

УДК 616.23/.24-002.2-097:577.27

DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-125–135

Для цитирования: Кириллова Н.А., Невская К.В., Петров В.А., Дорофеева Ю.Б., Федосенко С.В., Куликов Е.С. Роль компонентов микробиоты в модификации иммунного ответа при отдельных вариантах течения хронической обструктивной болезни легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (2): 125–135

Роль компонентов микробиоты в модификации иммунного ответа при отдельных вариантах течения хронической обструктивной болезни легких

Кириллова Н.А., Невская К.В., Петров В.А., Дорофеева Ю.Б., Федосенко С.В., Куликов Е.С.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности в мире. Неблагоприятным вариантом течения болезни, с точки зрения прогноза, является ХОБЛ с частыми обострениями. В настоящее время недостаточно изучен вклад компонентов микробиоты на изменение иммунного ответа при данной болезни.

Цель работы. Установить роль компонентов бактерий – бактериальных олигонуклеотидов в модификации иммунного ответа при ХОБЛ.

Материал и методы. В соответствии с протоколом в исследование включены 10 пациентов со стабильной ХОБЛ с частыми обострениями и 10 пациентов без частых обострений. Незрелые дендритные клетки, полученные при культивировании моноцитарной фракции периферической крови больных ХОБЛ, стимулировали путем добавления бактериального липополисахарида, а также малых олигодеоксинуклеотидов (ODN) с неметилованными CpG (CpG-ODN) классов А или В, после чего определяли иммунофенотипический профиль полученных клеток методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к антигенам CD40, CD83, CD86. Для определения антиген-представляющих свойств полученных дендритных клеток их сокультивировали с CD4⁺, после чего оценивали фенотипический профиль полученных Т-лимфоцитов с использованием антител к CD4, CD25, CD127 и CD45RO.

Результаты. Сокультивирование стимулированных CpG-ODN класса А-дендритных клеток с Т-клетками у больных ХОБЛ без обострений приводит к увеличению содержания лимфоцитов с фенотипом CD25⁺CD45RO⁻ на 15% после стимуляции в отличие от группы пациентов с частыми обострениями ХОБЛ ($p = 0,018$). Это может свидетельствовать о недостаточном контроле над персистирующим воспалением, опосредованным CD25⁺CD45RO-пулом клеток, в группе больных ХОБЛ с частыми обострениями.

Выводы и заключение. Проведенное исследование продемонстрировало наличие дискоординации иммунного ответа разнонаправленного характера при ХОБЛ с частыми и редкими обострениями, что может быть основой развития варианта течения ХОБЛ с частыми обострениями.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ХОБЛ, обострения, CpG-ODN, дендритные клетки.

✉ Кириллова Наталья Александровна, e-mail: kirillova.natalya@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире, а также приводит к весьма существенному экономическому и социальному ущербу, уровень которого неуклонно растет [1, 2]. В популяции больных ХОБЛ выделяют группу пациентов, характеризующихся развитием частых обострений (два и более в год или хотя бы одно обострение за предшествующие 12 мес, потребовавшее госпитализации в стационар) [3]. Обострения ХОБЛ ухудшают качество жизни пациента, усиливая симптомы, приводят к снижению параметров функции внешнего дыхания, увеличивают риск смерти [4, 5]. Микроорганизмы дыхательных путей могут быть одним из факторов развития обострений при ХОБЛ. Даже у здорового человека дыхательные пути не стерильны и содержат около 2 000 бактериальных геномов на см² [6]. Дыхательные пути у больных ХОБЛ (особенно тяжелого и очень тяжелого течения) также колонизированы бактериями. При этом не всегда бактериальная контаминация трансформируется в инфекционный процесс, что связано с особенностями взаимодействия между микробиотой и иммуннокомпетентными клетками больного ХОБЛ. Данные в отношении качественного состава микробиома легких и его связи с курением, тяжестью ХОБЛ, обострениями и применением стероидов и (или) антибиотиков противоречивы, при этом ряд авторов связывают особенности клинического течения ХОБЛ с функциональными характеристиками микроорганизмов [7, 8]. Бактериальный геном, в отличие от ДНК позвоночных, включает в себя большое число неметилованных деоксицитидил-деоксигуанозин (СрG) динуклеотидов [9]. Малые олигодеоксинуклеотиды (ODN) с неметилованными СрG (СрG-ODN) аналогично бактериальной ДНК способны оказывать модулирующее действие на иммунную систему. Выделяют три основных класса СрG-ODN, однако наибольший вклад в иммунный ответ, опосредованный антигенпредставляющими клетками, вносят классы А и В.

Наиболее специализированными антигенпредставляющими клетками являются дендритные клетки (ДК), способные инициировать и регулировать гуморальный и клеточный иммунный ответ, в том числе направление дифференцировки наивных Т-лимфоцитов [10]. Функциональная активность ДК определяется интенсивностью экспрессии поверхностных фенотипических молекул, наиболее «влиятельными» из которых

оказались члены семейства В7 – CD80/CD86. Молекула CD86 является более важной в индукции Th2-ответа, чем CD80 [11]. Созревшие ДК несут на своей поверхности трансмембранную молекулу CD83, только такие клетки могут инициировать или остановить иммунный ответ [12]. Именно ДК регулируют путь дифференцировки наивных Т-лимфоцитов. E. Roos-Engstrand и соавт. продемонстрировали увеличение числа Т-регуляторных клеток в бронхо-альвеолярном лаваже у здоровых курящих, а также при ХОБЛ [13]. У пациентов, страдающих ХОБЛ с частыми обострениями, требующими назначения антибактериальной терапии, выявлен повышенный уровень Т-регуляторных клеток CD25⁺FoxP3⁺, что может способствовать персистенции инфекции в этой группе больных [14]. Однако механизм увеличения данного пула клеток у больных ХОБЛ не изучен.

