

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
(ФГБНУ «НИИОП»)

На правах рукописи

КОПАСОВ АНДРЕЙ ЕВГЕНЬЕВИЧ

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОЖИРЕНИЯ НА  
ОСЛОЖНЕНИЯ ПОСЛЕ АБДОМИНОПЛАСТИКИ

3.3.3 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

МОРОЗОВ СЕРГЕЙ ГЕОРГИЕВИЧ  
доктор медицинских наук,  
профессор,  
член-корреспондент РАН

БЛОХИН СЕРГЕЙ НИКОЛАЕВИЧ  
доктор медицинских наук, профессор

МОСКВА – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	13
1.1. Современные представления об абдоминопластике и её осложнениях	13
1.2. Роль ожирения в развитии осложнений после абдоминопластики	17
1.3. Жировая ткань	20
1.4. Заживление ран	23
1.5. Макрофаги жировой ткани	24
1.6. Нейтрофилы жировой ткани	25
1.7. Хемокины и их рецепторы	28
1.7.1. Рецепторы хемокинов	29
1.7.2. Семейство хемокинов CCL	31
1.7.3. Семейство хемокинов CX3CL	35
1.7.4. Семейство хемокинов CXС	36
1.8. Сигнальный путь киназы mTOR	42
<b>2. КОНТИНГЕНТ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	44
2.1. ПАЦИЕНТЫ	44
Критерии включения пациента в исследование были	44
Критерии исключения пациентов из исследования были	44
Информация для пациентов с формой информированного согласия	45
Показания для проведения абдоминопластики	47
Противопоказания для проведения абдоминопластики	47
Клинические показатели качества выполненной абдоминопластики	47
Эстетические показатели качества выполненной абдоминопластики	48
2.2. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ	48
Стандартные инструментальные методы обследования	48
Биоимпедансный анализ (БИА)	49
2.3. ТЕХНИКА АБДОМИНОПЛАСТИКИ	50
Инструменты и материалы, использованные для абдоминопластики	50
Схема проведения операции абдоминопластики	52
2.4. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	53
Анализ крови	53
Определение перекисного окисления липидов	53
Измерение уровня цитокинов и хемокинов в плазме крови	54
Работа с клетками крови	54

Выделение нейтрофилов из периферической крови	55
2.5. ВЫДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК ИЗ ОБРАЗЦОВ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА	56
2.6. ОКРАСКА АНТИТЕЛАМИ К СТРУКТУРАМ КЛЕТОК	57
2.7. ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ	57
Проточная цитометрия клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани	58
Оценка фрагментации ДНК методом проточной цитометрии	59
2.8. ИЗМЕРЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ $\Delta\Psi_m$	59
2.9. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСКОБОВ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ	60
2.10. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ	60
<b>3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.</b>	61
3. 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ	61
3.1.1. Группы сравнения	61
3.1.2. Антропометрические показатели пациентов	64
3.1.3. Биохимические показатели крови пациентов	69
3.2. ИММУННЫЙ СТАТУС И АНАЛИЗ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕД АБДОМИНОПЛАСТИКОЙ	71
3.2.1. Иммунный статус	71
3.2.2. Рецепторы нейтрофилов	73
3.2.3. Экспрессия рецепторов N-формил-пептида на нейтрофилах крови	77
3.2.4. Экспрессия рецепторов хемокинов на нейтрофилах крови	78
3.2.5. Секреция хемокинов нейтрофилами крови	81
3.3. ХЕМОКИНЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С МОНОНУКЛЕАРАМИ КРОВИ	83
3.3.1. Хемокиновые рецепторы Т-лимфоцитов	83
3.3.2. Хемокины моноцитов крови	88
3.4. УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АБДОМИНОПЛАСТИКИ	92
3.4.1. Уровень цитокинов в плазме крови пациентов после абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела и жировой массы тела	92
3.4.2. Уровень хемокинов в плазме крови	95
3.5. ЭКСПРЕССИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ХЕМОКИНОВ И ЦИТОКИНОВ В КЛЕТКАХ ПОДКОЖНО–ЖИРОВОЙ ТКАНИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕ	97
3.5.1. Изучение клеток подкожно–жировой ткани, выделенных из операционного материала при проведении абдоминопластики	97
3.5.2. Определение экспрессии хемокинов клетками подкожно–жировой ткани,	

выделенных из операционного материала при абдоминопластике	101
3.5.3. Экспрессия рецепторов цитокинов клетками подкожно–жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике	104
3.6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ХЕМОКИНОВ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ КОЖИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕ	106
3.7. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК КОЖИ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕ	110
3.7.1. Киназа mTOR и ассоциированные белки в клетках кожи	110
3.7.2. Измерение мембранного потенциала митохондрий ( $\Delta\Psi$ ) клеток, выделенных из операционного материала	115
3.8. ДАННЫЕ ПО БАКТЕРИАЛЬНОЙ И МИКОЗНОЙ КОНТАМИНАЦИИ КОЖИ ЖИВОТА ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕД АБДОМИНОПЛАСТИКОЙ	117
3.8.1. Показатели бактериальной контаминации абдоминальной области	117
3.8.2. Изучение грибковой контаминации кожи абдоминальной области	119
3.9. ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ПАЦИЕНТАМИ ПОСЛЕ АБДОМИНОПЛАСТИКИ	120
Алгоритм действий для минимизации осложнений после абдоминопластики	122
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	123
<b>ВЫВОДЫ</b>	137
<b>СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ</b>	138
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	141

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Диссертация посвящена актуальной проблеме современной патофизиологии – исследованию экспрессии хемокинов в клетках крови, кожи и подкожно-жировой ткани, а также роли хемокинов в развитии воспаления, частичного некроза швов и других осложнений в послеоперационном периоде после абдоминопластики у пациентов с ожирением.

При проведении абдоминопластики хирургическим путём удаляют избыток кожи и подкожно-жировой ткани и восстанавливают имеющиеся дефекты мышц и кожи живота. Существует несколько методов этой операции, в частности, классическая абдоминопластика с разрезом 180°, миниабдоминопластика, абдоминальная панникулэктомия для резекции кожи и клетчатки ниже пупка, круговая (циркулярная) абдоминопластика с разрезом в 280°, которая включает удаление избытка жира по бокам и на бёдрах. Все эти операции призваны улучшить качество жизни пациента [52, 86]. Операции по изменению контуров живота проводятся в течение нескольких десятилетий и являются широко распространёнными в мире [50]. В нашей стране они пока не получили широкого применения, однако, число операций увеличивается с каждым годом.

Показания для абдоминопластики бывают эстетические или клинические, например, после травматических повреждений или после радиационного повреждения тканей, полученных при радиотерапевтическом лечении онкологических заболеваний. В случае онкологии проведение абдоминопластики осложняется метаболическими нарушениями, вызывающими изменение кровоснабжения подкожно-жировой клетчатки и повреждение кожного покрова, удлинение сроков заживления операционной раны [287]. Проведение абдоминопластики показано при массивной потере веса после бариатрической операции при имеющемся существенном избытке кожи в абдоминальной области, атрофии мышц и кожи в глутеальной области [98, 100]. Для получения хороших эстетических результатов после абдоминопластики надо помнить, что это, прежде всего, хирургия кожи, которая имеет уникальные параметры метаболизма, васкуляризации, иннервации, локального иммунного ответа [69].

По данным различных источников процент осложнений после абдоминопластики колеблется от 2 до 28%, в среднем в 23,2% случаев. Инфекционные осложнения наблюдаются в 7,1% случаев, в 12,5% отмечается замедление заживления операционной раны, в 1,8% случаев требуется повторная хирургическая ревизия раны под местной анестезией. В случае удаления значительного объёма тканей при абдоминопластике

(>4353 г. vs 2830 г.) в 9% случаев требуется переливание крови для коррекции развившейся анемии и тромбоцитопении [71], в 7% случаев требуется повторная операция [218].

Причинами осложнений после абдоминопластики также могут быть факторы, не зависящие от качества проведения операции: это ожирение, инфекционная контаминация кожи больного до операции, нарушение кровотока в области операции из-за индивидуальных анатомических особенностей кровеносного русла пациентов [59].

Ожирение (повышение индекса массы тела (ИМТ)  $>30\text{кг/м}^2$ ) сопряжено с метаболическими нарушениями в организме пациента, которые приводят к развитию воспалительного процесса, удлинению периода заживления операционной раны, а также к трофическим нарушениям в области операционного шва. Считается, что при ожирении поддерживается состояние подострого воспаления в жировой ткани, связанное с секрецией провоспалительных цитокинов в экстраклеточный матрикс (ЕСМ) и в плазму крови. Чем выше ИМТ на момент проведения операции, тем вероятнее риск развития осложнений, в том числе, некроза кожи и подкожно-жировой клетчатки [96].

У пациентов с ожирением после традиционной абдоминопластики повышена частота формирования серомы (2,8%), инфекционных осложнений (4,2%), тромбоза глубоких вен (1,4%), некроза мягких тканей (4,2%), а также увеличен период заживления операционной раны (5,6%) и чаще требуется повторная операция (18,1%) [140]. После круговой липоабдоминопластики процент осложнений ещё выше: расхождение швов наблюдается в 17%, некроз кожи - в 4%, инфицирование шва - в 5%, гематома - в 3%, серома - в 13%, неровный рубец - в 12%, тромбоз эмболия - в 3%, повторная операция в связи с осложнениями - в 5% случаев [87]. Ожирение связано с риском развития инфекции и тромбоза глубоких вен, которые в два раза чаще регистрируются после абдоминопластики у пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела [146]. У взрослых людей при избыточной массе тела или ожирении повышен риск развития инфекционных заболеваний на месте операционной раны [117]. Тучные пациенты чаще имеют госпитальные патологии (7,3% vs 3,9%) или серьёзные осложнения (3,2% vs 0,9%) в течение первых 30 дней после операции [268]. Ожирение удлиняет сроки заживления ран, является причиной заживления ран вторичным натяжением и приводит к нежелательным рубцам на месте операции.

Осложнения после абдоминопластики у пациентов с ожирением обусловлены, в частности, влиянием хемокинов на миграцию в область операционной раны клеток, поддерживающих воспаление [96].

Хемокины – это суперсемейство белков с молекулярной массой  $M \sim 8-10$  кДа, которое подразделяется на 4 семейства (CC, CXC, XC и CX3C) в зависимости от структуры первых двух N-концевых цистеиновых последовательностей [207]. Значение хемокинов определяется разнообразием их роли в организме. Воспаление обусловлено клетками иммунной системы, провоспалительными цитокинами и хемокинами, которые регулируют продвижение клеток иммунной системы в сайт воспаления. Повышение секреции хемокина CXCL8 кератиноцитами обуславливает ускорение хемотаксиса нейтрофилов в рану [251]. Повышение уровня хемокина CXCL13 в плазме крови положительно коррелирует с воспалением кожи [277]. Клетки кожи секретируют хемокины, участвующие в заживлении ран, имеющие отношение к формированию рубцов на месте операционной раны, регулирующие межклеточные взаимодействия и воспаление в коже. Кератиноциты продуцируют хемокины семейств CXC и CCL. Хемокины CXCL8 и CCL20 обладают провоспалительным действием и играют роль в повреждении кератиноцитов при растяжении кожи. Хемокин CCL27 продуцируется кератиноцитами при воспалении и обуславливает хоминг T-лимфоцитов в кожу за счёт взаимодействия с рецепторами CCR10 на лимфоцитах [198].

В коже активацию и дифференцировку кератиноцитов контролируют клетки иммунной системы за счёт цитокинов и хемокинов. Рецептор CXCR4 хемокинов принимает участие в развитии фиброза кожи [83]. При воспалении инфильтрирующие кожу лимфоциты экспрессируют рецепторы CXCR3, распознающие хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11, они нарушают пролиферацию кератиноцитов и их дифференцировку в корнеоциты. Преактивированные CD8<sup>+</sup> T-клетки индуцируют синтез и секрецию хемокинов CXCL9 и CXCL10 кератиноцитами, а кератиноциты, со своей стороны, могут подавлять синтез хемокинов CCL3 и CCL4 в преактивированных CD8<sup>+</sup> T-клетках [249]. Снижение экспрессии CXCL14 способствует поддержанию поляризации иммунного ответа в сторону Th2, а также нарушает васкуляризацию в коже.

Синтез хемокинов кератиноцитами амплифицируется интерфероном гамма (IFN- $\gamma$ ) и фактором некроза опухолей альфа (TNF- $\alpha$ ). Под воздействием IFN- $\gamma$  инфильтрирующие кожу T-лимфоциты индуцируют синтез хемокинов CXCL9, CXCL10 в кератиноцитах, что, в свою очередь, способствует миграции T-лимфоцитов в кожу [180]. Фибробласты дермы продуцируют про-воспалительные хемокины CCL20, CCL24, CCL27, CXCL8, CXCL13, которые имеют отношение к развитию фиброза кожи [220].

В данной диссертационной работе проводится обоснование роли хемокинов в нарушении межклеточных взаимодействий при ожирении в клинике пластической хирургии, что актуально, так как результатом проведённой операции должен быть

практически невидимый операционный шов [86]. Однако после абдоминопластики в ряде случаев регистрируются осложнения в виде отёка, гематомы, частичного некроза шва, заживление раны вторичным натяжением, которые связаны с изменением секреции хемокинов и, соответственно, с нарушением межклеточных взаимодействий и развитием воспаления в области операционной раны.

Влияние ожирения на репаративные процессы после операции заключается в секреции провоспалительных цитокинов, снижении энергетического потенциала клеток в области операционного шва, нарушении межклеточных взаимодействий.

Влияние хемокинов на состояние ЕСМ при ожирении мало изучено, а роль хемокинов при проведении абдоминопластики у больных с ожирением, по нашим данным, не изучалась.

**Целью** данной диссертационной работы является изучение патофизиологических механизмов влияния ожирения на риск развития осложнений после проведённой абдоминопластики.

#### **Задачи исследования**

1. Сравнить уровни хемокинов в клетках крови и в сыворотке крови пациентов с ожирением, и с нормальной массой тела при проведении абдоминопластики.
2. Сравнить уровни провоспалительных цитокинов в крови пациентов с ожирением и пациентов с нормальной массой тела при проведении абдоминопластики.
3. Провести сравнительный анализ уровней экспрессии хемокинов и их рецепторов в клетках кожи и подкожно-жировой ткани, выделенных при проведении абдоминопластики, у пациентов с ожирением и с нормальной массой тела.
4. Изучить уровень фосфорилированных белков, ассоциированных с киназой mTOR, в клетках кожи и подкожно-жировой ткани, выделенных при проведении абдоминопластики у пациентов с нормальной массой тела и ожирением.
5. Оценить энергетический статус митохондрий в клетках кожи и подкожно-жировой ткани, выделенных при проведении абдоминопластики у пациентов с нормальной массой тела и ожирением.

#### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное исследование активности хемокинов и их рецепторов в клетках и в сыворотке крови, а также в образцах подкожно-жировой ткани, полученной из зоны оперативного вмешательства при проведении абдоминопластики. Проведён сравнительный анализ уровня хемокинов и экспрессии их рецепторов на

клетках подкожно-жировой ткани у пациентов с ожирением и нормальной массой тела и установлено, что экспрессия хемокинов семейства CCL в клетках жировой ткани повышается в несколько раз при ожирении по сравнению с показателями пациентов с нормальной массой тела. Оценён вклад этих показателей в развитие послеоперационных осложнений у пациентов после абдоминопластики.

Впервые показано, что у пациентов с ожирением уровень провоспалительных цитокинов в плазме крови после операции абдоминопластики остаётся высоким более продолжительное время по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

Установлено влияние предоперационной микробной и микозной контаминации кожи на развитие послеоперационных осложнений, на основании полученных результатов разработаны рекомендации по предупреждению этих осложнений.

Дано патогенетическое обоснование определения уровня маркёров, отражающих степень риска возникновения осложнений после абдоминопластики.

#### **Теоретическая значимость**

Показано, что патофизиологическими механизмами влияния ожирения на риск развития осложнений после проведённой абдоминопластики являются повышение уровня провоспалительных цитокинов, хемокинов и их рецепторов у пациентов с избыточной массой тела.

Маркёрами такого состояния являются: повышенный уровень провоспалительных цитокинов и хемокинов семейства CCR в крови; повышенный уровень экспрессии хемокиновых рецепторов в клетках крови и подкожно-жировой ткани; повышенный уровень экспрессии белков, ассоциированных с киназой mTOR; сниженный мембранный потенциал митохондрий адипоцитов; высокая частота микробной и микозной контаминации кожи живота.

#### **Практическая значимость**

Данная диссертационная работа является решением задачи по улучшению состояния операционного шва после абдоминопластики. На основании проведенных клинических и лабораторных исследований был изменен алгоритм предоперационной подготовки пациентов, в который добавлено обязательное определение состава тела методом биоимпедансного анализа, исследование иммунного статуса, определение уровня хемокинов и провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, а также исследование соскобов кожи живота на предмет возможной контаминации бактериальными или грибковыми патогенами. Данный алгоритм также включает в себя медикаментозную

коррекцию в случае выявления контаминации кожи патогенами, а также проведение противовоспалительной терапии, особенно для пациентов с высокой степенью ожирения.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты данного исследования внедрены в практику предоперационной подготовки пациентов в Клинике пластической хирургии и косметологии профессора Блохина и доктора Вульфа «Фрау Клиник», Москва, а также в план преподавания в Учебном Центре профессора Блохина и доктора Вульфа, Москва.

Разработанные модификации лабораторных методов исследования используются в ряде лабораторий ФГБНУ «НИИОПП» для научно-исследовательской работы.

### **Методология и методы исследования**

В работе представлены материалы хирургического лечения 320 больных (262 женщин и 58 мужчин), в возрасте 18–65 лет, которым в Клинике пластической и эстетической хирургии профессора Блохина и доктора Вульфа, г. Москва (ООО «Фрау Клиник 1») проведена операция абдоминопластики. Группами сравнения являлись пациенты с ожирением обменно-алиментарного генеза I–III степени (160 женщин и 36 мужчин) и пациенты с нормальной массой тела (102 женщины и 22 мужчины). В исследовании пациентов наблюдали в течение первого года: с первых по 10-е сутки после операции, через 1 месяц, через 3–4 месяца, через 6 месяцев, через 8–9 месяцев, через 12 месяцев, далее при необходимости.

Методы обследования пациентов: клиническое обследование (сбор анамнеза, осмотр, перкуссия, пальпация, аускультация), инструментальные исследования (УЗИ брюшной полости, щитовидной железы, ЭКГ, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, фиброгастроскопия, исследование функции внешнего дыхания, биоимпедансный анализ тела), лабораторные данные (биохимические показатели крови, гематологические показатели).

Методы лабораторного анализа: исследование окислительного стресса (ИФА), определение уровня хемокинов и цитокинов в сыворотке крови методом ИФА, выделение клеток из образцов операционного материала с окраской клеток антителами, цитометрия, вестерн-блот анализ, измерение мембранного потенциала митохондрий, количественное определение хемокинов в клетках операционного материала (ПЦР), микробиологический анализ кожи и ПЦР-исследование образцов кожи, статистический анализ (ANOVA).

### **Научные положения, выносимые на защиту**

Операция абдоминопластики сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов в организме пациентов. Степень такого повышения

зависит от массы тела и количества жировой массы тела пациента и увеличена у пациентов с высокой массой тела и ожирением по сравнению с пациентками с нормальной массой тела.

После операции абдоминопластики в крови у пациентов с избыточной массой тела и ожирением повышена экспрессия хемокинов, регулирующих миграцию нейтрофилов в ткани и в сайт воспаления; на клетках подкожно-жировой ткани – повышена экспрессия рецепторов провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Более высокий уровень хемокиновой активности клеток крови и подкожно-жировой ткани у пациентов с высокой массой тела и ожирением сопряжен с активацией сигнальных путей mTOR в фибробластах и кератиноцитах кожи и со снижением энергетического потенциала митохондрий клеток в области шва.

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. Автор самостоятельно и в достаточном объеме провел анализ научной литературы по заявленной теме исследования. Автором лично были проведены хирургические операции по изменению контуров живота (абдоминопластика) у 320 пациентов, а также собран и проанализирован клинический материал для данной диссертационной работы. Автор лично проводил все работы по выделению образцов кожи и подкожно-жировой ткани во время операции абдоминопластики, а также проводил первичную пробоподготовку образцов для дальнейшей лабораторной работы. Автор также лично осуществлял забор материала для ПЦР-диагностики инфекций кожи. Все указанные в диссертационной работе лабораторные методы исследования проводились при непосредственном участии автора диссертации. При подготовке и написании научных публикаций по теме диссертации автор осуществлял работу по анализу материала, его статистической обработке, интерпретации полученных результатов и подготовке текстов к публикации.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность полученных результатов подтверждается объемом выборки (достаточное число проведенных хирургических операций – 320), значительным объемом клинических исследований пациентов, использованием современных лабораторных методов, адекватных поставленным задачам, а также применением современных методов статистического анализа. Научные выводы и положения обоснованы. Выводы диссертационной работы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований.

**Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:**

Конференции «Пластическая хирургия в России. Актуальные вопросы микрохирургии», посвященная памяти профессора Н.О. Миланова, Москва, февраль 2017; на 4-м Съезде микологов России, Москва, апрель 2017; на Международной научно-практической конференции «Инфекции и противоинфекционный контроль в дерматологии», Москва, сентябрь 2017; на Первом Съезде хирургов Центрального федерального округа, Рязань, сентябрь 2017; на III-м Российском конгрессе лабораторной медицины, Москва, октябрь 2017; на Всероссийской научно-практической конференции «Боткинские чтения». «Человек и его здоровье», Санкт-Петербург, 2017; на Сеченовском Международном Биомедицинском Саммите 2017 (СМБС-2017), Москва, июнь 2017; на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы дерматовенерологии», посвященной 180-летию со дня рождения В.М. Тарновского, Курск, июнь 2017; на «Неделе науки 2017» в рамках Всероссийского молодёжного форума с международным участием, Ставрополь, 2017; на VI-м Национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология». Москва, декабрь 2018; на V-м Национальном конгрессе бактериологов, Москва, сентябрь 2019.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные представления об абдоминопластике и её осложнениях

Абдоминопластика заключается в хирургическом удалении избытка кожи и подкожно-жировой ткани с последующим восстановлением имеющихся дефектов мышц живота и кожного покрова. Операции по изменению контуров живота проводятся в течение нескольких десятилетий и являются широко распространёнными в мире [50]. В нашей стране абдоминопластика пока не получила столь частого применения, однако, число операций увеличивается с каждым годом.

В 1940 году была впервые описана хирургическая техника, названная «circumferential dermolipectomy», а 20 лет спустя была представлена техника, названная «belt lipectomy» (или «circular lipectomy»), которая заключалась в круговой резекции кожи до мышечного апоневроза с расположением операционного шва на уровне линии пояса. В 1993 году появилась методика «lower body lift», в которой сохраняли поверхностную фасцию при резекции, а операционный шов располагали более низко, что подтягивало боковые поверхности и ягодицы [122]. Все эти операции касались восстановления контура живота.

В настоящее время применяются разные подходы для проведения пластических операций по коррекции жировой массы тела [23, 120]. Среди методов абдоминопластики наиболее часто применяется классическая абдоминопластика с разрезом 180°, которая технически наиболее простая и эффективная. Также используется миниабдоминопластика, позволяющая добиться снижения веса, восстановления метаболизма и репродуктивной функции [38], которая часто нарушена у пациенток с ожирением. Абдоминальная панникулэктомия включает резекцию избытка кожи и подкожной клетчатки ниже пупка. При круговой (циркулярной) абдоминопластике делают разрез в 280° и дополнительно удаляют избыток жира по бокам и на бёдрах [31]. За рубежом часто применяют метод “lower body lifts of the lower trunk” с одновременной коррекцией ягодичной области, однако, при этом бывает большой процент осложнений, часто развивается некроз глютетеальной области и её гипестезия [21]. Более безопасная техника – это липоглютеопластика, при которой участок кожи удаляется только до дермы, что сохраняет лимфатическую и сосудистую системы [52]. Эти операции призваны улучшить качество жизни пациента [86, 266].

Абдоминопластика проводится по клиническим или эстетическим показаниям. Клиническими показаниями для абдоминопластики могут быть последствия травматических повреждений, последствия радиационного повреждения тканей, полученные, в том числе, при радиотерапевтическом лечении онкологических

заболеваний. В случае онкологии проведение абдоминопластики осложняется метаболическими изменениями в организме пациента, сопровождающимися нарушением кровоснабжения подкожно-жировой клетчатки и повреждением кожного покрова, что приводит к удлинению сроков заживления операционной раны [287]. При проведении абдоминопластики по жизненным показаниям восстанавливают анатомическую целостность передней стенки живота и восполняют дефект мягких тканей, при этом хорошим результатом считается спасение жизни и обеспечение больному нормального качества жизни [36]. Для восстановления естественных контуров брюшной стенки иногда приходится применять липофилинг или трансплантацию жировой ткани, которая также предусматривает наличие различных техник проведения этой операции [33]. Клеточные препараты из жировой ткани получают методами аспирации, клеточной биологии и генной инженерии [26]. При различных способах аспирации жировой ткани получают образцы жира, отличающиеся по клеточно-тканевому составу. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани используется для быстрого восстановления микроциркуляции и улучшения регенеративных способностей трансплантата [7].

Проведение абдоминопластики показано при массивной потере веса после выполненной бариатрической операции [129], так как, несмотря на положительную динамику показателей обмена веществ, у пациентов появляется существенный избыток кожи в абдоминальной области, а также птоз мышц и кожи в глутеальной области. В этом случае выполняется классическая круговая абдоминопластика или комбинированная абдоминопластика с аутологичным увеличением ягодичной области (all-in-one technique) [98]. В результате подкожного введения глюкокортикоидов (по клиническим показаниям) на месте их введения иногда развивается дермально-субдермальная атрофия, которая требует проведения пластической операции для устранения дефектов кожи [34].

