

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-84-91>  
УДК 616.12-089-052:616.132.2-004.6:611.018.26-008.853.2

# FoxP3+ T-регуляторные лимфоциты жировой ткани при различной выраженности коронарного атеросклероза у пациентов кардиохирургического профиля

А.А. Дмитриюков

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (НИИ кардиологии Томского НИМЦ), 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

## Аннотация

**Введение.** Т-регуляторные (T-reg) лимфоциты как главные модуляторы иммунитета, присутствующие в эктопических очагах жировой ткани, могут участвовать в патогенезе атеросклероза. На сегодняшний день отсутствует информация о содержании Т-рег лимфоцитов, в особенности в эпикардимальной (ЭЖТ) и тимусной жировой (ТЖТ) ткани, у пациентов с коронарным атеросклерозом.

**Цель работы:** изучить содержание FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов периферической крови, ЭЖТ и ТЖТ у пациентов с коронарным атеросклерозом.

**Материал и методы.** В исследование были включены 26 пациентов кардиохирургического профиля с коронарным атеросклерозом. Пациенты были поделены на 2 группы по уровню индекса Gensini Score (GS): группу с выраженным коронарным атеросклерозом ( $GS > 26,5$ ;  $n = 15$ ) и группу без выраженного коронарного атеросклероза ( $GS \leq 26,5$ ;  $n = 11$ ). У всех пациентов методом проточной цитометрии с визуализацией определяли уровень ядерной транслокации FoxP3 и относительное содержание CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3 Т-рег лимфоцитов в периферической крови, ЭЖТ, ТЖТ и подкожной жировой ткани (ПЖТ).

**Результаты.** Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом характеризовалась статистически значимо более высокой медианой относительного содержания CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 Т-лимфоцитов (12,0 (6,5; 17,4) vs. 6,82 (3,32; 12,4) %;  $p = 0,031$ ) и статистически значимо более низкой медианой уровня ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 Т-лимфоцитов в ТЖТ (30,82 (18,50; 40,80) vs. 51,91 (25,9; 71,00) %;  $p = 0,048$ ). Выявлены статистически значимые корреляционные взаимосвязи между показателями FoxP3 Т-рег лимфоцитов в различных жировых депо и показателями липидного спектра (общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП)). Обнаружены обратные корреляционные взаимосвязи между клетками ЭЖТ и ТЖТ, в частности между относительным содержанием Т-рег лимфоцитов и уровнем ядерной транслокации FoxP3.

**Выводы.** Для пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом ( $GS > 26,5$  балла) характерно увеличение относительного содержания CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 Т-лимфоцитов в ТЖТ и снижение уровня ядерной транслокации FoxP3 в данной клеточной субпопуляции по сравнению с пациентами с умеренным атеросклерозом ( $GS \leq 26,5$  балла). Выявленные корреляционные взаимосвязи между относительным содержанием Т-рег лимфоцитов и уровнем ядерной транслокации FoxP3 в ТЖТ и ЭЖТ свидетельствуют о возможном существовании рециркуляции Т-рег лимфоцитов между указанными эктопическими жировыми депо.

## Ключевые слова:

эпикардимальная жировая ткань; тимус; Т-регуляторные лимфоциты; FoxP3; субклеточная локализация; проточная цитометрия с визуализацией; коронарный атеросклероз.

## Финансирование:

работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования № 122020300043–1.

## Соответствие принципам этики:

исследование было одобрено и проведено на базе Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 210 от 18.02.2021 г.). Дизайн был разработан в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Дмитрюков Алексей Александрович, e-mail: aldmn9k@mail.ru.

## Для цитирования:

Дмитрюков А.А. FoxP3+ T-регуляторные лимфоциты жировой ткани при различной выраженности коронарного атеросклероза у пациентов кардиохирургического профиля. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2024;39(4):84–91. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-84-91>.

# FoxP3+ T-regulatory lymphocytes in adipose tissue of cardiac surgery patients with different severity of coronary atherosclerosis

Alexey A. Dmitriukov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС),  
111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

## Abstract

**Introduction.** T-regulatory (T-reg) lymphocytes as the main modulators of immunity, present in ectopic adipose tissue focuses, may be involved in the pathogenesis of atherosclerosis. Currently there is a lack of data regarding T-reg lymphocyte counts, particularly in epicardial (EAT) and thymic adipose tissue (TAT) in patients with coronary atherosclerosis.

**Aim:** To study the contents of FoxP3+ T-regulatory lymphocytes of peripheral blood, epicardial and thymic adipose tissue in patients with coronary atherosclerosis.

**Materials and Methods.** The study included a total of 26 cardiosurgical profile patients with coronary atherosclerosis. Patients were divided into two groups via Gensini Score (GS): first group with severe coronary atherosclerosis (GS > 26.5;  $n = 15$ ) and second group without severe coronary atherosclerosis (GS ≤ 26.5;  $n = 11$ ). In all patients, the levels of FoxP3 nuclear translocation and the relative content of CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 and CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3 T-reg lymphocytes in peripheral blood, epicardial, thymic, and subcutaneous adipose tissue (SAT) were determined by flow cytometry with imaging.