Таким образом, нарушения в функционировании иммунной системы являются одними из ключевых звеньев патогенеза ХОБЛ, способствуют развитию респираторной инфекции, что, в свою очередь, приводит к поддержанию воспаления и развитию обострений [15]. Характеристика влияния компонентов микробиоты дыхательных путей на дендритные клетки и их функции имеет ключевое значение в понимании процессов поддержания воспаления при ХОБЛ и формирования варианта течения болезни с частыми обострениями. В связи с этим представляется актуальным установление роли компонентов микробиоты – бактериальных олигонуклеотидов (СрG-ODN классов А и В) в модификации иммунного ответа при ХОБЛ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие пациенты ($n = 10$) со стабильной ХОБЛ с частыми обострениями (количество обострений – 2,0 [2,0; 2,0] за предшествующий год) и пациенты ($n = 10$) со стабильным течением ХОБЛ без частых обострений – 0,5 [0,0; 1,0] обострений за предшествующий год, $p = 0,001$. Стабильным течением болезни считали отсутствие обострений на протяжении не менее 4 нед перед включением в исследование. Возраст больных ХОБЛ с частыми обострениями составил 69,0 [66,0; 75,0] лет, пациентов без частых обострений – 66,0 [56,0; 68,0] лет. Достоверных различий по клиническим характеристикам (показатели функции внешнего дыхания, субъективная оценка болезни, стаж курения) больных ХОБЛ с частыми и редкими обострениями не выявлено (таблица). При этом всех пациентов беспокоили

выраженные симптомы и одышка: по САТ-тесту – более 10 баллов, MMRC – 2 балла.

Т а б л и ц а

Клиническая характеристика больных ХОБЛ с частыми обострениями и без частых обострений, Ме [Q25; Q75]			
Показатель	ХОБЛ с частыми обострениями, n = 10	ХОБЛ без частых обострений, n = 10	Уровень значимости, p
Возраст, лет	69,0 [66,0; 75,0]	66,0 [56,0; 68,0]	0,088
Стаж курения, пачко-лет	40,0 [30,0; 49,0]	37,5 [32,5; 40,0]	0,684
ОФВ1, %	58,35 [48,81; 67,10]	60,48 [47,00; 74,62]	0,684
ОФВ1/ФЖЕЛ, %	53,8 [49,48; 57,82]	59,59 [51,86; 61,59]	0,472
САТ-тест, балл	22,0 [19,0; 26,0]	14,0 [9,0; 21,0]	0,129
MMRC, балл	2,0 [2,0; 3,0]	2,0 [2,0; 2,0]	0,381
Количество обострений за предшествующие 12 мес	2,0 [2,0; 2,0]	0,5 [0,0; 1,0]	0,001

Периферическую венозную кровь у больных ХОБЛ в объеме 30 мл собирали из локтевой вены утром натощак в стерильную вакуумную пробирку с гепарином. Методами градиентного центрифугирования и магнитного сортирования с использованием антител анти-CD14 (Miltenyi Biotec, Германия) из крови выделялась моноцитарная фракция, а также лимфоциты с использованием антител анти-CD4 (Miltenyi Biotec, Германия). Клетки CD4⁺ криоконсервировали в среде, содержащей 90% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США) и 10% диметилсульфоксида (ПанЭко, Россия), 1-е сут при –80 °С, далее в жидком азоте (–196 °С). Моноциты культивировали в полной питательной среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США), L-глутамин (ПанЭко, США), пирувата натрия (ПанЭко, Россия), пенициллина-стрептомицина (ПанЭко, Россия), b-меркаптоэтанола (Sigma, США) в присутствии IL-4 (ProSpec, США) и GM-CSF (ProSpec, США) в течение 3 сут в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С. После чего для стимуляции созревания к полученным незрелым дендритным клеткам добавляли бактериальный липополисахарид (Sigma, США), а также CpG-ODN классов А или В. Через 36 ч определяли иммунофенотипический профиль полученных клеток методом проточной цитофлуориметрии с

использованием моноклональных антител к антигенам CD40, CD83, CD86 (BD Bioscience, США) на проточном цитофлуориметре Accuri C6 (BD Bioscience, США). Для определения антиген-представляющих свойств полученных дендритных клеток их сокультивировали с CD4⁺-лимфоцитами в течение 7 сут в присутствии IL-2 (ProSpec, США). По окончании времени культивирования оценивали фенотип Т-лимфоцитов с использованием антител к CD4, CD25, CD127 и CD45RO (BD Bioscience, США).

Статистический анализ проводился с использованием пакета stats языка программирования R [16]. Для поиска статистически достоверных различий в случае двух несвязанных групп использовался критерий Уилкоксона – Манна – Уитни, в случае трех связанных групп применялся критерий Фридмана с последующим применением критерия Уилкоксона для связанных выборок для установления попарных различий. Коррекция значений p на множественное сравнение проводилась в пакете stats при помощи метода Бенджамини – Хохберга, различия считались достоверными при значениях p < 0,05 после применения поправки. Количественные данные в тексте и таблицах представляли в виде медианы, квартилей 1 и 3 – Ме [Q25; Q75].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Иммуногенные свойства компонентов микробиоты (CpG-ODN классов А или В) и их влияние на персистирующее хроническое воспаление оценены *in vitro* при совместном культивировании с ДК, полученными от пациентов, страдающих ХОБЛ с частыми и редкими обострениями. В работе выявлено наличие межгрупповых статистически значимых различий по всем изучаемым параметрам, а также внутригрупповые различия по содержанию CD-маркеров на поверхности ДК, стимулированных и нестимулированных CpG-ODN классов А или В *in vitro*.

Для оценки процесса созревания ДК под действием компонентов микробиоты в настоящей работе проанализирована динамика изменения экспрессии поверхностных антигенов CD83, CD40, CD86 на ДК при различных вариантах течения ХОБЛ. Совокупность данных маркеров позволила оценить созревание клеток (CD83), их способность к запуску иммунного ответа (CD86), в том числе по Т-клеточному звену (CD40). При анализе изолированной экспрессии изучаемых маркеров на поверхности дендритных клеток не обнаружено статистически значимых различий у больных с частыми обострениями и без них вне

зависимости от стимуляции. Тем не менее при анализе коэкспрессии маркеров установлена тенденция к увеличению содержания зрелых дендритных клеток с фенотипом $CD40^+CD83^+CD86^+$ на 69% при стимуляции CpG-ODN класса А у больных ХОБЛ с частыми обострениями. Однако при введении поправок на множественное сравнение не удалось подтвердить статистическую значимость (рис. 1). Стимуляция CpG-ODN класса В у данной группы пациентов не сопровождается изменением содержания пула клеток $CD40^+CD83^+CD86^+$ – 3,5% [1,4; 6,0] до стимуляции и 4,8% [1,5; 25,8] после. У больных ХОБЛ без частых обострений не выявлено статистически значимых изменений уровня дендритных клеток с фенотипом $CD40^+CD83^+CD86^+$ при стимуляции CpG-ODN классов А и В (рис. 2).

