимфоцитов. При этом об-

наруживается обратная корреляционная связь между относительным числом этих клеток, что, по-видимому, имеет патогенетическое значение.

Литература

1. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). 2011.
2. Salvi S.S., Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009; 374: 733–743.
3. Hodge S., Hodge G., Nairn J. et al. Increased airway granzyme b and perforin in current and ex-smoking COPD subjects. *COPD* 2006; 3 (4): 179–187.
4. Grumelli S., Corry D.B., Song L.Z. et al. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *PLoS Med.* 2004; 1 (1): e8.
5. Ralainirina N., Poli A., Michel T. Control of NK cell functions by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81 (1): 144–153.
6. Domagala-Kulawik J., Hoser G., Dabrowska M. et al. CD4⁺/CD25⁺ cells in systemic inflammation in COPD. *Scand. J. Immunol.* 2011; 73 (1): 59–65.
7. Brandsma C.A., Hylkema M.N., Geerlings M. et al. Increased levels of (class switched) memory B cells in peripheral blood of current smokers. *Respir. Res.* 2009; 10: 108.
8. Barcelo B., Pons J., Ferrer J.M. et al. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4⁺CD25⁺ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking. *Eur. Respir. J.* 2008; 31 (3): 555–562.
9. Smyth L.J., Starkey C., Vestbo J. et al. CD4-regulatory cells in COPD patients. *Chest* 2007; 132 (1): 156–163.
10. Roos-Engstrand E., Pourazar J., Behndig A.F. et al. Expansion of CD4⁺CD25⁺ helper T cells without regulatory function in smoking and COPD. *Respir. Res.* 2011; 12: 74.
11. Pandolfi F., Pierdominici M., Marziali M. et al. Low-dose IL-2 reduces lymphocyte apoptosis and increases naive CD4-cells in HIV-1 patients treated with HAART. *Clin. Immunol.* 2000; 94 (3): 153–159.
12. Liu W., Putnam A.L., Xu-Yu Z. et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ Treg cells. *J. Exp. Med.* 2006; 203 (7): 1701–1711.
13. World Health Organization. Guidelines for controlling and monitoring the tobacco epidemic. Geneva: WHO; 2008.
14. Wanger J., Clausen J.L., Coates A. et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (3): 511–522.
15. Hartigan-O'Connor D.J., Poon C., Sinclair E. et al. Human CD4⁺ regulatory T-cells express lower levels of the IL-7 receptor alpha chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells. *J. Immunol. Meth.* 2007; 319 (1–2): 41–52.
16. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. Цитометрический анализ в клинической иммунологии. Екатеринбург: УрО РАН; 2011.
17. Shen L.S., Wang J., Shen D.F. et al. CD4⁺CD25⁺ CD127low/- regulatory T cells express Foxp3 and suppress effector T cell proliferation and contribute to gastric cancers progression. *Clin. Immunol.* 2009; 131 (1): 109–118.
18. Glader P., von Wachenfeldt K., Lofdahl C.G. Systemic CD4⁺ T-cell activation is correlated with FEV1 in smokers. *Respir. Med.* 2006; 100 (6): 1088–1093.

19. Domagala-Kulawik J., Hoser G., Dabrowska M. et al. Fas⁺ lymphocytes and CD4⁺/CD25⁺ cells in peripheral blood of never smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2011; 36 (4): 226–232.
20. de Jong J.W., van der Belt-Gritter B., Koeter G.H. et al. Peripheral blood lymphocyte cell subsets in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: association with smoking, IgE and lung function. *Respir. Med.* 1997; 91 (2): 67–76.
21. Bronzyna S., Ahern J., Hodge J. et al. Chemotactic mediators of Th1 T-cell trafficking in smokers and COPD patients. *COPD* 2009; 6 (1): 4–16.
22. Shevach E.M. Mechanisms of Foxp3⁺ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity* 2009; 30 (5): 636–645.
23. Cao X., Cai S.F., Fehniger T.A. et al. Granzyme B and perforin are important for regulatory T-cell-mediated suppression of tumor clearance. *Immunity* 2007; 27 (4): 635–646.
24. Collison L.W., Workman C. J., Kuo T.T. et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007; 450 (7169): 566–569.
25. Garin M.I., Chu C.C., Golshayan D. et al. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4⁺CD25⁺ T-cells. *Blood* 2007; 109 (5): 2058–2065.
26. Harty J.T., Tvinnereim A.R., White D.W. CD8⁺ T-cell effector mechanisms in resistance to infection. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 275–308.

Информация об авторах

Кадушкин Алексей Геннадьевич – аспирант кафедры биологической химии УО "Белорусский государственный медицинский университет"; тел.: (375 17) 272-67-88; e-mail: kadushkyn@gmail.com

Шман Татьяна Викторовна – к. б. н., зав. лабораторией иммунологических исследований ГУ "Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии"; тел.: (375 17) 265-42-22; e-mail: shman@oncology.by

Новиков Владимир Петрович – зав. консультационным отделением УЗ "Минский консультационно-диагностический центр"; тел.: (375 17) 272-45-97; e-mail: nvr103@yandex.ru

Ибрагимова Жанна Аркадьевна – к. б. н., зав. лабораторией биохимических методов исследования, УО "Белорусский государственный медицинский университет"; тел.: (375 17) 278-77-34; e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Таганович Анатолий Дмитриевич – д. м. н., проф., зав. кафедрой биологической химии УО "Белорусский государственный медицинский университет"; тел.: (375 17) 272-67-64; e-mail: taganovich@bsmu.by

Поступила 18.02.13

© Коллектив авторов, 2013

УДК 616.24-036.12-092:612.017.1