**Results.** The group of patients with severe coronary atherosclerosis was characterised by a statistically significant higher median of relative content of CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-lymphocytes (12.0 (6.5; 17.4) vs. 6.82 (3.32; 12.4) %;  $p = 0.031$ ) and statistically significant lower median of nuclear translocation level of FoxP3 in CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-lymphocytes in TAT (30.82 (18.50; 40.80) vs. 51.91 (25.9; 71.00) %;  $p = 0.048$ ). Statistically significant correlations between FoxP3 T-reg lymphocyte parameters in different adipose depots and lipid spectrum markers (TC, HDL-C) were found. There were inverse correlations found between EAT and TAT, in particular, between the relative contents of T-reg lymphocytes and of the FoxP3 nuclear translocation level.

**Conclusion.** Patients with severe coronary atherosclerosis (GS > 26.5 points) were characterised by an increased relative content of CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-lymphocytes in thymic adipose tissue and a decreased level of FoxP3 nuclear translocation in this cell subpopulation compared to patients with moderate atherosclerosis (GS ≤ 26.5 points). Identified correlations between relative content of T-reg lymphocytes and the level of FoxP3 nuclear translocation in thymic and epicardial adipose tissues suggest potential existence of T-reg lymphocyte recirculation in-between these ectopic adipose depots.

**Keywords:**

epicardial adipose tissue; thymus; T-regulatory lymphocytes; FoxP3; subcellular localization; imaging flow cytometry; coronary atherosclerosis.

**Funding:**

the study was performed in the framework of fundamental research No. 122020300043-1.

**Compliance with ethical standards:**

the study was approved and conducted on the basis of the Research Institute of Cardiology – Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 210 from 18.02.2021). The design was developed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and “Rules of Clinical Practice in the Russian Federation” approved by Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 266 of 19.06.2003. All patients were asked to sign an informed consent to participate in the study.

**For citation:**

Dmitriukov A.A. FoxP3+ T-regulatory lymphocytes in adipose tissue of cardiac surgery patients with different severity of coronary atherosclerosis. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2024;39(4):84–91. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-84-91>.

## Введение

В последние годы все больше внимания уделяется роли жировой ткани в возникновении и прогрессировании метаболических нарушений и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Так, например, висцеральный жир имеет наибольшую взаимосвязь с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, в то время как подкожная жировая ткань (ПЖТ) вносит незначительный вклад в метаболические нарушения [1]. Висцеральный жир можно подразделить на три основных компартмента по локализации: внутрибрюшной, внутритазовый и внутригрудной. Последний из них наименее изучен, так как, с одной стороны, он труднодоступен с точки зрения инвазивных методик, а с другой стороны, невозможно экстраполировать на человека данные, полученные в экспериментах на животных, из-за видоспецифичных различий в распределении жировых депо.

Самое жировое депо часто вовлечено в патологический процесс как на системном, так и на локальном уровне через паракринное воздействие адипоцитокинов и хемокинов, особенно в случаях общего кровоснабжения с очагом патогенеза. Одним из таких депо является эпикардиальная жировая ткань (ЭЖТ). Она составляет до 15% от массы сердца, расположена внутри от висцерального листка перикарда и непосредственно прилегает к миокарду, кровоснабжается вместе с ним от коронарных артерий, а также имеет общую с миокардом микроциркуляцию, что облегчает паракринное взаимодействие [2]. Следует отметить, что ЭЖТ отличается по своему секретому даже от ближайшего депо – перикардиальной жировой ткани. На уровне метаболизма ЭЖТ является основным источником жирных кислот для экстренных энергозатрат миокарда, а также имеет термогенин, характерный для бурой и бежевой жировой ткани [3]. Учитывая, что такие параметры ЭЖТ, как толщина и содержание адипоцитокинов тесно связаны с течением заболевания, имеются предпосылки для того, чтобы предположить активное участие ЭЖТ в регуляции иммунометаболизма и способности ЭЖТ как уникального депо с приоритетной локализацией, оказывать непосредственное влияние на атерогенез.

Известным фактом является вклад воспаления в патогенез коронарного атеросклероза [4]. Одним из ключевых регуляторов воспаления на клеточном уровне выступают Т-регуляторные лимфоциты (T-reg) с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FoxP3<sup>+</sup>. T-reg лимфоциты изначально считались клетками тимического происхождения, и именно они, как впоследствии оказалось, представляют большую часть популяции FoxP3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (до 90%), в то время как в висцеральной жировой ткани они могут составлять до 50% от популяции всех Т-лимфоцитов. Основной теорией возникновения T-reg лимфоцитов в жировой ткани является миграция их предшественников из тимуса в эмбриональный период и конвенционных Т-лимфоцитов из периферической крови [5]. В то же время существуют противоположные данные, свидетельствующие о том, что Т-лимфоциты с фенотипом CD25<sup>low</sup> в жировой ткани могут быть не только периферического происхождения [6]. Также следует отметить, что миграция и созревание T-reg лимфоцитов жировой ткани является многоступенчатым, зачастую нелинейным процессом под непрерывной модуляцией со стороны адипоцитов [7].

Популяция T-reg лимфоцитов гетерогенна не только по выраженности экспрессии молекулы CD25, но и

по уровню транслокации транскрипционного фактора FoxP3. Гетерогенность данных параметров можно объяснить с двух основных позиций. Во-первых, это источник клеточного происхождения, делящий T-reg лимфоциты на два основных пула: тимические и периферические. T-reg лимфоциты тимического происхождения изначально имеют более высокие уровни ядерной транслокации FoxP3, что, в свою очередь, обеспечивает повышенную экспрессию молекулы CD25 (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FoxP3<sup>+</sup>). Данный фенотип позволяет T-reg лимфоцитам выполнять иммуносупрессорную функцию на ранних этапах, благодаря способности CD25 к связыванию IL-2. T-reg лимфоциты периферического происхождения (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>FoxP3<sup>+</sup>), напротив, циркулируют на периферии в неактивированном состоянии и имеют цитоплазматическую локализацию транскрипционного фактора FoxP3. Однако при соответствующих условиях, таких как встреча таргетного антигена в должной концентрации и под воздействием клеточного и цитокинового окружения, свидетельствующего о текущем воспалении, T-reg лимфоциты периферического происхождения претерпевают ядерную транслокацию FoxP3 из цитоплазмы. Ядерная транслокация является обязательным фактором индукции иммуносупрессорных функций и влечет за собой повышенную экспрессию CD25, а также снижает экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как IL-2, IL-4 и фактора некроза опухоли (TNF-α).