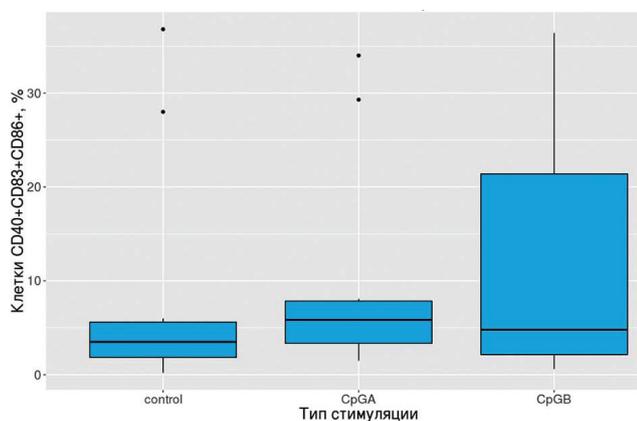


Рис. 1. Уровень зрелых дендритных клеток с фенотипом $CD40^+CD83^+CD86^+$ у больных ХОБЛ с частыми обострениями: границы ящиков – Q25; Q75; линия в ящике – Me; границы усов охватывают промежуток в полтора интерквартильных размаха; точками обозначены выбросы

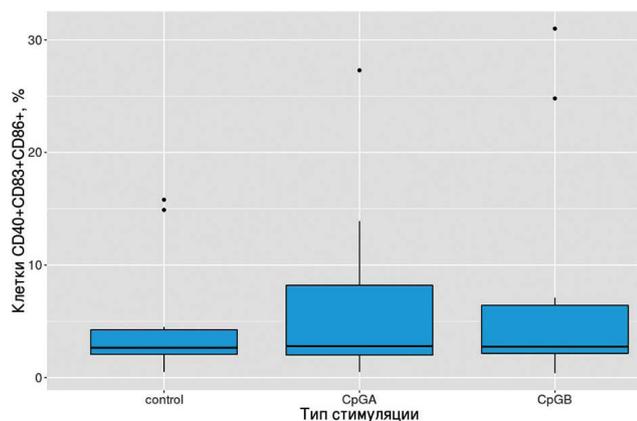


Рис. 2. Уровень зрелых дендритных клеток с фенотипом $CD40^+CD83^+CD86^+$ у больных ХОБЛ без частых обострений: границы ящиков – Q25; Q75; линия в ящике – Me; границы усов охватывают промежуток в полтора интерквартильных размаха; точками обозначены выбросы

При анализе изолированной экспрессии изучаемых маркеров на поверхности дендритных клеток ($CD40$, $CD83$, $CD86$) не обнаружено статистически значимых различий у больных ХОБЛ с частыми и редкими обострениями вне зависимости от стимуляции.

Антиген-презентирующие свойства полученных ДК оценивали по их способности к изменению иммунофенотипического профиля $CD4^+$ -лимфоцитов при сокультивировании данных популяций клеток. С этой целью у лимфоцитарной фракции определяли экспрессию поверхностных маркеров $CD4$, $CD25$, $CD127$ и $CD45RO$. Анализ экспрессии изучаемых маркеров позволил сделать вывод об экспрессии на поверхности лимфоцитов рецептора к $IL-2$ ($CD25$) и альфа-цепи $IL-7$ ($CD127$), маркера клеток памяти ($CD45RO$), а по их совокупности выделить субпопуляции Т-регуляторных клеток ($CD4^+CD25^+CD127^-$) и Т-регуляторных клеток памяти ($CD4^+CD25^+CD127^-CD45RO^+$). В ходе исследования выявлено наличие межгрупповых статистически значимых различий по всем изучаемым параметрам, а также внутригрупповые различия по содержанию CD-маркеров на поверхности лимфоцитов, сокультивированных с ДК, стимулированных и нестимулированных CpG-ODN классов А или В *in vitro*.

Сокультивирование стимулированных CpG-ODN класса А дендритных клеток с Т-клетками больных ХОБЛ без частых обострений приводит к увеличению содержания лимфоцитов с фенотипом $CD25^+CD45RO^-$ (несущих рецептор к $IL-2$ ($CD25^+$) в отсутствие экспрессии на поверхности клеток маркера памяти – $CD45RO$) – 3,4% [2,4; 5,9] до стимуляции и 3,9% [2,7; 6,2] после ($p = 0,018$) (рис. 3). У больных ХОБЛ с частыми обострениями такой тенденции не наблюдали: клетки с иммунофенотипом $CD25^+CD45RO^-$ составляли 4,0% [1,7; 4,6] до и 4,1% [2,2; 4,2] от общей популяции после стимуляции CpG-ODN класса А (рис. 4). В ответ на стимуляцию CpG-ODN класса В у больных ХОБЛ без частых обострений отмечена тенденция к увеличению $CD25^+CD45RO^-$ пула Т-лимфоцитов с 3,4% [2,4; 5,9] до 4,3% [2,5; 6,1]. Однако ввиду значительной вариабельности фенотипического профиля клеток у пациентов данной группы полученные изменения не имели статистической значимости (см. рис. 3).

Известно, что $IL-2$ играет ключевую роль в поддержании воспаления при ХОБЛ [17, 18], в связи с этим полученные результаты могут свидетельствовать о дискоординации иммунного ответа при развитии хронической обструктивной болезни легких, проявляющейся в недостаточном

ограничении каскада персистирующего воспаления с привлечением Т-регуляторных клеток. Тем не менее необходимо отметить отсутствие достоверных различий в содержании Т-регуляторных клеток у больных исследуемых групп вне зависимости от типа стимуляции.

