

УДК 616-092

## Экспрессия рецепторов хемокинов на субпопуляциях Т-лимфоцитов в крови пациентов с нормальной массой тела и ожирением перед абдоминопластикой

Копасов А.Е.<sup>1,2</sup>, Волкова Е.Н.<sup>1</sup>, Морозов С.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Клиника пластической и эстетической хирургии профессора Блохина С.Н. и доктора Вульфа И.А. «Frau Klinik».

129110, Москва, ул. Гиляровского, д. 55

**Целью** работы было определение уровня экспрессии хемокиновых рецепторов на лимфоцитах периферической крови пациентов при проведении операции абдоминопластики, а также сравнение этих показателей у пациентов с ожирением и с нормальной массой тела.

**Методы.** В работе проанализированы данные 92 женщин в возрасте от 18 до 56 лет, которым в клинике пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник 1» проведена операция абдоминопластики. Кровь брали натощак перед операцией, мононуклеары выделяли на градиенте плотности, клетки окрашивали моноклоанальными антителами, конъюгированными с флуоресцентными красителями. Интенсивность флуоресценции измеряли на проточном цитометре FACSCalibur по программе SimulSet. Статистический анализ проводили по программе «Биостатистика».

**Результаты.** Было показано, что у больных с ожирением в периферической крови достоверно повышен уровень CD4<sup>+</sup> Т-клеток, Т-хелперов первого порядка (Th1), регуляторных Т-клеток (Treg), наивных Т-клеток и Т-клеток памяти. Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7, CCR9 достоверно повышена на субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при ожирении. Также было установлено, что ожирение ассоциировано с повышением хемокиновых рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3 на CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитах, что отражает их способность отвечать на регуляторные хемокины и накапливаться в жировой ткани.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют об изменении в системе регуляции хемокинов и их рецепторов при ожирении, что является патогенетической основой для развития локального воспаления в жировой ткани и может оказывать негативное влияние на развитие осложнений после операции абдоминопластики.

**Ключевые слова:** хемокины; рецепторы; Т-лимфоциты; абдоминопластика; ожирение.

**Для цитирования:** Копасов А.Е., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Экспрессия рецепторов хемокинов на субпопуляциях Т-лимфоцитов в крови пациентов с нормальной массой тела и ожирением перед абдоминопластикой. *Патогенез*. 2021; 19(1): 50-59.

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.01.50-59

**Для корреспонденции:** Морозов Сергей Георгиевич, e-mail: biopharm@list.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 18.12.2020

## Chemokine receptor expression on T-cells in the blood of patients with normal body weight or obesity before abdominoplasty

Kopasov A.E.<sup>1,2</sup>, Volkova E.N.<sup>1</sup>, Morozov S.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology,

Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> Professor S.N.Blokhin and Doctor I.A.Wolfe Clinic of Plastic and Aesthetic Surgery "Frau Klinik",

Gilyarovskogo Str. 55, Moscow 129110, Russian Federation

*The aim of this study was to determine the level of chemokine receptor expression on peripheral blood lymphocytes of patients undergoing abdominoplasty and to compare these data in obese patients and with data in patients with normal body weight.*

**Methods.** We analyzed the data of 92 women aged 18 to 56 years who underwent abdominoplasty surgery at the Plastic and Aesthetic Surgery "Frau Klinik 1". Blood was collected during fasting before surgery. Mononuclear cells were isolated on a density gradient and stained with monoclonal antibodies conjugated with fluorescent dyes. Fluorescence intensity was measured on a FACSCalibur flow cytometer using the SimulSet program. Data were analyzed statistically with Biostatistics software.

**Results.** In obese patients, the peripheral blood levels of CD4<sup>+</sup> T-cells, T-helper cells 1 (Th1), regulatory T-cells (Treg), naive T-cells, and memory T-cells were significantly increased ( $p < 0.05$ ). Also in obese patients, expression of chemokine receptors CXCR4, CCR6, CCR7, and CCR9 was elevated on the CD4<sup>+</sup> T-lymphocyte subpopulation. It was found that obesity is associated with an increased expression of the chemokine receptors CCR5, CX3CR1, and CXCR3 on CD8<sup>+</sup> cytotoxic lymphocytes, which reflects their ability to respond to regulatory chemokines and to be accumulated in the adipose tissue.

**Conclusion.** The results indicate a change in regulation of chemokines and their receptors in obesity. This is the pathogenetic basis for developing local inflammation in adipose tissue, and this regulatory change may facilitate the development of complications following abdominoplasty surgery.

**Key words:** chemokines; receptors; T-lymphocytes; abdominoplasty; obesity.

**For citation:** Kopasov A.E., Volkova E.N., Morozov S.G. [Chemokine receptor expression on T-cells in the blood of patients with normal body weight or obesity before abdominoplasty]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(1): 50-59. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.01.50-59

**For correspondence:** *Sergey Georgievich Morozov*, e-mail: biopharm@list.ru

**Funding.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received:** 18.12.2020

## Введение

Хемокины регулируют иммунный ответ в тканях, в том числе в коже и подкожно-жировой клетчатке, путем направленной миграции иммунных клеток. В предыдущих работах мы рассматривали регуляторную роль хемокинов в отношении нейтрофилов и моноцитов крови и тканей [1-5], а также кератиноцитов и фибробластов кожи в подкожно-жировой клетчатке [6, 7]. Настоящая работа посвящена проблеме взаимоотношения хемокинов и лимфоцитов в крови пациентов, которым проводится операция абдоминопластики. Данное исследование имеет прямое отношение к осложнениям, которые могут возникнуть в послеоперационном периоде после абдоминопластики.

Жировая ткань (висцеральная и подкожная) играет важную роль в поддержании гомеостаза всего организма и в регуляции метаболизма, преадипоциты и адипоциты секретируют биологически активные пептиды и другие медиаторы [8], а также влияют на резидентные клетки иммунной системы, к которым относятся макрофаги и моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, эозинофилы, натуральные киллеры, натуральные киллерные лимфоциты, Т- и В-лимфоциты, лимфоидные клетки природного иммунитета (innate lymphoid cells (ILC)) и другие [9].

Избыточное накопление жировой ткани определяет развитие ожирения. Индекс массы тела (ИМТ) ниже 25 кг/м<sup>2</sup> – это норма, если ИМТ в диапазоне 25–30 кг/м<sup>2</sup> – это избыточный вес, ИМТ свыше 30 кг/м<sup>2</sup> расценивается как ожирение. Ожирение ассоциировано с нарушениями метаболизма жировой ткани, с подострым воспалением в жировой ткани и с изменениями в регуляции клеток иммунной системы. Это сопровождается повышением концентрации провоспалительных цитокинов. Цитокины, продуцируемые субпопуляциями Т-хелперов (Т-helper, Th) Th1 (интерлейкины (Interleukine) IL-12, IL-27 и интерферон гамма (IFN $\gamma$ )) и Th17 (IL-17), вносят основной вклад в развитие и поддержание воспаления в жировой ткани [10]. Ожирение связано с риском развития инфекции: у взрослых людей при избыточной массе тела и ожирении повышен риск инфицирования операционной раны по сравнению с пациентами с нормальной массой тела [11].

В абдоминальной жировой ткани обнаружено увеличение числа клеток ILC3, ILC2, а также уровня белков IP-10 (interferon-inducible protein-10) и растворимого (s, soluble) лиганда рецептора sCD40L [12]. При ожирении в сыворотке крови повышены уровни IL-1 $\beta$ , IL-6,

С реактивного белка (СРБ), малонового диальдегида (МДА) и адипонектина [13]. Известно, что IL-1 $\beta$  влияет на продукцию цитокинов преадипоцитами, стимулирует секрецию IL-8, IL-10, IL-13, фактора некроза опухолей (Tumor Necrosis Factor, TNF $\alpha$ ), IP-10, а также IL-6, уровень которого повышается в 453 раза [14], а секретируемый адипоцитами адипонектин регулируют активность дендритных клеток, нейтрофилов, ILC и тучных клеток [8].

По сравнению с пациентами с нормальной массой тела, при ожирении в подкожно-жировой ткани повышена экспрессия мРНК и белка фактора IRF5 (Interferon regulatory factor-5), который связан с локальным повышением уровня провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-18, IRF3, MyD88, IRAK-1, PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) [15]. При ожирении также повышены уровни растворимых рецепторов sTNF-R1 и sTNF-R2, sIL1-R2 и sIL6-R, sVEGF-R2 (Vascular Endothelium Growth Factor) [16].