Другим фактором, влияющим на гетерогенность клеточных фенотипов T-reg лимфоцитов, является их функциональное истощение как при клеточном старении, так и при длительной борьбе с воспалением. Известно, что морфофункциональное истощение T-reg лимфоцитов любого происхождения сопровождается снижением экспрессии молекулы CD25 и далеко не всегда ведет к клеточной гибели. Таким образом, субклеточная локализация транскрипционного фактора FoxP3 в ассоциации с выраженностью экспрессии молекулы CD25 позволяют судить о вовлеченности пула T-reg лимфоцитов в иммуносупрессорный процесс в заданном компартменте жировой ткани [8].

Тимус и ЖТТ также мало изучены, в особенности у пожилых пациентов с атеросклерозом. Тимус является ключевым органом Т-лимфоцитарного онтогенеза и играет важную роль в оптимизации функции иммунной системы на протяжении всей жизни. Кроме того, известно, что тимус играет роль не только на ранних этапах формирования и отбора T-reg лимфоцитов, но и в течение всего последующего жизненного цикла клетки. Особый интерес имеет рециркуляция T-reg лимфоцитов, которая жизненно необходима для поддержания как самого тимуса, так и рециркулирующих клеток. Было показано, что рециркулирующие T-reg лимфоциты способствуют регенерации тимуса при его повреждениях, в особенности у молодых особей [9]. С другой стороны, T-reg лимфоциты аналогично проходят через рестимуляцию тимическими эпителиальными клетками в ассоциации с геном AIRE [11]. Несмотря на общепризнанный факт возрастной инволюции тимуса, сопровождающейся замещением эпителиальной ткани жировой, показано, что тимус продолжает выполнять свои иммунные функции даже в зрелом возрасте. Жировая инволюция тимуса обусловлена воздействием множества факторов, каждый из которых вносит по-своему особый вклад на различных этапах старения. Так, основными факторами инволюции тимуса являются ин-

фекционный стресс, половые гормоны, гормоны тимуса; но особый интерес представляет инволюция, обусловленная экспансией адипоцитов. Известно, что адипоциты, в частности при ожирении, способствуют снижению позитивных факторов, тормозящих инволюцию тимуса, а также продукции негативных факторов, напротив, способствующих ускоренной инволюции [12]. Данное наблюдение подчеркивает общность взаимосвязи инволюции тимуса и коронарного атеросклероза через метаболическое нарушение липидного обмена. Причем атеросклероз в целом ассоциируется с более выраженным снижением функции тимуса [13, 14]. При этом присутствие Т-reg лимфоцитов в ТЖТ, ключевые параметры их иммуносупрессорного состояния и их взаимосвязи с метаболическим и воспалительным профилем пациентов, а также с выраженностью коронарного атеросклероза до сих пор не описаны.

Цель исследования: изучить содержание FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов периферической крови, ЭЖТ и ТЖТ у пациентов с коронарным атеросклерозом.

## Материал и методы

По дизайну данное изыскание является одноцентровым, одномоментным, сравнительным, наблюдательным исследованием.

Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте 40–75 лет; показания для проведения операции на открытом сердце (операция аортокоронарного шунтирования или протезирование аортального клапана); наличие данных селективной коронарографии.

Критерии исключения: любое острое сердечно-сосудистое заболевание или аортокоронарное шунтирование, перенесенные менее 6 мес. назад; любое острое воспалительное заболевание, перенесенное менее 1 мес. назад; тяжелая сопутствующая патология или онкологическое заболевание; отказ от участия в исследовании.

В исследовании были использованы данные 26 пациентов кардиохирургического профиля, из них 20 мужчин в возрасте 63,5 [55,0; 66,5] года и 6 женщин в возрасте 62,5 [57,0; 71,0] года. В ходе исследования для разделения пациентов на группы по выраженности коронарного атеросклероза был применен Gensini Score (GS) – широко распространенный индекс ангиографической оценки степени васкулярного стеноза. Расчет медианы GS был проведен на базе расширенной выборки пациентов кардиохирургического профиля. Медиана GS составила 26,5 балла. В группу с выраженным коронарным атеросклерозом ( $GS > 26,5$ ) вошли 15 пациентов, в группу сравнения – 11 пациентов без выраженного коронарного атеросклероза ( $GS \leq 26,5$ ), таблица 1.

