

СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ В ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ, ТИМУСНОЙ И ПОДКОЖНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ВЫРАЖЕННОМ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Кологривова И.В.¹, Дмитриуков А.А.¹, Нарыжная Н.В.¹,
Кошельская О.А.¹, Харитоновна О.А.¹, Выросткова А.И.¹,
Евтушенко В.В.¹, Крапивина А.С.¹, Рябченко П.Е.², Сулова Т.Е.¹

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Резюме. Обсуждается важная роль эпикардиальной (ЭЖТ) и тимусной (ТЖТ) жировой ткани в развитии атеросклероза у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Целью данной работы стало исследование субпопуляций лимфоцитов и свойств FoxP3⁺Treg-лимфоцитов в эпикардиальной, тимусной и подкожной жировой ткани в зависимости от выраженности коронарного атеросклероза у пациентов с хронической ИБС. Обследовано 24 пациента с ИБС (21 мужчина; средний возраст 65,0 (58,0-68,0) лет), имеющих показания для проведения хирургической операции на открытом сердце. В образцах ЭЖТ, ТЖТ и подкожной жировой ткани (ПЖТ) методом проточной цитометрии с визуализацией определяли содержание CD4⁺, CD8⁺, В-лимфоцитов, NK- и NKT-клеток, а также оценивали долю CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{low}FoxP3⁺T-регуляторных лимфоцитов (Treg) и долю Treg с транслокацией FoxP3 в ядро. В зависимости от выраженности атеросклероза, оцененной по данным селективной ангиографии и расчетному индексу Gensini Score, пациенты были разделены на две группы: группа 1 – пациенты с Gensini Score < 65 баллов; группа 2 – пациенты с Gensini Score ≥ 65 баллов (наиболее выраженный и распространенный коронарный атеросклероз). В ЭЖТ для пациентов группы 2 было характерно большее относительное содержание CD4⁺CD25^{low}Treg-клеток с внутриядерной транслокацией FoxP3, а в ТЖТ – большее содержание CD8⁺T-лимфоцитов и NK-клеток и меньшее – двойных позитивных CD4⁺CD8⁺T-лимфоцитов. Также в ТЖТ выявлена тенденция к снижению отно-

Адрес для переписки:

Кологривова Ирина Вячеславовна
Научно-исследовательский институт кардиологии
634012, Россия, г. Томск, ул. Киевская, 111а.
Тел.: 8 (913) 105-38-69.
E-mail: ikologrivova@gmail.com

Address for correspondence:

Irina V. Kologrivova
Cardiology Research Institute
111a Kievskaya St
Tomsk
634012 Russian Federation
Phone: +7 (913) 105-38-69.
E-mail: ikologrivova@gmail.com

Образец цитирования:

И.В. Кологривова, А.А. Дмитриуков, Н.В. Нарыжная, О.А. Кошельская, О.А. Харитоновна, А.И. Выросткова, В.В. Евтушенко, А.С. Крапивина, П.Е. Рябченко, Т.Е. Сулова «Субпопуляции лимфоцитов в эпикардиальной, тимусной и подкожной жировой ткани при выраженном коронарном атеросклерозе у пациентов с ишемической болезнью сердца» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 2. С. 243-252.
doi: 10.46235/1028-7221-16594-LSI

© Кологривова И.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

I.V. Kologrivova, A.A. Dmitriukov, N.V. Naryzhnaya, O.A. Koshelskaya, O.A. Kharitonova, A.I. Vyrostkova, V.V. Evtushenko, A.S. Krapivina, P.E. Riabchenko, T.E. Suslova "Lymphocyte subsets in epicardial, thymic and subcutaneous adipose tissue during advanced coronary atherosclerosis in patients with coronary artery disease", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 2, pp. 243-252.
doi: 10.46235/1028-7221-16594-LSI

© Kologrivova I.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16594-LSI

сительного содержания CD4⁺CD25^{hi}Treg-клеток с внутриядерной транслокацией FoxP3 по сравнению с пациентами группы 1. Уровень ядерной транслокации FoxP3 в CD4⁺CD25^{hi}Treg-клетках ТЖТ был обратно взаимосвязан с долей CD8⁺T-лимфоцитов ($r_s = -0,653$; $p = 0,012$) и NK-клеток ($r_s = -0,723$; $p = 0,003$) в ТЖТ, и прямо – с долей двойных позитивных CD4⁺CD8⁺T-лимфоцитов в ТЖТ ($r_s = 0,567$; $p = 0,034$) и значением отношения окружности талии к окружности бедер ($r_s = -0,474$; $p = 0,041$). Требуется проведение дальнейших исследований для изучения молекулярных механизмов реализации данных взаимосвязей у пациентов с коронарным атеросклерозом и хронической ИБС.