В ответ на IL-1 $\beta$  и IFN $\gamma$  изменяется транскрипционный контроль экспрессии генов *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Cxcl11* хемокинов и, соответственно, уровни экспрессии самих хемокинов CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [17]. IL-1 $\beta$  стимулирует повышение уровня экспрессии мРНК хемокина CXCL10 в 900 раз [14]. Таким образом, изменение концентрации цитокинов и хемокинов в жировой ткани взаимосвязаны, и они участвуют в развитии хронического воспаления у пациентов с ожирением.

При ожирении в подкожно-жировой ткани повышены уровни хемокинов CCL2, CCL5, CCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, а также их рецепторов CCR1, CCR2, CCR5 [15]. При ожирении также повышены уровни хемокинов CCL14, CXCL1, CCL19 (MIP3b) и CXCL5, тогда как уровни хемокинов CXCL12, CXCL13, CCL11 (cutaneous T cell attracting chemokine), CCL27 достоверно снижены [16]. Хемокин CCL13 имеет минимальную базальную экспрессию в преадипоцитах, но его секреция прогрессивно повышается по мере дифференцировки этих клеток [14]. CXCL13 распознается рецепторами CCR1, CCR2 и CCR3 на активированных Т лимфоцитах. CCL19 оказывает влияние на маркеры воспаления в подкожно-жировой ткани, экспрессия гена *CCL19* положительно коррелирует с уровнем IL-8, IL-12, IP-10, CCL5, CCR2 и CCR5 [18].

При активации CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL, Cytotoxic T-lymphocytes) через антиген-специфические рецепторы TCR (T-cell receptor) в клетку до-

полнительно поступают сигналы от хемокинов CCL3 (MIP-1 $\alpha$ , Macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ ) и CCL4 (MIP-1b), которые определяют миграцию этих клеток, а также обеспечивают приток других клеток иммунной системы в зону действия антигена. На плазматической мембране CTL экспрессируются хемокиновые рецепторы CCR1, CCR2, CCR3, CCR5. При связывании хемокинами CCL3 или CCL4 рецептора CCR5 активируется сигнальный путь, который определяет хомингу CTL в эффекторную зону [19].

Рецептор CX3CR1 на CD8<sup>+</sup> Т-клетках распознает фракталин (Fractalkine/CX3CL1 (CX3C chemokine ligand 1)), который стимулирует миграцию Т- и В-лимфоцитов и NK клеток в жировую ткань. Циркулирующие активированные CX3CR1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клетки проникают через эндотелий сосудов под влиянием фракталина и IL-15. Эти два фактора высвобождаются клетками эндотелия под действием TNF $\alpha$ . IL-15 стимулирует синтез TNF $\alpha$  CD8<sup>+</sup> Т- лимфоцитами, а также экспрессию рецепторов CX3CR1 на плазматической мембране, а хемокины CX3CL1 способствуют миграции CD8<sup>+</sup> Т-клеток через эндотелий [20].

По уровню экспрессии рецептора CX3CR1 можно классифицировать CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты: клетки с промежуточным уровнем экспрессии CX3CR1 относятся к периферическим клеткам памяти, клетки с высоким уровнем экспрессии CX3CR1 – это эффекторы памяти/терминально дифференцированные клетки, а те, которые не экспрессируют рецепторы CX3CR1 – это центральные клетки памяти [21].

Рецепторы CX3CR1 есть как на CD8<sup>+</sup>, так и на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах. В циркуляции процент CX3CR1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клеток достоверно выше (49% vs 24%), чем в жировой ткани. Циркулирующих CX3CR1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клеток обнаружено 14,48%, тогда как в жировой ткани их 30,76% [21].

Рецепторы CXCR3 также экспрессируются как на CD8<sup>+</sup>, так и на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах. В зависимости от наличия или отсутствия рецепторов CXCR3 у человека идентифицированы две субпопуляции наивных CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. CXCR3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клетки имеют повышенную способность взаимодействовать с пептидами, которые распознаются антигенами HLA I класса. Эти клетки дифференцируются в антиген-специфические эффекторы и продуцируют IL-2 и TNF $\alpha$  в ответ на неспецифическую активацию [22].

Циркулирующие CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти экспрессируют рецепторы хемокинов CXCR5 (связывают CXCL13) и CXCR3 (связывают CXCL10 и CXCL11), которые отвечают за хоминг CXCR3<sup>+</sup> Т-клеток в зону повреждения тканей [23].

CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти также имеют рецепторы CCR5. Среди CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клеток идентифицированы 150 различных субпопуляций, в том числе, CD25<sup>+</sup> CD127<sup>+</sup> Tregs (10-20%), CXCR3<sup>+</sup> CCR6<sup>-</sup> Th1 – подобные клетки, CCR6<sup>+</sup> CD16 CXCR3<sup>-</sup> Th17 – подобные клетки, интегрины  $\alpha 4\beta 7$  CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клетки, ориентирован-

ные на движение в кишечник (10-30%), CCR4<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клетки, ориентированные на перемещение в кожу (10-30%), CD62L<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клетки для перемещения в лимфатические узлы (20-40%), CD38<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> активированные Т-клетки и CD27<sup>-</sup> CD28<sup>-</sup> CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> цитотоксические Т-лимфоциты (> 30%); 20-50% были Th1 – подобными клетками, 20-40% были Th17 – подобными клетками [24].

При изменении экспрессии рецепторов хемокинов, направленное движение клеток иммунной системы в жировую ткань может усиливаться, что обуславливает их накопление и секрецию провоспалительных цитокинов, поддерживающих подострое воспаление в жировой ткани. Оперативные вмешательства у пациентов с ожирением проводятся на фоне этого имеющегося подострого воспалительного процесса, что может негативно сказаться на состоянии операционной раны, а также может приводить к замедлению процессов восстановления тканей после операции и развитию рубцов.

Целью работы являлось измерение экспрессии рецепторов хемокинов на Т-лимфоцитах у пациентов, которым проводится абдоминопластика, в зависимости от наличия или отсутствия ожирения.

## Материалы и методы исследования

*Пациенты.* В работе представлены результаты обследования и хирургического лечения 92 женщин (18–56 лет), которым была проведена абдоминопластика в клинике пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник 1», Москва. Все пациентки добровольно подписывали информированное согласие на участие в исследовании и разрешение на анонимный отбор биологического материала. Протокол исследования был утвержден этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» и согласован с дирекцией ООО «Фрау Клиник 1». Международные нормы работы с пациентами и их биологическим материалом были соблюдены. Все оперативные вмешательства соответствовали протоколу, принятому для данного типа операций. Критериями исключения из исследования было наличие сахарного диабета, любых острых вирусных и бактериальных инфекций, а также системные, аллергические и хронические заболевания, в том числе ХСН, ХОБЛ, ХПН, и онкологические заболевания.

Перед операцией все пациентки проходили стандартное обследование, которое включало в себя определение биохимических показателей крови, клиническое и инструментальное обследование. Состав тела определяли методом биоимпедансного анализа (БИА), позволяющего количественно оценить жировую и безжировую (тощую) массу тела, процентное содержание жира, активную клеточную массу, уровень основного обмена, количество внеклеточной, внутриклеточной и общей жидкости и другие показатели состояния организма. Измеряемыми параметрами метода одночастотного БИА на анализаторе ABC-02 «Медасс» по компьютер-

ной программе фирмы «Form Med Healthcare, AG» (Германия) являются величины активного ( $R_{50}$ ) и реактивного сопротивления ( $X_c$ ), образующие вектор импеданса. Степень ожирения выражали согласно международным критериям по ИМТ в  $\text{кг}/\text{м}^2$ , в нашем исследовании ИМТ составлял  $19,8 \pm 1,7 \text{ кг}/\text{м}^2$  в норме, а для пациентов с ожирением ИМТ был  $38,3 \pm 4,1 \text{ кг}/\text{м}^2$ .

**Работа с кровью пациентов.** Работу с кровью проводили в сертифицированной лаборатории согласно ГОСТам и международным правилам работы с биологическим материалом. Кровь из локтевой вены брали натошак в вакутейнеры (с гепарином, ЭДТА или без реактивов в зависимости от цели). Подсчет клеток крови проводили на гематологическом анализаторе Pentra Nexus HORIBA (Horiba ABX SAS, Франция). Биохимические показатели определяли на анализаторе Fuji Dri-Chem4000 (Fujifilm, Япония).