**Таблица 1.** Характеристика пациентов, включенных в исследование  
**Table 1.** Characteristics of recruited patients

| Параметры                                    | Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом ( $GS > 26,5$ ; $n = 15$ ) | Группа пациентов без выраженного коронарного атеросклероза ( $GS \leq 26,5$ ; $n = 11$ ) | $p$   |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Пол (мужчины/женщины)                        | 14/1                                                                               | 6/5                                                                                      | 0,020 |
| Возраст, лет                                 | 63,0 (55,0; 68,0)                                                                  | 64,0 (53,0; 66,0)                                                                        | 0,849 |
| Пациенты с артериальной гипертонией, $n$ (%) | 14 (93,3)                                                                          | 9 (81,8)                                                                                 | 0,384 |

Окончание табл. 5  
End of table5

| Параметры                                       | Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом ( $GS > 26,5$ ; $n = 15$ ) | Группа пациентов без выраженного коронарного атеросклероза ( $GS \leq 26,5$ ; $n = 11$ ) | $p$   |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Длительность артериальной гипертонии, лет       | 15,0 (5,0; 17,0)                                                                   | 9,5 (5,0; 15,0)                                                                          | 0,567 |
| Пациенты с сахарным диабетом 2-го типа, $n$ (%) | 3 (20,0)                                                                           | 2 (18,1)                                                                                 | 0,629 |
| Длительность сахарного диабета 2-го типа, лет   | 0,0 (0,0; 7,0)                                                                     | 0,0 (0,0; 0,0)                                                                           | 0,776 |
| Индекс массы тела, $кг/м^2$                     | 29,3 (28,0; 31,9)                                                                  | 29,0 (27,2; 31,6)                                                                        | 0,984 |
| Окружность талии, см                            | 103,0 (97,0; 111,0)                                                                | 105,1 (101,1; 113,0)                                                                     | 0,795 |
| Прием статинов, $n$ (%)                         | 15 (100,0)                                                                         | 7 (63,6)                                                                                 | 0,002 |

У пациентов было проведено взятие периферической крови за сутки до оперативного вмешательства для последующего получения мононуклеарной фракции лейкоцитов на градиенте плотности. Из образцов ТЖТ, ЭЖТ и ПЖТ, полученных в ходе операции, ферментативным методом была выделена стромально-сосудистая фракция. Для фенотипирования FoxP3+ Т-лимфоцитов были использованы FITC-меченые анти-CD4, PE-меченые анти-CD25 моноклональные антитела и APC-Cy7-меченые анти-CD45 моноклональные антитела (BD eBiosciences, США). После окрашивания поверхностных маркеров клетки были подвержены фиксации и пермеабиллизации с помощью специализированных буферных растворов, предназначенных для детекции внутриядерных маркеров (eBioscience, США). Затем клетки были проинкубированы с AF647-мечеными анти-FoxP3 антителами (BD eBiosciences, США), зафиксированы и окрашены ДНК-тропным красителем 7-аминоактиномицином D (7-AAD). Сбор клеток был проведен на приборе Amnis FlowSight с лазерами 488 нм и 642 нм в программе INSPIRE. При помощи программы IDEAS 2.0 было оценено относительное содержание CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ Т-лимфоцитов, а также уровень ядерной локализации FoxP3 в них. Для определения уровня ядерной локализации FoxP3 был применен мастер для анализа изображения Nuclear Localization Wizard.

Также в исследование вошли данные антропометрии (индекс массы тела, окружность талии, индекс висцерального ожирения), данные эхокардиографии (толщина ЭЖТ), показатели углеводного обмена (глюкоза, гликированный гемоглобин), липидного спектра (содержание триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеинов высокой и низкой плотности (ХС-ЛВП и ХС-ЛНП)).

Статистическая обработка была проведена в программе STATISTICA 12.0. Количественные показатели были представлены медианой, нижним и верхним квартилями  $Me$  ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ). Для сравнения количественных показателей в 2 независимых группах был применен непараметрический критерий Манна – Уитни. Категориальные показатели сравнивались в этих группах с помощью точного критерия Фишера. Для исследования взаимосвязей между количественными показателями в общей группе был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был принят за 0,05.



## Результаты

Сравнение групп пациентов с различной выраженностью коронарного атеросклероза показало статистически значимые различия как на уровне метаболических параметров, так и на клеточном уровне. В группе с выраженным коронарным атеросклерозом медиана относительного содержания CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ТЖТ была выше по сравнению с пациентами группы без выраженного коронарного атеросклероза (12,0 [6,5; 17,4] vs. 6,82 [3,32; 12,4] %;  $p = 0,031$ ), таблица 2. Однако медиана доли клеток с ядерной транслокацией FoxP3 в

ТЖТ группы с выраженным атеросклерозом, наоборот, была ниже (30,82 [18,50; 40,80] vs. 51,91 [25,9; 71,00] %;  $p = 0,048$ ), таблица 3.

Метаболические параметры в группах пациентов с различным уровнем GS, за исключением ХС-ЛВП, статистически значимо не различались. Пациенты с выраженным коронарным атеросклерозом характеризовались статистически значимо более низкой медианой уровня ХС-ЛВП по сравнению с пациентами группы с менее выраженным атеросклеротическим поражением коронарных артерий (0,98 [0,83; 1,10] vs. 1,08 [1,00; 1,36] mM;  $p < 0,001$ ), таблица 4.