Ключевые слова: FoxP3⁺T-регуляторные лимфоциты, субпопуляции лимфоцитов, NK-клетки, атеросклероз, эпикардальная жировая ткань, тимус

LYMPHOCYTE SUBSETS IN EPICARDIAL, THYMIC AND SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE DURING ADVANCED CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Kologrivova I.V.^a, Dmitriukov A.A.^a, Naryzhnaya N.V.^a,
Koshelskaya O.A.^a, Kharitonova O.A.^a, Vyrostkova A.I.^a,
Evtushenko V.V.^a, Krapivina A.S.^a, Riabchenko P.E.^b, Suslova T.E.^a

^a Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

^b Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Abstract. The important role of epicardial (EAT) and thymic (TAT) adipose tissue in the development of atherosclerosis in patients with coronary artery disease (CAD) is widely discussed. The purpose of the study was to investigate the lymphocyte subsets and FoxP3⁺Treg lymphocytes in epicardial, thymic and subcutaneous adipose tissue depending on the severity of coronary atherosclerosis in patients with chronic CAD. We examined 24 patients with CAD (21 men; mean age 65.0 (58.0–68.0) years) scheduled for open-heart surgery. In samples of EAT, TAT and subcutaneous adipose tissue (SAT), the content of CD4⁺, CD8⁺, B lymphocytes, NK and NKT cells, CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD4⁺CD25^{low}FoxP3⁺T regulatory lymphocytes (Treg) and a proportion of Tregs with FoxP3 nuclear translocation was determined by imaging flow cytometry. Depending on the severity of atherosclerosis, assessed according to Gensini Score, patients were divided into groups: group 1 – patients with Gensini Score < 65; group 2 – patients with Gensini Score ≥ 65. Patients in group 2 had higher frequency of EAT CD4⁺CD25^{low}Treg with FoxP3 nuclear translocation, TAT CD8⁺T lymphocytes and NK cells, a lower content of TAT double positive CD4⁺CD8⁺T lymphocytes, and a tendency towards a decrease of frequency of TAT CD4⁺CD25^{hi}Treg with FoxP3 nuclear translocation compared to patients in group 1. The level of nuclear translocation of FoxP3 in CD4⁺CD25^{hi}Treg cells in TAT was inversely related to the proportion of CD8⁺T lymphocytes ($r_s = -0.653$; $p = 0.012$) and NK cells ($r_s = -0.723$; $p = 0.003$) in TAT, and directly – to the proportion of double positive CD4⁺CD8⁺T lymphocytes in TAT ($r_s = 0.567$; $p = 0.034$) and the value of the waist-to-hip ratio ($r_s = -0.474$; $p = 0.041$). Further research is required to study the molecular mechanisms of these relationships in patients with coronary atherosclerosis and chronic coronary artery disease.

Keywords: FoxP3⁺T regulatory lymphocytes, lymphocyte subsets, NK cells, atherosclerosis, epicardial adipose tissue, thymus

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00010).

Введение

В настоящее время важная роль жировой ткани в регуляции метаболизма, процессов ре-

продукции, иммунорегуляции и увеличения риска сердечно-сосудистых заболеваний является общепризнанной. Кроме того, установлено, что свойства различных жировых депо различаются как по характеристикам адипоцитов, основных клеточных элементов жировой ткани, так и по составу клеток стромально-сосудистой фракции

жировой ткани, которые очень тесно взаимодействуют с адипоцитами [4].

Отличительной чертой висцеральной жировой ткани является значительная доля в ней FoxP3⁺T-регуляторных (Treg)-лимфоцитов, которые в норме могут составлять до 50% от всех CD4⁺T-лимфоцитов [15]. FoxP3 является основным транскрипционным фактором Treg, что подразумевает необходимость его транслокации в ядро для участия Treg-лимфоцитов в подавлении иммунного ответа и воспаления [10]. В последнее время обсуждается наличие субпопуляций Treg-лимфоцитов с высокой и низкой экспрессией молекулы CD25 (CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{low}FoxP3⁺Treg), которые, по-видимому, представляют собой клетки на различных стадиях зрелости. Причем увеличение доли клеток с низкой экспрессией CD25 оказалось характерным для пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями [2].