Эстетические показания для абдоминопластики определяются пациентом, желающим получить омоложение фигуры. Иссечение избытка кожи и абдоминального жира способствует снижению веса и повышению мобильности пациента и его физической активности, приводит к нормализации обменных процессов в организме, что обуславливает дальнейшее улучшение эстетических параметров и качества жизни [30]. Уменьшение объема жировой ткани и повышение уровня физической активности пациента благоприятно сказывается на динамике метаболического синдрома у больных с ожирением. Подавляющее большинство пациентов указали на существенное повышение качества жизни, повышение уровня психического и физического здоровья, социальной значимости, повышение самооценки и повышение уровня собственной привлекательности после проведения абдоминопластики. Больше исследований проведено после применения

техники «belt lipectomy», после которой пациенты также в подавляющем большинстве случаев указывали на удовлетворительные результаты после операции. В этом случае качество проведенной операции, состояние шва, кожи живота и подкожной клетчатки имеют решающее значение [35].

Причинами проведения операций по эстетическим показаниям также являются дисморфии (дисморфофобия и лисморфомания), когда пациент стремится постоянно улучшать свой внешний вид, но при этом, как правило, остаётся недовольным результатом проведённой операции [22].

Для получения хороших эстетических результатов надо помнить, что это, прежде всего, хирургия кожи, которая имеет уникальные параметры метаболизма, васкуляризации, иннервации, локального иммунного ответа [27]. Состояние кровеносных и лимфатических сосудов играет решающую роль для успешного завершения операции и отсутствия гематологических осложнений в послеоперационном периоде. Качество шва после операции в определенной мере зависит от возраста пациента, так как старение кожи обуславливает ряд проблем, связанных с метаболическими нарушениями в дерме и в эпидермисе [37], а также в микроциркуляторном русле кожи. Для улучшения эстетических результатов пластической операции в последнее время стали применять клеточную терапию и новые биологические покрытия для раневой поверхности на основе клеточных препаратов [3].

Эстетической проблемой после абдоминопластики является фиброзирование и формирование грубого рубца на месте операционного шва, так как любое повреждение кожи взрослого человека формирует рубец, нарушающий функциональную активность того участка кожи, где он появился. Для «рассасывания» келоидных рубцов применяют протеолитические ферменты, ряд которых имеет официальное разрешение для клинического использования. Одним из подходов к снижению уровня фиброирования тканей является применение дипептидил-пептидазы-4 (DPP4) [155] и экстраклеточных металлопротеиназ, в том числе ADAM12 (*a disintegrin and mettaloproteinase*).

Осложнения после классической абдоминопластики регистрируются, в среднем, в 23,2% случаев, у курильщиков – в 26,7%, у некурящих – в 22%, инфекции были в 7,1% случаев, в 12,5% случаев было замедление заживления операционной раны, в 1,8% случаев потребовалась повторная хирургическая ревизия раны под местной анестезией. В случае удаления значительного объёма тканей (> 4353 г. vs 2830 г.) при абдоминопластике в 9% случаев потребовалось переливание крови для коррекции начавшейся анемии, в 7% случаев потребовалась повторная операция [218].

Осложнения после круговой абдоминопластики встречаются, в среднем, в 36,55% случаев (26,63–45,65%). Частота повторных операций в связи с клинически значимыми осложнениями (состояние кожи после операции вследствие абсцесса, некроз шва, некроз подкожной клетчатки, гематома, серома и т.д.) составляла 3,5% (0,25–6%). При круговой абдоминопластике повышается риск развития серомы и удлинение сроков заживления операционной раны [52]. После круговой липоабдоминопластики процент осложнений также достаточно высокий: расхождение швов регистрируется в 17% случаев, некроз кожи – в 4%, инфицирование шва – в 5%, гематома – в 3%, серома – в 13%, неровный рубец – в 12%, тромбоэмболии – в 3%, повторная операция в связи с осложнениями – в 5% случаев [87].

Проблема серомы тесно перекликается с проблемой лимфедемы [179], то есть нарушением дренажа лимфы, обуславливающим накопление интерстициальной жидкости в мягких тканях, с последующим развитием выраженного воспаления, инфильтрацией тканей клетками иммунной системы с воспалительным фенотипом, что сопровождается персистирующей инфекцией [201]. Для лечения пациентов с лимфедемой используется лимфовенозный анастомоз.

Развитие тромбоэмболии после пластических операций, в частности после абдоминопластики, представляет собой значительную проблему, несмотря на рутинное использование антиагрегантов в послеоперационном периоде [32]. Появление тромбов регистрируется в местах артериальных анастомозов, а также в венозной системе и в свободных микрохирургических лоскутах [2]. Возраст пациента играет роль в развитии тромбоэмболических осложнений после абдоминопластики: у пожилых пациентов возрастает риск развития тромбоза глубоких вен. Наличие у пациента цереброваскулярной патологии может оказать влияние на развитие тромбоза в послеоперационный период, так как у этих больных часто имеются нарушения системы гомеостаза. У пациентов с гипоталамо-гипофизарными нарушениями может быть дисфункция эндотелия с высоким риском развития послеоперационной тромбоэмболии. У женщин в период менопаузы регистрируются структурно-функциональные изменения сосудистой стенки, что оказывает негативное влияние на тромбоэмболические осложнения после операции. Тромбозы после операции могут быть у женщин, которые по клиническим показаниям получают гормональную терапию [8]. У пациентов молодого возраста послеоперационные тромбозы обусловлены, в частности, индивидуальными генетическими особенностями свёртывающей системы крови или врождённой аномалией сосудистой стенки, а также неправильным образом жизни, курением, употреблением жирной пищи на фоне отсутствия фруктов и овощей в рационе, что обуславливает раннее развитие склероза

сосудистой стенки. В настоящее время активно разрабатываются методы предоперационного скрининга возможных нарушений в системе гомеостаза для коррекции их в предоперационный и ранний послеоперационный периоды [9].

## **1.2. Роль ожирения в развитии осложнений после абдоминопластики**

В пластической хирургии необходимо минимизировать воспалительный процесс в области операционного рубца, а также получить гладкий контур кожи. Ожирение (повышение индекса массы тела (ИМТ)  $>30\text{кг}/\text{м}^2$ ) ассоциировано с широким спектром хирургических осложнений и является фактором риска, отягчающим течение послеоперационного периода. Имеется положительная корреляция между ИМТ на момент абдоминопластики и процентом послеоперационных осложнений: чем выше ИМТ, тем вероятнее риск развития некроза кожи и подкожно-жировой клетчатки [96].

По критериям Национального института здоровья США (National Institutes of Health, США)  $\text{ИМТ} \leq 18,5\text{ кг}/\text{м}^2$  рассматривается как недостаток веса, нормальный вес считается при  $\text{ИМТ} 18,6\text{--}24,9\text{ кг}/\text{м}^2$ , избыточный вес – при  $\text{ИМТ} 25\text{--}29,9\text{ кг}/\text{м}^2$ ,  $\text{ИМТ} \geq 30\text{ кг}/\text{м}^2$  рассматривается как ожирение [136]. Также ожирение считается имеющимся при объёме талии  $>35$  дюймов (88,9 см) у женщин и  $>30$  дюймов (76,2 см) у мужчин.

В настоящее время ожирение рассматривают как эпидемию [110]. Анализ данных 68,5 млн жителей нашей планеты за период с 1980 по 2015 год, охватывающий 195 стран мира, позволил установить, что по сравнению с 1980 годом число больных ожирением удвоилось в 70 странах мира, в остальных странах эта цифра постоянно растёт. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) от 2020 года [44] в 2016 году 1,9 млрд (39%) населения планеты старше 18 лет имели избыточную массу тела, среди них 650 млн (13%) имели ожирение, 11% среди мужчин и 15% среди женщин. Но уже в 2020 году ожирение регистрировалось у 43,4% населения (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, США, 2020). В Соединённом Королевстве 25% населения имеют ожирение, в Саудовской Аравии – 44%, в Бразилии ожирение у 28% женщин и 16,2% мужчин, более страдают малообеспеченные слои населения. В США ожирение имеют 20% белых женщин и 59% чёрных женщин (данные ВОЗ за 2020 год). Исследование ~388 тысяч латиноамериканцев в США показало, что ожирение имеют 37,3% [133].

В России от ожирения и избыточной массы тела страдает от 20,5% до 54% взрослого населения [24], по другим данным ожирение регистрируется у 32,9% населения России, а избыточная масса тела – у 62,8% [38]. Среди женщин число больных ожирением достоверно выше, чем среди мужчин. Пик ожирения приходится на 60–64 года для

женщин и 50–54 года для мужчин [39, 48]. Также в нашей стране в последнее время повышается процент детей и подростков, страдающих ожирением [6].

Рядом работ показано наличие генетической детерминированности в развитии абдоминального ожирения [121]. По данным литературы известно, что адипоциты жировой ткани, различающейся локализацией на разных участках тела, экспрессируют гены с различной степенью выраженности, что определяет особенности метаболизма разных видов жировой ткани [115]. Экспрессия генов miR196a1, miR196a2, miR196b, miR204 в 2,0–2,5 раза выше в адипоцитах глютеальной жировой ткани по сравнению с абдоминальной жировой тканью, они регулируют homeobox гены, в том числе HOX, что определяет метаболизм клеток [116]. Гендерные различия в отношении потребления пищи и скорости накопления массы тела связаны, в частности, с экспрессией гена релаксина-3 (RLN3), полиморфизм которого у человека ассоциирован с ожирением и гиперхолестеринемией, у женщин активность этого гена выше, чем у мужчин [81]. Также считается, что к накоплению жировой массы предрасполагает наличие Т/А полиморфизма гена  $\alpha$ -кетоглутарат-зависимой диоксигеназы или fto (fat mass and obesity-associated protein) [4]. С другой стороны, наличие ожирения способствует проявлению имеющихся генетических особенностей организма человека, в частности, предрасположенности к гипертонической болезни у мужчин [29]. Генетические особенности человека также проявляются в отношении уровня секреции цитокинов при иммунном ответе, что оказывает влияние на поддержание воспаления в жировой ткани. При ожирении снижена экспрессия генов, кодирующих белки кожи, имеющие отношение к процессу заживления раны. Показаны расовые различия в экспрессии этих генов: у афроамериканцев по сравнению с белыми существенно снижена экспрессия генов, кодирующих белки, регулирующие перенос электролитов через плазматическую мембрану, что обуславливает различный уровень сохранения воды в коже и различный уровень плотности кожи при ожирении [290].

Роль генетических факторов только частично объясняет рост заболеваемости ожирением, скорее ключевыми факторами являются эпигенетические механизмы, активированные взаимодействием генов и негативных факторов окружающей среды [111]. Ряд авторов указывает на роль загрязнения пестицидами окружающей среды в развитии ожирения в связи с нарушениями метаболизма ксенобиотиков в печени [267].

Сейчас общепринятым является понимание роли психологических, эмоциональных и социальных факторов в развитии ожирения [25]. Именно социальные факторы и психологический стресс обуславливают ночной приём пищи и переизбыток. К факторам, способствующим развитию ожирения, также относится малоподвижный образ жизни.

Проведённое международное исследование показало, что если человек сидит более 8 часов в день в рабочее время, то процент ожирения на 62% выше по сравнению с теми, кто сидит не более 4 часов. При этом время, проведенное сидя, ассоциировано с развитием ожирения независимо от физической активности в течение дня.

Социальная нестабильность оказывает на женщин большее влияние в плане развития ожирения, а также характер работы женщин, особенно в ночную смену [131]. Развитию ожирения способствует нарушение длительности сна [5] и его качества, в том числе, наличие обструктивного апноэ сна. Ожирение наносит существенный экономический ущерб, так как для больных ожирением достоверно чаще и больше требуется оплата медицинских услуг по страховым полисам

Ожирение является фактором риска развития функциональных нарушений в пожилом возрасте, так как способствует проявлению сопутствующих заболеваний [95]. Ожирение в раннем и среднем пожилом возрасте (+/- 64,5 года) ассоциировано с когнитивным старением, висцеральная жировая ткань играет в этом ведущую роль [173]. Ожирение является фактором риска смертности от сердечно-сосудистых и других заболеваний.

Морбидное ожирение более характерно для женщин, что обусловлено активностью гормонов яичников [1]. В репродуктивном периоде у женщин эстрогены действуют синергично с генами жировой ткани и повышают уровень глютеофеморальной подкожной жировой массы, при этом снижается уровень центрального жира. Ожирение часто приводит к бесплодию. Потеря эстрогенов после менопаузы приводит к повышению общего уровня жировой массы и снижению процента тощей массы тела. Помимо метаболических нарушений, дислипидемии и воспаления, ожирение также сопряжено с неврологическими нарушениями. Со стороны центральной нервной системы (ЦНС) наблюдаются когнитивные нарушения средней тяжести, обусловленные вовлечением гиппокампа и гипоталамуса. Со стороны периферической нервной системы изменения, связанные с ожирением, касаются изменения баланса между симпатической и парасимпатической активностью. Нарушения сенсорики и полинейропатии присоединяются тогда, когда ожирение осложнено сахарным диабетом [233].

Изучение проблемы ожирения в хирургической практике представляет интерес с нескольких точек зрения. Прежде всего, это влияние ожирения на послеоперационное состояние пациентов и связанное с ним повышение риска развития воспалительных процессов и некрозов операционных швов. Высокий ИМТ, особенно морбидное ожирение, является независимым фактором риска развития осложнений после операции, а также женский пол, при котором различается характер распределения жира [59]. У

женщин ожирение связано с высоким риском развития осложнений, связанных с патологией операционной раны [181]. В исследовании с участием 92 тысяч пациентов после операций на сосудах были проанализированы осложнения, в том числе, смертность в течение 30 дней после операции (2,5%), сердечная недостаточность (2,1%), лёгочная недостаточность (8,6%), несостоятельность швов и другие осложнения раневой поверхности (6,4%), цереброваскулярные нарушения (6,4%), тромбоз глубоких вен и эмболия лёгочной артерии (1,2%), острая почечная недостаточность (3,9%), инфекции (5,3%) и другие (3,7%). Было установлено, что при ожирении более высокий процент осложнений, связанный с операционной раной, при этом смертность, сердечная и лёгочная недостаточность ниже, чем у пациентов с нормальной массой тела [136].

У пациентов с ожирением после традиционной абдоминопластики (180<sup>0</sup>) повышена частота формирования серомы (2,8%), инфекционных осложнений (4,2%), тромбоза глубоких вен (1,4%), некроза мягких тканей (4,2%), увеличивается период заживления операционной раны (5,6%) и чаще требуется повторная операция (18,1%), [140,149]. Инфекции и тромбоз вен в два раза чаще регистрируются после абдоминопластики у пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела [146]. Тучные пациенты чаще имеют госпитальную патологию (7,3% vs 3,9%) или серьёзные осложнения (3,2% vs 0,9%) в течение первых 30 дней после операции [268]. 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 [117].

### **1.3. Жировая ткань**

Ожирение – это не только повышенный уровень жировой массы, но и изменённые функции клеток в жировой ткани, что поддерживает постоянный уровень воспаления [190] и снижает способность тканей к заживлению первичным натяжением. Ожирение часто ассоциировано с такими дисфункциями, как гипертрофия адипоцитов и нарушение их секреторной функции, накопление жира в определённой области тела, инфильтрация тканей клеткам иммунной системы [145], привлечение макрофагов в жировую ткань, нарушение коммуникации между клетками в жировой ткани [118].

Жировая ткань бывает бурая и белая, последняя рассматривается как эндокринный орган, в котором секретируются цитокины с аутокринными, паракринными и эндокринными функциями. По клеточному составу белая жировая ткань различается в зависимости от локализации. Основными её клетками являются адипоциты и их предшественники (преадипоциты), стволовые клетки жировой ткани, тканевые макрофаги

и мигрирующие моноциты, нейтрофилы, лимфоциты, клетки эндотелия, выстилающие многочисленные сосуды в жировой ткани. Для белой жировой ткани характерно наличие короно-подобных структур – скоплений макрофагов вокруг адипоцитов [138].

У человека в абдоминальной области жировая ткань подразделяется на суперфациальную (подкожную) и висцеральную. Стромальная васкулярная фракция висцерального жира и подкожного жира при ожирении различаются, особенно у женщин [294]. Супернатант адипоцитов, выделенных из тканей женщин с ожирением, отличается от супернатанта пациенток с нормальной массой тела. Размер адипоцитов зависит от локализации жировой ткани: под кожей он значительно больше, чем в сальнике ( $8,741 \pm 416$  vs  $7,732 \pm 213$  мкм<sup>2</sup>) [125]. Размер адипоцитов также увеличивается при диабете 2 типа, причем, даже без ожирения. У подкожных адипоцитов выше адипогенный потенциал, экспрессия рецепторов PPAR- $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ) и секреция лептина [176]. Идентифицировано несколько типов предшественников адипоцитов, в том числе, специфичных только для висцеральной жировой ткани.

Жировая ткань (как висцеральная, так и подкожная) играет важную роль в поддержании гомеостаза всего организма и в регуляции его метаболизма. Внутримышечная жировая ткань является фактором риска развития резистентности к инсулину. Преадипоциты и адипоциты секретируют биологически активные пептиды и другие медиаторы [217], а также влияют на резидентные клетки иммунной системы, к которым относятся макрофаги и моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, эозинофилы, натуральные киллеры (NK), натуральные киллерные лимфоциты (NKT клетки), Т- и В-лимфоциты, лимфоидные клетки природного иммунитета (innate lymphoid cells (ILC)) и другие, локализующиеся в жировой ткани [65].

Субпопуляции клеток иммунной системы в жировой ткани являются метаболически активными и связаны с развитием метаболических нарушений [145]. Ожирение ассоциировано с подострым воспалением в жировой ткани, с изменениями в регуляции клеток иммунной системы и с повышением концентрации про-воспалительных цитокинов. Цитокины, продуцируемые субпопуляциями Т-хелперов (Т helper, Th) Th1 (IL-12, IL-27, интерферон гамма (IFN $\gamma$ )) и Th17 (IL-17), вносят основной вклад в развитие и поддержание воспаления в жировой ткани [191].

Существует взаимосвязь между характером распределения жировой ткани и метаболическими нарушениями в организме человека. Снижающийся с возрастом уровень половых гормонов соотносится с уровнем хронического воспаления при ожирении и метаболическом синдроме [279]. Хемокины играют важную роль в поддержании метаболических нарушений в жировой ткани. При ожирении адипоциты секретируют

повышенный уровень хемокина CCL2, который играет ключевую роль в миграции моноцитов в жировую ткань и инфильтрации её макрофагами [118]. Половые гормоны снижают уровень экспрессии CCL2 адипоцитами в связи с супрессией промотора гена CCL2 дигидротестостероном. CCL2 положительно коррелирует с уровнем внутримышечной жировой ткани, а лептин – с уровнем подкожной жировой ткани [147]. Уровень сывороточного хемокина CXCL10 положительно коррелирует с висцеральным подкожным жиром при ожирении, а также связан с развитием метаболических осложнений при ожирении. В сыворотке крови адипонектин высокого молекулярного веса положительно коррелировал только с хемокином CXCL9, тогда как адипонектин, лептин, резистин положительно ассоциированы с уровнем CXCL10, CXCL9 и CCL2 в сыворотке крови [285].

В абдоминальной жировой ткани увеличено число клеток ILC3, ILC2, а также уровня белков IP-10 (interferon-inducible protein-10) и растворимого (s, soluble) лиганда рецептора sCD40L [261]. При ожирении в сыворотке крови повышены уровни IL-1 $\beta$ , IL-6, СРБ, малонового диальдегида (МДА) и адипонектина [101]. IL-1 $\beta$  влияет на продукцию цитокинов преадипоцитами, стимулирует секрецию IL-8, IL-10, IL-13, TNF $\alpha$ , IP-10, а также IL-6, уровень мРНК которого повышается в 453 раза [51], а секретируемый адипоцитами адипонектин регулируют активность дендритных клеток, нейтрофилов, ИЛС и тучных клеток. IL-6 регулирует гомеостаз жировой ткани при ожирении и поддерживает воспаление. При ожирении уровень IL-6 в сыворотке крови и в тканях повышен [102].

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) [270]. При ожирении повышены уровни растворимых рецепторов sTNF-R1 и sTNF-R2, sIL1-R2 и sIL6-R, sVEGF-R2 (Vascular Endothelium Growth Factor).

При накоплении висцеральной жировой ткани в ней регистрируется инфильтрация макрофагами, повышение экспрессии генов TLR4 (Toll-like receptor 4), IL-1 $\beta$ , гена каспазы-1, но снижается экспрессия генов, отвечающих за чувствительность к инсулину (GLUT4, PPARG2, SIRT1) и липогенез (SREBP1c, ACC, LPL, FASN), что поддерживает воспаление в жировой ткани при ожирении [182]. При ожирении наблюдается вялотекущее хроническое воспаление с нарушениями иммунитета, повышение уровня циркулирующих цитокинов и белков острой фазы, аккумуляцией макрофагов. Маркёры воспаления – С-реактивный белок (СРБ), TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, прокальцитонин, MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1), MIP1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 alpha) [284].

Эндогенные липиды, секретируемые адипоцитами, могут выступать в роли адьювантов и повышать миграцию нейтрофилов и макрофагов в жировую ткань [103]. Между адипоцитами и клетками иммунной системы имеется тесное взаимодействие. Клетки природного иммунитета (нейтрофилы, макрофаги, тучные клетки, эозинофилы, NK клетки и т.д.) и адаптивного иммунитета (основные популяции Т-лимфоцитов, регуляторные Т-клетки (Treg), В-лимфоциты) играют роль в поддержании воспаления в жировой ткани при ожирении, что и является основной причиной развития осложнений после операций [74]. У пациентов с ожирением разных возрастных групп показаны различия в отношении функциональной активности Т-лимфоцитов в жировой ткани.

Влияние ожирения на развитие осложнений после абдоминопластики заключается в синтезе и секреции адипоцитами факторов, поддерживающих низкий, но постоянный уровень воспалительной реакции в месте послеоперационного рубца. Накопление коллагена вокруг адипоцитов и сосудов (перичеллюлярный фиброз) отражает нарушения метаболизма жировой ткани при ожирении. Изменения компонентов базальной мембраны жировой ткани связаны с ожирением, в частности, накопление коллагена IV, который ассоциирован с резистентностью к инсулину при ожирении. Различные изоформы белка TGF $\beta$  (Transformed growth factor beta) регулируют метаболизм жировой ткани, влияют на воспаление, экспрессию генов белков ECM, адипоцитов и эндотелиальных клеток. Выделенные из жировой ткани адипоциты, стимулированные *ex vivo* изоформами TGF $\beta$ , при дифференцировке имели воспалительный и профиброзный фенотип, определяемый экспрессией генов TGF $\beta$ 1 и TGF $\beta$ 3 [306].

#### 1.4. Заживление ран

Заживление ран – это многофакторный процесс, требующий активации и миграции клеток в зону повреждения. В процессе заживления раны одновременно участвуют клетки паренхимы, растворимые медиаторы, клеточные элементы крови, белки ECM, а также коммитированные стволовые клетки кожи [141]. В норме воспаление занимает короткое время и заканчивается регенерацией ткани, которая включает в себя эпителизацию, формирование грануляций, ангиогенез с последующей реорганизацией тканей. Если воспалительный процесс затягивается, то начинается высвобождение провоспалительных цитокинов (EGF, PDGF, VEGF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , bFGF, KGF, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 (CXCL8) и CXCL1 и CXCL8), тромбоцитов, нейтрофилов, макрофагов, повышается уровень генерации кислородных радикалов и изменяется pH в ране. Обычно это происходит при наличии бактериальных пленок в месте операционной раны [251]. IL6,

IL8, галлектин-1, фибронектин и хемокин CXCL1 обладают сходными эффектами при заживлении ран и при формировании гипертрофических или келоидных рубцов.

Миграция клеток зависит от способности лейкоцитов распознавать экстраклеточный градиент продуцируемых при воспалении хемотаксических пептидов, к которым относятся хемокины, факторы комплемента, некоторые белки острой фазы, N-формилпептиды бактерий, а также N-формилпептиды, высвобождаемые из митохондрий организма-хозяина. Заживление ран является сложноорганизованным процессом, в котором участвуют многочисленные сигнальные пути, в том числе, с участием киназы RIPK3 (Receptor-interacting Protein Kinase 3), контролирующей программированный некроз в ответ на TNF- $\alpha$ , а также заживление ран на коже [82].

Поддержание воспаления в жировой ткани является основной причиной развития осложнений после операций, а также является причиной заживления ран вторичным натяжением, что, соответственно, приводит к нежелательным рубцам в месте операции. У пациентов с ИМТ 30–35 (средний возраст 37 лет) через 1 год после абдоминопластики на фоне резкого снижения веса изменялись показатели биохимии крови, уровни адипоцитокинов плазмы (лептин, адипонектин, резистин) и маркеров воспаления (TNF- $\alpha$ , IL-6, СРБ). Уровень адипонектина был значительно повышен, а уровни TNF- $\alpha$ , IL-6 и СРБ через год после операции приходили к нормальным значениям. В формировании гипертрофических рубцов играют роль хемокины, ассоциированные с Th1 и Th2 клетками, которые регулируют активность кератиноцитов и фибробластов кожи [92]. Рецептор хемокинов CXCR4 также участвует в сигнальном пути, приводящем к секреции белков ЕСМ и формированию фиброза тканей [83].

### **1.5. Макрофаги жировой ткани**

Макрофаги имеют костномозговое происхождения и образуются в жировой ткани из моноцитов при их терминальной дифференцировке. Циркулирующие CD11c+ моноциты мигрируют из кровяного русла в ткани [300], где дифференцируются под влиянием тканевых и ростовых факторов. Имеется положительная корреляция между ИМТ и процентом макрофагов в жировой ткани [284]. Наиболее различаются по своим свойствам M1 и M2 макрофаги. В сигнальном пути, регулирующем поляризацию M1 и M2 макрофагов, принимают участие казеинкиназа и её сигнальные белки. Макрофаги инфильтрируют преимущественно подкожную жировую ткань в ответ на стрессовые сигналы от адипоцитов, в частности, при их гипертрофии. В жировой ткани изменен уровень секреции цитокинов, наблюдается накопление макрофагов. Локальная

пролиферация макрофагов в жировой ткани связана с развитием воспалительной реакции [84].