Лейкоцитарную взвесь получали после обработки крови лизирующей жидкостью для удаления эритроцитов (Becton Dickinson), клетки отмывали и переводили в среду 199. Мононуклеары периферической крови получали после центрифугирования суспензии клеток на градиенте плотности Ficoll-Paque Plus (Healthcare, Германия). Клетки отмывали в PBS, доводили до концентрации  $0,5 \times 10^6$  клеток в 50 мкл, добавляли 20 мкл моноклональных антител (mAb), меченных флуоресцентными красителями, и инкубировали 40 мин при  $+4^\circ\text{C}$ . Использовали антитела: CD3-PE-Cy7, CD3-PerCP-Cy5.5, CD4-PerCP-Cy5.5, CD19-APC-Cy7, CD16-PerCP-Cy5.5, CD38-PE-Cy7, CD25-Brilliant Violet 421, CD45RA-APC-Cy7, CD19-APC-Cy7, CD5-PE-Cy7, CD23-PerCP-Cy5.5 (BioLegend San Diego, CA, USA); CD25-PE-Cy7, CD27-FITC (eBioscience San Diego, CA, USA); CD4-V500, CD19-V500, CXCR3-Brilliant Violet 421, CXCR5-Alexa Fluor 488, CCR6-PE фирмы BD Biosciences; mAb к хемокинам CXCL были от R&D systems, mAb к хемокинам CCL были от Boehringer Ingelheim (Германия).

Клетки трижды отмывали, осадок фиксировали в 2% параформальдегиде на PBS с 5% азидом натрия. Окрашенные клетки анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) по программе SimulSet. Первичный анализ клеток проводили при прямом и боковом просвечивании лазером в системе координат на каналах FSC-A/SSC-A (Forward Scate Cells & Side Scate Cells). Далее выделяли гейт лимфоцитов, в котором выделяли область  $\text{CD4}^+$  клеток (или  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD19}^+$  клеток и т.д.). Субпопуляции определяли на основании мультиколориметрического исследования в гейте  $\text{CD3}^+$ ,  $\text{CD4}^+$  клеток, далее по дополнительной экспрессии рецепторов, специфических для каждого типа клеток. В каждом образце анализировалось 10 тысяч событий на гейт одной популяции клеток, который устанавливали автоматически по программе или по экспрессии соответствующего маркера. Интенсивность флуоресценции mAb определяли на 4 каналах, что позволяло проводить мультиколориметрические ис-

следования. Интенсивность флуоресценции приводили к внутреннему стандарту. В качестве негативного контроля регистрировали флуоресценцию  $\text{F(ab)}_2$ -фрагментов изотипспецифичных иммуноглобулинов, меченных соответствующим красителем без первичных mAb. Далее анализировали гистограмму, соответствующую распределению клеток на канале, по которой определяли процентное содержание антиген-положительных клеток и интенсивность флуоресценции (mean) в условных единицах, отражающую относительную плотность антигена на поверхности клетки или уровень включения флуоресцентной метки в клетку [2, 3]. Примеры анализа клеток на проточном цитометре приведены на **рис. 1**.

Маркеры субпопуляций Т-клеток представлены ниже:

- $\text{CD4}^+$  Т-клетки  $\text{CD45.2}^+ \text{TCR}\beta^+ \text{CD4}^+ \text{CD8}^-$
- Активированные  $\text{CD4}^+$  Т-клетки  $\text{CD45.2}^+ \text{TCR}\beta^+ \text{CD4}^+ \text{CD8}^- \text{Foxp3}^- \text{CD62Llow}$
- $\text{CD8}^+$  Т-клетки  $\text{CD45.2}^+ \text{TCR}\beta^+ \text{CD4}^- \text{CD8}^+$
- В-клетки  $\text{CD45.2}^+ \text{B220}^+ \text{CD19}^+$
- Наивные Т-клетки  $\text{CD45.2}^+ \text{TCR}\beta^+ \text{CD4}^+ \text{CD8}^- \text{Foxp3}^- \text{CD62Lhigh}$
- Т-хелперы первого порядка (Th1)  $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+ \text{IFN-}\gamma^+ \text{CCR5}^+ \text{CXCR3}^+$
- Т-хелперы второго порядка (Th2)  $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+ \text{IL-4}^+ \text{IL-13}^+ \text{CD25}^- \text{CCR4}^+$
- Th17 клетки  $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+ \text{IL-17A}^+ \text{CD25}^- \text{CD45RA}^- \text{CXCR5}^- \text{CXCR3}^- \text{CCR6}^+$
- Регуляторные Т-клетки (Treg)  $\text{CD3}^+ \text{CD4}^+ \text{CD8}^- \text{CD25}^+ \text{FOXP3}^+ \text{CD45.2}^+ \text{TCR}\beta^+ \text{CCR4}^+$
- $\text{CD4}^+$  Т-клетки памяти  $\text{CD4}^+ \text{CD45RO}^+ \text{CD34RA}^-$

**Статистический анализ.** Полученные данные статистически обработаны по программе «Биостатистика». Сравнение между двумя группами проводили по критерию Стьюдента, данные представлены как  $M \pm m$ . Для групп данных с малой выборкой применялся непараметрический метод множественного сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса, где  $p \leq 0,05$  дается как статистически значимое различие между группами.

## Результаты исследования и обсуждение

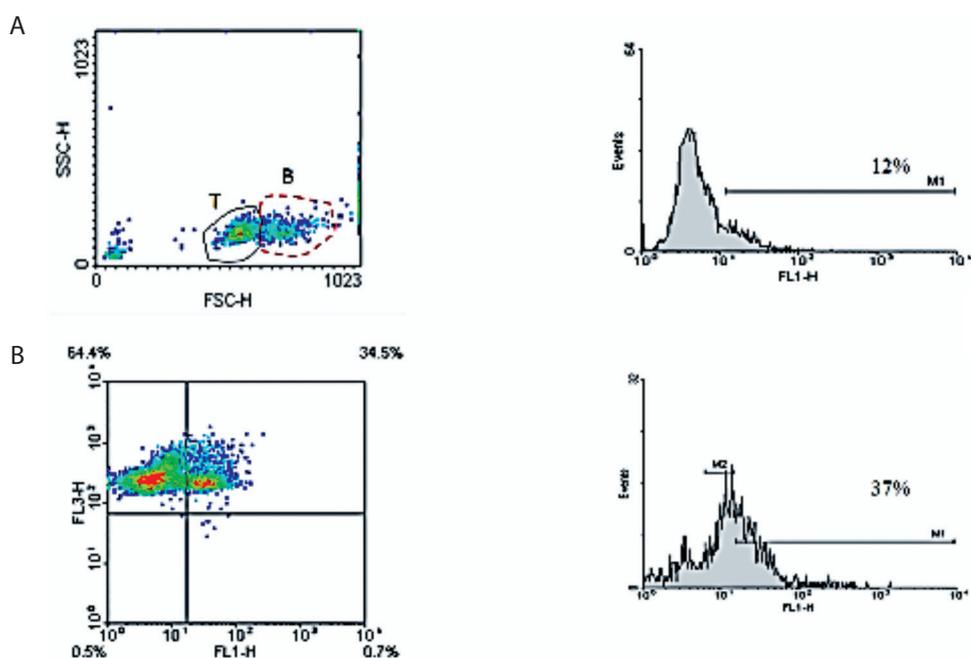
На первом этапе исследования было проведено определение процентного состава основных популяций лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой (табл. 1). У пациентов с ожирением регистрировалось небольшое снижение общего числа Т-клеток ( $\text{CD3}^+$ ), но статистически незначимое ( $p > 0,05$ ). Подобная тенденция показана для Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов ( $\text{CD8}^+$ ). При этом уровень  $\text{CD4}^+$  Т-клеток был повышен достоверно у пациентов с ожирением. У пациентов с ожирением также имеется тенденция к повышению ( $p > 0,05$ ) общего уровня В-лимфоцитов в периферической крови.

Поскольку было показано повышение уровня  $\text{CD4}^+$  Т-лимфоцитов у больных ожирением, далее мы определили состав субпопуляций  $\text{CD4}^+$  клеток. Субпопуляции определялись на основании мультиколориметри-

ческого исследования в гейте CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> клеток, далее по дополнительной экспрессии рецепторов, специфических для каждого типа клеток.