Следует признать, что для пациентов с сердечно-сосудистой патологией, в том числе атеросклеротической природы, важнейшую роль играет морфология и функциональная активность эпикардиальной жировой ткани (ЭЖТ) [3]. ЭЖТ непосредственно прилежит к ткани миокарда и имеет с ней общее кровоснабжение. Несмотря на то, что адипоциты ЭЖТ имеют морфологию, свойственную белой жировой ткани, они обладают рядом черт бурой жировой ткани, что определяет их уникальность [7]. У пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) ЭЖТ характеризуется более выраженным воспалением по сравнению с подкожной жировой тканью (ПЖТ) и висцеральными жировыми депо [7]. Однако на сегодняшний день получено крайне мало данных о вовлеченности лимфоцитарного звена иммунной системы в модуляцию воспаления в ЭЖТ у пациентов с ИБС, а также о взаимосвязи выраженности коронарного атеросклероза с долей иммуносупрессорных FoxP3⁺T-регуляторных лимфоцитов в составе стромально-сосудистой фракции ЭЖТ.

Жировая ткань тимуса (ТЖТ) представляет собой наименее изученное в функциональном аспекте депо жировой ткани, начиная с того, что отсутствует однозначное мнение о происхождении тимусных адипоцитов [9]. При этом показано, что тимус в зрелом возрасте сохраняет очаги функциональной активности. FoxP3⁺Treg-лимфоциты в свою очередь оказались способными к рециркуляции в тимус. Рециркулировавшие Treg могут подавлять развитие Treg-лимфоцитов *de novo* и таким образом способствовать срыву аутоиммунной толерантности, что особенно актуально у пациентов с ИБС и атеросклерозом [1, 6], однако взаимосвязь клеточного состава ТЖТ с

выраженностью коронарного атеросклероза по-прежнему остается неизученной.

Целью данной работы стало исследование состава субпопуляций лимфоцитов и свойств FoxP3⁺Treg-лимфоцитов в эпикардиальной, тимусной и подкожной жировой ткани в зависимости от выраженности коронарного атеросклероза у пациентов с хронической ИБС.

Материалы и методы

Проведено наблюдательное одноцентровое одномоментное исследование на базе института (директор – директор). В исследование вошло 24 пациента с ИБС, имеющие показания для проведения хирургической операции на открытом сердце. Все исследования и манипуляции были проведены в рамках Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом института (протокол № 241 от 09.03.2023 г.). Все пациенты, вошедшие в исследование, подписали добровольное информированное согласие. Критерии включения в исследование: возраст пациентов от 40 до 70 лет; наличие верифицированного диагноза «хроническая ИБС со стабильной стенокардией II–III ФК»; наличие показаний для проведения селективной ангиографии и проведения кардиохирургического вмешательства на открытом сердце. Критерии исключения из исследования: острые атеросклеротические осложнения или проведение хирургического вмешательства в течение последних 6 месяцев; любое острое воспалительное заболевание или хроническое заболевание в стадии обострения; хроническая болезнь почек выше с3б; любое онкологическое или гематологическое заболевание; отказ от участия в исследовании.

Все пациенты получали стандартную медикаментозную терапию. Как минимум за неделю до хирургического вмешательства всем пациентам была выполнена селективная ангиография на ангиографическом комплексе Artis one и Digitron-3NAC компьютерной системе (Siemens Shenzhen Magnetic Resonance Ltd., Shenzhen, Китай). На основании данных ангиографии оценивали выраженность коронарного атеросклероза путем расчета индекса Gensini Score [13].

Материалом для исследования служили образцы ЭЖТ, ПЖТ и ТЖТ, взятые в ходе операционного вмешательства, массой 0,2-1 г. Транспор-

тировку образцов в лабораторию осуществляли в течение 15 минут после помещения жировой ткани в среду M199. Выделение стромально-сосудистой фракции жировой ткани проводили следующим образом: образцы жировой ткани механически измельчали, добавляли раствор коллагеназы I типа в буфере Кребса–Рингера (1 мг/мл, НПП «ПанЭко», Россия) и помещали в термостат при 37 °С и постоянном мягком перемешивании; затем добавляли раствор Кребса–Рингера в соотношении 1:1 для нейтрализации коллагеназы; полученную суспензию клеток пропускали через нейлонный фильтр (Falcon Cell strainer, диаметр пор 100 мкм), центрифугировали 5 мин при 400 g, пропускали через нейлонный фильтр (Falcon Cell strainer, диаметр пор 700 мкм), центрифугировали 5 мин при 400 g и ресуспендировали осадок в полной среде RPMI 1640 (10% фетальной бычьей сыворотки; 1% L-глутамин; 1% пенициллина/стрептомицина).