К суперсемейству макрофагальных ингибиторных факторов относятся MIF-1 (macrophage migration inhibitory factor 1) и MIF-2 (или D-Dt homolog D-dopachrome tautomerase), они регулируют адипогенез в жировой ткани, а также связывают рецепторный комплекс CD74/CD44. MIF-1 положительно коррелирует с ожирением и резистентностью к инсулину, участвует в воспалении жировой ткани. MIF-2 имеет противоположные функции. Уровень белка и мРНК MIF-2 существенно снижены в подкожной жировой ткани при активном воспалении после оперативного вмешательства. MIF-2 повышает жизнеспособность фибробластов и их пролиферацию. Взаимодействие MIF-1 с рецептором хемокинов CXCR2/4 способствует привлечению в жировую ткань клеток, играющих роль в воспалении [168].

Макрофаги в жировой ткани секретируют повышенный уровень TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , что приводит к воспалению и нарушению функциональной активности адипоцитов [177]. Хроническое воспаление в жировой ткани также связано с повышением экспрессией IL-6 [102]. Секреция TNF- $\alpha$  и IL-6 в жировой ткани повышается в ответ на стресс, при этом эстрогены снижают секрецию провоспалительных цитокинов при стрессе, а тестостерон не оказывает существенного влияния [113]. TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  стимулируют секрецию IL-34 дифференцирующимися адипоцитами, повышение IL-34 в сыворотке крови связано с системным воспалением, а повышение IL-34 в жировой ткани связано с резистентностью к инсулину: он ингибирует стимулирующее воздействие инсулина на транспортеры глюкозы. IL-34 способствует накоплению триглицеридов и повышению массы жировой ткани. Экспрессия мРНК IL-34 существенно выше в висцеральной жировой ткани по сравнению с абдоминальной жировой тканью [90]. IL-15 продуцируется нейтрофилами и макрофагами при стимуляции эндотоксинами и активирует пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов и NK клеток в жировой ткани.

### **1.6. Нейтрофилы жировой ткани**

Существенную роль в поддержании воспаления в жировой ткани играют нейтрофилы: любое повреждение тканей, включая оперативное вмешательство, влечёт за собой их активацию. Под действием хемотаксиса нейтрофилы мигрируют через эндотелий в сайт инфекции, где фагоцитируют патогены или уничтожают их протеолитическими ферментами, секретируемыми из первичных и вторичных гранул [237]. В экспериментах на животных показано, что при травме 393 белка нейтрофилов изменяют свою активность, эти белки участвуют в миграции, хемотаксисе, апоптозе, иммунном ответе, протеасомной

деградации и реорганизации цитоскелета нейтрофилов. То есть, нейтрофилы изменяют свою активность в раннем периоде после хирургического вмешательства, что может сказываться на уровне защиты от инфекции [60], дисфункция нейтрофилов может приводить к персистенции патогенов в тканях [189].

У пациентов с ожирением нейтрофилы имеют более длительный период жизни и сниженную активность апоптоза, при этом не изменены их хемотаксис, фагоцитарная активность и генерация супероксида. Пролонгирование времени жизни нейтрофилов приводит к поддержанию воспалительной реакции в области операционного шва и к развитию осложнений после операции. При затяжном течении заживления раны повышенный уровень нейтрофилов обнаружен у 44% больных. При ожирении возрастает риск развития некроза кожи и подкожно-жировой ткани: чем выше ИМТ, тем вероятнее риск развития некроза мягких тканей [224].

Персистирующие нейтрофилы повышают риск развития тромбоза вен после операции. Если в крови абсолютное число нейтрофилов  $\geq 9 \times 10^9/\text{л}$  поддерживалось более 2-х месяцев после операции, то частота развития венозной тромбоэмболии возрастала в два раза по сравнению с частотой этой патологии при нормальном значении уровня нейтрофилов. Ещё более повышался риск развития тромбоэмболии у пациентов, у которых абсолютное число нейтрофилов  $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$  [183].

При стрессе, вызванном травмой или в раннем периоде после хирургической операции, в жировой ткани высвобождаются провоспалительные цитокины, изменяющие функциональную активность нейтрофилов, что может привести к снижению их антимикробной активности [64]. С другой стороны, недостаточная активность генерации супероксидного аниона нейтрофилами при окислительном взрыве, ослабление хемотаксиса, повышают риск развития сепсиса [108]. При системном воспалении дисфункция нейтрофилов может быть в результате их контакта со стафилококками после активации комплементом, в результате снижается экспрессия рецепторов для C5a компонента комплемента, что приводит к падению фагоцитарной активности [264].

Миграция нейтрофилов в сайт воспаления контролируется взаимодействием лигандов со специфическими рецепторами, в частности, G-протеин-сопряжёнными рецепторами FPR1 и FPR2 для формил-пептида (fmlp, N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine), которые рассматриваются как ключевые регуляторы событий в сайте воспаления [119]. Рецепторы FPR1 и FPR2 на нейтрофилах, распознают хемотаксические пептиды, секретруемые бактериями [178] при воспалении и повреждении тканей, а также инициируют хемотаксис нейтрофилов в дерму в области раны. Сигнальные пути,

инициированные от этих рецепторов, также отвечают за хемотаксис нейтрофилов в зону некроза при ишемии/реперфузии [151].

При ИМТ 35–69 кг/м<sup>2</sup> нейтрофилы крови выделяют достоверно более высокий уровень супероксидного аниона, как базальный, так и стимулированный fmlp или опсонизированным зимозаном, также значительно повышен уровень хемотаксиса нейтрофилов. Таким образом, нейтрофилы при ожирении активированы и активно мигрируют в ткани [76].

При механическом повреждении тканей или при операции N-формилпептиды митохондрий попадают в ЕСМ, стимулируют клетки природного иммунитета, в результате может развиваться системный воспалительный ответ. Около 34% наивных нейтрофилов мигрируют в ткани под действием бактериального fmlp. Если нейтрофилы активированы IL-2, IL-6, то только 15–22% из них отвечают хемотаксисом на fmlp, а их миграция через эндотелий существенно меняется. При контакте с эндотелиальными клетками на мембране нейтрофила повышается экспрессия рецепторов CD11b/CD66b, которые на наивных нейтрофилах экспрессируются достоверно меньше [169].

Популяция нейтрофилов включает в себя зрелые и незрелые нейтрофилы, а также нейтрофилоподобные клетки [262]. Независимо от статуса, локализации и активации все нейтрофилы экспрессируют рецепторы CD66b, CD16 и CD11b. Зрелые нейтрофилы имеют активированный статус, что определяется по повышению экспрессии рецепторов CD11b, CD63, CD66b [184]. В тканях при хроническом воспалении нейтрофилы начинают экспрессировать уникальные маркеры, что позволяет оценить их участие в том или ином патологическом процессе. Воспалительный фенотип нейтрофилов характеризуется повышением экспрессии рецепторов CD85a, CD305, CD312, ассоциированных с ингибирующей ролью нейтрофилов. Экспрессия CD85a однозначно указывает на активационный статус нейтрофилов. Нейтрофилы другого фенотипа, который не является воспалительным, экспрессируют рецепторы CD31, CD43, CD44, CD45, CD50, CD62L, CD162, необходимые для их взаимодействия с клетками эндотелия. На этих нейтрофилах повышена экспрессия рецепторов CD147, CD181, регулирующих хемотаксис в ткани [184]. Хемотаксис нейтрофилов требует координации полимеризации и деполимеризации актинового цитоскелета на полюседвигающейся клетки, в сигнальных путях которого участвуют протеинкиназы PKC $\beta$ , PKD, PI3K, фосфолипаза PLC $\gamma$ 2 [302].

Обычно воспалительную реакцию организма оценивают по повышению уровня лейкоцитов крови и СРБ, которые являются маркерами воспаления. При ожирении ИМТ положительно коррелирует с абсолютным числом лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов [135]. Соотношение нейтрофилов к лимфоцитам повышено у пациентов с

ожирением. Уровень лейкоцитов и нейтрофилов положительно коррелировал с массой висцеральной жировой ткани [256]. Общее число нейтрофилов положительно коррелировало с резистентностью к инсулину, тогда как число лимфоцитов коррелировало с уровнем печеночных ферментов, резистентностью к инсулину и дислипидемией. У молодых мужчин при ожирении повышен процент активированных нейтрофилов крови. В этой группе больных также актуален индекс отношения тромбоцитов к лимфоцитам, который достоверно повышается с возрастанием степени ожирения [123].

### 1.7. Хемокины и их рецепторы

Хемокины – это суперсемейство белков с  $M \sim 8-10$  кДа, работающих как хемотаксические и активационные молекулы для клеток разного типа. Хемокины регулируют направленное движение клеток иммунной системы в очаг воспаления, контролируют взаимодействия клеток при физиологических и патологических процессах. Хемотаксис – это важный аспект поведения клеток иммунной системы, например, в ответ на хемокины CCL17 и CCL22 мигрируют Treg клетки и CCR4+ Т-лимфоциты [205]. Хемокины вызывают такое клеточное явление, как «swarming» (роевание), когда действуют сразу несколько хемотаксических факторов, обуславливающих движение клеток разного типа [158]. В мигрирующих клетках соблюдается полярность, которая наиболее ярко проявляется на гребне градиента хемокинов. Существенным механизмом движения клеток под действием хемокинов является миграция к участкам с более высоким уровнем хемоаттрактанта [236]. Повышение экспрессии хемокинов и их рецепторов при ожирении приводит к лейкоцитарной инфильтрации тканей и аккумуляции тканевых макрофагов.

Все хемокины подразделяются на 4 семейства в зависимости от структуры первых двух цистеиновых последовательностей: наибольшее число хемокинов относится к семейству CX<sub>2</sub>C, в котором два цистеина разделены одной аминокислотой, в семействе CC соединены первые два цистеина, малое семейство XC имеет только один из первых двух цистеинов, а в семействе CX<sub>3</sub>C два первых цистеина разделены тремя аминокислотами [207]. Все хемокины имеют консервативные структуры – β-складки и α-спирали, четвертичные структуры хемокинов различаются в зависимости от их семейства [216]. Протеолиз хемокинов матриксными металлопротеиназами (ММП) является механизмом биологического контроля активности хемокинов.

Хемокины регулируют как направленное движение лимфоцитов в сайт воспаления, так и активацию Т-лимфоцитов за счет сигнальных путей от рецепторов хемокинов на плазматической мембране клеток. С Т-лимфоцитами ассоциированы хемокины XCL1,

XCL2, CCL18, CCL23, CCL25. Активированные Т-клетки сопряжены с CXCL16, CX3CL1, CCL2, CCL3, CCL5, CCL8, CCL9, CCL10, CCL12, CCL13, CCL19, CCL21, CCL27, CCL28. Th1 лимфоциты сопряжены с хемокинами CXCL9, CXCL10, CXCL11, активированные Th1 – с CCL4, CCL16, активированные Th2 – с CCL1, CCL11, CCL17, CCL22, CCL24, CCL26. При хроническом воспалении Th, секретирующие хемокины CXCL13, имеют фенотип PD-1<sup>high</sup>CXCR5 [309]. Хемокины CCL20 сопряжены с фолликулярными Т-хелперами (Tfh) и CD8+Т-лимфоцитами, а CCL25 – с тимоцитами. На субпопуляциях Т-лимфоцитов экспрессируются рецепторы CXCR3, CXCR7, CXCR6, CX3CR1, XCR1, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 хемокинов [107].

### 1.7.1. Рецепторы хемокинов

Экспрессия рецепторов хемокинов является органо- и клеточно-специфичной, они вовлечены в регуляцию многих клеток, участвующих в физиологических и патологических состояниях. В геноме человека в настоящее время обнаружено более 20 генов рецепторов хемокинов. При исследовании генома 16 видов позвоночных было обнаружено 29 ортологов групп генов хемокинов, что указывает на эволюционные изменения в геноме [231]. Гены рецепторов хемокинов стали появляться уже на самых ранних этапах формирования позвоночных, сейчас в генах человека остаются консервативные участки, характерные для этой стадии. Хемокины регулируют миграцию клеток для защиты организма, а гены, вовлеченные в систему защиты, подвергаются быстрой эволюции, так, в геноме 18 видов позвоночных идентифицировано 553 гена хемокинов [232].

Все рецепторы хемокинов можно разделить на две группы: большинство рецепторов – это родопсин-подобные G-протеинсопряженные хемотаксические рецепторы (GPCR, G protein-coupled receptor) с 7 трансмембранными доменами (7ТМ рецепторы), которые функционируют как мономеры, гомодимеры и гетеродимеры [207]. Вторая группа – это атипичные хемокиновые рецепторы, ранее известные как скавенджер рецепторы, которые не используют G белки и не проводят сигналы хемотаксической активности, но связывают хемокины с высокой степенью аффинности [63]. Атипичные рецепторы проводят дополнительные сигналы, которые контролируют ряд физиологических функций в клетках [282].

Все G-протеинсопряженные рецепторы хемокинов человека подразделяются на 4 группы по признаку распознавания хемокинов разных групп, то есть, рецепторы CCR связывают хемокины CCL, рецепторы CXCR действуют для хемокинов CXCL, соответственно, XCR для XCL и рецепторы CX3CR распознают хемокины CX3CL [282].

Хемокины и их GPCR рецепторы создают сеть, участвующую в регуляции воспаления в тканях, в том числе, в коже, а также регулирующую продвижение клеток иммунной системы к патогенам. Через одни и те же рецепторы могут проводить сигналы разные хемокины. Один GPCR может активировать множество сигнальных каскадов за счёт связывания с различными лигандами. G-протеин сопряженный рецептор GPR15 регулирует продвижение лимфоцитов в кожу и в кишечник [235].

Для атипичических хемокиновых рецепторов в настоящее время используется аббревиатура ACKR (atypical chemokine receptor), одобренная Всемирной организацией генома человека (Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee) и номенклатурным комитетом международного союза фармакологов (Nomenclature Committee of the International Union of Pharmacology). ACKR рецепторы играют роль в воспалении и иммунном ответе, они создают концентрацию и градиент лигандов в тканях различными способами, включая связывание, аккумуляцию, транспортировку хемокинов [62]. Филогенетический анализ генов ACKR показал, что есть 4 консервативных субсемейства у млекопитающих (ACKR1, ACKR2, ACKR3, ACKR4). Гены ACKR подвергаются молекулярной эволюции при сохранении критических аминокислотных остатков в сайтах связывания [238]. ACKR1 не экспрессируется на лейкоцитах, ACKR3 не проводит сигналы через G белки при связывании хемокинов, но использует  $\beta$ -аррестин в сигнализации и активирует MAPK киназы, способствует интернализации хемокина CXCL12, а также способствует формированию димеров другого рецептора для CXCL12 – CXCR4 [104].

ACKR1 (DARC, Duffy antigen, Fy antigen, CD234) связывает хемокины CCL1,2,5,7,8,11,13,14,16,17,18 CXCL1,2,3,4,5,6,8,9,10,11,13 на эритроцитах, нейронах, клетках эндотелия сосудов.

ACKR2 (D6, CCR9, CCR10, CCBP2, CMKBR9) связывает хемокины CCL2,3,3L1,4,5,6,7,8,11,12,13,14,17,22,23,24,26 на В1 субпопуляции В-лимфоцитов, эндотелиальных клетках, некоторых субпопуляциях макрофагов, является скавенджером лигандов.

ACKR3 (CXCR7, RDC1, CMKOR1) связывает CXCL11 и CXCL12, опиоидные пептиды и адренормедуллин на гемопоэтических и мезенхимальных клетках, клетках эндотелия сосудов, является скавенджером лигандов и обеспечивает градиент хемокинов. Ранее для хемокина CXCL12 был выявлен рецептор CXCR4, однако, ACKR3 (CXCR7) также проводит сигнал CXCL12. Связывание рецептора CXCR7 хемокином CXCL12 потенцирует его ответ через CXCR4, а также способствует выходу клеток из ниш в

костном мозге при лейкозе. CXCR7+ макрофаги отвечают за развитие резистентности к инсулину в жировой ткани [244].

ACKR4 (CCRL1, CCX-CKR, CCR11) связывает хемокины CCL19, CCL21, CCL25 и CXCL13 на клетках эпителия тимуса и бронхов, на эндотелии лимфатических сосудов, В-лимфоцитах ростовых центров и на кератиноцитах, является скавенджером лигандов [63]. ACKR4 связывает CCL20, для которого ранее был известен только рецептор CCR6 [210], при этом CCL20 быстро интернализуется и проводит сигналы в клетку [215].

Активация рецепторов хемокинов CXCR1 и CXCR2 имеет отношение к развитию послеоперационного болевого синдрома. Хемокин CXCL8 связывает рецептор CXCR2 и стимулирует хемотаксис нейтрофилов в сайт воспаления [197]. При ожирении ткани инфильтрированы циркулирующими лейкоцитами. Если человек при наличии ожирения двигается в течение дня со средней интенсивностью, то подавляется экспрессия рецепторов CXCR2 на моноцитах и снижается число CCR2+ моноцитов. Нагрузки высокой интенсивности в течение дня повышают экспрессию рецепторов CCR5 на моноцитах, нейтрофилах и Т-лимфоцитах, а также процент CCR5+ моноцитов, нейтрофилов и Т-лимфоцитов. Уровень циркулирующих хемокинов не изменялся в зависимости от уровня физической нагрузки [66].

В последние годы обнаружены новые рецепторы, проводящие сигналы хемокинов, а также растворимые структуры, связывающие хемокины [62]. На основании этого даны рекомендации по использованию новых названий для некоторых GPCR рецепторов хемокинов – это рецептор хемерина CMKLR1 (chemokine-like receptor 1) или ChemR23, рецептор CXCR7 (CMKOR1) для хемокина CXCL12 (SDF-1) и хемокина CXCL11 (ITAC - interferon-inducible T-cell a chemoattractant) [104]. Рецептор CMKLR1 рассматривается как мишень для лечения аутоиммунных заболеваний и рака, при его связывании химерин формирует карман с экстраклеточной петлей рецептора, структуру которого можно использовать для разработки новых препаратов [127]. Повышение уровня сывороточного химерина наблюдается при абдоминальном ожирении при диабете 2 типа.

### 1.7.2. Семейство хемокинов CCL

Семейство хемокинов CCL (C-C motif chemokine ligand) также называют  $\beta$ -хемокиновое, их первые два N-концевых цистеиновых последовательности соединены. Члены этого семейства способствуют миграции моноцитов за счет связывания их рецепторов. CCL1 продуцируется макрофагами, взаимодействует с рецептором CCR8 на клетках ILC, продуцирующих IFN- $\gamma$  [166].

CCL2 (или MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1) является основным хемокином, регулирующим миграцию моноцитов в очаг воспаления и в жировую ткань, он считается ранним маркером воспаления. Именно повышение концентрации CCL2 в ЕСМ жировой ткани влияет на функциональную активность адипоцитов и обуславливает привлечение макрофагов в жировую ткань [118]. Экспрессия мРНК CCL2 и секреция хемокина CCL2 адипоцитами достоверно повышается при контакте с макрофагами, продуцирующими TNF- $\alpha$  [221]. Под воздействием TNF- $\alpha$  обнаружено интенсивное связывание ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa light-chain enhancer of activated B cells), регион связывания NF- $\kappa$ B ассоциирован с геном, кодирующим хемокин CCL2 [49]. При ожирении II и более степени, повышение уровня CCL2 в сыворотке крови положительно коррелировало с повышением уровня TNF- $\alpha$  и другими провоспалительными маркерами [72].

Повышение экспрессии CCL2 определяет миграцию провоспалительных макрофагов в сайт воспаления. В дополнение к привлечению моноцитов из циркуляции, CCL2–зависимая локальная пролиферация макрофагов в висцеральной жировой ткани определяет развитие локального воспаления при ожирении [53]. На ранних стадиях ожирения уровень CCL2 в циркуляции и в жировой ткани повышается незначительно или вообще не повышается, однако, уже на этом этапе происходит резкое увеличение числа макрофагов в жировой ткани за счёт их активной пролиферации. Миграция моноцитов в жировую ткань и их дифференцировка в макрофаги активно происходят на более поздних стадиях развития ожирения [164,319].

У женщин концентрация CCL2 в сыворотке крови превышает 373,0 пкг/мл, а уровень сывороточного CCL2 положительно коррелирует с ИМТ и указывает на хроническое воспаление в жировой ткани [194]. При метаболическом синдроме, осложняющем течение ожирения, достоверно повышен уровень CCL2 по сравнению с пациентами с ожирением, но без этого синдрома [160].

Хемокины CCL2 проводят сигналы через рецепторы CCR2, что регулирует миграцию клеток, секретирующих IL-17. Природные лимфоидные клетки IL3 продуцируют IL-22, который при связывании рецептора IL-22R активирует сигнальный путь с участием STAT3 (signal transducer and activator of transcription), что обуславливает секрецию хемокинов CCL2 и CXCL10 эпителиальными клетками, а также приводит к усилению миграции макрофагов в эту зону и развитием воспаления [154].

Установлено, что воспалительные процессы в ЦНС отражаются на скорости выздоровления после операции. Маркерами воспаления в ЦНС, в частности, являются хемокины CCL2, CCL3, CCL5, CX3CL1, которые продуцируются клетками ЦНС [88].

Хемокин CCL3 (или MIP-1 $\alpha$ , macrophage inflammatory protein-1 alpha), регулирует миграцию клеток иммунной системы и активирует природный и адаптивный иммунный ответ. Сигналы в клетки от CCL3 проводятся через рецептор CCR5 [47,263], что способствует миграции Т-клеток в очаг воспаления в ткани [175].

Хемокин CCL4 способствует повышению проницаемости эндотелиального барьера и повышению адгезии моноцитов. Поляризованная субпопуляция M1 макрофагов продуцирует факторы, регулирующие эндотелиально-мезенхимальную трансформацию клеток (EMT). Происходящие из макрофагов M1 пенистые клетки секретируют значительный уровень CCL4, что повышает проницаемость эндотелия и адгезию моноцитов. Рецептор CCR5 после связывания с хемокином CCL4 проводит сигнал активации TGF- $\beta$ . Таким образом, макрофаги регулируют проницаемость эндотелия сосудов за счёт секреции хемокина CCL4 и активации его рецептора CCR5, сопряжённого с сигнальными путями TGF- $\beta$  [308].

Экспрессия генов  $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов положительно коррелирует с экспрессией хемокинов CCL4 и CCL5 и их рецепторов CCR1 и CCR5 на плазматической мембране клеток, что способствует миграции  $\gamma\delta$ Т клеток из периферической крови в ткани, а также повышает Т-клеточную цитотоксичность [317].

При активации Т-клеток секретируется хемокин CCL5 (RANTES, regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted), который вместе с MIP-1 $\beta$  (Macrophage inflammatory protein-1 beta) усиливают миграцию макрофагов. Кроме Т-клеток, CCL5 продуцируется фибробластами [226], а также является ключевым регулятором остеокластогенеза и стимулирует регенерацию аксонов [301]. По некоторым данным холестерин в составе липопротеидов низкой плотности повышает уровень экспрессии хемокина CCL5.

Хемокин CCL8 связывает рецептор CCR8 на макрофагах, что обуславливает повышение синтеза NADPH оксидазы-2 (NOX2) и сопровождается повышением уровня реактивных метаболитов кислорода (ROS), что приводит к повышению проницаемости эндотелиальных клеток человека. Сигнальный путь активации CCL8/CCR8 включает киназы ERK1/2, PI3K-АКТ и ядерный фактор транскрипции NF- $\kappa$ B [303].

После контакта с IL-1 $\beta$  преадипоциты человека секретируют TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13. Через 4 часа после стимуляции IL-1 $\beta$  повышается экспрессия хемокинов CCL3, CSF3, CXCL10 и CCL13, базальный уровень экспрессии которого в преадипоцитах минимален и повышается по мере дифференцировки этих клеток [51].

Хемокины CCL17 (или TRAC, thymus and activation-regulated chemokine) секретируются активированными макрофагами и регулируют миграцию Th2-лимфоцитов.

При связывании CCL17 с рецептором CCR4 сигнал передается на киназу mTOR и её первый комплекс mTORC1 [311].

Через сигнальный путь mTORC1 регулируется продукция хемокинов CCL5 и CXCL10 макрофагами. Трансляционная репрессия хемокинов CCL5 и CXCL10 факторами 4E-BP1 и 4E-BP2 (вторичными мессенджерами киназы mTOR) приводит к ограничению способности макрофагов индуцировать миграцию активированных Т-клеток [296].

Примерно 90% Treg клеток человека экспрессируют рецепторы CCR4 для хемокинов CCL17 и CCL22. При использовании низкомолекулярных ингибиторов рецепторов CCR4 можно регулировать число Treg клеток при ряде заболеваний [206].

Хемокин CCL18 секретируется макрофагами и является маркером нарушения метаболизма в жировой ткани [124]

Связывание хемокина CCL20 с рецептором CCR6 на нейтрофилах активирует сигнальные пути секреции провоспалительных цитокинов [316], в которых вторичным мессенджером является ядерный фактор транскрипции NF- $\kappa$ B [80]. Секретируемый Т-лимфоцитами IL-17 повышает уровень транскрипции и экспрессию белка хемокина CCL20 кератиноцитами. Далее иммунные клетки, экспрессирующие рецепторы CCR6 и продуцирующие IL-17A, мигрируют в сайт воспаления [316].

Циркулирующие в плазме крови хемокины CCL20 в настоящее время рассматриваются как маркеры аневризмы брюшной аорты, в 91% (vs 54,3%) повышение их в крови совпадает с наличием аневризмы. Также повышается уровень рецептора CCR6 для хемокина CCL20 [271]. Провоспалительный IL-1 $\beta$  индуцирует экспрессию гена CCL20, а TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  повышают экспрессию рецептора CCR6 на нейтрофилах.

CCL21 секретируются клетками эндотелия лимфатических сосудов, направляет Т-лимфоциты и антиген-стимулированные дендритные клетки (ДК) в зону Т-клеток в лимфатических узлах, что приводит к их взаимодействию и активации Т-лимфоцитов [91]; в этом случае CCL21 действует через рецептор CCR7. Повышение экспрессии CCR7 на мембране зрелых ДК обуславливает их способность отвечать на хемокин CCL21. Макрофаги и CCR7+ ДК обнаружены в жировой ткани вплотную с лимфатическими узлами. Накопление CD11c+CCR7+ клеток в жировой ткани приводит к резистентности к инсулину при ожирении [150].

Градиент хемокинов и ростовых факторов указывает направление миграции клеток и определяет процессы морфогенеза. Градиент CCL21 в интерстиции зависит от гепарансульфата (из семейства гликозаминогликанов), продуцируемого клетками эндотелия лимфатических сосудов [281]. При деградации гепарансульфата снижается градиент хемокинов CCL19 и CCL21, что супрессирует миграцию ДК в тимусе [153].