**Таблица 2.** Относительное содержание субпопуляций FoxP3+ лимфоцитов у пациентов, включенных в исследование,  $Me (Q_1; Q_3)$

**Table 2.** Content of FoxP3+ lymphocyte subpopulations of recruited patients,  $Me (Q_1; Q_3)$

| Параметры                               | Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом (GS > 26,5; $n = 15$ ) | Группа пациентов без выраженного коронарного атеросклероза (GS ≤ 26,5; $n = 11$ ) | $p$   |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты, % кровь | 5,98 (4,41; 6,69)                                                              | 6,19 (5,05; 7,55)                                                                 | 0,824 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты, % кровь | 0,88 (0,61; 1,49)                                                              | 1,36 (0,76; 1,53)                                                                 | 0,534 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты, % ЭЖТ   | 15,70 (7,64; 17,90)                                                            | 10,50 (7,30; 14,90)                                                               | 0,533 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты, % ЭЖТ   | 3,33 (2,53; 9,94)                                                              | 7,53 (4,01; 12,30)                                                                | 0,177 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты, % ПЖТ   | 15,80 (8,51; 20,00)                                                            | 8,76 (4,16; 19,50)                                                                | 0,336 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты, % ПЖТ   | 4,58 (1,79; 8,94)                                                              | 6,37 (3,09; 13,10)                                                                | 0,377 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты, % ТЖТ   | 9,44 (6,45; 17,40)                                                             | 4,87 (3,32; 12,40)                                                                | 0,031 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты, % ТЖТ   | 4,50 (2,16; 6,70)                                                              | 2,55 (0,67; 8,14)                                                                 | 0,533 |

Примечание: ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ТЖТ – тимусная жировая ткань; указана доля клеток от общей популяции CD4+ T-лимфоцитов.

**Таблица 3.** Относительное содержание CD25<sup>hi</sup> и CD25<sup>lo</sup> T-лимфоцитов с ядерной локализацией FoxP3

**Table 3.** Relative content of CD25<sup>hi</sup> and CD25<sup>lo</sup> T-lymphocytes with nuclear localization of FoxP3

| Параметры                                                            | Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом (GS > 26,5; $n = 15$ ) | Группа пациентов без выраженного коронарного атеросклероза (GS ≤ 26,5; $n = 11$ ) | $p$   |
|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % кровь | 95,60 (78,20; 97,20)                                                           | 86,15 (62,45; 94,10)                                                              | 0,286 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % кровь | 79,50 (71,20; 92,00)                                                           | 82,20 (58,70; 90,95)                                                              | 0,505 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ЭЖТ   | 19,20 (11,80; 27,20)                                                           | 32,00 (5,08; 37,20)                                                               | 0,466 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ЭЖТ   | 26,10 (14,50; 33,00)                                                           | 15,00 (5,26; 26,90)                                                               | 0,242 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ПЖТ   | 16,70 (0,00; 33,00)                                                            | 14,30 (7,81; 34,90)                                                               | 0,875 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ПЖТ   | 14,30 (0,00; 22,80)                                                            | 16,40 (0,00; 40,00)                                                               | 0,322 |
| CD25 <sup>hi</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ТЖТ   | 26,00 (18,50; 40,80)                                                           | 51,40 (25,90; 71,00)                                                              | 0,048 |
| CD25 <sup>lo</sup> T-лимфоциты с ядерной локализацией FoxP3, % ТЖТ   | 16,80 (10,80; 23,90)                                                           | 27,30 (11,70; 42,90)                                                              | 0,253 |

Примечание: ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ТЖТ – тимусная жировая ткань; указана доля клеток от всех CD25<sup>hi</sup> или CD25<sup>lo</sup> T-лимфоцитов соответственно.

**Таблица 4.** Метаболические параметры пациентов, включенных в исследование,  $Me (Q_1; Q_3)$

**Table 4.** Metabolic parameters of recruited patients,  $Me (Q_1; Q_3)$

| Параметры                   | Группа пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом (GS > 26,5; $n = 15$ ) | Группа пациентов без выраженного коронарного атеросклероза (GS ≤ 26,5; $n = 11$ ) | $p$   |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Глюкоза натощак, mM         | 6,57 (5,49; 7,37)                                                              | 5,65 (5,33; 6,68)                                                                 | 0,177 |
| Гликированный гемоглобин, % | 6,14 (5,88; 8,27)                                                              | 5,93 (5,32; 6,41)                                                                 | 0,182 |
| Триглицериды, mM            | 1,15 (0,97; 1,99)                                                              | 1,32 (1,22; 2,17)                                                                 | 0,543 |
| Общий холестерин, mM        | 3,80 (2,87; 4,03)                                                              | 5,11 (3,09; 5,66)                                                                 | 0,082 |
| Холестерин ЛВП, mM          | 0,98 (0,84; 1,07)                                                              | 1,17 (1,07; 1,56)                                                                 | 0,015 |
| Холестерин ЛНП, mM          | 1,90 (1,40; 2,45)                                                              | 3,18 (1,70; 3,70)                                                                 | 0,059 |

В результате корреляционного анализа в группе с выраженным коронарным атеросклерозом были выявлены статистически значимые прямые взаимосвязи между относительным содержанием CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3+ T-лимфоцитов в ПЖТ и ЭЖТ ( $r_s = 0,536$ ;  $p = 0,039$ ), а также между уров-

нями ядерной транслокации FoxP3 в CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ T-лимфоцитах в ПЖТ и CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитах в ЭЖТ ( $r_s = 0,598$ ;  $p = 0,018$ ). Уровень ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ТЖТ был статистически значимо связан с относительным содержа-

нием CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ЭЖТ ( $r_s = 0,631$ ;  $p = 0,011$ ). Содержание ОХ было статистически значимо обратно связано с уровнем ядерной транслокации FoxP3 в CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ T-лимфоцитах в ЭЖТ ( $r_s = -0,622$ ;  $p = 0,023$ ).