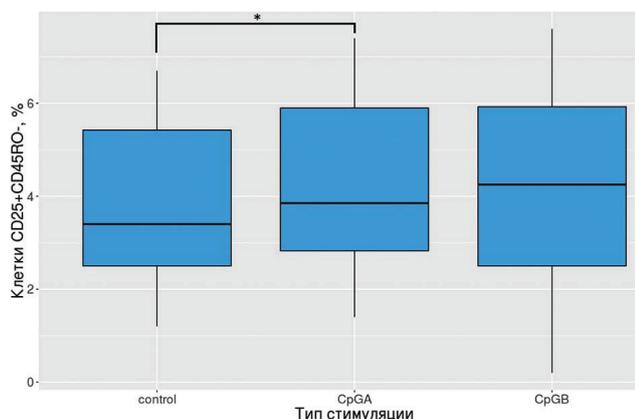


Рис. 3. Уровень лимфоцитов с фенотипом $CD25^+CD45RO^-$ у больных ХОБЛ без частых обострений: : границы ящиков – Q25; Q75; линия в ящике – Me; границы усов охватывают промежуток в полтора интерквартильных размаха. * $p = 0,018$

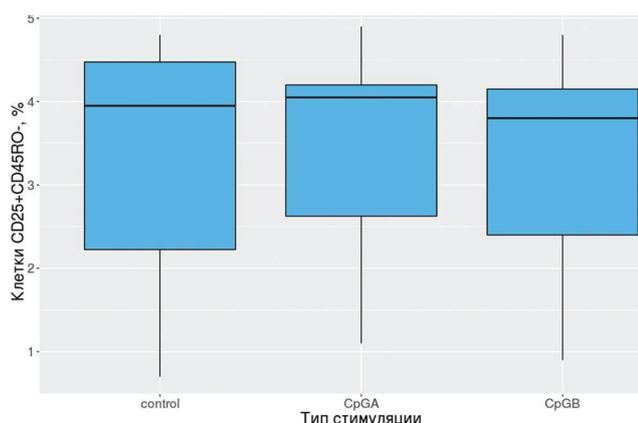


Рис. 4. Уровень лимфоцитов с фенотипом $CD25^+CD45RO^-$ у больных ХОБЛ с частыми обострениями: границы ящиков – Q25; Q75; линия в ящике – Me; границы усов охватывают промежуток в полтора интерквартильных размаха

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение созревания ДК при стимуляции микробными антигенами *in vitro* может приводить к недостаточному ответу на контаминацию бактериями и, как следствие, неполноценной элиминации инфекции, что является важным звеном иммунопатологии при ХОБЛ и, вероятно, бактериального колонизирования дыхательных путей. Данные в отношении количества и функциональных особенностей ДК нижних дыхательных путей больных ХОБЛ в сравнении со

здоровыми остаются противоречивыми [19]. Так, М. Tsoumakidou и соавт. продемонстрировали снижение содержания зрелых $CD83^+$ ДК в мокроте пациентов со стабильной ХОБЛ в сравнении с никогда не курившими здоровыми и курильщиками с нормальной функцией легких после прекращения курения [20]. При помощи электронной микроскопии установлено снижение ДК в эпителии и субэпителии бронхов у курильщиков с ХОБЛ по сравнению с бывшими курильщиками с ХОБЛ и здоровыми [21]. Однако А. Zanini и коллеги установили более высокий уровень зрелых $CD83^+$ ДК в слизистой бронхов по сравнению с некурящими субъектами [22]. Результаты исследования С.М. Freeman и соавт. демонстрируют увеличение содержания зрелых легочных дендритных клеток с фенотипом $CD40^+CD83^+CD86^+$ с увеличением степени тяжести у пациентов с ХОБЛ [23].

Миелоидные ДК бронхоальвеолярного лаважа курящих со стабильной ХОБЛ имеют повышенную экспрессию рецепторов для распознавания антигена, таких как CD1c или Langerin, но пониженную экспрессию CD83 по сравнению с никогда не курившими здоровыми [24]. Хемокиновый рецептор CCR5 на миелоидных ДК, который важен для поглощения и процессинга микробных антигенов, сильно редуцирован у всех пациентов со стабильной ХОБЛ независимо от статуса курения [24]. Напротив, в недавнем исследовании обнаружено уменьшение числа ДК $CD83^+$ и $CCR7^+$ и увеличение числа ДК $CD1a^+$ в малых дыхательных путях у пациентов со стабильной ХОБЛ по сравнению с курильщиками с нормальной функцией легких [25]. В других исследованиях не показано увеличения ДК $CD1a^+$ [26], а, напротив, продемонстрировано увеличение общего числа $CD83^+$ ДК в периферическом легком у пациентов со стабильной ХОБЛ по сравнению с курильщиками с нормальной функцией легких [27]. В целом, вероятно, сигаретный дым может стимулировать иммунные реакции, нарушая созревание ДК дыхательных путей и уменьшая миграционный потенциал незрелых ДК [25].

Таким образом, ряд авторов считает, что у пациентов с ХОБЛ нарушение процессов созревания ДК, в том числе опосредованное курением, приводит к нарушению представления антигена и дискоординации Т-клеточного ответа [24, 25, 28]. А одним из факторов риска частых обострений ХОБЛ считают дефицит выработки антител [29].

Полученное в рамках эксперимента увеличение содержания дендритных клеток с фенотипом

CD4⁺CD83⁺CD86⁺ в ответ на стимуляцию бактериальным антигеном может свидетельствовать об активации Т-клеточного звена иммунного ответа под воздействием микробных агентов у больных ХОБЛ с частыми обострениями, так как именно зрелые ДК способны влиять на дифференцировку CD4⁺-лимфоцитов. В то же время отсутствие статистических изменений в уровне зрелых ДК CD83⁺ *in vitro* в ответ на стимуляцию бактериальными антигенами у пациентов с ХОБЛ без обострений согласуется с мировыми данными и свидетельствует о нарушениях антигенпредставляющей функции ДК. Различия в способности к созреванию ДК у больных ХОБЛ с частыми и редкими обострениями могут быть обусловлены качественным и количественным составом бактерий дыхательных путей.