Рецептор CD9 (тапсигаргин) негативно регулирует экспрессию CCL21 на мезенхимальных стволовых клетках человека [152].

Повышение экспрессии хемокинов CCL11, CCL17 и CCL22 Th2 лимфоцитами показано при инфекции RV-C риновируса; риновирус RV-A стимулирует экспрессию хемокина CCL24 (eotaxin-2) [57]. Риновирус RV1-B вызывает повышение экспрессии хемокинов CCL17, CXCL1 и CCL2 [213].

Блокада хемокина CCL24 антителами снижает активацию фибробластов дермы и их трансформацию в миофибробласты. Антитела к CCL24 также снижали активацию клеток эндотелия при контакте с CCL24, а также длительно ингибировали развитие воспаления и фиброза дермы и фиброза легочной ткани [220].

Хемокин CCL25 играет роль в регуляции иммунных клеток при хроническом воспалении в тканях, его рецептор CCR9 экспрессируется на всех иммунных клетках. При стимуляции мононуклеаров периферической крови хемокином CCL25 повышается секреция CCL2, IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  [273].

Хемокины CCL28 участвуют в иммунном ответе при контакте внешних раздражителей с клетками эпителия и слизистых. CCL28 обладают широким спектром антимикробной активности против грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микроскопических грибов. CCL28 активно привлекают лимфоциты в сайты воспаления в слизистых и в эпителии, а также регулируют функциональную активность лимфоцитов при связывании CCL28 с рецепторами CCR10 и CCR3 [219]. Хемокины CCL28 оказывают прямой эффект на остеобласты и остеокласты. Дефицит CCL28 приводит к снижению числа зрелых остеобластов и плотности костей, при этом повышается скорость созревания остеокластов. Повышение концентрации CCL28 снижает активность остеобластов и остеокластов, но не влияет на их дифференцировку [161].

### **1.7.3. Семейство хемокинов CX3CL**

Хемокин CX3CL1 (Фракталин) относится к адипоцитокинам, при ожирении его экспрессия повышается с возрастанием ИМТ, он ассоциирован с метаболическим синдромом. При диабете 2 типа уровень фракталина в плазме крови положительно коррелирует с уровнем TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, G-CSF, IFN- $\alpha$ 2, IL-17A, IL-12 и хемокинов CCL3, CCL4, CCL11, CXCL1, что отражает системное воспаление [269].

В ЦНС CX3CL1 экспрессируется на нейронах, а его рецептор CX3CR1 экспрессируется на клетках микроглии и регулирует ряд событий в ЦНС, может инициировать нейровоспаление [314]. Ингибирование сигналов CX3CL1/CX3CR1 в микроглии может ослабить проявление нейровоспаления [109]. В модельной системе на

мышцах показано, что алиментарное ожирение сопровождается снижением уровня фракталина в ЦНС и нарушением его сигнальных путей CX3CL1/CX3CR1 в кортиколимбической системе [167].

Развитие нейропатической боли после операции может быть связано с рецепторами CX3CR1 и CCR2 [283]. Боль после операции можно облегчить путем введения рекомбинантного хемокина CXCL1, повышение уровня которого в крови оказывает анальгезирующее действие; сигнал проводится через опиоидные рецепторы.

Рецепторы CX3CR1 экспрессируются на моноцитах, макрофагах, цитотоксических Т-лимфоцитах, НК клетках, а также на экзосомах, в этом случае рецепторы CX3CR1 эффективно связывают растворимый фракталин [240]. Экспрессия CX3CR1 на Т-клетках в ответ на ингибиторы временных точек (checkpoint) в настоящее время рассматривается как маркер дифференцировки Т-клеток [304]. Нарушение сигнального пути CX3CL1/CX3CR1 также показано при почечной недостаточности. Взаимодействие между CX3CL1 и CX3CR1 регулирует инфильтрацию тканей фагоцитами [55]. В сигнальный путь CX3CL1 входят киназы PI3K/AKT; фракталин также регулирует сигналы CX3CL1/ICAM-1/LFA-1, что повышает трансэндотелиальную миграцию путем повышения экспрессии ICAM-1 и проницаемости эндотелиальных клеток [291].

Сигнальный путь CX3CL1/CX3CR1 играет роль в прогрессировании ожирения, при этом он действует синергично с сигнальными путями через рецепторы CCR5 и CCR2, которые регулируют воспаление в жировой ткани, фракталин поддерживает воспаление за счёт привлечения макрофагов и их поляризации в M2 субпопуляцию [225]. Нокаут рецепторов CCR2 и CX3CR1 снижает уровень циркулирующих моноцитов.

#### **1.7.4. Семейство хемокинов CXС**

Хемокины этого семейства выполняют разнообразные функции в организме, но все они так или иначе связаны с защитой организма [130].

Хемокины CXCL1 и CXCL2 секретируются кератиноцитами, тучными клетками, макрофагами, зрелыми адипоцитами и т.д., а также координируют миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. Сначала тучные клетки высвобождают CXCL1/CXCL2 из гранул в ответ на активацию рецепторов TLR4, что инициирует приток нейтрофилов, затем уже тканевые макрофаги в ответ на бактериальный липополисахарид (ЛПС) секретируют CXCL1 и CXCL2 и регулируют дальнейшую миграцию нейтрофилов в сайт воспаления [106]. Зрелые адипоциты после стимуляции провоспалительными IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  секретируют CXCL2, что оказывает влияние на активацию воспалительного процесса и приводит к замедлению заживления ран.

Хемокины CXCL1 и CXCL2 координируют миграцию клеток за счет формирования димеров хемокинов и их связывания с гликозаминогликанами, что определяет градиент хемокинов, время жизни и презентацию для распознавания. Гликозаминогликаны могут быть связанными ковалентными связями с основными белками протеогликанов, при этом имеют ограниченную мобильность, или существуют в виде свободных цепей после расщепления гепараназазой при воспалении. CXCL1 и CXCL2 также формируют гетеродимеры, их внутренняя асимметрия и взаимодействие с гликозаминогликанами или протеогликанами регулируют функциональную активность хемокинов [265].

Основным источником CXCL3 являются макрофаги, стимулированные интерлейкином IL-33. Рецептором для хемокинов CXCL3 является CXCR2. Основной мишенью сигнального пути CXCL3/CXCR2 является коллаген III типа [276].

Провоспалительный хемокин CXCL4 (PF4) считается маркером тяжёлого воспаления соединительной и нервной ткани. CXCL4 может связываться с ДНК человека или микробов в комплексы, которые распознают рецепторы TLR9 на плазмцитойдных дендритных клетках (пДК) и активируют в них продукцию IFN- $\alpha$ . В коже человека CXCL4 ко-локализуется с пДК и способствует распознаванию микробной ДНК клетками природного иммунитета. Хотя рецептором хемокина CXCL4 является CXCR3, он не участвует в организации комплексов с ДНК [185]. Антитела к CXCL4 используют для лечения остеомиелита, чтобы подавить экспрессию CD4+CD25+FOXP3+ Treg клеток, играющих роль в патогенезе данного заболевания [157].

CXCL4 и CXCL4L1 по-разному регулируют выживание моноцитов, дифференцировку ДК и фагоцитоз. CXCL4 вызывает поляризацию макрофагов в уникальный фенотип. CXCL4 распознает рецепторы CCR2, CCR5 и CXCR3, последний проводит сигнал от хемокина CXCL4L1, что приводит к повышению секреции моноцитами хемокинов CCL2 и CXCL8 и поддерживает высокий уровень воспаления в тканях [143].

Хемокины CXCL4, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13 играют роль в развитии микроокружения опухолей кожи, их экспрессия связана с воспалением, иммунным ответом и цитокиновым штормом. Ключевые факторы транскрипции хемокинов семейства CXC – это RELA, NF- $\kappa$ B1, SP1, мишенями этого семейства становятся киназы LCK, LYN, SYK, MAPK2, MAPK12 и ART [320].

Провоспалительный хемокин CXCL5 индуцирует активацию и хемотаксис нейтрофилов и моноцитов. N-концевой домен хемокина CXCL5 может быть протеолитически расщеплен или деиминирован по Arg9, что приводит к активации его

связывания с рецептором CXCR2 и вовлечению в сигнализацию  $\beta$ -аррестина, а также повышению интернализации рецепторов CXCR2 и активации кальциевых сигналов. При этом повышается способность CXCL5 связывать рецепторы CXCR1 [214].

Мышиные хемокины CXCL5 соответствуют человеческим CXCL6 (или GCP-2, granulocyte chemotactic protein 2). У мышей CXCL5 секретируется клетками эндотелия сосудов, регулируют приток нейтрофилов и контролируют иммунный ответ на *Mycobacterium tuberculosis* [142]. У человека CXCL6 является фактором, рекрутирующим нейтрофилы, он способен связывать экстраклеточную ДНК, которую нейтрофилы высвобождают в составе NETs (neutrophil extracellular traps), которые включают в себя противомикробные агенты. Свободная ДНК может формировать комплексы с актином. При связывании с ДНК хемокин CXCL6 теряет способность распознавать рецепторы на нейтрофилах и оказывать антибактериальное действие. Эластаза нейтрофилов практически полностью деградирует CXCL6 [165].

Хемокин CXCL7 в настоящее время рассматривается как сывороточный маркер и фактор, ассоциированный с плохим прогнозом при колоректальном раке. CXCL7 имеет отношение к развитию депрессии, связанной с послеоперационным болевым синдромом, в этом случае повышен уровень хемокинов CXCL4 и CXCL7, но снижен уровень CCL4 в сыворотке крови [188].

Хемокин CXCL8 (MCP-2, Monocyte chemoattractant protein-2) является одним из наиболее активных провоспалительных факторов. При его связывании с рецепторами CXCR1 и CXCR2 активируются сигнальные пути воспаления с участием киназ PI3k/Akt, p38 MAPK и фактора NF- $\kappa$ B [322]. Под действием TNF- $\alpha$  кератиноциты человека секретируют CXCL8 и IL-6, сигнал проводится через киназу mTOR [242]. Специфические ингибиторы p38 MAPK и тирозинкиназы Syk снижают секрецию CXCL8 и IL-6. Ингибирование сигналов от CXCL8 предотвращает развитие воспаления и фиброза каней [54].

С IL-17 сопряжены провоспалительные хемокины CXCL8, CXCL5, CXCL10, CXCL12 и CXCL14, экспрессия их генов зависит от активности IL-17. Экспрессия генов IL-17 и CXCL12 и CXCL14 различается у молодых и старых мышей. У людей экспрессия белка IL-17, CXCL12 и CXCL14 достоверно выше в возрасте 40 лет по сравнению с 20-летними. IL-17 супрессирует адипогенную дифференцировку адипоцитов, снижает в них уровень белка FABP4 (fatty acid-binding protein 4), PPAR $\gamma$ , CIDEA (Cell Death Inducing DFFA Like Effector C) и перилипина-1 [255].

CXCL9 секретируются макрофагами и способствуют миграции стволовых коммитированных Т-клеток, экспрессирующих рецепторы CXCR3. CXCL9 и CXCL10

относятся к IFN- $\gamma$ -индуцибельным факторам. CXCL10 также регулируется галлектинами – белками, связывающими углеводороды. Когда галлектины вступают в контакт со стромальными фибробластами, это повышает секрецию хемокина CXCL10. Связывание с галлектином-8 приводит к повышению миграции моноцитов, а с галлектином-1 – миграции Т-клеток [46]. Уровень сывороточного CXCL10 положительно коррелирует с висцеральным подкожным жиром при ожирении и с развитием метаболического синдрома при ожирении [160]. Ожирение связано с повышением уровня CXCL10, так, в сыворотке крови у мужчин с ожирением он на 30% выше по сравнению с лицами с нормальной массой тела. CXCL10, CXCL9 и CCL2 положительно коррелировали с уровнем адипонектина, лептина и резистина [285].

CXCL10 является хемоаттрактантом В-лимфоцитов [212], он также регулирует миграцию моноцитов и активированных Th1 лимфоцитов в сайт воспаления, участвует в адаптивном иммунном ответе, клеточной защите и в регуляции природного иммунного ответа [247]. Связывание хемокинов CXCL9, CXCL10 и CXCL11 с рецепторами CXCR3, которые преимущественно экспрессируются на CD4<sup>+</sup> Т клетках, регулирует миграцию клеток, их дифференцировку и активацию [280]. Если сигнал проводится через CXCL10/CXCR3, то происходит поляризация Th1 за счет сигнального пути с участием STAT1, STAT4, STAT5. При связывании CXCL11/CXCR3 (с более высокой аффинностью по сравнению с CXCL10/CXCR3), происходит иммунотолеризация с участием киназ p70, mTOR, факторов STAT3 и STAT6, при этом образуются IL-10<sup>hi</sup>Tr1+IL-4<sup>hi</sup> Th2 клетки.

Связывание рецептора CXCR3 с хемокином CXCL10 показано для первичных кожных сенсорных нейронов, что обуславливает развитие зуда при контактной гиперчувствительности [248].

CXCL10 экспрессируется на  $\alpha$ -клетках при диабете 1 типа [228]. Бактериальный ЛПС стимулирует макрофаги к секреции CXCL10, который, в свою очередь, стимулирует Th1 лимфоциты к миграции и активации. AGE-3 (advanced glycation end-products 3) ослабляют секрецию хемокина CXCL10 макрофагами, что сопряжено с нарушением иммунного ответа при диабете [172]. Экскреция CXCL10 с мочой отражает клинические симптомы Т-клеточно-зависимой реакции отторжения трансплантата почек.

Хемокин CXCL12 экспрессирован на многих тканях и клетках, регулирует многочисленные физиологические процессы: эмбриогенез, гемопоэз, ангиогенез, дифференцировку, активацию клеток иммунной системы, формирование иммунных синапсов, активируют миграцию гемопоэтических предшественников и стволовых клеток, клеток эндотелия и большинства лейкоцитов. CXCL12 играет роль в развитии и регуляции сердечно-сосудистой и нервной систем [222], а также участвуют в поддержании

активности мышц глаза. CXCL12 играет роль в воспалении и других патологических процессах путем связывания специфического рецептора CXCR4. Сигнальные пути CXCL12/CXCR4 и CXCL12/CXCR7 сопряжены с активацией стволовых клеток, опухолевым ростом и метастазированием [199]. Сигнальный путь CXCL12/CXCR4 имеет значение для пролиферации опухолевых клеток и опухолевого ангиогенеза. Одновременно в опухолях активирован сигнальный путь CCL25/CCR9, который регулирует развитие микроокружения при остром лимфобластном лейкозе. Рецепторы CXCR7 могут связывать хемокины CXCL11, которые, в свою очередь, распознают рецепторы CXCR3, что, таким образом, создает регуляторную сеть [246].

У человека хемокин CXCL12 присутствует в 6 сплайсинговых вариантах, каждый имеет специфическое распределение в тканях. CXCL12 связывается с рецепторами CXCR4 и атипичными ACKR3, а также с гликозаминогликанами в тканях и на клетках эндотелия. Гомодимеризация и гетеродимеризация хемокина CXCL12 и его рецепторов способствует проведению сигналов в клетку. Активность CXCL12 регулируется посттрансляционной модификацией. Протеолитическое расщепление N-концевого или C-концевого доменов CXCL12 нарушает его активность [162].

При ожирении повышено число стромальных жировых клеток, экспрессирующих рецепторы PDGF-RA и PDGF-RB для ростового фактора тромбоцитов (PDGF) и являются основным источником CXCL12. В костном мозге популяции стромальных клеток, экспрессирующих CXCL12, регулируют остеогенез и адипогенез [209]. CXCL12 участвует в регуляции развития ЦНС и в процессах репарации после повреждения ЦНС, способствует функциональному восстановлению после поражения спинного мозга, формирует связи между нейтронами, способствует удлинению аксонов и формированию их разветвлений, способствует формированию дендритов и синаптогенезу, укрепляет функциональные связи между нейронами, супрессирует развитие глиального рубца [193].

В ЦНС атипичные рецепторы хемокинов регулируют активацию и поляризацию микроглии [260]. Взаимодействие CXCL12 с рецепторами CXCR4 на клетках микроглии обуславливает развитие нейропатической боли [200]. Ингибиторы рецепторов хемокинов CXCR1 и CXCR2 используют для снижения уровня послеоперационной боли [197].

Дефицит витамина Д повышает экспрессию хемокина CXCL12 в клетках стромы, активирует сигнальный путь CXCL12/CXCR4 и ускоряет развитие метастазов рака молочной железы за счет высокого уровня фосфорилирования киназы Zeb1 и STAT3 в клетках опухоли. Добавление витамина Д в рацион ингибирует фосфорилирование STAT3, Zeb1, виментина и повышает уровень кадгерина-Е [192].

Хемокины CXCL13 регулируют миграцию В-лимфоцитов и Т-фолликулярных хелперных клеток в ответ на инфекционные антигены. После операции уровень CXCL13 (и CXCL9) в сыворотке крови отражает наличие инфицирования, в том числе, после трансплантации [305]. CXCL13 также служит маркером активной фазы ANCA-ассоциированного васкулита и отличает её от стадии ремиссии [257].

При нейропатической боли повышается уровень CXCL13 и рецепторов CXCR5 [313]. CXCL13 также связаны с ишемией спинного мозга через активацию рецепторов CXCR5, что вызывает приток нейтрофилов, активацию микроглии и реактивный глиоз. При невоспалительных неврологических расстройствах установлена корреляция между уровнем CXCL13 в сыворотке крови и тяжестью заболеваний [112].

CXCL13 участвует в формировании TLS (Tertiary lymphoid structures, TLS) – это третичные лимфоидные структуры, сформированные агрегированными Т- и В-лимфоцитами и ДК, участвующие в адаптивном иммунном ответе [144].

Хемокин CXCL14 относится к хемокинам тромбоцитов, при связывании рецепторов CXCR4 он участвует в миграции моноцитов и тромбоцитов, а также в формировании тромбов [298]. В жировой ткани CXCL14 экспрессирован преимущественно на адипоцитах. Адипоциты, выделенные от пациентов с ожирением, имеют достоверно более высокий уровень экспрессии хемокинов CXCL14, а также CCL2, CCL13, CCL18-19, CCL23, CCL26, CXCL1 и CXCL3, по сравнению с клетками лиц с нормальной массой тела [159].

Хемокин CXCL16 (ADAM10) является металлопротеиназой и существует в виде трансмембранной и растворимой формы, последняя появляется в результате протеолитического расщепления ADAM10, после чего он способствует миграции Т-клеток в сайт воспаления [45]. CXCL16 значим для многих заболеваний, в патогенезе которых имеется фиброзирование тканей. Уровень CXCL16 в сыворотке крови достоверно повышается при ревматоидном артрите и остеоартрите, в этом случае мишенью CXCL16 являются CXCR6+фибробласты, в которых сигнальный путь CXCL16/CXCR6 стимулирует активацию, пролиферацию и секрецию IL-6 и RANKL (receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand) [315]. Повышение CXCL16 в моче отражает уровень интерстициального фиброза и тубулярной атрофии почек. Формирование фиброза в легких также связано с CXCL16, который активирует процесс ЭМТ перехода, в сигнальном пути с участием TGF- $\beta$ 1/Smad3 [203].

При диабете 1 типа CXCL16 регулирует миграцию макрофагов в островки поджелудочной железы за счет активации сигнального пути с участием NF- $\kappa$ B p65. Стромальные клетки ЖКТ секретируют CXCL16 и CCL7 и регулируют пролиферацию

CD4+ и CD8+T-лимфоцитов в ЖКТ [68]. Участие CXCL16 в воспалительных процессах в тканях находится под контролем микроРНК MiR-545. По разным данным, микроРНК регулирует многочисленные эффекты, связанные с хемокинами.

Хемокин CXCL17 экспрессируется в кератиноцитах эпидермиса кожи человека, он дозозависимо повышается под действием IFN- $\gamma$ . CXCL17 регулирует миграцию клеток CD11b+Gr-1+ MDSCs (myeloid-derived suppressor cells), а также CD4+CD25+ Tregs [234].

### 1.8. Сигнальный путь киназы mTOR

Киназа mTOR (mammalian Target of Rapamycin) обнаружена во всех известных типах клеток и контролирует их основные функции: метаболизм, обмен белка, дифференцировку, пролиферацию, аутофагию, апоптоз, а также сигналы, связанные со стрессом, гипоксией и другими патологическими состояниями. Краткое описание свойств киназы mTOR было сделано в нашей публикации, выдержки из которой мы приводим [28]. В цитозоле клеток млекопитающих киназа mTOR собирает два комплекса – mTORC1 и mTORC2, они имеют общую сигнализацию, координирующую их действия. В mTORC1 основным сигнальным белком является Raptor (Regulatory Associated Protein of mTOR), он отвечает за субстратную специфичность и каталитическую активность mTORC1. В комплексе mTORC2 эту функцию выполняет белок Rictor (Raptor-Independent Companion of mTOR) [196]. Комплексы mTORC1 и mTORC2 регулируют морфогенез кожи и формирование эпидермального барьера [114]. В клетках эпителия mTORC1 регулирует пролиферацию, миграцию и скорость заживления ран. В фибробластах кожи mTORC1 контролирует пролиферацию, секрецию белков ECM, актина, коллагена; имеет отношение к фиброзированию ткани [156]. В клетках кожи сигнальный путь CXCL12/CXCR4 повышает уровень фосфорилирования киназы mTOR, способствует эпителиально-мезенхимальному переходу клеток и регулирует аутофагию [137, 170]. Сигнальный путь от mTORC1 регулирует продукцию провоспалительных хемокинов CCL5 и CXCL10 в макрофагах [296].

В заключении литературного обзора следует отметить, что выбор пациентов с абдоминопластикой позволяет раскрыть новые механизмы осложнений после этой операции, которые регулируются на тканевом и клеточном уровнях. Изучение ожирения как фактора, негативно влияющего на последствия абдоминопластики, интересно с точки зрения нарушения хемокиновой регуляции в организме, что оказывает влияние на миграцию клеток с повышенным провоспалительным потенциалом в подкожно-жировую ткань и в область операционной раны. Накопление в зоне операционного рубца клеток,

секретирующих провоспалительные цитокины и хемокины, сказывается на сроках заживления операционного шва. Использование уже в настоящее время антител к хемокинам и их рецепторам для снижения интенсивности болевого синдрома после операции указывает на роль хемокинов в патогенезе послеоперационных осложнений.

Дальнейшее изучение экспрессии хемокинов и их рецепторов открывает широкие возможности для регулирования метаболизма кожи и подкожно-жировой ткани, что положительно скажется на состоянии пациентов после абдоминопластики.

## ГЛАВА 2. КОНТИНГЕНТ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. ПАЦИЕНТЫ

В работе представлены материалы хирургического лечения 320 больных (262 женщины и 58 мужчин), в возрасте 18–65 лет, которым в Клинике пластической и эстетической хирургии профессора Блохина и доктора Вульфа, г. Москва (ООО «Фрау Клиник 1») проведена операция абдоминопластики. Группами сравнения являлись пациенты с ожирением обменно-алиментарного генеза I–III степени (160 женщин и 36 мужчин) и пациенты с нормальной массой тела (102 женщины и 22 мужчины).

*Критериями включения пациента в исследование были:*

- 1) подписанное лично пациентом согласие принять участие в исследовании;
- 2) отсутствие данных к его исключению из исследования;
- 3) пациент любого пола в возрасте от 18 до 65 лет.

*Критериями исключения пациентов из исследования были:*

- 1) возраст моложе 18 лет и старше 65 лет;
- 2) отказ подписать форму информированного согласия или частичный отказ от участия во всех запланированных по данной теме исследованиях;
- 3) психические расстройства, как острые, так и хронические;
- 4) инвалидность и невозможность самообслуживания без посторонней помощи;
- 5) стандартные противопоказания для пребывания пациента в хирургическом отделении общего профиля: наличие острых вирусных или бактериальных инфекций, или гнойных очагов на теле пациента, инфицирование вирусами гепатита или ВИЧ, венерические заболевания;
- 6) злокачественный опухолевый рост или состояние после радиотерапии (или химиотерапии);
- 7) системные заболевания: системная красная волчанка, сахарный диабет, заболевания соединительной ткани;
- 8) сердечная недостаточность, гипертензия и другие сердечно–сосудистые заболевания;
- 9) хроническая обструктивная болезнь легких или бронхиальная астма тяжёлого течения;
- 10) хроническая почечная недостаточность;
- 11) язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки в стадии обострения;
- 12) наличие других соматических заболеваний, которые могли бы оказать дезинформирующее влияние на полученные результаты;

13) аллергическая реакция на препараты, используемые в Клинике пластической и эстетической хирургии для общего наркоза, местного обезболивания и других лечебных процедур;

14) для женщин беременность, а также приём противозачаточных препаратов.

Последний пункт введен в связи с тем, что на фоне приема гормональной терапии возможны послеоперационные тромбоэмболические осложнения [8].

Все пациенты подписывали стандартную форму информированного согласия, утвержденную Учёным Советом ФГБНУ «НИИОПП» и Дирекцией Клиники пластической и эстетической хирургии «Фрау Клиник 1».

### ***Информация для пациентов с формой информированного согласия***

*Вы участвуете в исследовании по теме: «Патогенетическое обоснование влияния ожирения на осложнения после абдоминопластики», выполняемое в рамках диссертационной работы доктором А.Е. Копасовым.*

*Основной задачей исследования является улучшение качества обслуживания пациентов в Клинике пластической и эстетической хирургии, снижение числа и тяжести послеоперационных осложнений, улучшение эстетических показателей после операции абдоминопластики. Для выполнения этой задачи врач должен проанализировать все достоинства и недостатки метода абдоминопластики, чтобы выбрать наилучшие схемы хирургического вмешательства и другие дополнительные клинические мероприятия, которые позволили бы улучшить послеоперационные показатели.*

*Для исследования метаболических особенностей и активности клеток кожи и подкожно-жировой клетчатки врачу необходимо определить ряд иммунологических, биохимических и других параметров этих клеток. Для этого пациенту будет предложено дать разрешение на взятие части его операционного материала для проведения морфологического и цитологического исследования его тканей и клеток, а также сдать анализ крови до и после проведения абдоминопластики с научными целями. Пациенту предлагается проведение дополнительного динамического наблюдения в течение 30 дней после операции для установления возможных осложнений.*

*Пациенту следует знать, что абдоминопластика широко применяется в клинической практике всего мира. При необходимости пациент может получить дополнительную информацию по данному методу, воспользовавшись телефоном Клиники пластической и эстетической хирургии или её интернет-ресурсами.*

*Все полученные данные, включая исследования биологического материала, будут использованы только для статистической обработки без указания персональных данных*

пациента ни в открытой печати, ни в тексте диссертационной работы, ни в официальных отчетах по теме исследования.