Суспензию клеток стромально-сосудистой фракции ЭЖТ, ПЖТ и ТЖТ аликвотировали по 100 мкл и проводили окрашивание основных субпопуляций лимфоцитов и НК-клеток (использовали коктейль моноклональных антител: анти-CD3-FITC; анти-CD16/CD56-PE; анти-CD45-PerCP-Cy5.5; анти-CD4-PE-Cy7; анти-CD19-APC; анти-CD8-APC-Cy7; BD, США), а также FoxP3⁺Treg-лимфоцитов. Для окрашивания поверхностных маркеров FoxP3⁺Treg-лимфоцитов использовали моноклональные антитела, меченные флуорохромами: анти-CD45-APC-Cy7; анти-CD4-FITC, анти-CD25-PE (BD Pharmingen, США). Затем клетки фиксировали, пермеабилizировали, и окрашивали антителами анти-FoxP3-AF647 (BD Pharmingen, США). В качестве ДНК-тропного красителя использовали 7-аминоактиномицин D (7-AAD).

Клетки собирали на проточной цитометре Amnis FlowSight (Cytex Biosciences, Fremont, США), оснащенном лазерами 488 нм и 642 нм, используя программное обеспечение INSIRE (Amnis Corporation, США). Светлопольные изображения собирали на канале 1. Регистрацию бокового светорассеяния производили с помощью лазера 785 нм. Анализ данных проводили в программе IDEAS 6.2.64.0 (Amnis Corporation, США). Выделяли субпопуляции CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{low}FoxP3⁺Treg. Оценивали долю Treg в каждой субпопуляции с FoxP3, транслоцированным в ядро, с помощью мастера для анализа изображений клеток Nuclear Localization Wizard.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Для оценки характера распределения данных использовали критерий Шапиро–Уилка. Количественные

данные представляли в виде медианы и межквартильного интервала – Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}). Категориальные данные представляли в виде абсолютных значений (n). Для исследования значимости различий количественных данных применяли U-критерий Манна–Уитни. Ранговый коэффициент корреляции Спирмена (rs) использовали для оценки взаимосвязи между переменными. Значения p < 0,05 считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Верхний квартиль индекса Gensini Score в общей выборке пациентов с ИБС составил 65,0 баллов. Мы разделили всех пациентов в зависимости от выраженности коронарного атеросклероза в соответствии с индексом Gensini Score: группа 1 – пациенты с Gensini Score < 65 баллов; группа 2 – пациенты с Gensini Score ≥ 65 баллов (наиболее выраженный и распространенный коронарный атеросклероз). Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, продолжительности ИБС, окружности талии, статусу курения, качеству контроля артериального давления. Все пациенты принимали препараты статинов. Пациенты с Gensini Score ≥ 65 баллов характеризовались более высоким ИМТ по сравнению с пациентами с Gensini Score < 65 баллов (табл. 1).

В общей группе мы выявили прямую корреляционную взаимосвязь между уровнем Gensini Score и долей CD4⁺CD25^{lo}Treg-клеток с внутриядерной транслокацией FoxP3 в ЭЖТ (r_s = 0,468; p = 0,021). Относительное содержание CD4⁺CD25^{hi}Treg-клеток с внутриядерной транслокацией FoxP3 в ТЖТ было обратно взаимосвязано со значением отношения окружности талии к окружности бедер (r_s = -0,474; p = 0,041).

В группе с Gensini Score ≥ 65 баллов пациенты характеризовались большим относительным содержанием CD4⁺CD25^{lo}Treg-клеток в ЭЖТ с внутриядерной транслокацией FoxP3, а также имели тенденцию к снижению относительного содержания CD4⁺CD25^{hi}Treg-клеток с внутриядерной транслокацией FoxP3 в ТЖТ (табл. 2).

Кроме того, у пациентов с Gensini Score ≥ 65 баллов мы выявили статистически значимо большее содержание CD8⁺T-лимфоцитов и НК-клеток и меньшее содержание двойных позитивных CD4⁺CD8⁺T-лимфоцитов в ТЖТ по сравнению с пациентами с Gensini Score < 65 баллов (табл. 3).

По данным корреляционного анализа уровень ядерной транслокации FoxP3 в CD4⁺CD25^{hi}Treg-клетках ТЖТ был обратно взаимосвязан с долей CD8⁺T-лимфоцитов (r_s = -0,653; p = 0,012) и НК-клеток (r_s = -0,723; p = 0,003) в ТЖТ и пря-