В табл. 2 представлены данные по проценту субпопуляций CD4<sup>+</sup> клеток (как % всех клеток в гейте CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клеток) в крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Было показано, что при ожирении достоверно повышен уровень Т-хелперов первого порядка (Th1), регуляторных Т-клеток (Treg), а также наивных Т-клеток и Т-клеток памяти. При этом % активированных Т-клеток имел тенденцию к повышению при ожирении, но не получено статистически достоверных различий.

По данным литературы, секретируемые Th1 клетками цитокины играют ведущую роль в развитии воспаления в жировой ткани [10]. Th1 хелперы сопряжены с хемокинами CXCL9 и CXCL10, рецепторами которых служат CXCR3, а также с хемокинами CXCL11, рецепторами которых являются CXCR7. Активированные Th1 сопряжены с хемокинами CCL4, рецепторами которых являются CCR5, а также CCL16, рецепторами служат CCR1. В табл. 3 представлены данные по интенсивности флуоресценции (mean) рецепторов, сопряженных с Th1 клетками, в периферической крови. Измерение проводили в гейте CD3<sup>+</sup> лимфоцитов, в котором выделяли область CD4<sup>+</sup> клеток и далее по тройной окраске измеря-



**Рис. 1.** Примеры данных проточной цитометрии. А – гейт лимфоцитов: на каналах FSC/SSC представлен гейт, в котором локализуются лимфоциты; буквой Т обозначена зона преимущественной локализации Т-лимфоцитов; буквой В обозначена зона локализации В-лимфоцитов. В – пример двойной окраски клеток и процент антиген-положительных клеток. С – пример гистограмм, показывающий процент антиген-положительных клеток.

**Таблица 1**  
Данные проточной цитометрии по составу лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела

Лимфоциты	Пациенты		<i>p</i> < 0,05
	Норма (n = 46)	Ожирение (n = 46)	
CD3 <sup>+</sup> , % (общее число Т-лимфоцитов)	79 ± 9	71 ± 5	нет
CD4 <sup>+</sup> , % (Т хелперы)	55 ± 4	65 ± 5	да
CD8 <sup>+</sup> , % (Т супрессоры / цитотоксические Т лимфоциты)	17 ± 3	14 ± 2	нет
CD19, % (общее число В лимфоцитов)	9,1 ± 1,1	10,2 ± 1,2	нет

**Таблица 2**  
Данные проточной цитометрии по составу субпопуляций CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела

Субпопуляции CD4 <sup>+</sup> Т-лимфоцитов	Пациенты		<i>p</i> < 0,05
	Норма (n = 46)	Ожирение (n = 46)	
Th1, %	7,2 ± 0,4	9,9 ± 0,8	да
Th2, %	8,1 ± 1,8	9,5 ± 2,3	нет
Th17, %	7,1 ± 1,9	8,4 ± 1,7	нет
Treg, %	2,8 ± 0,3	3,8 ± 0,5	да
Активированные Т-клетки, %	9,5 ± 1,8	12,7 ± 1,5	нет
Наивные Т-клетки, %	58 ± 4	36 ± 42	да
Т-клетки памяти, %	31 ± 2	36 ± 2	да

ли экспрессию соответствующих рецепторов в данном гейте. Полученные нами данные указывают на статистически достоверное повышение уровня экспрессии рецепторов CXCR3, они распознают хемокины CXCL9 (MIG, monokine induced by interferon- $\gamma$ ), CXCL10 (IP-10, interferon- $\gamma$  inducible protein 10) и CXCL11 (I-TAC, interferon- $\gamma$ -inducible T-cell alpha chemoattractant), которые секретируются в ответ на IFN- $\gamma$  и стимулируют передвижение и накопление активированных CXCR3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в ткани и последующее развитие воспаления.

Хемокиновые рецепторы CXCR4 (C-X-C motif chemokine receptor 4), CCR4, CCR6 и CCR7 на Т-лимфоцитах необходимы для перемещения лимфоцитов в лимфоидных тканях и через эндотелий сосудов [25, 26]. CXCR4 связывает хемокин CXCL12. CCR6 распознает хемокин CCL20, продуцируемый клетками эндотелия, и отвечает за хоминг лейкоцитов и Т-лимфоцитов через сосудистую стенку [27]. Кроме того, рецепторы CCR4 и CCR7 служат маркерами регуляторных Т-клеток (Treg) и Th17 [28]. По нашим данным (табл. 2) уровень Treg достоверно повышен в периферической крови пациентов с ожирением, а уровень Th17 – имеет тенденцию к повышению. В табл. 4 представлены данные по экспрессии этих рецепторов на CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах периферической крови.

Т-хелперы, экспрессирующие рецепторы CCR9, являются гиперреактивными в ответ на IL-7, секретируют повышенный уровень IFN- $\gamma$ , IL-21, IL-17 и IL-4, и стимулируют В-клетки. Циркулирующие CCR9<sup>+</sup> Th клетки экспрессируют высокий уровень рецепторов хемокинов CXCR3, CCR4 и CCR6 по сравнению с CCR9<sup>-</sup> Th клетками. Циркулирующие CCR9<sup>+</sup> CXCR3<sup>+</sup> Th Т-клетки памяти относятся к популяции эффекторных клеток памяти [29]. Рецептором для хемокина CCL25 служит CCR9. CCR9<sup>+</sup> Т-клетки имеют потенциал к активации в ответ на хемокин CCL25.

Циркулирующие CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти, экспрессирующие CCR6<sup>+</sup>, положительно коррелируют с уровнем воспаления в коже, а процент CXCR3<sup>+</sup> Т-клеток памяти негативно коррелирует с уровнем воспаления [30].

Регуляторные клетки CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg играют ключевую роль в периферической толерантности, предотвращая развитие иммунного ответа на аутоантигены и аллергены. Tregs мигрируют в ответ на хемокины CCL17 и CCL22 [31]. Накопление и активация Tregs регулируются хемокинами CXCL10 и их рецепторами CXCR3. Хемокины CXCL4 также повышены при хронических воспалениях. Антагонисты CXCL4 ингибируют процент Tregs путем блокирования сигнальных путей, ассоциированных с STAT5 [32]. Продвижение Tregs клеток в кожу через эпителиальный барьер регулируется хемокинами CCL17 и CCL22. Примерно 90% Treg клеток экспрессируют рецепторы CCR4, которые позволяют им распознавать хемокины CCL17 и CCL22 [33]. Хемокины CCL22 преимущественно секретируются дендритными клетками, регулируют миграцию Tregs за счёт связывания рецептора CCR4. IL-33 стимулирует синтез CCL2, которые, в свою очередь, вызывают перемещение Tregs. При аллергических заболеваниях кожи уровень CCR4<sup>+</sup> Th2 клеток, а также уровень хемокинов CCL22 и CCL17 в сыворотке крови, повышены [34].

Цитотоксические CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты секретируют хемокины, которые привлекают другие клетки иммунной системы в очаг воспаления. Далее мы проанализировали экспрессию хемокиновых рецепторов на цитотоксических лимфоцитах (табл. 5). Мы установили, что ожирение ассоциировано с повышением хемокиновых рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3 на CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитах, что отражает их способность отвечать на регуляторные хемокины и аккумулироваться в жировой ткани.

Было показано, что экспрессия рецептора CCR5 достоверно возрастает у больных с ожирением. Так как CCR5 отвечает за направленное движение CTL, В-лимфоцитов, NK и других клеток в жировую ткань [19], можно говорить об активации локального иммунного ответа в жировой ткани при ожирении.

Также показано повышение экспрессии рецептора CX3CR1, который способствуют миграции CD8<sup>+</sup> Т-клеток через эндотелий [20].

Таблица 3

Экспрессия рецепторов хемокинов (интенсивность флуоресценции, в условных единицах) на субпопуляции Th1 клеток в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела

Рецепторы	Пациенты		<i>p</i> < 0,05
	Норма (n = 46)	Ожирение (n = 46)	
CXCR3, mean	152 ± 7	199 ± 11	да
CXCR7, mean	54 ± 5	62 ± 6	нет
CCR5, mean	85 ± 8	118 ± 8	да
CCR1, mean	79 ± 5	102 ± 6	да

Таблица 4

Экспрессия рецепторов хемокинов (интенсивность флуоресценции, в условных единицах) на отдельных субпопуляциях CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела

Рецепторы	Пациенты		<i>p</i> < 0,05
	Норма (n = 46)	Ожирение (n = 46)	
CXCR4, mean	152 ± 7	199 ± 11	да
CCR4, mean	54 ± 5	62 ± 6	нет
CCR6, mean	85 ± 8	118 ± 8	да
CCR7, mean	79 ± 5	102 ± 6	да
CCR9, mean	101 ± 4	126 ± 4	да

Известно, что CXCR3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клетки продуцируют TNF $\alpha$  и другие провоспалительные цитокины в ответ на неспецифическую активацию [22], поэтому установленное в нашей работе повышение экспрессии рецептора CXCR3<sup>+</sup> на CD8<sup>+</sup> Т-клетках указывает на их участие в воспалительном процессе в жировой ткани.