*Информированное согласие пациента.*

*Ознакомившись с предложенной мне информацией о планируемом исследовании, я выражаю свое полное согласие на участие в исследовании по теме «Патогенетическое обоснование влияния ожирения на осложнения после абдоминопластики», выполняемое в рамках диссертационной работы доктором А.Е. Копасовым.*

*В случаях, предусмотренных законодательством, мой законный представитель может подтвердить факт моего добровольного участия в планируемом исследовании.*

*Я подтверждаю факт возможности задавать любые вопросы, касающиеся моего участия в проекте, сдачи биологического материала и данных по исследованию моего биологического материала, а также получать ответы на поставленные выше вопросы и получать результаты исследования, если сочту это необходимым. Я подтверждаю своё согласие на использование в научных целях информации, полученной в результате моего лечения, и на дальнейшее исследование моего биологического материала. Я имею подтверждение врача, что все результаты будут носить статистический характер без упоминания моих персонифицированных данных ни в каком виде.*

*Я имею на руках копию подписанного мною и врачом документа **Информация для пациентов с формой информированного согласия и Информированное согласие пациента** на участии в проведении исследования по вышеуказанной теме.*

Пациент \_\_\_\_\_ подпись \_\_\_\_\_ Ф.И.О.

Врач \_\_\_\_\_ подпись \_\_\_\_\_ Копасов Андрей Евгеньевич

Дата подписания документа:

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 г.

Перед тем, как принять решение о проведении абдоминопластики, у больных тщательно собирался анамнез vitae & morbi, включая алергоанамнез. Проводился общий осмотр пациента, определялись синюшность носогубной складки и окраска слизистых оболочек и другие признаки гиповентиляции легких. Выявлялись аллергические реакции (покраснение кожи, диатез, отёк Квинке), герпетические высыпания. В остром периоде герпеса больному предлагали перенести визит до окончания виремии. При наличии острой бактериальной или вирусной инфекции, что расценивалось как противопоказание для хирургического лечения в данный период, больному предлагали перенести сроки

операции до полного выздоровления. Визуально оценивали общее состояние кожи, её цвет, тургор, стрии, ответ на механические воздействия, особенности распределения жира. Проводили физикальное обследование (пальпацию, перкуссию, аускультацию, измерение артериального давления). Определяли антропометрические параметры (взвешивание, измерение роста, окружности талии и окружности бёдер, объём жировой ткани на животе). Вычисляли индекс массы тела. Определяли требуемый объём работы по проведению абдоминопластики, уточняли оптимальные методы хирургической техники.

После осмотра пациент проходил обязательную консультацию психотерапевта, без заключения которого решение о проведении абдоминопластики не принималось.

***Показания для проведения абдоминопластики:***

- 1) необходимость коррекции контуров живота;
- 2) лечение ожирения и его осложнений;
- 3) лечение поражений и последствий травм с восстановлением эстетических и функциональных параметров области живота.

***Противопоказания для проведения абдоминопластики:***

***Абсолютные противопоказания:***

- 1) наличие у пациента стимулятора сердечного ритма, когда использование приборов в операционной может нарушить частоту импульсов аппарата, и возможна остановка сердца;
- 2) аллергическая реакция пациента на препараты, применяемые в Клинике для наркоза или местного обезболивания;
- 3) верифицированный опухолевый рост;
- 4) беременность;
- 5) верифицированный сахарный диабет любого типа.

***Относительные противопоказания:***

- 1) заведомое несоблюдение пациентом правил гигиены и ухода за операционным швом вследствие особенностей психомоторного состояния;
- 2) отказ пациентки прервать приём противозачаточных препаратов за месяц до операции.

***Клинические показатели качества выполненной абдоминопластики:***

1. Восстановление анатомически правильных контуров живота и кожного покрова.
2. Целостность кожных покровов с малозаметным рубцом.
3. Отсутствие излишков кожи над рубцом.
4. Отсутствие осложнений или их минимальные проявления, не оказавшие влияния на состояние кожных покровов.

5. Отсутствие воспалительной реакции в области операционного шва и в абдоминальной области.
6. Отсутствие гиперестезии, парестезии или болей в области операции.
7. Улучшение качества жизни.
8. Решения задачи по долговременному контролю веса.
9. Изменение метаболических показателей (нормализация липидного обмена и др.).

***Эстетические показатели качества выполненной абдоминопластики:***

1. Восстановление нормального контура живота.
2. Улучшение эстетического восприятия своего тела пациентом.
3. Отсутствие видимого перехода по границе операционного шва.
4. Сохранность гладкого рельефа абдоминальной области.

Качество выполненной абдоминопластики считается отличным при полном соблюдении всех требований. При нарушении любого клинического параметра качества выполненной абдоминопластики она считается неудовлетворительной.

## **2.2. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ**

### **Стандартные инструментальные методы обследования**

Перед операцией абдоминопластики всем пациентам проводили обязательные исследования, в том числе ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости (Hitachi-Aloka F37, Япония).

УЗИ щитовидной железы (Hitachi-Aloka F37, Япония) проводили с целью выявления её дисфункции, что оказывает негативное влияние на развитие ожирения у пациентов и состояние раны после операции.

Электрокардиографию проводили на аппарате ECG-1250 (Nihon Kohden, Япония) для выявления возможной ишемии и других нарушений миокарда, при выявлении нарушения ритма или соответствующих жалобах пациента, дополнительно проводили Холтеровское мониторирование в течение 24 часов на аппарате BTL-08 H600.

Рентгенологическое исследование органов грудной клетки (CARESTREAM DRX–Evolution, Германия) проводили с целью исключения патологии лёгких и возможной патологии сердца и средостения.

Фиброгастроскопию проводили фиброскопом Olympus GIF-040 (Olympus Europa SE & CO. KG); исследование является обязательным для визуализации состояния вен пищевода и возможного наличия аневризм, а также для исключения язвы желудка или 12-перстной кишки.

Состояние кровотока в венах нижних конечностей, а также кровотока в сосудах небольшого диаметра в брюшной полости, измеряли до абдоминопластики методом цветного доплеровского картирования и импульсного доплеровского режима на ультразвуковом сканере ALOKA SSD-4000 (ProSound PHD, Aloka, Япония).

Измерение функции внешнего дыхания (ФВД) проведено в связи с тем, что после общего наркоза в хирургической практике могут возникнуть осложнения, связанные с нарушением ФВД [211]. Измерение ФВД проведено методом спирометрии на портативном спирометре Spirobank III MIR с SpO<sub>2</sub> анализатором для пульсоксиметрии (Medical International Research S.r.l, Италия), подключённом к компьютеру с программой WinspiroPro, фиксирующей 32 параметра дыхания пациента, а также проводящей автоматический расчёт и интерпретацию полученных данных по стандартам ATS / ERS-2005 (American Thoracic Society /European Respiration Society) [41]. Были определены: жизненная ёмкость лёгких (ЖЕЛ), форсированная жизненная ёмкость лёгких (ФЖЕЛ), жизненная ёмкость вдоха (ЖЕЛвд), объём фиксированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) и т.д., а также измеряли SpO<sub>2</sub> – процентное содержание оксигемоглобина в артериальной крови, для определения уровня сатурации крови кислородом и выявления возможной ишемии.

### **Биоимпедансный анализ**

Метод биоимпедансного анализа (БИА) позволяет количественно оценить жировую массу тела, безжировую (тощую) массу тела, процентное содержание жира в организме, активную клеточную массу (внутренние органы, мышцы, мозг, ткани и клетки нервной системы), уровень основного обмена (ккал), количество внеклеточной, внутриклеточной и общей жидкости, а также ряд других показателей, отражающих состояние тела пациента [67,208]. Для проведения БИА пациент должен прийти утром натощак, накануне запрещались: приём алкоголя, мочегонных средств, водных процедур (бани, сауны) и интенсивная физическая нагрузка. Состав тела определяли с помощью биоимпедансного анализатора ABC-02 “Медасс” по компьютерной программе фирмы “Form Med Healthcare, AG” (Германия). В программу вносили возраст и пол пациента, данные его роста и веса, данные измерения восьми окружностей: груди, талии, верхней линии таза, нижней линии таза, верхней трети плеча и верхней трети бедра. Измеряемыми параметрами метода одночастотного БИА являются величины активного ( $R_{50}$ ) и реактивного сопротивления ( $X_c$ ), образующие вектор импеданса. Результаты измерений получены автоматически и сохраняются в базе данных.

### 2.3. ТЕХНИКА АБДОМИНОПЛАСТИКИ

#### Инструменты и материалы, использованные для абдоминопластики

Для проведения абдоминопластики в рамках диссертационной работы применялись следующие инструменты:

- Лезвие (Swann-Morton Ltd. UK),
- Ручка для лезвия («КМИЗ» РФ),
- Зажимы Кохер 2 шт. («КМИЗ» РФ),
- Зажимы Москит 2 шт. («КМИЗ» РФ),
- Пинцет 2 шт. («КМИЗ» РФ),
- Электрокоагулятор (ТЕКНО ТОМ 212 Tekno-Medical Optik Chirurgie GmbH & Co Германия),
- Иглодержатель 2 шт. («КМИЗ» РФ),
- Ножницы для ткани («КМИЗ» РФ),
- Ножницы для ниток («КМИЗ» РФ),
- Дренаж (Blake tm Johnson & Johnson Corporation, USA).

Шовный материал (**Таблица 1**), медикаменты (**Таблица 2**) и расходные материалы (**Таблица 3**), использованные при проведении абдоминопластики, представлены далее в соответствующих таблицах.

**Таблица 1.**

Нити, использованные при абдоминопластике в рамках диссертационной работы

Название	Размер	Фирма	Страна	Состав
Моносин	3/0	B. Braun Surgical S.A.	Испания	Сополимер гликолевой кислоты и капролактона
Моносин	4/0	B. Braun Surgical S.A.	Испания	Сополимер гликолевой кислоты и капролактона
Премилен (мононить)	3/0	B. Braun Surgical S.A.	Испания	Полипропилен
Премилен (мононить)	4/0	B. Braun Surgical S.A.	Испания	Полипропилен

Таблица 2.

Медикаменты, использованные при абдоминопластике в рамках данной работы

Назначение	Название	Фирма	Страна
Премедикация	Феназепам	ОАО «Новосибхимфарм»	Россия
	Атропин	ОАО «Дальхимфарм»	Россия
	Квамател	ОАО «Гедеон Рихтер»	Венгрия
	Дексаметазон	ОАО «Байер АГ»	Германия
	Латран	ФГУП НИЦ «Фармзащита» ФМБА	Россия
Индукция	Фентанил	Janssen-Cilag (Johnson & Johnson Corporation)	Бельгия
	Пропофол	ООО «Фрезениус Каби»	Россия
	Рокуроний	ООО «Фрезениус Каби»	Россия
Ингаляционный анестетик	Севоран	Эйсика Qweenboro LTD	Великобритания
Наружный антисептик	Бетадин	ЗАО «Фармацевтический Завод Эгис»	Венгрия
Назначения в стационаре после операции	Цефтриаксон	ЗАО ЛЕККО	Россия
	Кеторол	Dr. Reddy's Laboratories Ltd.	Индия
	Дексаметазон	РУП «Белмедпрепараты»	Беларусь
	Абактал	Сотекс ФармФирма	Россия
	Найз	Dr. Reddy's Laboratories Ltd.	Индия

Таблица 3.

Расходные материалы, использованные в работе при абдоминопластике

Вид	Тип	Фирма	Страна
Асептическая повязка	Салфетки 45x29 см	ЗАО «Производственная Компания Волжская Мануфактура»	Россия
Асептическая повязка	Омнификс	«Пауль Хартманн АГ»	Германия
Компрессионное бельё	A410	Виаджио	Италия
Простыни, халаты	Хирургические	ООО «Гекса-нетканые материалы»	Россия
Шприцы	на 10 мл и 20 мл	Госпитал Продактс ГмбХ	Германия
Перчатки	Хирургические	«Пауль Хартманн АГ»	Германия

### Схема проведения операции абдоминопластики

Общая комбинированная анестезия состояла из премедикация в палате (Феназепам 1,0 мл в/м) и затем премедикации в операционной (Атропин 0,3-0,5 мг в/в; Квамател 20 мг в/в; Дексаметазон 4-8 мг в/в; Латран 4 мг в/в). Искусственную вентиляцию лёгких проводили на аппарате Damesa Siesta I Whispa (Италия). Индукция: Фентанил 0,1 мг в/в, Пропофол 2 мг/кг в/в, Рокуроний 0,6 мг/кг в/в. Для поддержания анестезии вводили ингаляционный анестетик Севоран.

После двукратной обработки операционного поля растворами антисептика Бетадин производили разрез кожи в области кожного пупка, кожи живота и подкожной клетчатки до апоневрозов мышц живота в соответствии с дооперационной разметкой. Кожно-жировой лоскут мобилизовали до рёберной дуги, избыток его иссекали, кожный пупок переносили на новое место. Устанавливали дренаж Blake tm через контрапертуру.

Рану ушивали послойно с использованием рассасывающихся нитей Моносин 3/0 и Моносин 4/0. На кожу накладывали интрадермальный шов нерассасывающимися мононитьями Премилен 3/0 и Премилен 4/0.

Накладывали асептическую повязку Омнификс и салфетки. Одевали компрессионное бельё Виаджио, которое носится в течение 1 месяца.

Назначения, выполняемые в стационаре: Цефтриаксон 1 г 2 р/с; Кеторол 2 мл 2 р/с; Дексаметазон 8 мг 2 р/с. Послеоперационные рекомендации: Абактал 400 мг 2 р/д; Найз при болях по 1 таб. (Dr. Reddy's Laboratories Ltd. Индия).

За 1 час до операции и через 4 часа после операции однократно подкожно вводили низкомолекулярный гепарин в дозе 3000МЕ. Далее для профилактики тромбоэмболии пациенту ежедневно подкожно вводили низкомолекулярный гепарин в дозе 3000МЕ два раза в день или 4000МЕ один раз в день [40]. Продолжительность профилактики тромбозов – до выписки из клиники или до 6 недель после выписки.

Послеоперационное ведение больного: дренажи удаляли на 2–3 сутки, далее пациентов вели пункционно с помощью шприца на 20 мл. Пункции делали до тех пор, пока выделяется серозная жидкость (7–10 дней). Рубцы обрабатывали растворами антисептика Бетадин. Асептическая повязка Омнификс и Салфетки 45x29 см клеятся ~ до 5-х суток после операции. Внешние концы шовного материала Премилен 3/0 и Премилен 4/0 подрезали на 10-е сутки, сам шовный материал извлекали из кожи в течение 1–2-х месяцев. Дренажи удаляли, когда ток содержимого составлял меньше 20 мл в сутки. Антибиотики назначали, если пациенту пришита сетка для закрытия грыжи. Пациент должен носить абдоминальный пояс в течение 6 недель [288].

При резекции кожного фартука обычно удаляют от 980 до 8000 г тканей, в среднем, 2932 г. Длина удалённого кожного лоскута ~ 24 см (11–38 см) на животе и 13 см (7–25 см) на спине. Среднее время проведения операции круговой абдоминопластики составляет 5,2 ч, продолжительность пребывания больного в стационаре ~ 7 суток [218]. В течение первого года пациента наблюдали с 1 по 10-ые сутки, через 1 месяц, через 3–4 месяца, через 6 месяцев, через 8–9 месяцев, через 12 месяцев, далее при необходимости.

## **2.4. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Анализ крови**

Работа с кровью людей проводилась в сертифицированной лаборатории по стандартным методикам и нормативам, соответствующим требованиям ГОСТов, и согласно международным правилам работы с биологическим материалом. Исследования крови проводили до операции, на следующий день и через неделю после операции. Кровь брали утром натощак из локтевой вены в пробирку-вакутейнер с ЭДТА, гепарином или без реактивов в зависимости от цели исследования. Пробирки центрифугировали, затем открывали в боксе во избежание контакта персонала с биологическим материалом. Подсчет клеток крови проводили на гематологическом анализаторе Pentra Nexus HORIBA (Horiba ABX SAS, Франция). Биохимические показатели крови определяли на автоматическом анализаторе Fuji Dri-Chem4000 (Fujifilm, Япония) с использованием коммерческих наборов реактивов.

### **Определение перекисного окисления липидов**

Для определения уровня перекисного окисления липидов в эритроцитах измеряли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, уровень диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Измерения проводили на спектрофотометре (Chitachi, Япония) при длине волны 560 нм.

Окислительный стресс оценивали по уровню каталазы, СОД-1 и СОД-2, пероксиредоксина и тиоредоксина в сыворотке крови с помощью коммерческого набора MILLIPLEX® kit (Merck-Millipore, Германия) на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex System, Bio-Rad Laboratories, Германия). Интенсивность флуоресценции измеряли на ридере Multiplex plate reader по программе Milliplex® Analyst 5.1. Количественное определение генерации супероксидного аниона измеряли по методу Woodman [299] в модификации Морозова С.Г. и соавторов [10] на спектрофотометре UV-3000 (Shimadzu Corp., Japan) с программным управлением.

### Измерение уровня цитокинов и хемокинов в плазме крови

Цитокины в сыворотке крови измеряли с помощью коммерческих наборов MILLIPLEX® kit (Merck-Millipore, Германия) – Human Cytokine/Chemokine Panel I (Cat. No. HCYTMAG-60K) и Human Cytokine/Chemokine Panel III (Cat. No. HCYP3MAG-63K). Были проанализированы: TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  (Lymphotoxin- $\alpha$ , LTA), IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, IL-15, IL-17A/CTLA8, IL-29, интерферон (interferon, IFN), макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF, macrophage colony stimulating factor), колониестимулирующий фактор гранулоцитов (G-CSF, granulocyte colony stimulating factor) и колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF).

Хемокины в сыворотке крови определяли с помощью коммерческих наборов MILLIPLEX® kit Human Cytokine/Chemokine Panel I (Cat. No. HCYTMAG-60K) и MILLIPLEX® kit Human Cytokine/Chemokine Panel III (Cat. No. HCYP3MAG-63K) (Merck-Millipore, Германия). Определяли хемокины CCL2 (MCP-1, Monocyte chemoattractant protein-1), CCL3 (MIP-1 $\alpha$ , macrophage inflammatory protein-1 alpha), HCC-1/CCL14, MIP-3 $\beta$ /CCL19, MIP-3 $\alpha$ /CCL20, лимфотактин (Lymphotoxin)/CXCL1, LIX/GCP-2/CXCL6, NAP-2/CXCL7, IL-8/CXCL8, MIG/CXCL9, I-TAC/CXCL11, фракталкин (Fractalkin/CX3CL1), интерферон-индуцибельный белок (IP-10/CXCL10), моноцитарный хемотаксический фактор-1 (MCP-1/CCL2), моноцитарный хемотаксический фактор-3 (MCP-3/CCL7), хемокин макрофагов (MDC/CCL22), макрофагальный белок воспаления 1- $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ /CCL3), макрофагальный белок воспаления 1- $\beta$  (MIP-1 $\beta$ /CCL4), хемокин, секретируемый Т-клетками при активации (RANTES/CCL5). Моноклональные антитела (mAb), меченные флуоресцентными красителями, к хемокинам CXCL были от R&D systems, mAb к хемокинам CCL были от Boehringer Ingelheim (Германия). Измерения проведены на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США). Дополнительно использовали приборы: вортекс V-1 plus (BioSan, Латвия), шейкер для микропланшет PST 100HL (BioSan, Латвия), автоматический промыватель магнитных частиц для микропланшет BioTek ELx50/8MF (BioTek, Российская Федерация).

### Работа с клетками крови

Лейкоцитарную взвесь получали после обработки крови жидкостью для удаления эритроцитов (Vecton 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 50мкл, добавляли 20мкл mAb, меченных флуоресцентными красителями, и инкубировали 40 мин при  $t^0+4^0\text{C}$  [12].

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, США); CD25-PE-Cy7, CD27-FITC (eBioscience San Diego, CA, США); CD4-V500, CD19-V500, CXCR3-Brilliant Violet 421, CXCR5-Alexa Fluor 488, CCR6-PE фирмы BD Biosciences, США.

#### **Маркеры субпопуляций Т-клеток:**

- CD4+ Т-клетки CD45.2+TCR $\beta$ +CD4+CD8–;
- Активированные CD4+ Т клетки CD45.2+TCR $\beta$ +CD4+CD8–Foxp3–CD62L<sup>low</sup>,
- CD8+ Т-клетки CD45.2+TCR $\beta$ +CD4–CD8+;
- В клетки CD45.2+B220+CD19+;
- Наивные Т-клетки CD45.2+TCR $\beta$ +CD4+CD8–Foxp3–CD62L<sup>high</sup>;
- Т-хелперы первого порядка (Th1) CD3+CD4+ IFN- $\gamma$ + CCR5+CXCR3+;
- Т-хелперы второго порядка (Th2) CD3+CD4+ IL-4+IL-13+ CD25–CCR4+;
- Th17 клетки CD3+CD4+ IL-17A+ CD25–CD45RA–CXCR5–CXCR3–CCR6+;
- Регуляторные Т-клетки (Treg) CD3+CD4+CD8–CD25+FOXP3+ CD45.2+TCR $\beta$ +CCR4+;
- CD4+ Т-клетки памяти CD4+CD45RO+CD34RA– [16].

#### **Выделение нейтрофилов из периферической крови**

Выделение нейтрофилов проводили по методике, описанной в работе [10]. Лейкоцитарную взвесь получали после удаления эритроцитов. Для этого кровь с ЭДТА сначала центрифугировали, затем к осадку на 5 мин добавляли 15 мл лизирующей жидкости (Veston Dickinson) и снова центрифугировали 10 мин при 200g. Полученный осадок клеток отмывали в среде 199 центрифугированием. Для выделения нейтрофилов готовили *ex temporo* градиент плотности Перколла (Percoll, Sigma-Aldrich, США). Каждую ступень градиента получали путем добавления определенного количества исходного Перколла в буферный раствор (на 1 литр H<sub>2</sub>O добавляли NaCl 7,75г; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20г; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,50г). Полученные 90%, 81%, 70% и 60% растворы Перколла доводили до pH 7,0 и фильтровали через стерильные фильтры ( $d=22$  микрона). В каждую пробирку с градиентом наслаивали по 5 мл соответствующей концентрации Перколла, сверху – клетки, разведенные пополам в стерильном физиологическом растворе. Пробирки с градиентами центрифугировали 20 мин при 500g при комнатной температуре. Из интерфазы между 81% и 70% Перколла выделяли нейтрофилы, их отмывали центрифугированием, переводили в среду 199 и оставляли для дальнейшей работы [10].

## 2.5. ВЫДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК ИЗ ОБРАЗЦОВ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Для работы с клетками использовали среду RPMI-1640 (Flow Laboratories), обогащённую 10 мМ буфера Нерес (Sigma Chemical Co.), 2 мМ L-глутамин (Sigma), 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma), 50 мкМ 2-меркаптоэтанола (Flow) и эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) (Flow). Клетки отмывали в фосфатном буфере (Phosphate Buffered Saline – PBS, Sigma). Образцы подкожно-жировой ткани размерами 2×1×0,5см получали из области операционного поля при проведении абдоминопластики. Важным моментом было тщательно визуально проверить эту область на предмет отсутствия поражения кожного покрова, сосудов и лимфатической ткани. Образцы сразу же промывали в стерильном холодном PBS, переносили в пробирку с полной средой RPMI-1640 + 15% ЭТС и оставляли в холодильнике при температуре  $t^0+4^0\text{C}$  до окончания операции. После операции образцы транспортировали в переносном холодильнике в лабораторию. Методика выделения клеток из подкожно-жировой ткани является авторской модификацией [14] двух методов [97, 148]. Образцы ткани сначала взвешивали, регистрировали их номер и вес в журнале, затем разрезали тонкими ножницами на мелкие фрагменты, которые помещали в 100-мл флакон Карреля с буфером (раствор Хенкса с  $\text{Ca}^{+2}$  и  $\text{Mg}^{+2}$  + 0,5% бычьего сывороточного альбумина, BSA). Во флакон добавляли 10-кратный раствор коллагеназы II (Sigma-Aldrich) (в конечной концентрации 0,5 мг/мл), который готовили *ex tempore* перед экспериментом и стерилизовали через одноразовый фильтр ( $d=22$  микрона). Далее суспензию инкубировали при  $t^0+37^0\text{C}$  и 5%  $\text{CO}_2$  при непрерывном мягком перемешивании на шейкере. Через 20 мин отбирали аликвоту 2 мкл и проверяли на световом микроскопе состояние клеточной взвеси. Инкубацию клеток продолжали до тех пор, пока лейкоциты не откреплялись от адипоцитов, которые были в виде одиночных крупных клеток, время инкубации никогда не превышало 45 мин. Затем в суспензию клеток добавляли ЭДТА в конечной концентрации 10mM и лизирующий буфер для эритроцитов (Vecton Dickinson). Суспензию клеток переносили в центрифужные пробирки и отмывали дважды в полной среде RPMI-1640 центрифугированием при 200g. К осадку добавляли полную среду RPMI-1640 + 15% ЭТС, инкубировали при  $t^0+37^0\text{C}$  и 5%  $\text{CO}_2$  в течение 2 ч для восстановления рецепторного аппарата клеток, затем фильтровали через хлопковую вату для удаления погибших клеток. Далее отбирали аликвоту и считали процент живых клеток по окраске трипановым синим под световым микроскопом (выход >92% жизнеспособных клеток). Так же определяли концентрацию выделенных клеток и пересчитывали число клеток на общий вес образца ткани [15, 28].