ТАБЛИЦА 1. БАЗОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1. BASIC CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Параметр Parameter	Gensini Score < 65 баллов Gensini Score < 65 points (n = 15)	Gensini Score ≥ 65 баллов Gensini Score ≥ 65 points (n = 9)	p
Пол (муж/жен), n Sex (male/female), n	12/3	9/0	0,266
Возраст, лет Age, years	65,0 (58,0-67,0)	65,0 (55,0-68,0)	0,953
Gensini Score, баллы Gensini Score, points	33,5 (9,0-56,0)	77,5 (75,0-100,0)	< 0,001
Продолжительность ИБС, лет CAD duration, years	4,5 (1,0-12,0)	8,5 (2,3-12,5)	0,482
ИМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²	27,3 (24,7-29,0)	30,5 (28,7-32,4)	0,035
Окружность талии, см Waist circumference, cm	100,0 (96,5-106,5)	106,0 (100,0-111,0)	0,310
Курение, n Smoking, n	7	3	0,679
Систолическое АД, мм рт. ст. Systolic BP, mmHg	137,0 (125,0-144,0)	125,0 (111,0-133,0)	0,088
Диастолическое АД, мм рт. ст. Diastolic BP, mmHg	68,0 (65,0-77,0)	70,0 (68,0-73,0)	0,689
Прием статинов, n Statins intake, n	15	9	0,999

Примечание. АД – артериальное давление; ИМТ – индекс массы тела; ИБС – ишемическая болезнь сердца.

Note. BP, blood pressure; BMI, body mass index; CAD, coronary artery disease.

мо – с долей двойных позитивных CD4⁺CD8⁺T-лимфоцитов в ТЖТ (rs = 0,567; p = 0,034).

Ранее были получены сведения, что сохранность функциональной активности тимуса непосредственно взаимосвязана с тяжестью коронарного атеросклероза. Отчасти это можно объяснить нарушением негативной селекции в тимусе и выходу аутореактивных клонов T-лимфоцитов, способных распознавать молекулу ApoB [6]. При этом была также показана тесная взаимосвязь между состоянием тимуса и метаболической дисфункцией: полная жировая дегенерация тимуса ассоциировалась с мужским полом, более высоким ИМТ, дислипидемией и артериальной гипертензией [12].

На наш взгляд, присутствие меньшего количества двойных позитивных CD4⁺CD8⁺T-лимфоцитов в ТЖТ при более выраженном коронарном атеросклерозе может отражать более выраженное угасание тимопоэза у пациентов с ИБС и может находиться в непосредственной взаимосвязи с функциональной активностью

Treg-лимфоцитов. Помимо тимуса, присутствие двойных позитивных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов было показано в жировой ткани средостения и дуге аорты [14]. Остается открытым вопрос, способны ли CD4⁺CD8⁺ лимфоциты мигрировать из жировой ткани в стенки сосуда и какую функцию они там могут выполнять.

Для CD8⁺T-лимфоцитов жировой ткани в свою очередь была показана способность к переключению фенотипа макрофагов на провоспалительный M1-фенотип и поддержанию воспаления в жировой ткани [8]. Схожую функцию, по-видимому, могут выполнять и NK-клетки жировой ткани [5]. Мы показали взаимосвязь этих клеточных популяций, расположенных в ТЖТ, с развитием выраженного атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с ИБС, и их ассоциацию с уровнем ядерной транслокации FoxP3 в Treg-лимфоцитах.

В соответствии с нашими данными, Treg-лимфоциты в ЭЖТ, непосредственно прилегающей к ткани миокарда, при наиболее выра-

ТАБЛИЦА 2. ДОЛЯ FоxP3⁺T-РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ТРАНСЛОКАЦИИ FоxP3 В ЯДРО КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО ПАЦИЕНТОВ С ИБС

TABLE 2. FоxP3⁺T REGULATORY LYMPHOCYTES FREQUENCY AND FоxP3 NUCLEAR TRANSLOCATION IN VARIOUS FAT DEPOTS OF CAD PATIENTS

Параметр Parameter	Gensini Score < 65 баллов Gensini Score < 65 points (n = 15)	Gensini Score ≥ 65 баллов Gensini Score ≥ 65 points (n = 9)	p
ТЖТ CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, % TAT CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, %	7,5 (4,5-13,9)	9,1 (6,5-16,3)	0,482
ТЖТ CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, % TAT CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, %	3,2 (2,2-6,7)	5,5 (3,9-6,8)	0,411
ТЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, % TAT nucl FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, %	34,3 (22,8-51,4)	19,4 (14,9-26,0)	0,084
ТЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, % TAT nucl FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, %	23,1 (11,6-38,8)	13,8 (5,8-18,7)	0,138
ЭЖТ CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, % EAT CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, %	9,5 (4,2-17,2)	8,9 (5,6-22,3)	0,770
ЭЖТ CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, % EAT CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, %	3,0 (0,9-11,0)	3,1 (2,2-6,2)	0,999
ЭЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, % EAT nucl FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, %	19,6 (0,0-32,0)	16,7 (11,8-22,1)	0,770
ЭЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, % EAT nucl FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, %	11,0 (0,0-26,1)	27,6 (20,0-33,3)	0,014
ПЖТ CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, % SAT CD25 ^{hi} FоxP3 ⁺ Treg, %	13,1 (9,8-20,0)	8,8 (4,5-17,5)	0,411
ПЖТ CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, % SAT CD25 ^{lo} FоxP3 ⁺ Treg, %	4,6 (1,4-10,5)	3,5 (1,8-8,2)	0,999
ПЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, % SAT nucl FоxP3 CD25 ^{hi} Treg, %	15,8 (7,8-33,0)	16,3 (0,0-20,9)	0,640
ПЖТ ядр FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, % SAT nucl FоxP3 CD25 ^{lo} Treg, %	16,4 (0,0-24,5)	0 (0,0-14,3)	0,411