В группе сравнения были выявлены статистически значимые прямые взаимосвязи между относительными содержаниями CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ТЖТ с CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитами в ЭЖТ ( $r_s = 0,673$ ;  $p = 0,023$ ), с CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ T-лимфоцитами в ЭЖТ ( $r_s = 0,682$ ;  $p = 0,020$ ), а также обратные взаимосвязи относительного содержания CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ТЖТ с уровнем ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 ( $r_s = -0,761$ ;  $p = 0,006$ ) и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ ( $r_s = -0,790$ ;  $p = 0,004$ ) T-лимфоцитов в ЭЖТ. В ЭЖТ уровни ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ T-лимфоцитов были обратно связаны с относительным содержанием CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 ( $r_s = -0,662$ ;  $p = 0,026$ ) и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3+ ( $r_s = -0,858$ ;  $p = 0,012$ ) T-лимфоцитов. Уровень ХС-ЛВП был статистически значимо прямо связан с относительным содержанием CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ЭЖТ ( $r_s = 0,665$ ;  $p = 0,026$ ).

Для обеих групп пациентов были выявлены общие статистически значимые прямые корреляции между уровнем ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоцитов в ЭЖТ с уровнями ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 ( $r_s = 0,920$ ;  $p < 0,001$  vs.  $r_s = 0,738$ ;  $p = 0,010$ ) и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3 ( $r_s = 0,581$ ;  $p = 0,023$  vs.  $r_s = 0,647$ ;  $p = 0,031$ ) T-лимфоцитов в ТЖТ, а также с уровнем ядерной транслокации FoxP3 CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 ( $r_s = 0,659$ ;  $p = 0,038$  vs.  $r_s = 0,762$ ;  $p = 0,028$ ) T-лимфоцитов в периферической крови.

## Обсуждение

Полученные в результате исследования данные показали, что эпикардальное, тимусное и подкожное жировое депо у пациентов с различной выраженностью коронарного атеросклероза имеют существенные различия, причем особый интерес представляют различия в наборе корреляционных взаимосвязей между группами, свидетельствующие о механизмах иммунометаболической регуляции между жировыми депо.

В недавно опубликованных статьях описаны механизмы рециркуляции T-reg лимфоцитов в экспериментах на мышах. Так, предполагается, что CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 T-лимфоциты центрального происхождения и CD4+CD25<sup>lo</sup>FoxP3 T-лимфоциты с периферии мигрируют в неиммунные органы, в том числе в жировые депо. Далее при наличии воспаления они претерпевают морфофункциональные изменения с транслокацией транскрипционного фактора FoxP3 в ядро и увеличением экспрессии молекулы CD25. При последующем функциональном истощении T-reg лимфоциты частично теряют экспрессию CD25 и рециркулируют обратно в тимус, где они способны ингибировать образование T-reg лимфоцитов de novo, что может быть обратной негативной петлей в иммунной регуляции воспалительного аспекта атерогенеза [6, 15].

Несмотря на то, что наблюдения, представленные в данных литературы, были произведены на мышах, и рециркуляция была отмечена для периферических T-reg лимфоцитов и оси селезенка-тимус, наши результаты, полученные на жировой ткани, также отчасти согласуются с

гипотезой о важной роли рециркуляции T-reg лимфоцитов. Так, например, положительная корреляция уровней ядерной транслокации FoxP3 между ЭЖТ и ТЖТ в группе с выраженным атеросклерозом может отражать возврат клеток, прошедших активацию в ЭЖТ, обратно в тимус. В группе сравнения, напротив, достаточное относительное содержание T-reg лимфоцитов позволяет сдерживать воспалительный процесс, и меньшая фракция клеток претерпевает ядерную транслокацию FoxP3, что играет роль в частичной компенсации воспаления. Показательна взаимосвязь уровня ядерной транслокации FoxP3 в периферической крови с ЭЖТ для обеих групп как промежуточный этап миграции T-reg лимфоцитов, что может рассматриваться в качестве перспективного маркера состояния иммунорегуляции у пациентов с атеросклерозом. Несмотря на то, что рециркулировавшие и функционально истощенные T-reg лимфоциты ингибируют развитие новых регуляторных клеток, как было сказано ранее, сама рециркуляция и контакт с тимическими эпителиальными клетками и AIRE необходимы для рестимуляции T-reg лимфоцитов и поддержания их иммуносупрессорного потенциала. Таким образом, можно предполагать существование обязательной рециркуляции как минимум периферических T-reg лимфоцитов между всеми иммунными и неиммунными депо с двумя основными целями: во-первых, для повторной рестимуляции T-reg лимфоцитов продуктами гена AIRE и тимическими эпителиальными клетками [11]; во-вторых, для ограничения и регуляции прироста T-reg лимфоцитов, образующихся de novo [6]. Возможно, избыточное накопление морфофункционально истощенных клеток является одним из ключевых факторов, влияющих на нарушение баланса количественных и качественных параметров T-reg лимфоцитов в сторону избытка клеток с низким иммуносупрессорным потенциалом. В то же время механизмы связи уровней ядерной транслокации FoxP3 между ПЖТ и ЭЖТ требуют более глубокого изучения. Не совсем понятно, чем вызвана возможная ретенция T-reg лимфоцитов в жировом депо, наименее связанном с метаболическими отклонениями. Если будущие наблюдения подтвердят общность факторов, удерживающих T-reg лимфоциты в различных жировых депо, а также сам клеточный профиль, то будут все основания расширить источник коронарного атерогенеза с оси ЭЖТ-ТЖТ до всей висцеральной жировой ткани в целом, с точки зрения рециркуляции истощенных T-reg лимфоцитов.