## 2.6. ОКРАСКА АНТИТЕЛАМИ К СТРУКТУРАМ КЛЕТОК

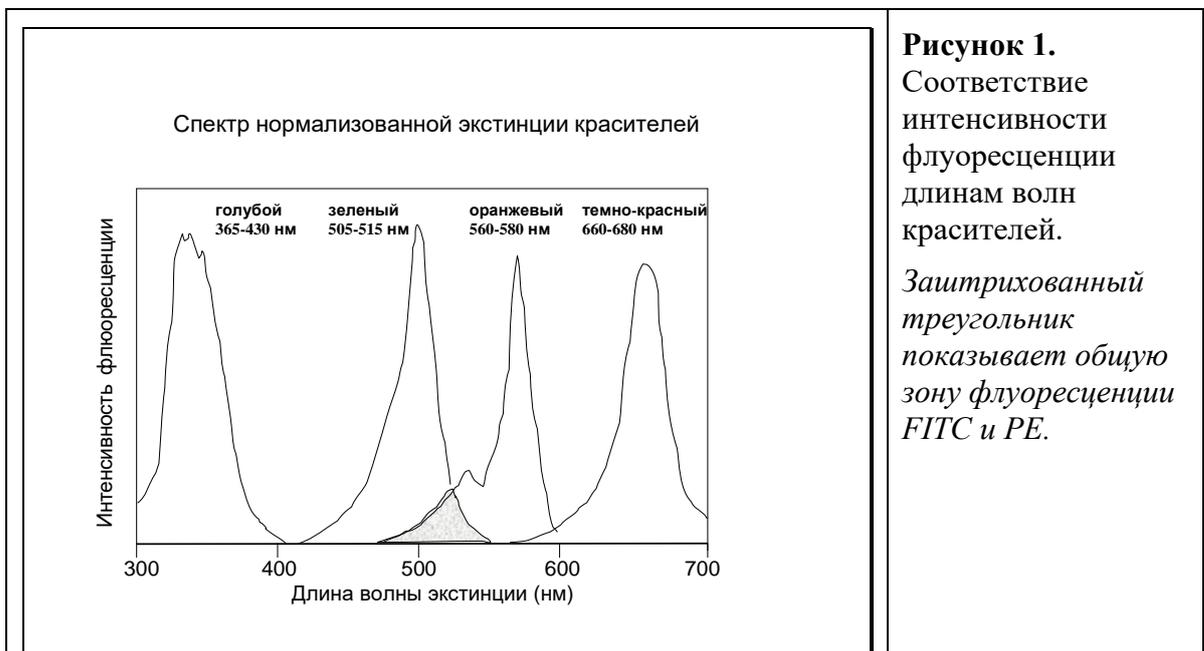
Были окрашены клетки крови и клетки, выделенные из операционного материала. По 1 мл крови переносили в центрифужные пробирки и добавляли по 14 мл лизирующей жидкости для удаления эритроцитов (Becton Dickinson), инкубировали 5 мин при  $t^0+25^0\text{C}$ , центрифугировали 10 мин при 200g и  $t^0+25^0\text{C}$ . Супернатант удаляли, осадок встряхивали, добавляли среду RPMI-1640 и отмывали суспензию клеток центрифугированием в тех же условиях [12]. Для получения мононуклеаров крови осадок разводили фосфатным буфером 1:1 и по 2 мл наслаивали на градиент плотности Фиколла-Верографина (1,078 г/л) и центрифугировали 20 мин при 2000 g и  $t^0+25^0\text{C}$ . Мононуклеары отбирали из интерфазы, отмывали средой RPMI-1640 и доводили до концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл.

Окраску проводили mAb, напрямую меченными флуоресцентными красителями. Клетки отмывали в PBS, доводили до концентрации  $0,5 \times 10^6$  клеток в 50 мкл, добавляли 20 мкл соответствующих mAb и инкубировали 40 мин при  $t^0+4^0\text{C}$ . Клетки трижды отмывали, осадок встряхивали и фиксировали в 2% параформальдегиде на PBS с 5% азидом натрия. В работе использовались mAb к антигенам клеток:  $\alpha$ -CD3 (Т-лимфоциты);  $\alpha$ -CD4 (Т-хелперы/индукторы);  $\alpha$ -CD8 (Т-супрессоры/цитотоксические лимфоциты, НК клетки);  $\alpha$ -CD25 (IL-2R, ранний маркер активации клеток);  $\alpha$ -CD38 (активированные Т- и В-лимфоциты);  $\alpha$ -HLA-DR (молекулы гистосовместимости II класса, маркер активированных клеток);  $\alpha$ -CD19 и  $\alpha$ -CD20 (В-лимфоциты);  $\alpha$ -CD16 (нейтрофилы);  $\alpha$ -CD54 (ICAM-1, молекулы адгезии);  $\alpha$ -CD11a (LFA-1, молекулы адгезии);  $\alpha$ -CD95 (Fas/APO-1, рецептор апоптоза);  $\alpha$ -TNF-R1 и  $\alpha$ -TNF-R2. Окраску клеток также проводили mAb к хемокинам, меченными флуоресцентными красителями; mAb к хемокинам CXCL были от R&D systems, mAb к хемокинам CCL были от Boehringer Ingelheim (Германия).

## 2.7. ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ

Клетки крови, окрашенные mAb, анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) по программе SimulSet с настройками, оптимальными для каждого исследования и неизменяемыми при повторных экспериментах. 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). В каждом образце анализировалось не менее 10 тысяч событий на гейт одной популяции клеток, который устанавливали по экспрессии соответствующего маркера или автоматически по прилагаемой программе. Интенсивность флуоресценции антител, меченных FITC, определяли на канале FL1 при длине волны  $530 \pm 5$  нм, флуоресценцию фикоэритрина измеряли на канале FL2 при длине волны  $585 \pm 5$

нм. Спектр красителей представлен на **Рисунке 1**. Интенсивность флуоресценции приводилась к внутреннему стандарту. В качестве негативного контроля регистрировалась флуоресценция F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов изотипспецифичных иммуноглобулинов, меченных соответствующими красителями, но без первичных антител. Далее анализировалась гистограмма, соответствующая 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.



### Проточная цитометрия клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани

Полученную суспензию клеток в PBS довели до концентрации  $1 \times 10^6$ /мл. Образцы исследовали в настройках, которые не изменялись для всех проб. Так как макрофаги жировой ткани имеют высокий уровень спонтанной аутофлуоресценции в голубом свете, поэтому для их идентификации использовали антитела, окрашенные PE или PE-Cy5. Для более четких результатов не использовали коктейль из антител. Перед началом каждого измерения панели проб обязательно делали компенсацию на каналах FL1 и FL2, чтобы избежать спектральных наложений, медиана интенсивности флуоресценции положительных и негативных индивидуальных контролей должны быть выровнены во всех соседних каналах. При проведении цитометрии в каждом гейте клеток подсчитывали 10000 событий, в целом на образец было 50000 событий. Сначала анализировали клетки на каналах FSC-A/FSC-A, где выделяли гейт, соответствующий

адипоцитам, и его анализировали на каналах FSC/SSC. Затем анализировали гейт, соответствующий лейкоцитам (CD45+ клетки), в котором в системе координат каналов FL2-A/SSC определяли флуоресценцию нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов. Далее анализировали гистограммы, соответствующие распределению клеток, окрашенных теми или иными антителами [15, 28, 75].

### **Оценка фрагментации ДНК методом проточной цитометрии**

Метод основан на включении пропидиума иодида (PI) в олигонуклеосомальные фрагменты ДНК. Все измерения проводили строго на фиксированных клетках для унификации полученных результатов, а также для окраски всей ДНК в клетке. К фиксированным клеткам ( $1 \times 10^6$  клеток в 150 мкл 2% параформальдегида) добавляли 0,5 мл гипотонического раствора PI (50 мкг PI (Sigma) на 1 мл 0,1% цитратного буфера (Рeahим) с 0,1% Тритоном X-100 (Sigma)), инкубировали 40 мин в темноте при  $+4^{\circ}\text{C}$  и анализировали на проточном цитометре. Флуоресценция PI определялась на канале FL2-A при длине волны  $585 \pm 5$  нм или на канале FL3-A при длине волны  $610 \pm 5$  нм. Низкомолекулярные фрагменты ДНК определяются в виде гиподиплоидного суб-G1 пика в гистограмме ДНК [12].

### **2.8. ИЗМЕРЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ $\Delta\Psi_m$**

Мембранный потенциал митохондрий ( $\Delta\Psi_m$ , дельта пси мю) измеряли по методике [43]. Метод основан на селективном встраивании красителя JC-1 в митохондрии и изменении его флуоресценции с зелёной на оранжевую при повышении мембранного потенциала митохондрий ( $\sim$  до 80–100 милливольт). При поляризации мембраны происходит временное формирование агрегатов красителя JC-1, что приводит к смещению длины волны эмиссии с 530 нм (для мономеров JC-1) до 590 нм (для агрегатов JC-1) при длине волны возбуждения 490 нм. Краситель JC-1 позволяет количественно измерить изменение мембранного потенциала митохондрий по интенсивности флуоресценции (mean) образцов на соответствующих каналах: зелёная флуоресценция определяется на канале FL1, оранжевая – на канале FL2. Краситель JC-1 был разведен в DMSO и аликвоты хранились в холодильнике. При добавлении краски в суспензию клеток её сразу тщательно перемешивали на вортексе для обеспечения растворимости. Суспензию живых клеток доводили до  $1 \times 10^6$ /мл в полной среде RPMI-1640 с 10% ЭТС, добавляли краситель JC-1 (10  $\mu\text{g}/\text{мл}$ ), инкубировали 10 мин при  $+37^{\circ}\text{C}$ , затем клетки дважды отмывали в PBS. Измерение проводили на проточном цитометре с тремя лазерами FACSCalibur (Becton Dickinson, США) на каналах FL1 (488 нм) и FL-2 (530 нм) с обязательной

предварительной компенсацией. Для постановки негативного контроля суспензии идентичных клеток обрабатывали раствором протонного транслокатора FCCP (250 нМ), который вызывает коллапс мембранного потенциала и резкое изменение флуоресценции. Контроль процента живых клеток и процента клеток в апоптозе (который учитывали при измерении  $\Delta\Psi_m$ ) осуществляли по интенсивности флуоресценции PI на канале FL-3 (633 нм) одновременно с окраской JC-1. Дополнительно определяли относительную массу митохондрий в клетках по окраске нонил-акридиновым оранжевым (NAO), который связывает митохондрии независимо от энергетического статуса. Для этого клетки в концентрации  $1 \times 10^6$ /мл инкубировали 10 минут в полной среде RPMI-1640 + 10% ЭТС и 10  $\mu$ M NAO (в темноте при комнатной температуре), затем дважды отмывали в холодном PBS. Интенсивность флуоресценции NAO сразу же анализировали на проточном цитометре на канале FL-1 [19].

## **2.9. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСКОБОВ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ**

Взятие соскоба кожи проводили по правилам МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». В работе использовали методики для клинических исследований [78,163,243,293]. Пробы брали в области планируемого разреза перед абдоминопластикой. При визуальном осмотре изменений на коже не было. Перед процедурой кожу протирали тампонами со стерильным PBS, затем стерильным рабером делали неглубокие соскобы, не затрагивающие дерму. Полученные образцы хранили в стерильных пробирках в заморозке при  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения исследования. Наличие бактериальной или грибковой контаминации верифицировали методом ПЦР в реальном времени с парами праймеров, синтезированными на основании соответствующих олигонуклеотидов патогенов, известных из базы данных [42]. Методика описана в нашей работе [17].

## **2.10. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ**

Полученные данные подвергались компьютерному анализу по программе «Биостатистика». Сравнение между двумя группами проводили по критерию Стьюдента,  $P < 0,05$  указывает на статистически значимое различие между группами. Статистический анализ более чем двух групп проводился методом множественного сравнения по критерию Ньюмена-Кейлса. Для этого с помощью дисперсионного анализа сначала проверяют нулевую гипотезу о равенстве всех средних. Если она отвергается, то все средние упорядочиваются по возрастанию и сравниваются попарно.  $P \leq 0,05$  дается как статистически значимое различие между группами.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3. 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

#### 3.1.1. Группы сравнения

В данную работу включены результаты хирургического лечения 320 пациентов (262 женщин и 58 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет. Группами сравнения были:

А) пациенты с ожирением обменно-алиментарного генеза I – III степени (индекс массы тела (ИМТ) на момент проведения операции  $>30 \text{ кг/м}^2$  (160 женщин, 36 мужчин)).

В) пациенты с нормальной массой тела, у которых ИМТ на момент операции не превышал  $24,9 \text{ кг/м}^2$  (102 женщины, 22 мужчины).

Сравнения проводились также в зависимости от возраста: среди пациенток молодого возраста с нормальной массой тела и ожирением, у которых операция абдоминопластики проведена после родов для улучшения эстетических показателей, а также среди пациенток старше 46 лет.

При первичном обращении пациенты с ожирением предъявляли жалобы на:

- повышенную утомляемость и снижение работоспособности (89%),
- одышку при физической нагрузке (67%),
- отёки ног (35%),
- слабость (25%),
- сонливость (21%),
- головокружение и головную боль (22%),
- повышенный аппетит (28%),
- боли в спине и в суставах при движении (21%),
- потливость (19%),
- неприятные ощущения в области сердца (12%),
- сердцебиение (7%),
- одышку в покое (5%).

При обследовании особое внимание уделялось состоянию кожи пациентов с ожирением и проявлениям экземы и дерматита. 11 больных предъявляли жалобы на покраснение кожи и зуд при контакте с бытовыми химическими средствами, у 5 больных была непереносимость некоторых пищевых продуктов, у 15 больных имелись поллинозы. Согласно критериям исключения пациентов из исследования мы не брали тех лиц, у которых были установлены аллергические реакции на лекарственные препараты, используемые в нашей Клинике при операции абдоминопластики. У 5 больных в анамнезе имелись хронические воспалительные заболевания, связанные с нарушениями

иммунитета, в частности, хронический бронхит. Соматические нарушения и наличие сопутствующих осложнений разной степени тяжести были выявлены у всех пациентов с ожирением (Таблица 4).

Таблица 4.

Наличие сопутствующих осложнений у больных ожирением (n=216)

Сопутствующие осложнения	Женщины (n=160)	Мужчины (n=36)
	%	%
Артериальная гипертензия	42	23
Гипотензия	15	9
ИБС	12	25
Остеохондроз	16	10
Артрозы	7	5
Мочекислый диатез	5	5
Дискинезия ЖВП*	40	25
Жировая дистрофия печени	11	12
Гастродуоденит	29	25
Дискинезия толстой кишки	32	38
Хронический бронхит	2	3
Аллергический ринит	5	7
Астеноневротический синдром	14	7

\*ЖВП – желчевыводящие пути,

Таблица 5.

Распределение больных по способу абдоминопластики (n = 320)

Вид абдоминопластики	Мужчины (n = 58)			Женщины (n = 262)		
	Возраст (лет)			Возраст (лет)		
	18–29 (n = 2)	30–45 (n = 18)	≥ 46 (n = 38)	18–29 (n = 93)	30–45 (n = 87)	≥ 45 (n = 82)
классическая абдоминопластика	1	12	30	72	65	48
круговая абдоминопластика	1	6	8	21	22	34

Тип планируемой операции абдоминопластики определялся параметрами изменения подкожно-жировой клетчатки в области живота. В данной работе

представлены результаты проведения только двух типов абдоминопластики (Таблица 5), чтобы более детально проанализировать связанные с ними осложнения.

Далее представлены суммарные данные, характеризующие пациентов с ожирением, которым была проведена абдоминопластика (Таблица 6).

Таблица 6.

Характеристика пациентов с ожирением, которым проведена абдоминопластика

<b>ЖЕНЩИНЫ (n = 160)</b>			
<b>Возраст</b>	<b>≤ 29 лет</b>	<b>30–45 лет</b>	<b>≥ 46 лет</b>
<b>Число пациенток</b>	49	54	57
<b>%</b>	30,63%	33,75%	35,62%
<b>Степень ожирения</b>			
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>
<b>Число пациенток</b>	80	68	12
<b>%</b>	50%	42,5%	7,5%
<b>Длительность ожирения</b>			
	<b>С детства</b>	<b>&gt; 8 лет</b>	<b>≤ 7 лет</b>
<b>Число пациенток</b>	28	56	76
<b>%</b>	17,5%	35%	47,5%
<b>МУЖЧИНЫ (n = 36)</b>			
<b>Возраст</b>	<b>≤ 29 лет</b>	<b>30–45</b>	<b>≥ 46 лет</b>
<b>Число пациентов</b>	2	9	25
<b>%</b>	5,6%	25%	69,4%
<b>Степень ожирения</b>			
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>
<b>Число пациентов</b>	18	13	5
<b>%</b>	50%	36,1%	13,9%
<b>Длительность ожирения</b>			
	<b>С детства</b>	<b>&gt; 8 лет</b>	<b>≤ 7 лет</b>
<b>Число пациентов</b>	2	9	25
<b>%</b>	5,6%	25%	69,4%

Функция внешнего дыхания (ФВД) измерялась у всех больных до операции, повторное исследование после операции проводилось только при подозрении на нарушение вентиляции легких. В нашем исследовании патологического нарушения ФВД

после абдоминопластики не обнаружено, все определяемые показатели ФВД оставались в пределах возрастной и конституциональной нормы.

### 3.1.2. АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПАЦИЕНТОВ

При первичном осмотре устанавливался характер распределения жировой массы у пациентов с ожирением. Равномерное распределение жира было у 2 мужчин и 38 женщин, абдоминальное ожирение – у 29 мужчин и 27 женщин, абдоминально-висцеральное – у 5 мужчин и 59 женщин, висцерально-глутеальное – у 36 женщин. Абдоминальное ожирение определяется при окружности талии  $>90$  см у мужчин и  $>80$  см у женщин, оно связано с особенностями питания, особенно в пожилом возрасте [89]. Избыток абдоминального жира является фактором риска развития метаболических нарушений, дислипидемии, сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета [103, 129]. При значительной массе жировой ткани в ней регистрируется инфильтрация макрофагами и повышение уровня цитокинов и белков острой фазы [182].

Были измерены основные параметры тела: вес в килограммах с точностью до 50 грамм и рост в сантиметрах. Также измерены окружность талии (ОТ) и окружность бёдер (ОБ) в сантиметрах, которые отражают характер депонирования липидов в абдоминальной области и под кожей, что оказывает влияние на метаболические изменения, происходящие в организме больных ожирением. У мужчин ОТ и отношение ОТ/ОБ, а также процент жировой массы, положительно коррелируют с воспалением в жировой ткани [253]. По данным NHANES отношение ОТ/ОБ не зависит от изменения индекса массы тела.

#### Данные состава тела мужчин до абдоминопластики

Абдоминопластика проведена у 58 мужчин в возрасте от 18 до 65 лет (средний возраст 41 год). Использование метода БИА указывает на значительное изменение состава тела мужчин при ожирении (**Таблица 7**). Увеличение жировой массы тела происходит, главным образом, за счёт абдоминального жира, что обуславливает значительное повышение окружности талии. Клинически это проявилось наличием одышки, снижением двигательной активности пациентов, ухудшением самочувствия [208].

У лиц старше 45 лет повышенное значение отношения ОТ/ОБ ассоциировано со снижением уровня антиоксидантов (в том числе аскорбиновой кислоты) в плазме крови. Данные  $ОТ > 102$  см у мужчин позволяют выделить контингент с высоким риском развития метаболического синдрома при нормальной массе тела и  $ИМТ < 30$   $кг/м^2$ , так как ОТ/ОБ отражает повышение висцерального жира и снижение тощей массы тела и активной

клеточной массы [67, 208]. У больных ожирением в пожилом возрасте также выше показатели ОТ и ОБ по сравнению с лицами молодого возраста.

**Таблица 7.**

Данные биоимпедансного анализа состава тела мужчин с ожирением и с нормальной массой тела (n = 58)

Показатели состава тела	Ожирение (n = 36)	Нормальная масса тела (n = 22)	P<0,05*
Вес тела, кг	114,1 ± 9,1	81,2 ± 7,1	+
ИМТ	31,56 ± 3,06	23,66 ± 1,80	+
Жировая масса, кг	40,86 ± 5,87	27,09 ± 4,14	+
Активная клеточная масса, кг	39,84 ± 1,85	23,04 ± 1,57	+
Обхват талии, см	122,8 ± 5,3	88,0 ± 4,6	+
Обхват бедер, см	118,8 ± 3,9	91,0 ± 3,2	+

\*P<0,05 для больных ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела.

#### Данные состава тела женщин до абдоминопластики

Определение состава тела проведено методом БИА до абдоминопластики. Полученные данные указывают на нарушения, касающиеся жировой массы тела (ЖМТ), у пациенток с ожирением (Таблицы 8 и 9). По данным литературы, ЖМТ превышает норму не только у тех людей, которые имеют ожирение [312], в частности, 90% взрослых мужчин и почти 50% детей в США имеют избыток ЖМТ, а 62–76% населения во всём мире имеют избыток ЖМТ [204]. Степень ожирения, определяемая по значению ИМТ, влияет на антропометрические показатели [250]. Наиболее выраженные изменения наблюдаются у женщин с ожирением III степени (Таблица 8 [14]).

**Таблица 8.**

Значение жировой массы тела (кг) по данным биоимпедансного анализа у женщин в зависимости от степени ожирения (до абдоминопластики) [14]

Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	Число пациенток	Жировая масса тела, кг	P<0,05*
Нормальная масса тела (<24,9)	n = 70	15,7 ± 2,13	
Избыточный вес (25–29,9)	n = 32	21,4 ± 1,62	+
Ожирение I степени (30–34,9)	n = 40	34,1 ± 1,96	+
Ожирение II степени (35–39,9)	n = 52	41,9 ± 2,25	+
Ожирение III степени (>40)	n = 68	45,2 ± 2,91	+

\*P<0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Таблица 9.

Значение жировой массы тела (кг) по данным биоимпедансного анализа у женщин с ожирением разного возраста (до абдоминопластики) [14]

Возраст больных ожирением	Число пациенток	Жировая масса тела, кг	P<0,05*
18–29 лет	n = 50	36,8±4,1	
30–45 лет	n = 68	42,0±1,7	-
46–65 лет	n = 42	51,6±1,3	+

\*P<0,05 по сравнению с лицами до 29 лет.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Изменение показателей ОТ и ОБ наиболее значимы у женщин старше 45 лет (Таблица 10). ОТ достоверно больше у женщин со II-й и III-й степенями ожирения (P<0,05), тогда как ОБ достоверно выше только при III-й степени ожирения (Таблица 11).

Таблица 10.

Показатели окружности талии и бёдер при ожирении у женщин разного возраста

Возраст	Окружность талии (см)	P<0,05*	Окружность бёдер (см)	P<0,05*
18 – 29 лет	91,80 ± 4,56		113,27 ± 2,98	
30 – 45 лет	92,32 ± 4,03	-	110,50 ± 4,53	-
46 – 65 лет	102,0 ± 1,62	+	115,47 ± 1,19	-

\*P<0,05 по сравнению с лицами до 29 лет.

Таблица 11.

Показатели окружности талии и бёдер у женщин с разной степенью ожирения

Степень ожирения	Окружность талии (см)	P<0,05*	Окружность бёдер (см)	P<0,05*
Ожирение I степени	93,13 ± 0,97		111,10 ± 0,97	
Ожирение II степени	99,87 ± 3,58	+	114,84 ± 3,91	-
Ожирение III степени	116,31 ± 1,62	+	127,68 ± 1,39	+

\*P<0,05 по сравнению с ожирением I степени.

Активная клеточная масса (АКМ) коррелирует с показателями основного обмена [208] и имеет максимальное значение у пациенток с III степенью ожирения (Таблица 12). При этом мы не обнаружили достоверных различий в АКМ в зависимости от возраста женщин (Таблица 13), хотя, по некоторым данным, с возрастом происходят изменения активной клеточной массы организма человека [258].

**Таблица 12.**

Значение активной клеточной массы тела (кг) по данным биоимпедансного анализа у женщин в зависимости от степени ожирения (до абдоминопластики)

Степень ожирения	Активная клеточная масса (АКМ) тела, кг	P<0,05*
Ожирение I степени	28,55 ± 0,43	
Ожирение II степени	30,87 ± 0,47	+
Ожирение III степени	33,97 ± 1,09	+

\*P<0,05 по сравнению с ожирением I степени.

**Таблица 13.**

Значение активной клеточной массы тела (кг) по данным биоимпедансного анализа у женщин с ожирением до абдоминопластики в зависимости от возраста

Возраст больных ожирением	Активная клеточная масса (АКМ) тела, кг	P<0,05*
18 – 29 лет	29,02 ± 1,32	
30 – 45 лет	30,92 ± 0,70	-
46 – 65 лет	29,47 ± 0,45	-

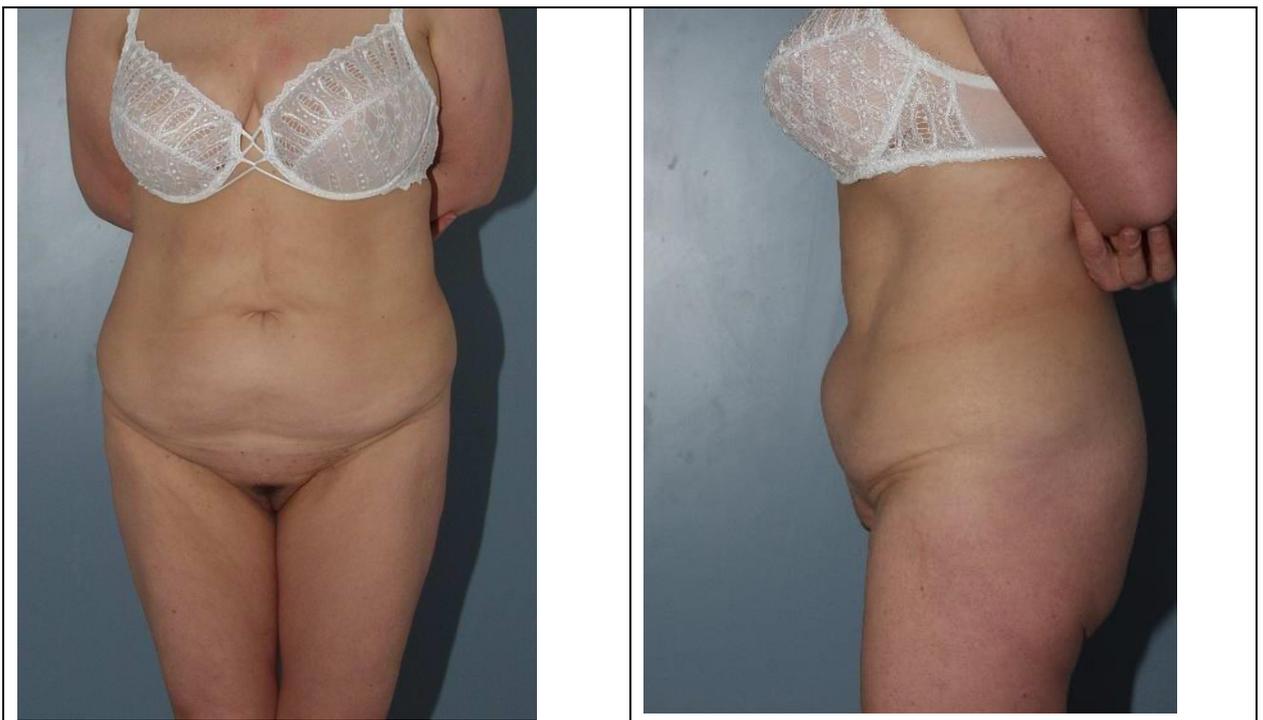
\*P<0,05 по сравнению с лицами до 29 лет.