Примечание. ТЖТ – тимусная жировая ткань; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань; ядр FоxP3 – доля клеток с FоxP3, локализованным в ядре; для субпопуляций Treg указана доля клеток от всех CD4⁺T-лимфоцитов; доля клеток с транслокацией FоxP3 в ядро указана от всех CD25^{hi}Treg или CD25^{lo}Treg.

Note. TAT, thymic adipose tissue; SAT, subcutaneous adipose tissue; EAT, epicardial adipose tissue; nucl FоxP3, frequency of cells with FоxP3, localized in nucleus; Treg frequency represents percentage of all CD4⁺T lymphocytes; frequency of cells with FоxP3 nuclear translocation represents percentage of all CD25^{hi}Treg или CD25^{lo}Treg.

женном коронарном атеросклерозе находятся в активированном состоянии, так как уровень транслокации FоxP3 в их ядро был выше. Учитывая способность Treg-лимфоцитов к рециркуляции в тимус из периферических органов и систем [1], нельзя исключить, что субпопуляции ТЖТ и ЭЖТ Treg-лимфоцитов взаимосвязаны между собой, а Treg из ЭЖТ при возвращении в тимус, могут подавлять генерацию Treg *de novo* и приводить к угнетению ауто толерантности. ЭЖТ даже в физиологических условиях характеризуется более выраженной экспрессией генов, контро-

лирующих развитие воспаления, и снижением регуляции со стороны генов, контролирующей пролиферацию и катаболизм, по сравнению с ПЖТ. Нельзя исключить, что в условиях ишемии, адипоциты, взаимодействуя напрямую с кардиомиоцитами и стромальными клетками миокарда, могут получать дополнительные паракринные сигналы, способствующие прогрессированию воспаления [11]. Природа данных сигналов и место Treg-лимфоцитов в регуляции данных процессов требует дальнейшего изучения.

ТАБЛИЦА 3. СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ В РАЗЛИЧНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО ПАЦИЕНТОВ С ИБС

TABLE 3. LYMPHOCYTE SUBSETS IN VARIOUS FAT DEPOTS OF CAD PATIENTS

Параметр Parameter	Gensini Score < 65 баллов Gensini Score < 65 points (n = 15)	Gensini Score ≥ 65 баллов Gensini Score ≥ 65 points (n = 9)	p
ТЖТ CD4 ⁺ Т-лимфоциты, % TAT CD4 ⁺ T lymphocytes, %	33,6 (30,5-43,5)	29,6 (25,4-31,6)	0,112
ТЖТ CD8 ⁺ Т-лимфоциты, % TAT CD8 ⁺ T lymphocytes, %	19,5 (15,8-27,2)	30,3 (29,9-30,9)	0,029
ТЖТ CD4 ⁺ CD8 ⁺ Т-лимфоциты, % TAT CD4 ⁺ CD8 ⁺ T lymphocytes, %	1,3 (0,7-2,4)	0,3 (0,2-0,6)	0,038
ТЖТ НК-клетки, % TAT NK cells, %	3,1 (1,8-6,0)	14,2 (10,9-16,7)	0,022
ТЖТ NKT-клетки, % TAT NKT cells, %	9,9 (4,7-14,6)	10,9 (5,8-18,9)	0,596
ТЖТ В-лимфоциты, % TAT B lymphocytes, %	5,7 (3,8-8,5)	3,3 (2,6-4,2)	0,316
ЭЖТ CD4 ⁺ Т-лимфоциты, % EAT CD4 ⁺ T lymphocytes, %	35,2 (31,0-37,9)	31,2 (23,5-39,8)	0,680
ЭЖТ CD8 ⁺ Т-лимфоциты, % EAT CD8 ⁺ T lymphocytes, %	26,8 (19,6-28,4)	30,6 (22,7-35,9)	0,517
ЭЖТ НК-клетки, % EAT NK cells, %	10,7 (6,6-15,4)	10,1 (5,9-12,9)	0,680
ЭЖТ NKT-клетки, % EAT NKT cells, %	13,0 (5,0-13,4)	14,7 (6,4-20,2)	0,596
ЭЖТ В-лимфоциты, % EAT B lymphocytes, %	4,8 (2,7-11,1)	7,9 (4,2-10,8)	0,680
ПЖТ CD4 ⁺ Т-лимфоциты, % SAT CD4 ⁺ T lymphocytes, %	32,8 (23,7-32,9)	34,1 (32,7-36,4)	0,216
ПЖТ CD8 ⁺ Т-лимфоциты, % SAT CD8 ⁺ T lymphocytes, %	16,3 (13,4-20,5)	27,1 (18,6-28,7)	0,216
ПЖТ НК-клетки, % SAT NK cells, %	21,5 (16,3-26,1)	14,6 (10,8-21,9)	0,215
ПЖТ NKT-клетки, % SAT NKT cells, %	14,4 (7,3-17,3)	10,1 (6,7-18,4)	0,723
ПЖТ В-лимфоциты, % SAT B lymphocytes, %	2,2 (1,3-3,7)	1,9 (1,2-2,3)	0,953