Выявленные корреляции с ОХ и ХС-ЛВП, вероятнее всего, связаны с базисными механизмами патогенеза атеросклероза и являются косвенными. В то же время существуют данные о селективном выживании T-reg лимфоцитов в средах с высокой концентрацией ХС-ЛВП и о важной роли ХС-ЛВП в поддержании их жизнеспособности [16]. В частности, T-reg лимфоциты обладают повышенной экспрессией скавенджер-рецепторов (SR-BI/BII), способствующих ускоренному захвату и интернализации ХС-ЛВП. Несмотря на то, что T-reg лимфоциты используют в питании также глюкозу и свободные жирные кислоты, было установлено, что ХС-ЛВП играет важную роль в усиленном окислительном фосфорилировании и генерации АТФ. Более того, мыши с отсутствием гена, кодирующего SR-BI, имели аутоиммунные заболевания, схожие с нарушениями, вызываемыми мутациями транскрипционного фактора FoxP3 и селективной деплецией T-reg лимфоцитов, и компенсировали низкую выживаемость T-reg

лимфоцитов их усиленной экспансией [16, 17]. Помимо прочего установлено, что ХС-ЛВП обладает выраженными иммуномодуляторными свойствами в отношении CD4+ Т-лимфоцитов в целом.

Аналогично Т-reg лимфоцитам мутации, снижающие клеточный захват ХС-ЛВП, ингибируют развитие как тимических, так и циркулирующих CD4+ Т-лимфоцитов. Также ХС-ЛВП способствует увеличению клеточной активации через Т-клеточный рецептор, благодаря усилению ко-стимуляционного сигналинга. В то же время важно подчеркнуть, что ХС-ЛВП обеспечивает атеропротективный эффект через воздействие на различные клеточные субпопуляции Т-лимфоцитов. Так, ХС-ЛВП увеличивает протективный эффект со стороны Т-reg лимфоцитов и, напротив, снижает проатерогенный эффект со стороны Th1, Th17 и Tfh [17, 18]. Не менее интересным фактом является то, что ХС-ЛВП практически не влияет на выживаемость и пролиферацию клеток памяти и наивных клеток, в то время как клетки, прошедшие активацию, напротив, многократно повышают уровень окислительного фосфорилирования, затраты на которое покрываются интернализированными эфирами холестерина. Этим объясняется тот факт, что влияние ХС-ЛВП преимущественно оказывается на периферические Т-reg лимфоциты. Таким образом, Т-reg лимфоциты в группе пациентов без выраженного атеросклероза, с более высоким содержанием ХС-ЛВП, вероятно, обладают значимым преимуществом в выживании, иммунорегуляторных свойствах и метаболической активности по сравнению с пациентами с более выраженным атеросклерозом. Тем не менее, вклад показателей липидного спектра на адипоз-резидентные Т-reg лимфоциты требует дальнейшего изучения.

## Литература / References

1. AlZaim I., Hammoud S.H., Al-Koussa H., Ghazi A., Eid A.H., El-Yazbi A.F. Adipose tissue immunomodulation: A novel therapeutic approach in cardiovascular and metabolic diseases. *J. Front. Cardiovasc. Med.* 2020;7:1–40. DOI: 10.3389/fcvm.2020.602088.
2. Napoli G., Pergola V., Basile P., De Feo D., Bertrando F., Baggiano A. et al. Epicardial and pericardial adipose tissue, coronary inflammation, and acute coronary syndromes. *J. Clin. Med.* 2023;12(23):7212. DOI: 10.3390/jcm12237212.
3. Song Y., Tan Y., Deng M., Shan W., Zheng W., Zhang B. et al. Epicardial adipose tissue, metabolic disorders, and cardiovascular diseases: recent advances classified by research methodologies. *MedComm.* 2023;4:e413. DOI: 10.1002/mco2.413.
4. Kologrivova I.V., Naryzhnaya N.V., Koshelskaya O.A., Suslova T.E., Kravchenko E.S., Kharitonova O.A. et al. Association of epicardial adipose tissue adipocytes hypertrophy with biomarkers of low-grade inflammation and extracellular matrix remodeling in patients with coronary artery disease. *Biomedicines.* 2023;11(2):241. DOI: 10.3390/biomedicines11020241.
5. Sivasami P., Li C. derivation and differentiation of adipose-tissue regulatory T cells: a stepwise, multi-site process. *Front. Immunol.* 2020;11:599277. DOI: 10.3389/fimmu.2020.599277.
6. Palatella M., Guillaume S.M., Linterman M.A., Huehn J. The dark side of T-reg during aging. *Front. Immunol.* 2022;13:940705. DOI: 10.3389/fimmu.2022.940705.
7. Yu Y., Bai H., Wu F., Chen J., Li B., Li Y. Tissue adaptation of regulatory T cells in adipose tissue. *Eur. J. Immunol.* 2022;52(12):1898–1908. DOI: 10.1002/eji.201141838.
8. 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;42(6):1627–1638. DOI: 10.1002/eji.201141838.
9. Lemarquis A.L.L., Kousa A., Argyropoulos K.V., Jahn L., Gipson B., Serano-Marín L. et al. Recirculating regulatory T cells mediate thymic regeneration in a ZFP36L1 and amphiregulin dependent manner. *Blood.* 2023;142(Suppl\_1):457. DOI: 10.1182/blood-2023-183036.