Далее представлены фотографии пациенток после абдоминопластики.





**Фотография 2.** Результаты проведённой абдоминопластики у пациентки с нормальной массой тела, имеющей особенности живота после родов.



**Фотография 3.** Результаты проведённой абдоминопластики у пациентки с нормальной массой тела, имеющей птоз мягких тканей живота после родов.

Таким образом, у пациентов, как мужчин, так и женщин, до проведения абдоминопластики имелись разнообразные нарушения состава тела, связанные, главным образом, с избыточной жировой массой в области живота, что требовало коррекции по медицинским показаниям для восстановления нормального метаболизма.

### 3.1.3. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ

Ожирение обуславливает ряд метаболических нарушений в организме, которые находят отражение в биохимических показателях крови. Задачей данного раздела была оценка основных показателей белкового, липидного и углеводного обмена у пациентов перед проведением абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела. При анализе (Таблица 14) обращает на себя внимание изменение показателей липидов у пациентов с ожирением по сравнению с показателями пациентов с нормальной массой тела.

Таблица 14.

Биохимические показатели крови пациентов до абдоминопластики

Показатели	Норма	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 32)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05
Общий белок, г/л	63 - 87	72,1 ± 3,7	71,4 ± 2,8	-
Мочевина, мМ/л	1,70 - 8,33	5,94 ± 0,51	6,12 ± 0,76	-
Мочевая кислота, мкМ/л	148 - 319	278 ± 13	267 ± 22	-
Креатинин, мкМ/л	62 - 115	72,85 ± 2,31	83,15 ± 5,21	+
Холестерин, мМ/л	3,89 - 5,20	4,24 ± 0,51	5,48 ± 0,32	+
ЛПНП, мМ/л	1,91 - 4,30	3,13 ± 0,26	3,86 ± 0,32	+
ТГ, мМ/л	0,40 - 1,80	0,81 ± 0,35	1,94 ± 0,48	+
Глюкоза, мМ/л	3,38 - 5,55	4,35 ± 0,31	5,11 ± 0,64	-

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>.

Также мы определили активность некоторых ферментов ПОЛ у пациентов с нормальной массой тела и ожирением до абдоминопластики (Таблица 15).

Таблица 15.

Показатели перекисного окисления липидов у пациентов с ожирением и нормальной массой тела до абдоминопластики

Показатели	Норма	Пациенты с ожирением	Пациенты с нормальной массой тела	P < 0,05
Супероксиддесмутаза	<50% у.е.	66,5 ± 5,8	45,4 ± 3,2	+
Каталаза	40-60 МЕ/мл	58,3 ± 7,7	43,4 ± 2,8	+
Малоновый диальдегид	15-30 мкМ/л	27,9 ± 4,6	18,3 ± 2,2	+
Лактатдегидрогеназа	100-420 МЕ/л	249 ± 12	156 ± 8	+
Лактат	1,1-1,65 мМ/л	1,45 ± 0,25	1,21 ± 0,33	-
Пируват	0,05-0,06 мМ/л	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	-

мМ/л – миллимоль на литр; мкМ/л – микромоль на литр, МЕ – международная единица (соответствует количеству фермента, вызывающего распад 1 моля субстрата в минуту при температуре +25<sup>0</sup>С).

Окислительный стресс в жировой ткани имеет отношение к патогенетическим механизмам развития осложнений при ожирении. Формирование окисленных продуктов в клетке является составной частью её метаболизма, аддукты белкового и липидного окисления выполнят регуляторную роль в клетке, в том числе, могут модифицировать вновь синтезируемые клеткой вещества. Активация свободно-радикального окисления является реакцией организма на воздействие патогенов [58]. Однако накопление окисленных продуктов может быть критическим для дальнейшей функциональной активности клетки. Повышение ПОЛ и снижение ёмкости антиоксидантной системы являются маркерами метаболического синдрома

В Таблице 16 [20] представлены некоторые биохимические показатели, которые определялись у пациентов после проведенной абдоминопластики. Достоверных различий между группами пациентов с нормальной массой тела и ожирением не было.

Таблица 16.

Показатели крови пациентов после проведения абдоминопластики [20]

Показатели	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 22)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 36)	P<0,05**
Возраст, лет	35 ± 7	45 ± 8	-
Гемоглобин (мг/л)	153 ± 11	155 ± 12	-
Лейкоциты	6,91 ± 1,35	7,31 ± 1,27	-
Нейтрофилы, %	55,3 ± 7,7	59,4 ± 6,9	-
Лимфоциты, %	31,9 ± 7,3	30,2 ± 5,8	-
Эозинофилы, %	1,04 ± 0,23	0,93 ± 0,36	-
Базофилы, %	0,96 ± 0,36	0,89 ± 0,27	-
Моноциты, %	5,92 ± 1,28	8,40 ± 1,47	-
Общий белок, г/л	75 ± 5	78 ± 6	-
Альбумин, г/л	45 ± 3	47 ± 4	-
Креатинин, мг/л	9,18 ± 2,54	9,36 ± 3,84	-
Мочевая кислота, мг/л	59,73 ± 13,86	64,59 ± 12,91	-
Общий холестерин, мм/л	4,46 ± 0,79	4,99 ± 0,77	-
ЛПВП, мм/л	1,11 ± 0,37	0,79 ± 0,44	-
Триглицериды, мм/л	0,94 ± 0,32	1,0 ± 0,25	-
Глюкоза, мм/л	4,93 ± 0,35	5,31 ± 0,49	-
АСТ, МЕ/л	27,2 ± 6,9	30,1 ± 7,4	-
АЛТ, МЕ/л	21,8 ± 7,6	23,1 ± 8,4	-

\*ИМТ - индекс массы тела; \*\*P<0,05 по отношению к нормальной массе тела.  
(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.51-56).

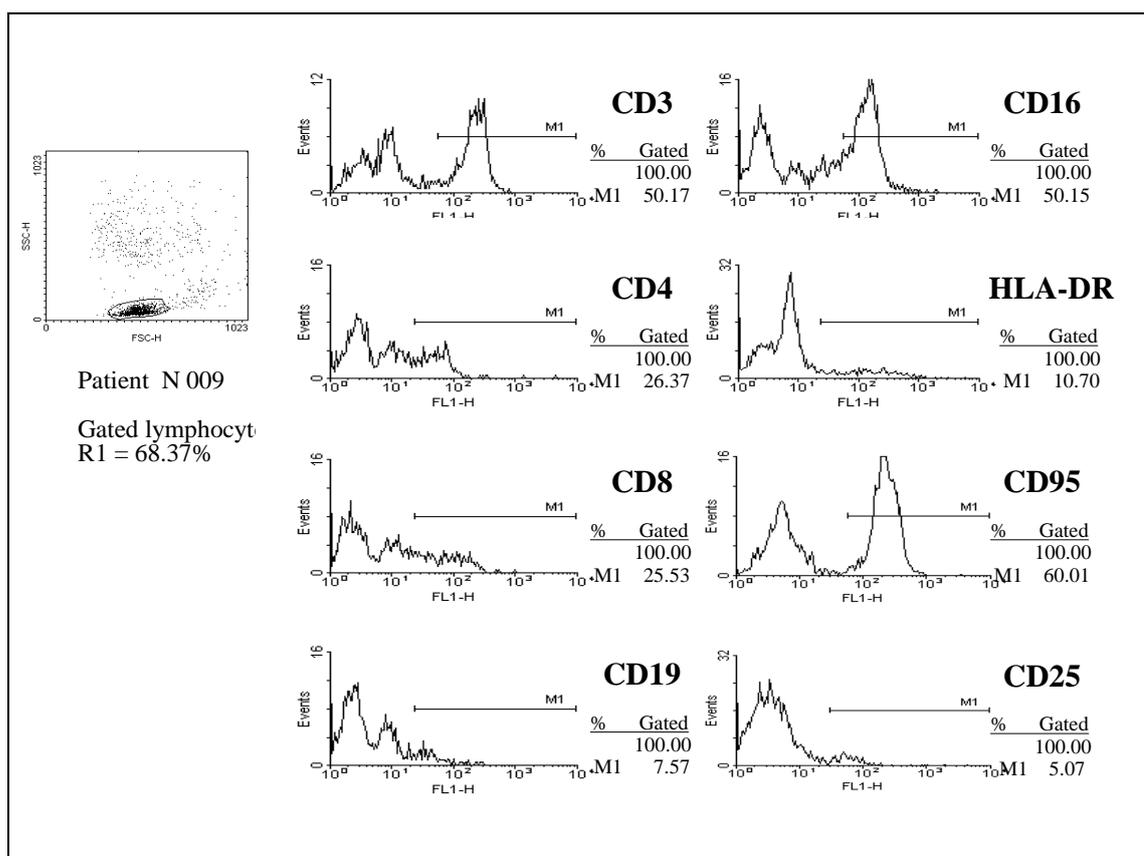
В заключение клинической части следует отметить, что проведение операции абдоминопластики при ожирении было обосновано с точки зрения нарушения состава тела и изменённых биохимических показателей. У пациенток с нормальной массой тела

проведение абдоминопластики обусловлено эстетическими показаниями, особенно у молодых женщин, у которых после родов имелся птоз кожи и подкожной клетчатки, требовавшие иссечения излишков кожи. Поэтому две группы сравнения – с ожирением и без него, подразумевают достоверные различия в метаболизме жировой ткани и клеток кожи.

### 3.2. ИММУННЫЙ СТАТУС И АНАЛИЗ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕД АБДОМИНОПЛАСТИКОЙ

#### 3.2.1. ИММУННЫЙ СТАТУС

Ожирение сопровождается хроническим субклиническим воспалением в тканях и ассоциировано с повышением риска развития инфекционных заболеваний, обусловленных нарушением иммунитета [145, 261]. Учитывая это, мы исследовали иммунный статус пациентов до проведения абдоминопластики и провели его сравнительный анализ в зависимости от ИМТ. Пример анализа иммунного статуса на проточном цитометре представлен на **Рисунке 2**.



**Рисунок 2.** Пример измерения иммунного статуса пациентов методом проточной цитометрии.

Сначала выделяется гейт лимфоцитов (левый квадрат, гейт лимфоцитов обведен). Затем в нём определяется интенсивность флуоресценции соответствующих рецепторов и автоматически строится гистограмма, соответствующая распределению клеток, окрашенных этими антителами.

У пациентов с ожирением не было обнаружено достоверных статистических различий от лиц с нормальной массой тела для общего числа CD3+ Т-лимфоцитов, CD4+ Т-хелперов и CD8+ Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов. При этом у 20% пациентов с ожирением регистрировались отклонения от нормального уровня Т-лимфоцитов в сторону снижения CD4+ и CD8+ субпопуляций. Показатели активационных антигенов CD38 и HLA-DR повышены у пациентов с ожирением ( $P<0,05$ ), у них также несколько повышен уровень CD16+ клеток (нейтрофилов) (Таблица 17).

Таблица 17.

Иммунный статус пациентов перед абдоминопластикой

Показатели	Лабораторная норма (%)	Нормальный вес	Ожирение	$P<0,05^*$
CD3+	60 – 75	$68 \pm 4$	$67 \pm 5$	-
CD4+	35 – 46	$43 \pm 4$	$38 \pm 7$	-
CD8+	25 – 30	$28 \pm 5$	$26 \pm 4$	-
CD38+	24 – 40	$27 \pm 4$	$42 \pm 8$	+
HLA-DR+	7 – 15	$10 \pm 3$	$19 \pm 4$	+
CD16+	10 – 20	$15 \pm 3$	$22 \pm 3$	+
CD19+	5 – 15	$12 \pm 2$	$8 \pm 2$	-
Иммуноглобулины (Ig), мг%				
IgG	900 – 1800	$1514 \pm 170$	$1009 \pm 210$	+
IgA	100 – 350	$285 \pm 25$	$128 \pm 31$	+
IgM	80 – 250	$194 \pm 32$	$224 \pm 40$	-

# $P<0,05$  – достоверное различие между нормальной массой тела и ожирением

Считается, что среди многочисленных субпопуляций CD4+ Т-лимфоцитов ~30% составляют CD38+HLA-DR+ активированные клетки [310], их число повышается при воспалительном процессе в тканях, а активация положительно коррелирует с экспрессией генов, отвечающих за метаболизм [245]. У больных по сравнению со здоровыми людьми активированные CD38+HLA-DR+ Т-лимфоциты имеют повышенный уровень экспрессии рецепторов CCR5 и TNF-R2 и отвечают повышенной секрецией IFN- $\gamma$  и IL-2 в ответ на форболовые эфиры, что указывает на их функциональные отличия при отклонениях от нормы [93].

У пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массой тела имелась тенденция к снижению процента CD19+ В-лимфоцитов ( $P>0,05$ ) и достоверно снижался уровень иммуноглобулинов IgG и IgA ( $P<0,05$ ). Что касается IgM, отражающих первичный иммунный ответ на патогены, то их уровень даже превышал показатели пациентов с нормальной массой тела ( $P>0,05$ ) (Таблица 17).

Известно, что ожирение сопровождается снижением функциональной активности В-лимфоцитов [128, 274], что оказывает непосредственное влияние на защиту организма от инфекции. Поскольку в нашей работе было выявлено изменение процента В-лимфоцитов в периферической крови пациентов с ожирением, то в одном из следующих разделов диссертации будут представлены данные по микробной и микозной контаминации кожи пациентов перед проведением операции абдоминопластики.

Таким образом, до операции абдоминопластики пациенты с ожирением имеют нарушения в иммунном статусе, что может отразиться на развитии осложнений в послеоперационном периоде. Для предупреждения подобных осложнений мы считаем определение иммунного статуса обязательным, так как в настоящее время имеется достаточно большой выбор препаратов, корректирующих иммунные показатели пациента.

### 3.2.2. РЕЦЕПТОРЫ НЕЙТРОФИЛОВ

При ожирении масса висцеральной жировой ткани положительно коррелирует с абсолютным числом активированных нейтрофилов крови [256]. Оперативное вмешательство влечет за собой активацию нейтрофилов, однако, в раннем периоде после операции антимикробная функция нейтрофилов может быть снижена [60]. Поскольку нейтрофилы играют роль в патогенезе осложнения после операций, мы сравнили активность нейтрофилов крови пациентов с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики. Поскольку нейтрофилы очень чувствительны к любым изменениям метаболизма и к гормональным колебаниям, характерным для женщин, данные в этом разделе представлены только для мужчин.

Нейтрофилы человека состоят из зрелых и незрелых нейтрофилов и нейтрофилоподобных клеток [262]. К этим субпопуляциям сейчас добавляют CD66b+CD63CD15+CD11b+ гигантские фагоциты нейтрофильного происхождения, продуцирующие миелопероксидазу и эластазу нейтрофилов [186]. Все нейтрофилы крови человека экспрессируют рецепторы CD66b, CD16 и CD11b [77, 262]. Субпопуляции нейтрофилов различаются по экспрессии маркёров активации: на зрелых нейтрофилах повышена экспрессия рецепторов CD11b, CD45, CD63, CD66b, CD14 [184].

По нашим данным у мужчин с ожирением, по сравнению с лицами с нормальной массой тела, экспрессия рецепторов CD66b, CD63 и CD11b достоверно выше ( $P < 0,05$ ), а экспрессия CD85a повышена в два раза у пациентов с ожирением (**Таблица 18** [20]).

На нейтрофилах рецептор CD85a (ILT5) работает в паре с рецептором CD85b (ILT8), они относятся к лейкоцитарным Ig-подобным рецепторам (LILR) [318]. Воспалительный фенотип нейтрофилов характеризуется повышением экспрессии рецепторов CD85a [184], они контролируют временные точки активации клетки после перехода от покоящегося состояния [318]. Экспрессия рецепторов CD85a достоверно повышена ( $P < 0,05$ ) у пациентов с ожирением (**Таблица 18** [20]).

**Таблица 18.**

Сравнение экспрессии рецепторов нейтрофилов (по интенсивности флуоресценции, mean) у мужчин с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики [20]

РЕЦЕПТОРЫ	ИМТ* 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 22)	ИМТ* 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05#
CD66b, mean**, у.е.	144 ± 32	215 ± 21	+
CD63, mean**, у.е.	111 ± 19	186 ± 15	+
CD11b, mean**, у.е.	103 ± 13	177 ± 11	+
CD16b, %	74 ± 8	83 ± 8	-
CD16b, mean**, у.е.	118 ± 23	138 ± 35	-
CD85a, %	7 ± 3	16 ± 5	+
CD62L	56 ± 11	68 ± 12	-
CD282, %	21 ± 5	39 ± 7	+
CD31, %	34 ± 8	36 ± 11	-
CD31, mean**, у.е.	109 ± 7	124 ± 12	-
TNF-R1, mean**, у.е.	254 ± 13	297 ± 11	+
TNF-R2, mean**, у.е.	183 ± 10	226 ± 12	+

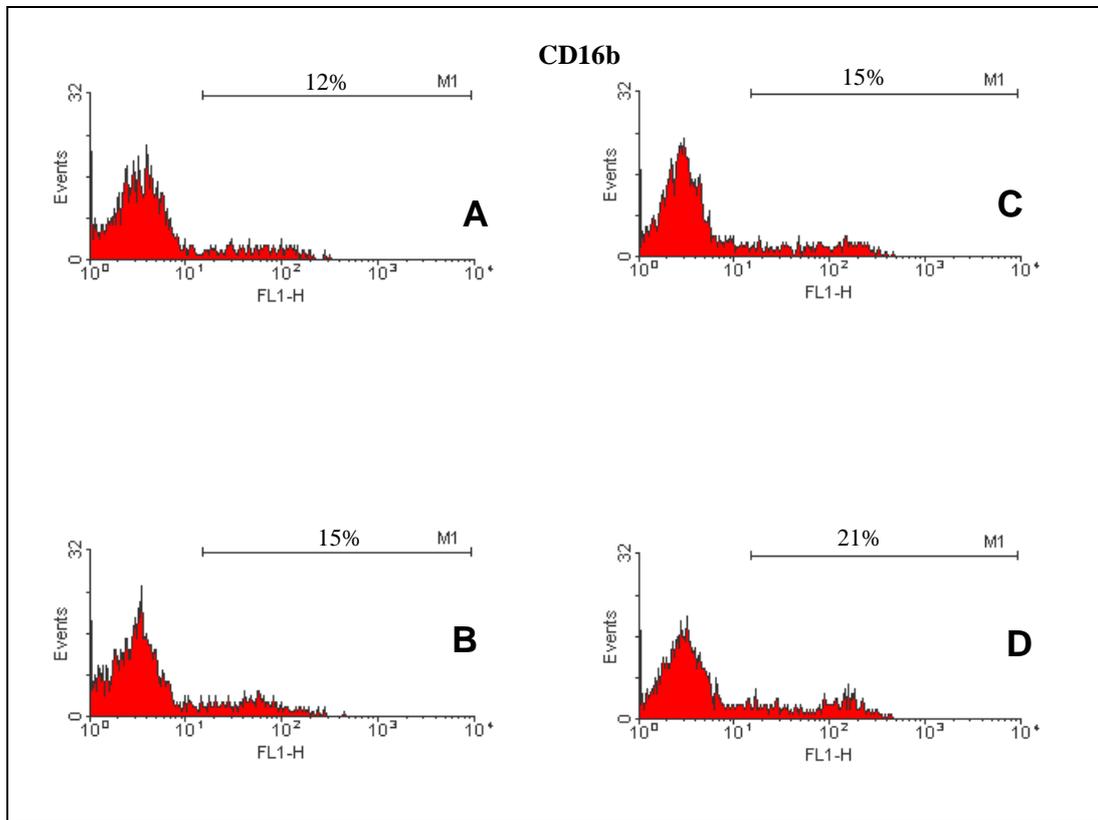
\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах);

#P<0,05 – достоверное различие между нормальной массой тела и ожирением.  
(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.51-56).

Экспрессия изотипа CD16b низкоаффинного III рецептора IgG (FcγRIII) [259] отражает фагоцитарную активность нейтрофилов, этот рецептор проводит сигналы фагоцитоза при связывании иммунных комплексов. Интересно, что для связывания Fc фрагментов IgG1 критичным является наличие Asp<sup>129</sup> в активном сайте рецептора CD16b; без этой аминокислоты распознавание не проходит [252]. Нами показана тенденция к

повышению экспрессии CD16b у лиц с ожирением ( $P>0,05$ ), но у 32% больных с ожирением экспрессия рецепторов CD16b была повышена достоверно ( $P<0,05$ ) (Таблица 18 [20]), (Рисунок 3).



**Рисунок 3.** Экспрессия рецепторов CD16b на нейтрофилах крови мужчин после абдоминопластики.

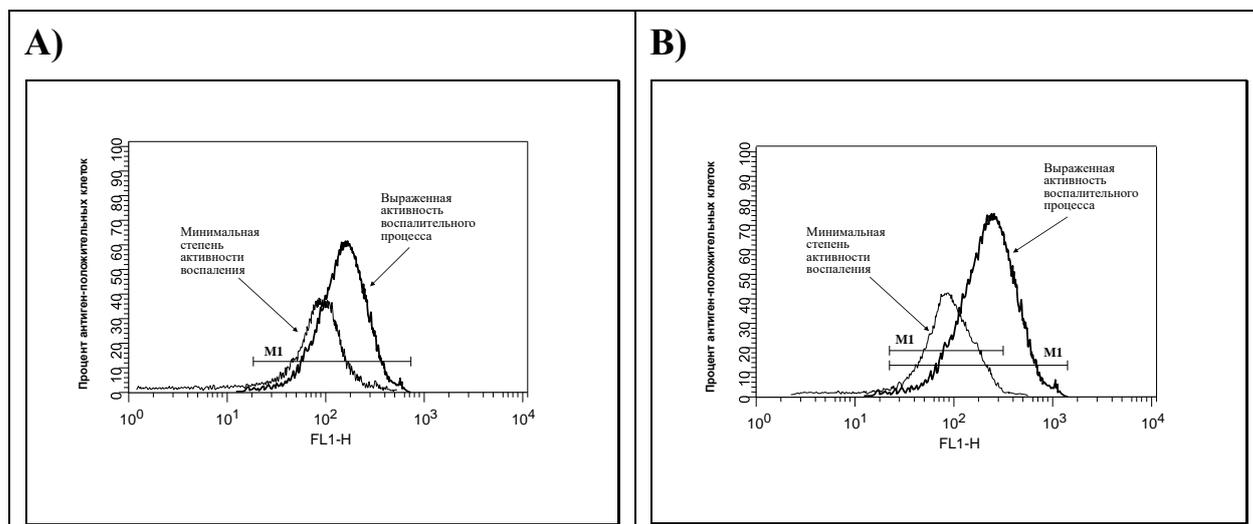
Гистограммы показывают характер распределения клеток, окрашенных антителами к рецепторам CD16b, у пациентов с нормальным весом (A), ожирением I степени (B), ожирением II степени (C) и ожирением III степени (D).

Рецепторы CD31 (Platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1) экспрессируются на лейкоцитах крови и клетках эндотелия сосудов, они контролируют финальную стадию транс-эндотелиальной миграции клеток крови [297], участвуют в адгезии, хемотаксисе и бактерицидной активности нейтрофилов. Согласно нашим данным имеется тенденция ( $P>0,05$ ) к повышению экспрессии CD31 у пациентов с ожирением (Таблица 18 [20]). Рецептор CD62L регулирует связывание нейтрофилов с клетками эндотелия; экспрессия CD62L имеет тенденцию к повышению ( $P>0,05$ ) у лиц с ожирением.

Рецепторы CD282 (или TLR-2, Toll-like Receptor-2) относятся к PRR (pattern-recognition receptors) и играют роль в природном иммунитете [139], они распознают пептидогликаны и ЛПС грам-негативных бактерий и активируют в нейтрофилах сигнальные пути синтеза провоспалительных цитокинов. Локализация рецептора CD282

как на поверхности плазматической мембраны, так и в эндосомных везикулах, даёт ему возможность участвовать в различных сигнальных путях, но все они сопряжены с сигналами защиты организма. Экспрессия TLR-2 достоверно повышена у лиц с ожирением ( $P < 0,05$ ) после абдоминопластики (**Таблица 18** [20]).

Провоспалительный цитокин TNF- $\alpha$  связан с воспалительным процессом в жировой ткани, уровень его концентрации положительно коррелирует с ИМТ, процентом жировой массы тела и гиперинсулинемией. Известны четыре рецептора TNF- $\alpha$ , первый из них – TNF-R1, проводит сигналы, сопряженными со всеми известными функциями TNF- $\alpha$ , играет роль в инициации провоспалительных и про-апоптозных сигналов в нейтрофилах. Связывание TNF- $\alpha$  с рецептором TNF-R1 сопряжено с повышением активности хемокина CXCL1 и миграцией нейтрофилов в жировую ткань [272]. При взаимодействии рецептора TNF-R1 с белком А золотистых стафилококков он инициирует синтез хемокина CXCL8 (IL-8) в нейтрофилах с активацией сигнального пути с участием MAPK киназы p38 [187]. Рецептор TNF-R2 имеет органо-зависимую экспрессию, что определяет его ограниченные функциональные свойства. Мы показали, что экспрессия рецепторов TNF-R1 и TNF-R2 повышена ( $P < 0,05$ ) на нейтрофилах пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела после абдоминопластики (**Таблица 18** [20]). Данные проточной цитометрии приведены на **Рисунке 4**.