Полученные нами результаты по экспрессии хемокиновых рецепторов на субпопуляциях Т-клеток позволяют сделать следующие выводы:

1) У пациентов с ожирением в периферической крови достоверно повышен уровень CD4<sup>+</sup> Т-клеток, Т-хелперов первого порядка (Th1), регуляторных Т-клеток (Treg), наивных Т-клеток и Т-клеток памяти.

2) Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7, CCR9 достоверно повышена на субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при ожирении.

3) Установлено, что ожирение ассоциировано с повышением хемокиновых рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3 на CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитах, что отражает их способность отвечать на регуляторные хемокины и накапливаться в жировой ткани.

В данной работе также показано, что у пациентов с ожирением имеется тенденция к повышению общего уровня В-лимфоцитов в периферической крови. Известно, что В-клетки состоят из нескольких субпопуляций, в том числе, CD19<sup>+</sup> CD23<sup>+</sup> (В-2 лимфоциты), CD19<sup>+</sup> CD23<sup>-</sup> (В-1), CD19<sup>+</sup> CD23<sup>-</sup> CD5<sup>+</sup> (В-1а), CD19<sup>+</sup> CD23<sup>-</sup> CD5<sup>-</sup> (В-1b), CD19<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup> CD1d<sup>hi</sup> (В-10), а также двойных негативных В-клеток, которые секретируют аутоиммунные антитела, но не способны производить противовирусные антитела. Эти лимфоциты обладают провоспалительным фенотипом, продуцируют высокий уровень реактивных метаболитов кислорода и играют роль в активации воспаления в жировой ткани [35, 36]. В нашей работе показан только общий уровень В-клеток, так как изучение их субпопуляций требует отдельной статьи, но важно то, что при ожирении имеется вклад В-клеток в развитие подострого воспаления в жировой ткани.

Далее мы определили состав субпопуляций среди CD4<sup>+</sup> Т-клеток и установили, что достоверно повышен процент наивных Т-клеток, Т-клеток памяти, регуляторных Т-клеток и Т-хелперов первого порядка (Th1). При этом не было достоверного повышения уровня

Т-хелперов второго порядка (Th2). В нормальном физиологическом состоянии Th1 и Th2 клетки существенно различаются по экспрессии рецепторов хемокинов. Th1 лимфоциты мигрируют в очаг воспаления в коже в зависимости от хемокинов и экспрессии их GPCR рецепторов, тогда как Th2 лимфоциты мигрируют в очаг воспаления в зависимости от экспрессии интегринов  $\alpha$ V $\beta$ 3 [37]. То есть, различия в экспрессии рецепторов хемокинов определяют возможность преимущественного накопления Th1 клеток в жировой ткани за счет направленной миграции. При ожирении это создает основу для синтеза провоспалительных цитокинов в локальном микроокружении жировой ткани. Мы определяли Th1 клетки как CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CXCR3<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> Т-лимфоциты, так как рецепторы CXCR3 и CCR5 рассматриваются как маркеры Th1 клеток. Несмотря на то, что большинство CCR3<sup>+</sup> и CCR8<sup>+</sup> клеток не относятся к Th2 лимфоцитам, наличие двойной положительной окраски CCR3<sup>+</sup> CCR8<sup>+</sup> идентифицирует Th2 клетки [28]. То есть, согласно нашим данным, именно различия в экспрессии рецепторов хемокинов CXCR3<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> и CCR3<sup>+</sup> CCR8<sup>+</sup> определяют повышение уровня той или иной субпопуляции Т-хелперов при ожирении. Эти рецепторы распознают разные хемокины, что регулирует особенности их направленной миграции. Th2 хелперы также секретируют растворимые хемокиновые рецепторы CCR4, которые распознают хемокины CCL22 и CCL17. При снижении связывающей способности рецепторов CCR4 усиливается миграция клеток в ответ на хемокины CCL22 и CCL17 [34].

Значение хемокинов, сопряженных с Th1 и Th2 хелперами, можно оценить по их участию в развитии гипертрофических рубцов. Хемокины CXCL10, CXCL12 экспрессируются при развитии нормальных швов, тогда как хемокины CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL13, CX3CL1 экспрессируются именно при гипертрофических рубцах и не экспрессируются при нормальном заживлении ран. При этом в пролиферативной фазе повышен уровень хемокинов CCL14, CCL19, CCL21, а хемокины CCL2, CCL4, CCL5, CX3CL1 определяются длительное время после начала рубцевания ткани [38].

Регуляторные клетки CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg играют ключевую роль в периферической толерантности, предотвращая развитие иммунного ответа на аутоантигены и аллергены. Tregs мигрируют в ответ на хемокины CCL17 и CCL22 [31].

Накопление и активация Tregs регулируются хемокинами CXCL10 и их рецепторами CXCR3. Хемокины CXCL4 также повышены при хронических воспалениях. Антагонисты CXCL4 снижают процент Tregs путем блокирования сигнальных путей, ассоциированных с STAT5 [32]. Продвижение Tregs клеток в кожу через эпителиальный барьер регулируется хемокинами CCL17 и CCL22. Примерно 90% Tregs клеток экспрессируют рецепторы CCR4, которые позволяют им распознавать хемокины CCL17 и CCL22 [33]. Хемокины CCL22 преимущественно секретируются дендритными

Таблица 5

Данные проточной цитометрии (интенсивность флуоресценции, в условных единицах) по экспрессии рецепторов хемокинов на субпопуляции CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела

Субпопуляции Т-лимфоцитов	Пациенты		<i>p</i> < 0,05
	Норма (n = 46)	Норма (n = 46)	
CX3CR1, mean	108 ± 4	131 ± 7	да
CXCR3, mean	96 ± 5	118 ± 3	да
CCR5, mean	145 ± 9	172 ± 5	да

клетками, регулируют миграцию Tregs за счёт связывания рецептора CCR4. IL-33 стимулирует синтез CCL2, которые, в свою очередь, вызывают перемещение Tregs. При аллергических заболеваниях кожи уровень CCR4<sup>+</sup> Th2 клеток, а также уровень хемокинов CCL22 и CCL17 в сыворотке крови, повышены [34].

В настоящее время обнаружено около 150 субпопуляций CD4<sup>+</sup> T-клеток, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CCR5, среди этих клеток есть субпопуляция клеток памяти, CD25CD127<sup>+</sup> Tregs (10-20%), CXCR3CCR6<sup>-</sup> Th1-подобные клетки (20-50%), CCR6CD161CXCR3<sup>-</sup> Th17 – подобные клетки (20-40%), экспрессирующие интегрины α4β7 и перемещающиеся в кишечник (10-30%), экспрессирующие рецепторы хемокинов CCR4 и перемещающиеся в кожу (10-30%), CD62L<sup>+</sup> клетки с направленностью в лимфатические узлы (20-40%), CD38HLA-DR активированные клетки, а также CD27<sup>-</sup> CD28<sup>-</sup> CTL (до 30%), причем среди них есть CCR5Granzyme K<sup>+</sup> или CCR5Granzyme B<sup>+</sup>. В лимфоидных тканях обнаружена небольшая популяция CD69<sup>+</sup> Granzyme K<sup>+</sup> CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T лимфоцитов [24]. Это говорит о многоуровневой регуляции хемокинами межклеточных взаимодействий в иммунной системе. Нарушение этих взаимодействий при ожирении обуславливает привлечение клеток, секретирующих провоспалительные цитокины и хемокины в жировую ткань с последующим развитием воспаления.

После операции абдоминопластики в месте операционного шва происходят нарушения межклеточных взаимодействий, снижение оксигенации тканей, активация апоптоза. Дополнительная миграция в эту зону клеток с провоспалительным потенциалом создает условия для развития воспаления и последующего формирования грубого рубца.

Исследование хемокинов дает возможность использования их ингибиторов и активаторов для восстановления нормальной регуляции межклеточных взаимодействий и предотвращения негативных последствий после операции абдоминопластики.

## Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об изменении в системе регуляции хемокинов и их рецепторов при ожирении, что является патогенетической основой для развития локального воспаления в жировой ткани и может способствовать развитию осложнений после операции абдоминопластики.

## Список литературы

1. Копасов А.Е., Блохин С.Н., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Экспрессия хемокинов в нейтрофилах и клетках подкожно-жировой клетчатки при абдоминопластике у пациентов с ожирением и нормальной массой тела. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 167(6): 682-685.
2. Копасов А.Е., Морозов С.Г. Сравнение хемотаксических свойств и экспрессии рецепторов нейтрофилов у пациентов с ожирением и нормальным весом после проведения абдоминопластики. *Патогенез*. 2016; 14(4): 51-56.

3. Копасов А.Е., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Экспрессия хемокинов, ассоциированных с моноцитами, в клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала больных при проведении абдоминопластики. *Патогенез*. 2017; 15(3): 70-78.
4. Копасов А.Е., Морозов С.Г. Отдаленные результаты абдоминопластики у женщин с ожирением разной степени и их связь с состоянием клеток жировой ткани. *Анналы пластической реконструктивной и эстетической хирургии*. 2017; (1): 100-101.
5. Копасов А.Е., Иванченко О.Б., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Участие макрофагов в защите кожи и подкожно-жировой ткани от микроскопических грибов после операции абдоминопластики. *Иммунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2017; Прил. 1: 42-44.
6. Морозов С.Г., Копасов А.Е. Киназа mTORγ и ассоциированные с нею белки в клетках кожи, выделенных при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(3): 40-46. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.40-46
7. Копасов А.Е., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Уровень хемокинов, продуцируемых кератиноцитами и фибробластами кожи, при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(3): 47-53. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.47-53
8. Milling S. Adipokines and the control of mast cell functions: from obesity to inflammation? *Immunology*. 2019; 158(1): 1-2. DOI: 10.1111/imm.13104
9. Bapat S., Liang Y., Zheng Y. Characterization of Immune Cells from Adipose Tissue. *Curr. Protoc. Immunol*. 2019; 126(1): e86. DOI: 10.1002/cpim.86
10. Lewis D., Lysaght J., Wu H. T cell alterations in adipose tissue during obesity, HIV, and cancer. *Front. Immunol*. 2019; 10: 1190. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01190
11. Dobner J., Kaser S. Body mass index and the risk of infection - from underweight to obesity. *Clin. Microbiol. Infect.* 2018; 24(1): 24-28. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.02.013
12. Sattler F., Mert M., Sankaranarayanan I., Mack W., Galle-Treger L., Gonzalez E., Baronikian L., Lee K., Jahani P., Hodis H., Dieli-Conwright C., Akbari O. Feasibility of quantifying change in immune white cells in abdominal adipose tissue in response to an immune modulator in clinical obesity. *PLoS One*. 2020; 15(9): e0237496. DOI: 10.1371/journal.pone.0237496
13. Cruz-Mejía S, Durán-López H., Navarro-Meza M., Xochihua-Rosas I., De la Peña S., Arroyo-Helguera O. Body mass index is associated with interleukin-1, adiponectin, oxidative stress and ioduria levels in healthy adults. *Nutr. Hosp.* 2018; 35(4): 841-846. DOI: 10.20960/nh.1614
14. Alomar S., Gentili A., Zaibi M., Kepczyńska M., Trayhurn P. IL-1β (interleukin-1β) stimulates the production and release of multiple cytokines and chemokines by human preadipocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 2016; 122(3): 117-22. DOI: 10.3109/13813455.2016.1156706
15. Sindhu S., Thomas R., Kochumon S., Wilson A., Abu-Farha M., Bennakhi A., Al-Mulla F., Ahmad R. Increased adipose tissue expression of interferon regulatory factor (IRF)-5 in obesity: Association with metabolic inflammation. *Cells*. 2019; 8(11): 1418. DOI: 10.3390/cells8111418
16. Wolf R., Jaffe A., Steele K., Schweitzer M., Magnuson T., Wolfe A., Wong G. Cytokine, chemokine, and cytokine receptor changes are associated with metabolic improvements after bariatric surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 104(3): 947-956. DOI: 10.1210/je.2018-02245
17. Burke S., Karlstad M., Eder A., Regal K., Lu D., Burk D., Collier J. Pancreatic β-cell production of CXCR3 ligands precedes diabetes onset. *BioFactors*. 2016; 42(6): 703-715. DOI: 10.1002/biof.1304
18. Kochumon S., Al-Rashed F., Abu-Farha M., Devarajan S., Tuomilehto J., Ahmad R. Adipose tissue expression of CCL19 chemokine is positively associated with insulin resistance. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2019; 35(2): e3087. DOI: 10.1002/dmrr.3087
19. Niño J., Pigeon S., Tay S., Colakoglu F., Kempe D., Hywood J., Mazalo JK, Cremasco J., Govendir M.A., Dagley L.F., Hsu K., Rizzetto S., Zieba J., Rice G., Prior V., O'Neill G.M., Williams R.J., Nisbet D.R., Kramer B., Webb A.I., Luciani F., Read M.N., Biro M. Cytotoxic T cells swarm by homotypic chemokine signalling. *Elife*. 2020; 9: e56554. DOI: 10.7554/eLife.56554
20. Panigrahi S., Chen B., Fang M., Potashnikova D., Komissarov A., Lebedeva A., Michaelson G.M., Wyrick J.M., Morris S.R., Sieg S.F.,