## Ограничения исследования и дальнейшие перспективы

Основным ограничением данного исследования является его малый объем выборки, обусловленный плотным характером работы. Также представляется невозможным представить данные пациентов с идеально чистыми коронарными сосудами и отсутствием сопутствующих факторов, косвенно влияющих на локальное воспаление. Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы для персонификации диагностических подходов при выделении групп риска пациентов и разработки новых подходов иммуномодулирующей терапии у больных с коронарным атеросклерозом.

## Выводы

Для пациентов с выраженным коронарным атеросклерозом (GS > 26,5 балла) характерно увеличение относительного содержания CD4+CD25<sup>hi</sup>FoxP3 Т-лимфоцитов в ТЖТ и снижение уровня ядерной транслокации FoxP3 в данной клеточной субпопуляции по сравнению с пациентами с умеренным атеросклерозом (GS ≤ 26,5 балла). Выявленные корреляционные взаимосвязи между относительным содержанием Т-reg лимфоцитов и уровнем ядерной транслокации FoxP3 в ТЖТ и ЭЖТ свидетельствуют о возможном существовании рециркуляции Т-reg лимфоцитов между указанными эктопическими жировыми депо.

## Благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю И.В. Кологривовой, внесшей неоценимый вклад в работу на всех этапах данного исследования.

10. Кологривова И.В., Суслова Т.Е., Кошельская О.А., Харитонов О.А., Трубачева О.А., Кравченко Е.С. Циркулирующие FoxP3+ Т-лимфоциты при хронической ишемической болезни сердца: взаимосвязь с тяжестью атеросклероза и состоянием обмена липидов. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021;36(2):45–51.
11. Kologrivova I.V., Suslova T.E., Koshelskaya O.A., Kharitonova O.A., Trubacheva O.A., Kravchenko E.S. Circulating FoxP3+ T-lymphocytes in chronic coronary artery disease: Associations with the severity of atherosclerosis and lipid metabolism. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021;36(2):45–51. (In Russ.). DOI: 10.29001/2073-8552-2021-36-2-45-51.
12. Charaix J., Borelli A., Santamaria J.C., Chasson L., Giraud M., Sergé A. et al. Recirculating Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells are restimulated in the thymus under Aire control. *Cell. Mol. Life Sci.* 2022;79(7):355. DOI: 10.1007/s00018-022-04328-9.
13. Dooley J., Liston A. Molecular control over thymic involution: from cytokines and microRNA to aging and adipose tissue. *Eur. J. Immunol.* 2012;42(5):1073–1079. DOI: 10.1002/eji.201142305.
14. Козлов В.А. Определяющая роль тимуса в иммунопатогенезе аутоиммунных, онкологических и инфекционных заболеваний. *Медицинская иммунология.* 2023;25(1):39–58.
15. Kozlov V.A. Determining role of thymus in immune pathogenesis of autoimmune, oncological and infectious diseases. *Medical Immunology (Russia).* 2023;25(1):39–58. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-DRO-2591.
16. Dai X., Zhang D., Wang C., Wu Z., Liang C. The pivotal role of thymus in atherosclerosis mediated by immune and inflammatory response. *Int. J. Med. Sci.* 2018;15(13):1555–1563. DOI: 10.7150/ijms.27238.
17. Thiault N., Darrigues J., Adoue V., Gros M., Binet B., Peral C. et al. Peripheral regulatory T lymphocytes recirculating to the thymus suppress the development of their precursors. *Nat. Immunol.* 2015;16(6):628–634. DOI: 10.1038/ni.3150.
18. Rueda C.M., Rodríguez-Perea A.L., Moreno-Fernandez M., Jackson C.M., Melchior J.T., Davidson W.S. et al. High density lipoproteins selectively promote the survival of human regulatory T cells. *J. Lipid. Res.* 2017;58(8):1514–1523. DOI: 10.1194/jlr.M072835.

17. Atehortua L., Davidson W.S., Chougnet C.A. Interactions between HDL and CD4+ T Cells: A novel understanding of HDL anti-inflammatory properties. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2024;44(6):1191–1201. DOI: 10.1161/ATVBAHA.124.320851.
18. Saravia J., Zeng H., Dhungana Y., Bastardo Blanco D., Nguyen T.M., Chapman N.M. et al. Homeostasis and transitional activation of regulatory T cells require c-Myc. *Sci. Adv.* 2020;6(1):eaaw6443. DOI: 10.1126/sciadv.aaw6443.

**Конфликт интересов:** автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

**Conflict of interest:** the author does not declare a conflict of interest.

## Сведения об авторе

**Дмитрюков Алексей Александрович**, младший научный сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, <http://orcid.org/0000-0002-6924-966X>.  
E-mail: [aldmn9k@mail.ru](mailto:aldmn9k@mail.ru).

 **Дмитрюков Алексей Александрович**, e-mail: [aldmn9k@mail.ru](mailto:aldmn9k@mail.ru).

Поступила 29.08.2024;  
рецензия получена 21.10.2024;  
принята к публикации 14.11.2024.

## Information about the author

**Alexey A. Dmitriukov**, Junior Research Scientist, Clinical Diagnostic Laboratory, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС, Tomsk, <http://orcid.org/0000-0002-6924-966X>.  
E-mail: [aldmn9k@mail.ru](mailto:aldmn9k@mail.ru).

 **Alexey A. Dmitriukov**, e-mail: [aldmn9k@mail.ru](mailto:aldmn9k@mail.ru).

Received 29.08.2024;  
review received 21.10.2024;  
accepted for publication 14.11.2024.