Дефицит регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺FOXP3 может нарушать устойчивость иммунной системы к аутоантигенам и тем самым приводить к аутоиммунным болезням [30, 31]. Т-регуляторные клетки составляют 1–3% от общего количества Т-клеток CD4⁺ и накапливаются в тканевых участках антигенной инвазии, где они оказывают местно-локализованное подавление иммунитета, продуцируя IL-10 и трансформирующий фактор роста TGF-β1. У пациентов со стабильной ХОБЛ зарегистрировано снижение количества в крови CD25⁺⁺CD45RA⁺-покоящихся и CD25⁺⁺⁺CD45RA-активированных Т-регуляторных клеток, которые являются супрессивными, и значительное увеличение числа CD25⁺⁺CD45RA-цитокин-секретирующих Т-регуляторных клеток в сравнении с контрольной группой курильщиков с нормальной функцией легких [32].

К тому же Т-регуляторные клетки от пациентов со стабильной ХОБЛ подавляют пролиферацию Т-клеток в большей степени, чем Т-регуляторные клетки здоровых субъектов, способствуя нарушению эффекторной функции Т-клеток при ХОБЛ [33]. Уровни мРНК FOXP3 в мокроте у пациентов со стабильной ХОБЛ снижаются по сравнению со здоровыми курильщиками с нормальной функцией легких [34], а число Т-регуляторных клеток бронхо-альвеолярного лаважа больных стабильной ХОБЛ ниже в сравнении со здоровыми курильщиками с нормальной функцией легких [35].

В литературе встречаются неоднозначные данные об уровне Т-регуляторных клеток в ткани легкого при ХОБЛ. Число CD4⁺CD25⁺FOXP3 Т-регуляторных клеток в бронхиальных биопсиях [36] или ткани легкого [37] пациентов со стабильной ХОБЛ существенно не отличается от

здоровых, но уменьшается в мелких дыхательных путях пациентов с ХОБЛ, что отрицательно коррелирует со степенью обструкции дыхательных путей [38]. Другое исследование также продемонстрировало уменьшение числа Т-регуляторных клеток в легочной ткани у пациентов с эмфиземой, которые, в свою очередь, коррелировали с экспрессией FOXP3 mRNA [39]. При ХОБЛ недостаточный контроль иммунного ответа может приводить к персистирующему воспалению в дыхательных путях и способствовать развитию частых обострений. В данном исследовании выявлено, что в ответ на стимуляцию микробным антигеном у пациентов с редкими обострениями ХОБЛ наблюдается увеличение количества лимфоцитов с фенотипом CD25⁺CD45RO⁻ в отличие от группы пациентов с частыми обострениями ХОБЛ ($p = 0,018$). Это может свидетельствовать о недостаточном контроле над персистирующим воспалением, опосредованным CD25⁺CD45RO⁻ пулом клеток, в группе больных ХОБЛ с частыми обострениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно сделать вывод о том, что CpG-ODN, в особенности класса А, способны модулировать фенотипический профиль и функциональную активность дендритных клеток, оказывая влияние на их созревание и активацию Т-клеточного звена у больных ХОБЛ. Результаты проведенного исследования позволяют сформулировать гипотезу, объясняющую повышенную восприимчивость к бактериальным инфекциям у больных ХОБЛ, особенно в группе лиц с частыми обострениями. Между тем механизмы наблюдаемых изменений нуждаются в дальнейшем изучении.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ мол-а, договор № 26 16-34-00418/16.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все участники исследования подписывали информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (выписка № 4640 от 24.02.2016).