- Paiardini M., Villinger F.J., Harth K., Kashyap V.S., Cameron M.J., Cameron C.M., Vasilieva E., Margolis L., Younes S.-A., Funderburg N.T., Zidar D.A., Lederman M.M., Freeman M.L. CX3CL1 and IL-15 promote CD8 T cell chemoattraction in HIV and in atherosclerosis. *PLoS Pathog.* 2020; 16(9): e1008885. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008885
21. Conroy M., Maher S., Melo A., Doyle S., Foley E., Reynolds J., Long A., Lysaght J. Identifying a novel role for fractalkine (CX3CL1) in memory CD8 + T cell accumulation in the omentum of obesity-associated cancer patients. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1867. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01867
  22. De Simone G., Mazza E., Cassotta A., Davydov A., Kuka M., Zanon V., De Paoli F., Scamardella E., Metsger M., Roberto A., Pilipow K., Colombo F.S., Tenedini E., Tagliafico E., Gattinoni L., Mavilio D., Peano C., Price D.A., Singh S.P., Farber J.M., Serra V., Cucca F., Ferrari F., Orrù V., Fiorillo E., Iannacone M., Chudakov D.M., Sallusto F., Lugli E. 6CXCR3 identifies human Naive CD8+T Cells with enhanced effector differentiation potential. *J. Immunol.* 2019; 203(12): 3179-3189. DOI: 10.4049/jimmunol.1901072
  23. Audemard-Verger A., Pillebout E., Jamin A., Berthelot L., Aufray C., Martin B., Sannier A., Daugas E., Déchanet-Merville J., Richard Y., Monteiro R., Lucas B. Recruitment of CXCR3+T cells into injured tissues in adult IgA vasculitis patients correlates with disease activity. *J. Autoimmun.* 2019; 99: 73-80. DOI: 10.1016/j.jaut.2019.01.012
  24. Zaunders J., Munier C., McGuire H., Law H., Howe A., Xu Y., Fazekas de St Groth B., Schofield P., Christ D., Milner B. Obeid S., Dyer W.B. Saksena N.K., Kelleher A.D. Mapping the extent of heterogeneity of human CCR5+ CD4+ T cells in peripheral blood and lymph nodes. *AIDS.* 2020; 34(6): 833-848. DOI: 10.1097/QAD.0000000000002503
  25. Chauveau A., Pirogova G., Cheng H., De Martin A., Zhou F., Wideman S., Rittscher J., Ludewig B., Arnon T.I. Visualization of T cell migration in the spleen reveals a network of perivascular pathways that guide entry into T zones. *Immunity.* 2020; 52(5): 794-807. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.03.010
  26. Borgers J., Tobin R., Vorwald V., Smith J., Davis D., Kimball A., Clambey E., Coutts K., McWilliams J., Jordan K., Torphy R., Schulick R., McCarter M. High-dimensional analysis of postsplenectomy peripheral immune cell changes. *Immunohorizons.* 2020; 4(2): 82-92. DOI: 10.4049/immunohorizons.1900089
  27. Matti C., D'Uonno G., Artinger M., Melgrati S., Salnikov A., Thelen S., Purvanov V., Strobel T., Spannagel L., Thelen M., Legler D. CCL20 is a novel ligand for the scavenging atypical chemokine receptor 4. *J. Leukoc. Biol.* 2020; 107(6): 1137-1154. DOI: 10.1002/JLB.2MA0420-295RRR
  28. Watanabe S., Yamada Y., Murakami H. Expression of Th1/Th2 cell-related chemokine receptors on CD4+ lymphocytes under physiological conditions. *Int. J. Lab. Hematol.* 2020; 42(1): 68-76. DOI: 10.1111/ijlh.13141
  29. Blokland S., Kislak A., Homey B., Smithson G., Kruijze A., Radstake T., van Roon J. Decreased circulating CXCR3 + CCR9+T helper cells are associated with elevated levels of their ligands CXCL10 and CCL25 in the salivary gland of patients with Sjögren's syndrome to facilitate their concerted migration. *Scand. J. Immunol.* 2020; 91(3): e12852. DOI: 10.1111/sji.12852
  30. Diani M., Galasso M., Cozzi C., Sgambelluri F., Altomare A., Cigni C., Frigerio E., Drago L., Volinia S., Granucci F., Altomare G., Reali E. Blood to skin recirculation of CD4+ memory T cells associates with cutaneous and systemic manifestations of psoriatic disease. *Clin. Immunol.* 2017; 180: 84-94. DOI: 10.1016/j.clim.2017.04.001
  31. Magnotti E., Chan L., Zhu Q., Marasco W. A high-throughput chemotaxis detection method for CCR4 + T cell migration inhibition using image cytometry. *J. Immunol. Methods.* 2020; 479: 112747. DOI: 10.1016/j.jim.2020.112747
  32. Huang K., Ge S. The anti-CXCL4 antibody depletes CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in CD4+ T cells from chronic osteomyelitis patients by the STAT5 pathway. *Ann. Palliat. Med.* 2020; 9(5): 2723-2730. DOI: 10.21037/apm-20-166
  33. Marshall L., Marubayashi S., Jorapur A., Jacobson S., Zibinsky M., Robles O., Hu D.X., Jackson J.J., Pookot D., Sanchez J., Brovarney M., Wadsworth A., Chian D., Wustrow D., Kassner P.D., Cutler G., Wong B., Brockstedt D.G., Talay O. Tumors establish resistance to immunotherapy by regulating Treg recruitment via CCR4. *J. Immunother. Cancer.* 2020; 8(2): e000764. DOI: 10.1136/jitc-2020-000764
  34. Anderson C., Patel P., Viney J., Phillips R., Solari R., Pease J. A degradatory fate for CCR4 suggests a primary role in Th2 inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2020; 107(3): 455-466. DOI: 10.1002/JLB.2A0120-089RR
  35. Frasca D., Diaz A., Romero M., Thaller S., Blomberg B. Metabolic requirements of human pro-inflammatory B cells in aging and obesity. *PLoS One.* 2019; 14(7): e0219545. DOI: 10.1371/journal.pone.0219545
  36. Sriakulapu P., McNamara C. B lymphocytes and adipose tissue inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020; 40(5): 1110-1122. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312467
  37. Gaylo-Moynihan A., Prizant H., Popović M., Fernandes N., Anderson C., Chiou K., Bell H., Schrock D.C., Schumacher J., Capece T., Walling B.L., Topham D.J., Miller J., Smrcka A.V., Kim M., Hughson A., Fowell D.J. Programming of distinct chemokine-dependent and -independent search strategies for Th1 and Th2 cells optimizes function at inflamed sites. *Immunity.* 2019; 51(2): 298-309. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.06.026
  38. Chen B., Li H., Xia W. The role of Th1/Th2 cell chemokine expression in hypertrophic scar. *Int. Wound J.* 2020; 17(1): 197-205. DOI: 10.1111/iwj.13257

## References

1. Kopasov A.E., Blokhin S.N., Volkova E.N., Morozov S.G. [Expression of chemokines in neutrophils and subcutaneous fat cells during abdominoplasty in obese patients with normal body weight]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2019; 167(6): 682-685. (in Russian)
2. Kopasov A.E., Morozov S.G. [Comparison of chemotactic properties and neutrophil receptor expression in obese and normal weight patients after abdominoplasty operation]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2016; 14(4): 51-56. (in Russian).
3. Kopasov A.E., Blokhin S.N., Morozov S.G. [Monocyte-associated chemokine expression in cells from subcutaneous adipose tissue isolated from operation material of patients during abdominoplasty]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2017; 15(3): 70-78. (in Russian).
4. Kopasov A.E., Morozov S.G. [Long-term results of abdominoplasty in women with various degrees of obesity and their relationship with the adipose tissue cell conditions]. *Annaly plasticheskoi rekonstruktivnoi i esteticheskoi khirurgii [Annals of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery]*. 2017; 1: 100-101. (in Russian).
5. Kopasov A.E., Morozov S.G. [Participation of macrophages in the skin and subcutaneous fat tissue protection from microscopic fungi after abdominoplasty]. *Immunopatologiya. Infektologiya. [Immunopathology. Allergology. Infectology]*. 2017; Suppl. 1: 42-44. (in Russian).
6. Morozov S.G., Kopasov A.E. [The mTOR kinase and its associated proteins in skin cells isolated during abdominoplasty in patients with normal body weight and obesity]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2020; 64(3): 40-46. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.40-46 (in Russian).
7. Kopasov A.E., Volkova E.N., Blokhin S.N., Morozov S.G. [Levels of keratinocyte- and fibroblast-derived chemokines in skin cells isolated from abdominoplasty surgical materials from patients with normal weight and obesity]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2020; 64(3): 47-53. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.47-53 (in Russian).
8. Milling S. Adipokines and the control of mast cell functions: from obesity to inflammation? *Immunology.* 2019; 158(1): 1-2. DOI: 10.1111/imm.13104
9. Bapat S., Liang Y., Zheng Y. Characterization of Immune Cells from Adipose Tissue. *Curr. Protoc. Immunol.* 2019; 126(1): e86. DOI: 10.1002/cpim.86
10. Lewis D., Lysaght J., Wu H. T cell alterations in adipose tissue during obesity, HIV, and cancer. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1190. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01190
11. Dobner J., Kaser S. Body mass index and the risk of infection - from underweight to obesity. *Clin. Microbiol. Infect.* 2018; 24(1): 24-28. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.02.013
12. Sattler F., Mert M., Sankaranarayanan I., Mack W., Galle-Treger L., Gonzalez E., Baronikian L., Lee K., Jahani P., Hodis H., Dieli-Conwright C., Akbari O. Feasibility of quantifying change in immune white cells in abdominal adipose tissue in response to an immune modulator in clinical obesity. *PLoS One.* 2020; 15(9): e0237496. DOI: 10.1371/journal.pone.0237496
13. Cruz-Mejía S., Durán-López H., Navarro-Meza M., Xochihua-Rosas I., De la Peña S., Arroyo-Helguera O. Body mass index is associated with interleukin-1, adiponectin, oxidative stress and ioduria levels in healthy adults. *Nutr. Hosp.* 2018; 35(4): 841-846. DOI: 10.20960/nh.1614