Примечание. ТЖТ – тимусная жировая ткань; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ЭЖТ – эпикардальная жировая ткань; доля клеток указана от всех CD45⁺ лимфоцитов.

Note. TAT, thymic adipose tissue; SAT, subcutaneous adipose tissue; EAT, epicardial adipose tissue; the frequency of cells is indicated as percentage of all CD45⁺ lymphocytes.

Заключение

Таким образом, мы показали, что у пациентов с хронической ИБС уровень транслокации FoxP3 в ядро в эпикардальной жировой ткани в CD4⁺CD25^{lo}Treg-клетках прямо связан с вы-

раженностью атеросклероза, в то время как в тимусной жировой ткани имеется тенденция к наличию обратной взаимосвязи между выраженностью атеросклероза и уровнем транслокации FoxP3 в ядро в CD4⁺CD25^{hi}Treg-клетках. В жировой ткани тимуса уровень ядерной транслокации

ФохР3 в CD4⁺CD25^{hi}Treg-клетках имеет ассоциацию с антропометрическими показателями ожирения и изменением субпопуляционного состава лимфоцитов. Требуется проведение дальнейших исследований для изучения молекулярных меха-

низмов реализации данных взаимосвязей и определения места данного патофизиологического феномена в стратификации риска и разработке подходов к терапии пациентов с коронарным атеросклерозом и хронической ИБС.