ЛИТЕРАТУРА

1. Lopez A.D., Shibuya K., Rao C., Mathers C.D., Hansell A.L., Held L.S., Schmid V., Buist S. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections // *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 397–412.
2. Mathers C.D., Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 // *PLoS Med.* 2006; 3: e442.
3. Hurst J.R., Vestbo J., Anzueto A., Locantore N., Müllerova H., Tal-Singer R., Miller B., Lomas D.A., Agusti A., Macnee W., Calverley P., Rennard S., Wouters E.F., Wedzicha J.A.; Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) Investigators. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease // *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 1128–1138.
4. Celli B.R., Thomas N.E., Anderson J.A., Ferguson G.T., Jenkins C.R., Jones P.W., Vestbo J., Knobil K., Yates J.C., Calverley P.M. Effect of pharmacotherapy on rate of decline of lung function in chronic obstructive pulmonary disease: results from the TORCH study // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 178: 332–338.
5. Spencer S., Calverley P.M., Burge P.S., Jones P.W. Impact of preventing exacerbations on deterioration of health status in COPD // *Eur. Respir. J.* 2004; 23: 698–702.
6. Hilty M., Burke C., Pedro H., Cardenas P., Bush A., Bossley C., Davies J., Ervine A., Poulter L., Pachter L., Moffatt M.F., Cookson W.O. Disordered microbial communities in asthmatic airways // *PLoS One.* 2010; 5, 5(1): e8578.
7. Dy R., Sethi S. The lung microbiome and exacerbations of COPD // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2016; 22 (3): 196–202.
8. Millares L., Pérez-Brocal V., Ferrari R., Gallego M., Pomares X., Garcna-Núñez M., Montyn C., Capilla S., Monsy E., Moya A. Functional Metagenomics of the Bronchial Microbiome in COPD // *PLoS One.* 2015; 3, 10 (12): e0144448.
9. Häcker G., Redecke V., Häcker H. Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA // *Immunology.* 2002. 105 (3): 245–251.
10. van Pottelberge G.R., Bracke K.R., Joos G.F., Brusselle G.G. The role of dendritic cells in the pathogenesis of COPD: liaison officers in the front line // *COPD.* 2009; Aug., 6 (4): 284–290.
11. Agrawal D.K., Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010; 10: 39–48.
12. Idoyaga J. and Steinman R.M. Snapshot: Dendritic cells // *Cell.* 2011; 146: 660–660.
13. Roos-Engstrand E., Ekstrand-Hammarström B., Pourazar J., Behndig A.F., Bucht A., Blomberg A. Influence of smoking cessation on airway T-lymphocyte subsets in COPD // *COPD.* 2009; 6 (2): 112–120.
14. Кириллова Н.А. Роль Т-регуляторных клеток при хронической обструктивной болезни легких: дис. ... канд. мед. наук. Сибирский государственный медицинский университет. Томск, 2011.
15. Shaykhiev R., Crystal R.G. Innate immunity and chronic obstructive pulmonary disease: a mini-review // *Gerontology.* 2013; 59 (6): 481–489.
16. Mat Z., Grensemann B., Yakin Y., Knobloch J., Koch A. Effect of lipoteichoic acid on IL-2 and IL-5 release from T lymphocytes in asthma and COPD // *Int. Immunopharmacol.* 2012; 13 (3): 284–291.
17. R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>
18. Knobloch J., Chikosi S.J., Yanik S., Rupp J., Jungck D., Koch A. A systemic defect in Toll-like receptor 4 signaling increases lipopolysaccharide-induced suppression of IL-2-dependent T-cell proliferation in COPD // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2016; 310 (1): 24–39.
19. Brusselle G.G., Joos G.F., Bracke K.R. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease // *Lancet.* 2011; 378: 1015–1026.
20. Tsoumakidou M., Bouloukaki I., Koutala H., Kouvidi K., Mitrouska I., Zakyntinos S., Tzanakis N., Jeffery P.K., Siafakas N.M. Decreased sputum mature dendritic cells in healthy smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009; 150: 389–397.
21. Rogers A.V., Adelroth E., Hattotuwa K., Dewar A., Jeffery P.K. Bronchial mucosal dendritic cells in smoker sandex – smoker with COPD: an electron microscopic study // *Thorax.* 2008; 63: 108–114.
22. Zanini A., Spanevello A., Baraldo S., Majori M., Della Patrona S., Gumiero F., Aiello M., Olivieri D., Saetta M., Chetta A. Decreased maturation of dendritic cells in the central airways of COPD patients is associated with VEGF, TGF- β and vascularity // *Respiration.* 2014; 87: 234–242.
23. Freeman C.M., Martinez F.J., Han M.K., Ames T.M., Chensue S.W., Todt J.C., Arenberg D.A., Meldrum C.A., Getty C., McCloskey L., Curtis J.L. Lung dendritic cell expression of maturation molecules increases with worsening chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; Dec. 15, 180 (12): 1179–1188.
24. Stoll P., Heinz A.S., Bratke K., Bier A., Garbe K., Kuepper M., Virchow J.C., Lommatzsch M. Impact of smoking on dendritic cell phenotypes in the airway lumen of patients with COPD // *Respir Res.* 2014; 15: 48.
25. Liao S.X., Ding T., Rao X.M., Sun D.S., Sun P.P., Wang Y.J., Fu D.D., Liu X.L., Ou-Yang Y. Cigarette smoke affects dendritic cell maturation in the small airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Mol. Med. Rep.* 2015; 11: 219–225.
26. Demedts I.K., Bracke K.R., Van Pottelberge G., Testelmans D., Verleden G.M., Vermassen F.E., Joos G.F., Brusselle G.G. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 998–1005.
27. Vassallo R., Walters P.R., Lamont J., Kottom T.J., Yi E.S., Limper A.H. Cigarette smoke promotes dendritic cell accumulation in COPD; a lung tissue research consortium study // *Respir Res.* 2010; 11: 45–57.

28. Le Rouzic O., Koné B., Kluza J., Marchetti P., Hennegrave F., Olivier C., Kervoaze G., Vilain E., Mordacq C., Just N., Perez T., Bautin N., Pichavant M., Gosset P. Cigarette smoke alters the ability of human dendritic cells to promote anti-*Streptococcus pneumoniae* Th17 response // *Respir Res.* 2016; 17 (1): 94.
29. McCullagh B.N., Comellas A.P., Ballas Z.K., Newell J.D. Jr., Zimmerman M.B., Azar A.E. Antibody deficiency in patients with frequent exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) // *PLoS One.* 2017; 12 (2): e0172437.
30. Bhat T.A., Panzica L., Kalathil S.G., Thanavala Y. Immune dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015; 12 (Suppl 2): S169–S175.
31. Cosio M.G., Saetta M., Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease // *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 2445–2454.
32. Hou J., Sun Y., Hao Y., Zhuo J., Liu X., Bai P., Han J., Zheng X., Zeng H. Imbalance between subpopulations of regulatory T-cells in COPD // *Thorax.* 2013; 68: 1131–1139.
33. Kalathil S.G., Lugade A.A., Pradhan V., Miller A., Parameswaran G.I., Sethi S., Thanavala Y. T-regulatory cells and programmed death 1+ T-cells contribute to effector T-cell dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 190: 40–50.
34. Li H., Liu Q., Jiang Y., Zhang Y., Zhang Y., Xiao W. Disruption of th17/treg balance in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Med. Sci.* 2015. 349: 392–397.
35. Barcelly B., Pons J., Ferrer J.M., Sauleda J., Fuster A., Agustn A.G. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4+CD25+ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking // *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 555–562.
36. Cappello F., Caramori G., Campanella C., Vicari C., Gnemmi I., Zanini A., Spanevello A., Capelli A., La Rocca G., Anzalone R., Bucchieri F., D'Anna S.E., Ricciardolo F.L., Brun P., Balbi B., Carone M., Zummo G., Conway de Macario E., Macario A.J., Di Stefano A. Convergentsets of data from in vivo and in vitro methods point to an active role of Hsp 60 in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis // *PLoS One.* 2011; 6: e28200.
37. Pridgeon C., Bugeon L., Donnelly L., Straschil U., Tudhope S.J., Fenwick P., Lamb J.R., Barnes P.J., Dallman M.J. Regulation of IL-17 in chronic inflammation in the human lung // *Clin. Sci. (Lond).* 2011; 120: 515–524.
38. Isajevs S., Taivans I., Strazda G., Kopeika U., Bukovskis M., Gordjusina V., Kratovska A. Decreased FOXP3 expression in small airways of smokers with COPD // *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 61–67.
39. Lee S.H., Goswami S., Grudo A., Song L.Z., Bandi V., Goodnight White S., Green L., Hacken-Bitar J., Huh J., Bakaeen F., Coxson H.O., Cogswell S., Storness-Bliss C., Corry D.B., Kheradmand F. Antiastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema // *Nat. Med.* 2007; 13: 567–569.

Поступила в редакцию 31.03.2017

Утверждена к печати 10.05.2017

Кириллова Наталья Александровна, канд. мед. наук, ассистент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск.