14. Alomar S., Gentili A., Zaibi M., Kępczyńska M., Trayhurn P. IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ) stimulates the production and release of multiple cytokines and chemokines by human preadipocytes. *Arch. Physiol. Biochem.* 2016; 122(3): 117–22. DOI: 10.3109/13813455.2016.1156706
15. Sindhu S., Thomas R., Kochumon S., Wilson A., Abu-Farha M., Bennakhi A., Al-Mulla F., Ahmad R. Increased adipose tissue expression of interferon regulatory factor (IRF)-5 in obesity: Association with metabolic inflammation. *Cells.* 2019; 8(11): 1418. DOI: 10.3390/cells8111418
16. Wolf R., Jaffe A., Steele K., Schweitzer M., Magnuson T., Wolfe A., Wong G. Cytokine, chemokine, and cytokine receptor changes are associated with metabolic improvements after bariatric surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 104(3): 947–956. DOI: 10.1210/je.2018-02245
17. Burke S., Karlstad M., Eder A., Regal K., Lu D., Burk D., Collier J. Pancreatic  $\beta$ -cell production of CXCR3 ligands precedes diabetes onset. *Biofactors.* 2016; 42(6): 703–715. DOI: 10.1002/biof.1304
18. Kochumon S., Al-Rashed F., Abu-Farha M., Devarajan S., Tuomilehto J., Ahmad R. Adipose tissue expression of CCL19 chemokine is positively associated with insulin resistance. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2019; 35(2): e3087. DOI: 10.1002/dmrr.3087
19. Niño J., Pagoon S., Tay S., Colakoglu F., Kempe D., Hywood J., Mazalo JK, Cremasco J., Govendir M.A., Dagley L.F., Hsu K., Rizzetto S., Zieba J., Rice G., Prior V., O'Neill G.M., Williams R.J., Nisbet D.R., Kramer B., Webb A.I., Luciani F., Read M.N., Biro M. Cytotoxic T cells swarm by homotypic chemokine signalling. *Elife.* 2020; 9: e56554. DOI: 10.7554/eLife.56554
20. Panigrahi S., Chen B., Fang M., Potashnikova D., Komissarov A., Lebedeva A., Michaelson G.M., Wyrick J.M., Morris S.R., Sieg S.F., Paiardini M., Villinger F.J., Harth K., Kashyap V.S., Cameron M.J., Cameron C.M., Vasilieva E., Margolis L., Younes S.-A., Funderburg N.T., Zidar D.A., Lederman M.M., Freeman M.L. CX3CL1 and IL-15 promote CD8 T cell chemoattraction in HIV and in atherosclerosis. *PLoS Pathog.* 2020; 16(9): e1008885. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008885
21. Conroy M., Maher S., Melo A., Doyle S., Foley E., Reynolds J., Long A., Lysaght J. Identifying a novel role for fractalkine (CX3CL1) in memory CD8 + T cell accumulation in the omentum of obesity-associated cancer patients. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1867. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01867
22. De Simone G., Mazza E., Cassotta A., Davydov A., Kuka M., Zanon V., De Paoli F., Scamardella E., Metsger M., Roberto A., Pilipow K., Colombo F.S., Tenedini E., Tagliafico E., Gattinoni L., Mavilio D., Peano C., Price D.A., Singh S.P., Farber J.M., Serra V., Cucca F., Ferrari F., Orrù V., Fiorillo E., Iannacone M., Chudakov D.M., Sallusto F., Lugli E. 6CXCR3 identifies human Naive CD8+T Cells with enhanced effector differentiation potential. *J. Immunol.* 2019; 203(12): 3179–3189. DOI: 10.4049/jimmunol.1901072
23. Audemard-Verger A., Pillebout E., Jamin A., Berthelot L., Aufray C., Martin B., Sannier A., Daugas E., Déchanet-Merville J., Richard Y., Monteiro R., Lucas B. Recruitment of CXCR3+T cells into injured tissues in adult IgA vasculitis patients correlates with disease activity. *J. Autoimmun.* 2019; 99: 73–80. DOI: 10.1016/j.jaut.2019.01.012
24. Zaunders J., Munier C., McGuire H., Law H., Howe A., Xu Y., Fazekas de St Groth B., Schofield P., Christ D., Milner B., Obeid S., Dyer W.B., Saksena N.K., Kelleher A.D. Mapping the extent of heterogeneity of human CCR5+ CD4+ T cells in peripheral blood and lymph nodes. *AIDS.* 2020; 34(6): 833–848. DOI: 10.1097/QAD.0000000000002503
25. Chauveau A., Pirogova G., Cheng H., De Martin A., Zhou F., Wide-man S., Rittscher J., Ludewig B., Arnon T.I. Visualization of T cell migration in the spleen reveals a network of perivascular pathways that guide entry into T zones. *Immunity.* 2020; 52(5): 794–807. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.03.010
26. Borgers J., Tobin R., Vorwald V., Smith J., Davis D., Kimball A., Clambey E., Coutts K., McWilliams J., Jordan K., Torphy R., Schulick R., McCarter M. High-dimensional analysis of postsplenectomy peripheral immune cell changes. *Immunohorizons.* 2020; 4(2): 82–92. DOI: 10.4049/immunohorizons.1900089
27. Matti C., D'Uonno G., Artinger M., Melgrati S., Salnikov A., Thelen S., Purvanov V., Strobel T., Spannagel L., Thelen M., Legler D. CCL20 is a novel ligand for the scavenging atypical chemokine receptor 4. *J. Leukoc. Biol.* 2020; 107(6): 1137–1154. DOI: 10.1002/JLB.2MA0420-295RRR
28. Watanabe S., Yamada Y., Murakami H. Expression of Th1/Th2 cell-related chemokine receptors on CD4+ lymphocytes under physiological conditions. *Int. J. Lab. Hematol.* 2020; 42(1): 68–76. DOI: 10.1111/ijlh.13141
29. Blokland S., Kislak A., Homey B., Smithson G., Kruize A., Radstake T., van Roon J. Decreased circulating CXCR3 + CCR9+T helper cells are associated with elevated levels of their ligands CXCL10 and CCL25 in the salivary gland of patients with Sjögren's syndrome to facilitate their concerted migration. *Scand. J. Immunol.* 2020; 91(3): e12852. DOI: 10.1111/sji.12852
30. Diani M., Galasso M., Cozzi C., Sgambelluri F., Altomare A., Cigni C., Frigerio E., Drago L., Volinia S., Granucci F., Altomare G., Reali E. Blood to skin recirculation of CD4+ memory T cells associates with cutaneous and systemic manifestations of psoriatic disease. *Clin. Immunol.* 2017; 180: 84–94. DOI: 10.1016/j.clim.2017.04.001
31. Magnotti E., Chan L., Zhu Q., Marasco W. A high-throughput chemotaxis detection method for CCR4 + T cell migration inhibition using image cytometry. *J. Immunol. Methods.* 2020; 479: 112747. DOI: 10.1016/j.jim.2020.112747
32. Huang K., Ge S. The anti-CXCL4 antibody depletes CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in CD4+ T cells from chronic osteomyelitis patients by the STAT5 pathway. *Ann. Palliat. Med.* 2020; 9(5): 2723–2730. DOI: 10.21037/apm-20-166
33. Marshall L., Marubayashi S., Jorapur A., Jacobson S., Zibinsky M., Robles O., Hu D.X., Jackson J.J., Poookot D., Sanchez J., Brovarney M., Wadsworth A., Chian D., Wustrow D., Kassner P.D., Cutler G., Wong B., Brockstedt D.G., Talay O. Tumors establish resistance to immunotherapy by regulating Treg recruitment via CCR4. *J. Immunother. Cancer.* 2020; 8(2): e000764. DOI: 10.1136/jitc-2020-000764
34. Anderson C., Patel P., Viney J., Phillips R., Solari R., Pease J. A degradation fate for CCR4 suggests a primary role in Th2 inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2020; 107(3): 455–466. DOI: 10.1002/JLB.2A0120-089RR
35. Frasca D., Diaz A., Romero M., Thaller S., Blomberg B. Metabolic requirements of human pro-inflammatory B cells in aging and obesity. *PLoS One.* 2019; 14(7): e0219545. DOI: 10.1371/journal.pone.0219545
36. Srikakulapu P., McNamara C. B lymphocytes and adipose tissue inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2020; 40(5): 1110–1122. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312467
37. Gaylo-Moynihan A., Prizant H., Popović M., Fernandes N., Anderson C., Chiou K., Bell H., Schrock D.C., Schumacher J., Capece T., Walling B.L., Topham D.J., Miller J., Smrcka A.V., Kim M., Hughson A., Fowell D.J. Programming of distinct chemokine-dependent and -independent search strategies for Th1 and Th2 cells optimizes function at inflamed sites. *Immunity.* 2019; 51(2): 298–309. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.06.026
38. Chen B., Li H., Xia W. The role of Th1/Th2 cell chemokine expression in hypertrophic scar. *Int. Wound J.* 2020; 17(1): 197–205. DOI: 10.1111/iwj.13257

### Сведения об авторах:

**Копасов Андрей Евгеньевич** — младший научный сотрудник лаборатории регуляции репаративных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; врач пластический хирург Клиники пластической и эстетической хирургии профессора Блохина С.Н. и доктора Вульфа И.А. «Frau Klinik»; <https://orcid.org/0000-0003-0078-7483>

**Волкова Елена Николаевна** — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции репаративных процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

**Сергей Георгиевич Морозов** — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>