Список литературы / References

1. Козлов В.А. Определяющая роль тимуса в иммунопатогенезе аутоиммунных, онкологических и инфекционных заболеваний // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 1. С. 39-58. [Kozlov V.A. Determining role of thymus in immune pathogenesis of autoimmune, oncological and infectious diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 1, pp. 39-58. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-DRO-2591.
2. Кологривова И.В., Кошельская О.А., Сулова Т.Е., Харитоновна О.А., Трубачева О.А., Кравченко Е.С., Дмитриуков А.А. Т-лимфоциты ФохР3⁺ и их взаимосвязь с выраженностью коронарного атеросклероза у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа: пилотное исследование // Сахарный диабет, 2023. Т. 26, № 3. С. 213-223. [Kologrivova I.V., Suslova T.E., Koshelskaya O.A., Kharitonova O.A., Trubacheva O.A., Kravchenko E.S., Dmitriukov A.A. T-lymphocytes FoxP3⁺ and their interconnection with the severity of coronary atherosclerosis in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus type 2: a pilot study. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus*, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 213-223. (In Russ.)]
3. Кошельская О.А., Нарыжная Н.В., Кологривова И.В., Сулова Т.Е., Кравченко Е.С., Харитоновна О.А., Андреев С.Л., Марголис Н.Ю., Шарыпова Н.Г., Крапивина А.С. Взаимосвязь гипертрофии эпикардиальных адипоцитов с адипокинами, воспалением и метаболизмом глюкозы и липидов // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины, 2023. Т. 38, № 1. С. 64-74. [Koshelskaya O.A., Naryzhnaya N.N., Kologrivova I.V., Suslova T.E., Kravchenko E.S., Charitonova O.A., Andreev S.L., Margolis N.Yu., Sharipova N.G., Kravpivina A.S. Correlation of epicardial adipocytes hypertrophy with adipokines, inflammation and glucose and lipid metabolism. *Sibirskiy zhurnal klinicheskoy i eksperimentalnoy meditsiny = Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2023, Vol. 38, no. 1, pp. 64-74. (In Russ.)]
4. Романцова Т.И. Жировая ткань: цвета, депо и функции // Ожирение и метаболизм, 2021. Т. 18, № 3. С. 282-301. [Romantsova T.I. Adipose tissue: colors, depots and functions. *Ozhireniye i metabolizm = Obesity and metabolism*, 2021, Vol. 18, no. 3, pp. 282-301. (In Russ.)]
5. Haugstøyl M.E., Cornillet M., Strand K., Stiglund N., Sun D., Lawrence-Archer L., Hjellevstad I.D., Busch C., Mellgren G., Björkström N.K., Fernø J. Phenotypic diversity of human adipose tissue-resident NK cells in obesity. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1130370. doi: 10.3389/fimmu.2023.1130370.
6. Hester A.K., Semwal M.K., Cepeda S., Xiao Y., Rueda M., Wimberly K., Venables T., Dileepan T., Kraig E., Griffith A.V. Redox regulation of age-associated defects in generation and maintenance of T cell self-tolerance and immunity to foreign antigens. *Cell Rep.*, 2022, Vol. 38, no. 7, 110363. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110363.
7. Iacobellis G. Epicardial adipose tissue in contemporary cardiology. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2022, Vol. 19, pp. 593-606.
8. Kiran S., Kumar V., Murphy E.A., Enos R.T., Singh U.P. High fat diet-induced CD8⁺ T cells in adipose tissue mediate macrophages to sustain low-grade chronic inflammation. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 680944. doi: 10.3389/fimmu.2021.680944.
9. Liang Z., Dong X., Zhang Z., Zhang Q., Zhao Y. Age-related thymic involution: Mechanisms and functional impact. *Aging Cell*, 2022, Vol. 21, no. 8, e13671. doi: 10.1111/ace1.13671.
10. Magg T., Mannert J., Ellwart J.W., Schmid I., Albert M.H. Subcellular localization of FOXP3 in human regulatory and nonregulatory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2012, Vol. 42, no. 6, pp. 1627-1638.
11. Rietdorf K., MacQueen H. Investigating interactions between epicardial adipose tissue and cardiac myocytes: what can we learn from different approaches? *Br. J. Pharmacol.*, 2017, Vol. 174, no. 20, pp. 3542-3560.
12. Sandstedt M., Chung R.W.S., Skoglund C., Lundberg A.K., Östgren C.J., Ernerudh J., Jonasson L. Complete fatty degeneration of thymus associates with male sex, obesity and loss of circulating naïve CD8⁺ T cells in a Swedish middle-aged population. *Immun. Ageing*, 2023, Vol. 20, no. 1, 45. doi: 10.1186/s12979-023-00371-7.
13. Wang K.Y., Zheng Y.Y., Wu T.T., Ma Y.T., Xie X. Predictive value of Gensini Score in the long-term outcomes of patients with coronary artery disease who underwent PCI. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2022, Vol. 8, 778615. doi: 10.3389/fcvm.2021.778615.

14. Winkels H., Ghosheh Y., Kobiyama K., Kiesses W.B., Orecchioni M., Ehinger E., Suryawanshi V., Herrera-de la Mata S., Marchevocchio P., Riffelmacher T., Thiault N., Kronenberg M., Wolf D., Seumois G., Vijayanand P., Ley K. Thymus-derived CD4⁺CD8⁺ cells reside in mediastinal adipose tissue and the aortic arch. *J. Immunol.*, 2021, Vol. 207, no. 11, pp. 2720-2732.

15. Zeng Q., Sun X., Xiao L., Xie Z., Bettini M., Deng T. A unique population: adipose-resident regulatory T cells. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2075. doi: 10.3389/fimmu.2018.02075.

Авторы:

Кологривова И.В. — к.м.н., старший научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Дмитрюков А.А. — аспирант, младший научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Нарыжная Н.В. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Кошельская О.А. — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Харитонов О.А. — младший научный сотрудник отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Выросткова А.И. — лаборант-исследователь отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Authors:

Kologrivova I.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Dmitriukov A.A., Postgraduate Student, Junior Research Associate, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Naryzhnaya N.V., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Koshelskaya O.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Department of Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Kharitonova O.A., Junior Research Associate, Department of Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Vyrostkova A.I., Research Laboratory Assistant, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Евтушенко В.В. — д.м.н., врач отделения сердечно-сосудистой хирургии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Крапивина А.С. — лаборант-исследователь отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Рябченко П.Е. — студентка ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Суслова Т.Е. — к.м.н., руководитель отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Evtushenko V.V., PhD, MD (Medicine), Doctor of the Department of Cardiovascular Surgery, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Krapivina A.S., Research Laboratory Assistant, Department of Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Riabchenko P.E., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Suslova T.E., PhD (Medicine), Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Поступила 14.03.2024
Принята к печати 17.03.2024

Received 14.03.2024
Accepted 17.03.2024