Невская Ксения Владимировна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Петров Вячеслав Алексеевич, мл. науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Дорофеева Юлия Борисовна, мл. науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Федосенко Сергей Вячеславович, д-р мед. наук, ассистент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск.

Куликов Евгений Сергеевич, д-р мед. наук, начальник научного управления, доцент кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск.

✉ Кириллова Наталья Александровна, e-mail: kirillova.natalya@gmail.com.

УДК 616.23/.24-002.2-097:577.27

DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-125-135

For citation: Kirillova N.A., Nevskaya K.V., Petrov V.A., Dorofeeva J.B., Fedosenko S.V., Kulikov E.S. The role of the microbiota components in modification of the immune response in some cases of chronic obstructive pulmonary disease. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (2): 125–135

The role of the microbiota components in modification of the immune response in some cases of chronic obstructive pulmonary disease

Kirillova N.A., Nevskaya K.V., Petrov V.A., Dorofeeva J.B., Fedosenko S.V., Kulikov E.S.

Siberian State Medical University

2, Moskow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Background. According to the World Health Organization, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the leading causes of morbidity and mortality in the world. COPD with frequent exacerbations is a most challenging variant of the disease. Currently it is not clear how respiratory microbiota can modify the immune response in this disease.

Aim. To establish the role of bacterial oligonucleotides in modification of the immune response in patients with COPD.

Materials and methods. In accordance with the protocol of the study, 10 patients with stable COPD with frequent exacerbations and 10 patients without frequent exacerbations were included. Immature dendritic cells were obtained by culturing the monocyte fraction of the peripheral blood of patients with COPD. The cells were stimulated by addition of bacterial lipopolysaccharide and small oligodeoxynucleotides (CpG-ODN) of A or B classes. Then the immunophenotypical profile of the obtained cells was determined by flow-cytometry with the use of monoclonal antibodies to antigens CD40, CD83, CD86. To determine the antigen-presenting properties, these dendritic cells were cultivated with CD4+, and then the phenotypic profile of the obtained T-lymphocytes was evaluated by using antibodies to CD4, CD25, CD127, and CD45RO.

Results. Cultivation of stimulated dendritic cells by CpG-ODN of A class with T-cells in COPD patients without exacerbations leads to an increase of the amount of lymphocytes of CD25+CD45RO phenotype (15% increase after stimulation), in contrast to the group of patients with frequent exacerbations of COPD ($p = 0,018$). It may indicate inadequate control of persistent inflammation, mediated by CD25+CD45RO pool of cells in the group of COPD patients with frequent exacerbations.

Conclusion. This study demonstrated the presence of discoordination of the immune response of a bi-directional nature in patients with COPD with frequent and infrequent exacerbations.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, COPD, exacerbation, CpG-ODN, dendritic cells.

REFERENCES

- Lopez A.D., Shibuya K., Rao C., Mathers C.D., Hansell A.L., Held L.S., Schmid V., Buist S. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections // *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 397–412.
- Mathers C.D., Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 // *PLoS Med.* 2006; 3: e442.
- Hurst J.R., Vestbo J., Anzueto A., Locantore N., Müllerova H., Tal-Singer R., Miller B., Lomas D.A., Agustí A., Macnee W., Calverley P., Rennard S., Wouters E.F., Wedzicha J.A.; Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) Investigators. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease // *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 1128–1138.
- Celli B.R., Thomas N.E., Anderson J.A., Ferguson G.T., Jenkins C.R., Jones P.W., Vestbo J., Knobil K., Yates J.C., Calverley P.M. Effect of pharmacotherapy on rate of decline of lung function in chronic obstructive pulmonary disease: results from the TORCH study // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2008; 178: 332–338.
- Spencer S., Calverley P.M., Burge P.S., Jones P.W. Impact of preventing exacerbations on deterioration of health status in COPD // *Eur. Respir. J.* 2004; 23: 698–702.
- Hilty M., Burke C., Pedro H., Cardenas P., Bush A., Bossley C., Davies J., Ervine A., Poulter L., Pachter L., Moffatt M.F., Cookson W.O. Disordered microbial communities in asthmatic airways // *PLoS One.* 2010; 5, 5(1): e8578.
- Dy R., Sethi S. The lung microbiome and exacerbations of COPD // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2016; 22 (3): 196–202.
- Millares L., Pérez-Brocal V., Ferrari R., Gallego M., Pomares X., Garcia-Núñez M., Montyn C., Capilla S., Monsy E., Moya A. Functional Metagenomics of the Bronchial Microbiome in COPD // *PLoS One.* 2015; 3, 10 (12): e0144448.
- Häcker G., Redecke V., Häcker H. Activation of the immune system by bacterial CpG-DNA // *Immunology.* 2002. 105 (3): 245–251.
- Van Pottelberge G.R., Bracke K.R., Joos G.F., Brusselle G.G. The role of dendritic cells in the pathogenesis of COPD: liaison officers in the front line // *COPD.* 2009; Aug., 6 (4): 284–290.
- Agrawal D.K., Shao Z. Pathogenesis of allergic airway inflammation // *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010; 10: 39–48.
- Idoyaga J. and Steinman R.M. Snapshot: Dendritic cells // *Cell.* 2011; 146: 660–660.
- Roos-Engstrand E., Ekstrand-Hammarström B., Pourazar J., Behndig A.F., Bucht A., Blomberg A. Influence of smoking cessation on airway T-lymphocyte subsets in COPD // *COPD.* 2009; 6 (2): 112–120.
- Kirillova N.A. The role of T-regulatory adhesives in chronic obstructive pulmonary disease: dissertation for

- the degree of candidate of medical sciences. Siberian State Medical University. Tomsk, 2011 (in Russian).
15. Shaykhiev R., Crystal R.G. Innate immunity and chronic obstructive pulmonary disease: a mini-review // *Gerontology*. 2013; 59 (6): 481–489.
 16. Mat Z., Grensemann B., Yakin Y., Knobloch J., Koch A. Effect of lipoteichoic acid on IL-2 and IL-5 release from T lymphocytes in asthma and COPD // *Int. Immunopharmacol.* 2012; 13 (3): 284–291.
 17. R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>
 18. Knobloch J., Chikosi S.J., Yanik S., Rupp J., Jungck D., Koch A. A systemic defect in Toll-like receptor 4 signaling increases lipopolysaccharide-induced suppression of IL-2-dependent T-cell proliferation in COPD // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2016; 310 (1): 24–39.
 19. Brusselle G.G., Joos G.F., Bracke K.R. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease // *Lancet*. 2011; 378: 1015–1026.
 20. Tsoumakidou M., Bouloukaki I., Koutala H., Kouvidi K., Mitrouska I., Zakynthinos S., Tzanakis N., Jeffery P.K., Siafakas N.M. Decreased sputum mature dendritic cells in healthy smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009; 150: 389–397.
 21. Rogers A.V., Adelroth E., Hattotuwa K., Dewar A., Jeffery P.K. Bronchial mucosal dendritic cells in smoker sandex – smoker with COPD: an electron microscopic study // *Thorax*. 2008; 63: 108–114.
 22. Zanini A., Spanevello A., Baraldo S., Majori M., Della Patrona S., Gumiero F., Aiello M., Olivieri D., Sietta M., Chetta A. Decreased maturation of dendritic cells in the central airways of COPD patients is associated with VEGF, TGF- β and vascularity // *Respiration*. 2014; 87: 234–242.
 23. Freeman C.M., Martinez F.J., Han M.K., Ames T.M., Chensue S.W., Todt J.C., Arenberg D.A., Meldrum C.A., Getty C., McCloskey L., Curtis J.L. Lung dendritic cell expression of maturation molecules increases with worsening chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; Dec. 15, 180 (12): 1179–1188.
 24. Stoll P., Heinz A.S., Bratke K., Bier A., Garbe K., Kuepper M., Virchow J.C., Lommatzsch M. Impact of smoking on dendritic cell phenotypes in the airway lumen of patients with COPD // *Respir Res.* 2014; 15: 48.
 25. Liao S.X., Ding T., Rao X.M., Sun D.S., Sun P.P., Wang Y.J., Fu D.D., Liu X.L., Ou-Yang Y. Cigarette smoke affects dendritic cell maturation in the small airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Mol. Med. Rep.* 2015; 11: 219–225.
 26. Demedts I.K., Bracke K.R., Van Pottelberge G., Testelmans D., Verleden G.M., Vermassen F.E., Joos G.F., Brusselle G.G. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 998–1005.
 27. Vassallo R., Walters P.R., Lamont J., Kottom T.J., Yi E.S., Limper A.H. Cigarette smoke promotes dendritic cell accumulation in COPD; a lung tissue research consortium study // *Respir Res.* 2010; 11: 45–57.
 28. Le Rouzic O., Koné B., Kluza J., Marchetti P., Hennegrave F., Olivier C., Kervoaze G., Vilain E., Mordacq C., Just N., Perez T., Bautin N., Pichavant M., Gosset P. Cigarette smoke alters the ability of human dendritic cells to promote anti-*Streptococcus pneumoniae* Th17 response // *Respir Res.* 2016; 17 (1): 94.
 29. McCullagh B.N., Comellas A.P., Ballas Z.K., Newell J.D. Jr., Zimmerman M.B., Azar A.E. Antibody deficiency in patients with frequent exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) // *PLoS One*. 2017; 12 (2): e0172437.
 30. Bhat T.A., Panzica L., Kalathil S.G., Thanavala Y. Immune dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015; 12 (Suppl 2): S169–S175.
 31. Cosio M.G., Sietta M., Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease // *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 2445–2454.
 32. Hou J., Sun Y., Hao Y., Zhuo J., Liu X., Bai P., Han J., Zheng X., Zeng H. Imbalance between subpopulations of regulatory T-cells in COPD // *Thorax*. 2013; 68: 1131–1139.
 33. Kalathil S.G., Lugade A.A., Pradhan V., Miller A., Parameswaran G.L., Sethi S., Thanavala Y. T-regulatory cells and programmed death 1+ T-cells contribute to effector T-cell dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 190: 40–50.
 34. Li H., Liu Q., Jiang Y., Zhang Y., Zhang Y., Xiao W. Disruption of th17/treg balance in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Med. Sci.* 2015. 349: 392–397.
 35. Barcelly B., Pons J., Ferrer J.M., Sauleda J., Fuster A., Agustn A.G. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4+CD25+ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking // *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 555–562.
 36. Cappello F., Caramori G., Campanella C., Vicari C., Gnemmi I., Zanini A., Spanevello A., Capelli A., La Rocca G., Anzalone R., Bucchieri F., D'Anna S.E., Ricciardolo F.L., Brun P., Balbi B., Carone M., Zummo G., Conway de Macario E., Macario A.J., Di Stefano A. Convergent sets of data from in vivo and in vitro methods point to an active role of Hsp 60 in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis // *PLoS One*. 2011; 6: e28200.
 37. Pridgeon C., Bugeon L., Donnelly L., Straschil U., Tudhope S.J., Fenwick P., Lamb J.R., Barnes P.J., Dallman M.J. Regulation of IL-17 in chronic inflammation in the human lung // *Clin. Sci. (Lond)*. 2011; 120: 515–524.

38. Isajevs S., Taivans I., Strazda G., Kopeika U., Bukovskis M., Gordjusina V., Kratovska A. Decreased FOXP3 expression in small airways of smokers with COPD // *Eu.r Respir J.* 2009; 33: 61–67.
39. Lee S.H., Goswami S., Grudo A., Song L.Z., Bandi V., Goodnight White S., Green L., Hacken-Bitar J., Huh J., Bakaeeen F., Coxson H.O., Cogswell S., Storness-Bliss C., Corry D.B., Kheradmand F. Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema // *Nat. Med.* 2007; 13: 567–569.

Received March 31.2017

Accepted May 10.2017

Kirillova Natalia A., PhD, Assistant, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Nevskaya Ksenia V., PhD, Junior Researcher, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Petrov Vyacheslav A., Junior Researcher, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Dorofeeva Julia B., Junior Researcher, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Fedosenko Sergey V., DM, Assistant, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Kulikov Evgeny S., DM, Head of Scientific Department, Associate Professor, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Kirillova Natalia A.**, e-mail: kirillova.natalya@gmail.com.