**Рисунок 4.** Пример интенсивности флуоресценции клеток, окрашенных антителами к первому TNF-R1 (**А**) рецептору фактора некроза опухолей и ко второму TNF-R2 (**В**) рецепторам фактора некроза опухолей

*Правый пик отражает повышение экспрессии рецептора на клетках при воспалении.*

Таким образом, ожирение ассоциировано с выраженной активацией нейтрофилов после абдоминопластики, что может являться причиной развития воспалительных изменений в области операционного рубца, а также служить дополнительным фактором риска развития послеоперационных осложнений.

### 3.2.3. ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ N-ФОРМИЛ-ПЕПТИДА

#### НА НЕЙТРОФИЛАХ КРОВИ

Для нормального заживления раны после операции требуется миграция в эту зону миелоидных клеток, что зависит от хемотаксических пептидов, к которым относятся хемокины, факторы комплемента, N-формил-пептиды бактерий и ряд белков острой фазы.

Нейтрофилы мигрируют в зону поражения, в том числе, под действием N-формил-пептида бактерий (или fmlp, N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine). Рецепторы fmlp на нейтрофилах – FPR1 и FPR2, рассматриваются как ключевые регуляторы межклеточных взаимодействий в сайте воспаления [119], они инициируют сигнальные пути, регулирующие хемотаксис нейтрофилов в дерму в области раны [178]. У пациентов с ожирением по сравнению с пациентами с нормальной массой тела достоверно повышена экспрессия рецепторов FPR1 и FPR2 на нейтрофилах крови после проведенной абдоминопластики (Таблице 19 [20]).

**Таблица 19.**

Сравнение экспрессии рецепторов fmlp на плазматической мембране нейтрофилов пациентов с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики [20]

РЕЦЕПТОРЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 22)	ИМТ( 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 36)	P<0,05#
FPR1, %	33 ± 6	48 ± 7	+
FPR1, mean**, у.е.	244 ± 32	315 ± 21	+
FPR2, %	29 ± 4	41 ± 5	+
FPR2, mean**, у.е.	244 ± 32	315 ± 21	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах);

#P<0,05 – достоверное различие между группами.

(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.51-56).

Рецепторы FPR1 и FPR2 также отвечают за «кислородный взрыв» – это выброс супероксидного аниона нейтрофилами при контакте с патогенами за очень короткий промежуток времени. Поэтому можно говорить о том, что в ответ на бактериальные раздражители через рецепторы fmlp нейтрофилы пациентов с ожирением будут отвечать

повышенным уровнем выброса супероксидного аниона, который не только разрушает поверхностные структуры бактерий, но и оказывает разрушающее влияние на клетки и структуры ЕСМ. Повышение экспрессии рецепторов FPR1 и FPR2 на нейтрофилах пациентов с ожирением косвенно отражает более высокий уровень инфицирования бактериями по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

### 3.2.4. ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ХЕМОКИНОВ НА НЕЙТРОФИЛАХ КРОВИ

Хемокины и их рецепторы формируют сеть, контролирующую межклеточные взаимодействия и миграцию фагоцитов в зону воспаления. Далее мы провели сравнительный анализ уровня экспрессии рецепторов нейтрофилов периферической крови в зависимости от индекса массы тела пациентов после абдоминопластики. Измерения проводили на проточном цитометре в гейте нейтрофилов, так как анализируемые рецепторы экспрессируются на многих типах клеток. У пациентов с ожирением по сравнению с пациентами нормальной массы тела достоверно повышена экспрессия рецепторов хемокинов CXCR2 и CXCR6 на нейтрофилах крови после проведенной абдоминопластики (Таблице 20 [13]).

**Таблица 20.**

Сравнение экспрессии рецепторов семейства CXCR на нейтрофилах периферической крови пациентов с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики [13]

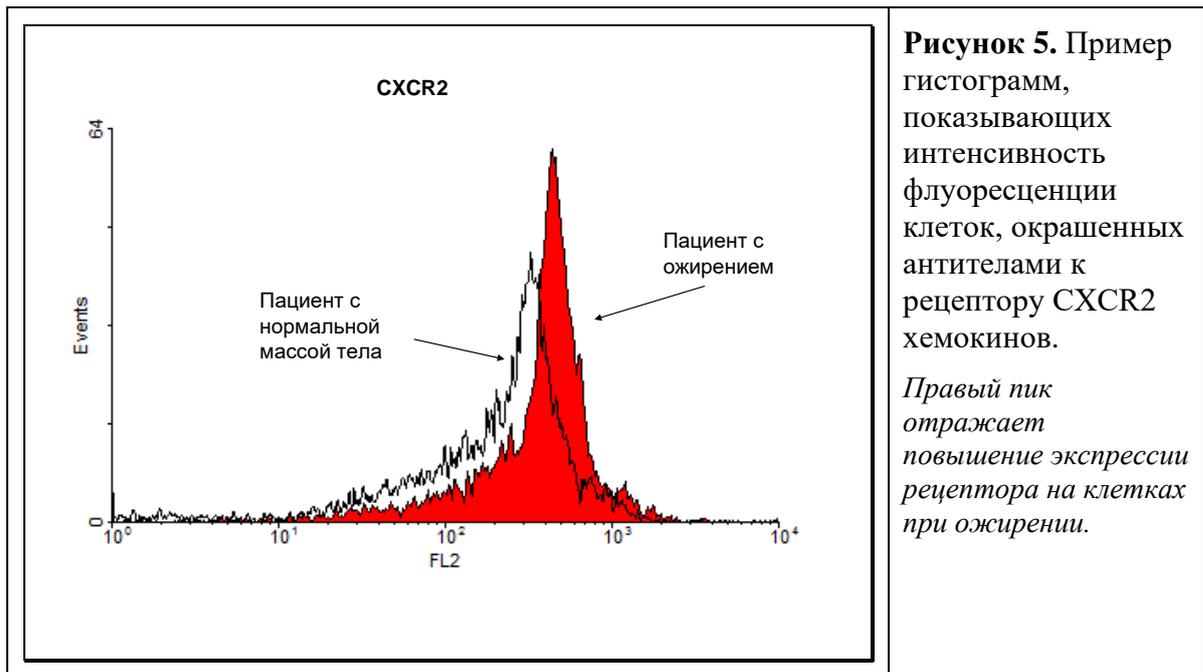
РЕЦЕПТОРЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 22)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05#
CXCR2, %	21 ± 4	32 ± 3	+
CXCR2, mean**, у.е.	104 ± 8	186 ± 11	+
CXCR6, %	44 ± 3	62 ± 5	+
CXCR6, mean**, у.е.	121 ± 5	206 ± 7	+
CXCR1, %	16 ± 3	22 ± 2	+
CXCR1, mean**, у.е.	97 ± 5	114 ± 4	+
CXCR4, %	4 ± 2	9 ± 2	+
CXCR4, mean**, у.е.	82 ± 4	108 ± 6	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

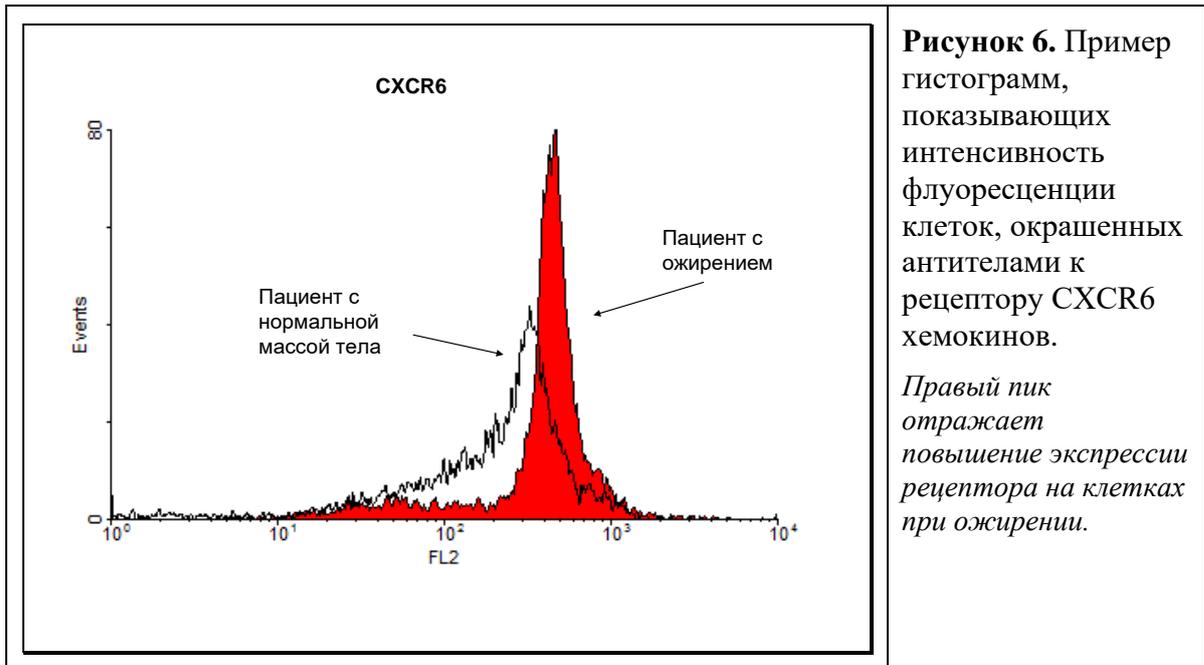
\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах);

#P<0,05 – достоверное различие между нормальной массой тела и ожирением.  
(Копасов А.Е. и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2019. – Т. 167, № 6. – С.682-685).

Рецептор CXCR2 распознаёт хемокины CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8. Активация CXCR2 имеет отношение к развитию послеоперационного болевого синдрома. При связывании рецептора CXCR2 хемокином CXCL8 происходит стимуляция хемотаксиса нейтрофилов в сайт воспаления [197]. Рецептор CXCR2 на нейтрофилах может работать синергично с FPR1 и FPR2 для активации сигналов хемотаксиса [105]. Данные проточной цитометрии по экспрессии рецептора CXCR2 на клетках представлены на **Рисунке 5**.



Рецептор CXCR6 связывает хемокин CCL20, что активирует сигнальные пути синтеза провоспалительных цитокинов и их секреции в ЕСМ. Получается цикл амплификации воспалительных сигналов, что поддерживает постоянный уровень воспаления в тканях. Данные проточной цитометрии по экспрессии рецептора CXCR6 на клетках представлены на **Рисунке 6**.



Рецепторы CXCR4 появляются на зрелых нейтрофилах и, в основном, на стареющих клетках [85]. По нашим данным экспрессия рецепторов повышается ( $P < 0,05$ ) на нейтрофилах периферической крови пациентов с ожирением (**Таблица 20**).

Рецептор CXCR1 связывает только хемокины CXCL6 и CXCL8, но именно сигнальный путь от CXCR1 приводит к активации фосфолипазы D (PLD), что необходимо для генерации ROS [85]. По нашим данным, экспрессия CXCR1 достаточно выражена на нейтрофилах крови и повышается ( $P < 0,05$ ) у пациентов с ожирением (**Таблица 20**), что отражает способность нейтрофилов к более выраженному кислородному взрыву при ожирении по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

На нейтрофилах также есть рецепторы CCR2, CCR6 и CCR7, которые связывают хемокины семейства CCL. Хемокины CCL2 проводят сигналы через рецепторы CCR2, что регулирует миграцию клеток в ответ на IL-17 [154]. По нашим данным, экспрессия CCR2 на нейтрофилах пациентов с ожирением не отличалась от таковой у пациентов без ожирения (**Таблица 21**). Сигнальный путь от рецептора CCR6 на нейтрофилах активирует секрецию про-воспалительных цитокинов [316], по наши данным экспрессия CCR6 повышалась у пациентов с ожирением ( $P < 0,05$ ). Повышение экспрессии рецептора CCR7 обычно связывают с выраженным воспалением, однако, при ожирении экспрессия этого рецептора была повышена ( $P < 0,05$ ) (**Таблица 21**).

**Таблица 21.**

Сравнение экспрессии рецепторов семейства CCR на нейтрофилах периферической крови пациентов с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики

РЕЦЕПТОРЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 22)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05#
CCR2, %	15 ± 3	17 ± 5	-
CCR2, mean**, у.е.	86 ± 5	90 ± 7	-
CCR6, %	19 ± 3	26 ± 3	+
CCR6, mean**, у.е.	113 ± 4	132 ± 4	+
CCR7, %	11 ± 2	18 ± 3	+
CCR7, mean**, у.е.	89 ± 6	117 ± 5	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах);

#P<0,05 – достоверное различие между нормальной массой тела и ожирением.

Из литературных источников известно, что в сайте воспаления нейтрофилы полностью меняют репертуар рецепторов хемокинов: снижается экспрессия CXCR2 и повышается CCR1, CCR2, и CCR5, что способствует активации фагоцитоза и продукции ROS [85].

### 3.2.5. СЕКРЕЦИЯ ХЕМОКИНОВ НЕЙТРОФИЛАМИ КРОВИ

Известно, что разные субпопуляции нейтрофилов секретируют разные хемокины, и что секреция хемокинов нейтрофилами изменяется в зависимости от стадии активации клеток и нахождения их в той или иной зоне в организме. С помощью проточной цитометрии по окраске антителами внутриклеточных структур мы определили уровень экспрессии хемокинов в гейте нейтрофилов (Таблица 22).

**Таблица 22.**

Сравнение экспрессии хемокинов на нейтрофилах периферической крови пациентов в зависимости от индекса массы тела (ИМТ) после абдоминопластики (по данным проточной цитометрии)

ХЕМОКИНЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 22)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05#
CCL2, mean**, у.е.	101 ± 3	115 ± 4	+
CCL3, mean**, у.е.	76 ± 4	89 ± 5	+
CCL5, mean**, у.е.	91 ± 5	105 ± 4	+
CXCL1, mean**, у.е.	149 ± 4	177 ± 6	+
CXCL2, mean**, у.е.	105 ± 7	129 ± 4	+
CXCL8, mean**, у.е.	151 ± 7	184 ± 6	+

*\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;*

*\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах);*

*#P<0,05 – достоверное различие между нормальной массой тела и ожирением*

Несмотря на то, что хемокин CCL2 всегда считался моноцитарным, в настоящее время показано, что его секретируют две субпопуляции нейтрофилов: одна из субпопуляций продуцирует ROS, а также секретирует провоспалительные хемокины CCL2, CCL3 и CXCL8; другая субпопуляция появляется в ответ на стимуляцию TGF- $\beta$  и секретирует CCL2, CCL5, эластазу нейтрофилов, катепсин и аргиназу-2 [85]. Нами показано повышение ( $P<0,05$ ) экспрессии всех анализируемых хемокинов у пациентов с ожирением (**Таблица 22**). Продуцируемые нейтрофилами хемокины CXCL2 распознают рецепторы CXCR1 и CXCR2, а также атипичные рецепторы ACKR1 на клетках эндотелия, что позволяет нейтрофилам мигрировать через посткапиллярные венулы [85]. Хемокины семейства CXCL связаны с защитой и с ответом организма на стресс [130]. Хемокин CXCL8 – это один из наиболее активных провоспалительных факторов, при его связывании с рецепторами CXCR1 и CXCR2 активируются сигнальные пути воспаления и фиброза тканей [54].

Полученные нами данные указывают на более высокую хемотаксическую активность нейтрофилов крови больных с ожирением по сравнению с лицами нормального веса после абдоминопластики. Клинический смысл полученных результатов состоит в повышении персистенции нейтрофилов в области операционного рубца у тучных пациентов, что сопряжено с возможными послеоперационными осложнениями.

Таким образом, у пациентов с ожирением выявлена более значимая активация нейтрофилов и повышение экспрессии рецепторов хемотаксиса по сравнению с пациентами нормального веса после проведенной абдоминопластики. Установленные изменения активности нейтрофилов крови у больных ожирением могут являться причиной развития воспалительных изменений в области операционного рубца, а также служить дополнительным фактором риска развития послеоперационных осложнений.

Выводы из данной главы:

1) До проведения абдоминопластики пациенты с ожирением имеют нарушения в иммунном статусе по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

2) После проведенной абдоминопластики у пациентов с ожирением выявлена достоверно более значимая активация нейтрофилов и повышение экспрессии рецепторов хемотаксиса по сравнению с пациентами с нормальной массой тела

3) Установленные изменения активности нейтрофилов крови у больных ожирением могут являться причиной развития воспалительных изменений в области операционного рубца, а также служить дополнительным фактором риска развития послеоперационных осложнений.

### 3.3. ХЕМОКИНЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С МОНОНУКЛЕАРАМИ КРОВИ

#### 3.3.1. ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Поскольку ранее нами были получены данные по изменению иммунного статуса пациентов с ожирением (см. Глава 3.2.1.), в данном разделе работы мы измеряли уровень экспрессии рецепторов хемокинов на Т-лимфоцитах у пациентов с ожирением до абдоминопластики.

Сначала мы определили процентный состав основных популяций лимфоцитов в периферической крови. Установлено, что у пациентов с ожирением имелась тенденция к снижению общего числа CD3+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т супрессоров/цитотоксических лимфоцитов ( $P > 0,05$ ). Процент CD4+ Т-хелперов повышен у пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела ( $P < 0,05$ ) (Таблица 23 [16]).

**Таблица 23.**

Данные проточной цитометрии по составу лимфоцитов в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела [16]

СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ	ПАЦИЕНТЫ		P < 0,05##
	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	
CD3+, %*	79 ± 9%	71 ± 5%	–
CD4+, %**	55 ± 4%	65 ± 5%	+
CD8+, %***	17 ± 3%	14 ± 2%	–
CD19, %#	9,1 ± 1,1%	10,2 ± 1,2%	–

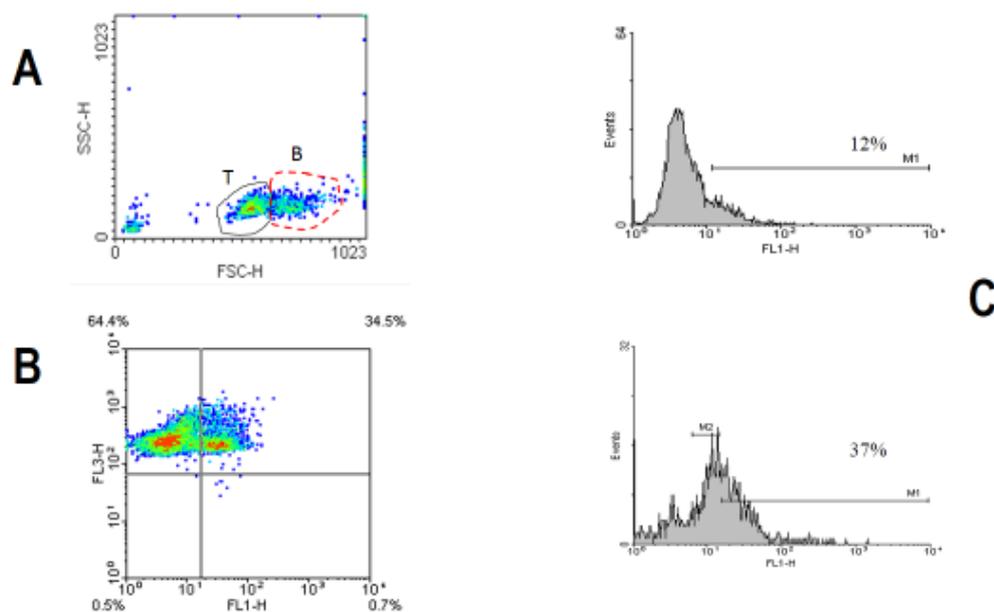
\*CD3 – общее число Т-лимфоцитов; \*\*CD4 – Т хелперы; \*\*\*CD8 – Т супрессоры / цитотоксические Т лимфоциты; #CD19 – общее число В лимфоцитов;

##P < 0,05 – достоверные различия между группами.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).

У пациентов с ожирением также имелась тенденция к повышению ( $P > 0,05$ ) общего числа В-лимфоцитов в периферической крови по сравнению с пациентами без ожирения.

Примеры анализа рецепторов лимфоцитов на проточном цитометре представлены на **Рисунке 7** [16].



**Рисунок 7.** Примеры данных проточной цитометрии по измерению уровня экспрессии рецепторов на лимфоцитах крови человека [16].

*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. (Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).*

Рецепторы CXCR4, CCR4, CCR6 и CCR7 хемокинов на Т-лимфоцитах необходимы для миграции лимфоцитов через эндотелий сосудов в ткани [91]. Рецептор CXCR4 связывает хемокин CXCL12. Рецептор CCR6 распознает хемокин CCL20, продуцируемый клетками эндотелия, и отвечает за миграцию лейкоцитов и Т-лимфоцитов через сосудистую стенку [210]. Рецепторы CCR4 и CCR7 служат маркерами Treg и Th17 лимфоцитов [292]. При связывании CCR9 хемокином CCL25 происходит активация CCR9+ Т-лимфоцитов. CCR9+ Т-хелперы в ответ на IL-7 секретируют повышенный уровень IFN- $\gamma$ , IL-21, IL-17 и IL-4 [70].

Далее мы определили уровень экспрессии рецепторов хемокинов на субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов периферической крови пациентов до абдоминопластики (**Таблица 24** [16]).

Таблица 24.

Экспрессия рецепторов хемокинов на субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов до абдоминопластики в зависимости от массы тела [16]

РЕЦЕПТОРЫ	ПАЦИЕНТЫ		P < 0,05#
	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	
CXCR4, mean*	152 ± 7	199 ± 11	+
CCR4, mean	54 ± 5	62 ± 6	–
CCR6, mean	85 ± 8	118 ± 8	+
CCR7, mean	79 ± 5	102 ± 6	+
CCR9, mean	101 ± 4	126 ± 4	+

\* mean – интенсивность флуоресценции, в условных единицах (у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).

Таблица 25.

Данные проточной цитометрии по составу субпопуляций CD4+ Т лимфоцитов в периферической крови пациентов до абдоминопластики в зависимости от массы тела [16]

СУБПОПУЛЯЦИИ CD4+Т ЛИМФОЦИТОВ	ПАЦИЕНТЫ		P<0,05#
	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	
Th1*, %	7,2 ± 0,4%	9,9 ± 0,8%	+
Th2, %	8,1 ± 1,8%	9,5 ± 2,3%	–
Th17, %	7,1 ± 1,9%	8,4 ± 1,7%	–
Treg**, %	2,8 ± 0,3%	3,8 ± 0,5%	+
Активированные Т клетки, %	9,5 ± 1,8%	12,7 ± 1,5%	–
Наивные Т клетки, %	58 ± 4%	36 ± 42%	+
Т клетки памяти, %	31 ± 2%	36 ± 2%	+

\*Th – Т хелперы; \*\*Treg – регуляторные Т клетки;

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).

Поскольку было установлено повышение процента CD4+ Т-лимфоцитов у больных ожирением, далее мы определили субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов на основании мультicolorиметрического исследования в гейте CD3+CD4+ клеток, затем по

дополнительной экспрессии специфических рецепторов. Процент каждой из субпопуляций определялся как доля от 100% всех клеток в гейте CD3+CD4+ Т-лимфоцитов. Полученные данные представлены в **Таблице 25** [16]. Показано, что при ожирении достоверно ( $P < 0,05$ ) повышен уровень Th1 клеток (Т-хелперов первого порядка), Treg (регуляторных Т-клеток), а также наивных Т-клеток и Т-клеток памяти. Процент активированных Т-клеток имел тенденцию к повышению ( $P > 0,05$ ) при ожирении.

Цитокины и хемокины, секретируемые Th1 клетками, играют ведущую роль в развитии воспаления в жировой ткани. Повышение процента Th1 клеток при ожирении отражает наличие подострого воспаления при этой патологии.

Клетки CD4+CD25+FOXP3+ Treg играют ключевую роль в периферической толерантности, предотвращая развитие иммунного ответа на аутоантигены. Накопление и активация Tregs регулируются хемокинами CXCL10 и их рецепторами CXCR3 [157]. Около 90% Treg клеток экспрессируют рецепторы CCR4, которые позволяют им распознавать хемокины CCL17 и CCL22, которые регулируют продвижение Tregs клеток в кожу через эпителиальный барьер [56, 205].

Наивные Т-клетки после активации дифференцируются в различные виды Th в зависимости от проведения дополнительных сигналов в клетку [321].

Циркулирующие CD4+ Т-клетки памяти экспрессируют рецепторы CXCR5 (связывают хемокин CXCL13) и CXCR3 (связывают CXCL10 и CXCL11), которые отвечают за хоминг CXCR3+ Т-клеток в зону повреждения. Процент CXCR3+ Т-клеток памяти негативно коррелирует с уровнем воспаления в коже, а число CCR6+ Т-клеток памяти – положительно. Циркулирующие CCR9+CXCR3+ Т-клетки относятся к популяции эффекторных клеток памяти [70].

В **Таблице 26** [16] представлены данные по экспрессии рецепторов хемокинов, сопряженных с Th1 клетками периферической крови. Измерение проводили в гейте CD3+ Т-лимфоцитов, в котором выделяли область CD4+ клеток и далее по тройной окраске измеряли экспрессию соответствующих рецепторов в данном гейте. Полученные данные (**Таблица 26** [16]) указывают на достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение экспрессии рецепторов CXCR3. Th1 хелперы сопряжены с рецепторами CXCR3, связывающими хемокины CXCL9 и CXCL10, которые секретируются в ответ на IFN- $\gamma$  и стимулируют хемотаксис активированных CXCR3+ Т-лимфоцитов в ткани, их аккумуляцию и последующее развитие воспаления [191]. Рецепторы CXCR7 распознают хемокины CXCL11. Активированные Th1 клетки сопряжены с хемокинами CCL4, рецепторами которых являются CCR5, а также CCL16, рецепторами служат CCR1.

Таблица 26.

Экспрессия рецепторов хемокинов на субпопуляции Th1 клеток в периферической крови пациентов перед абдоминопластикой в зависимости от массы тела [16]

РЕЦЕПТОРЫ	ПАЦИЕНТЫ		P < 0,05#
	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	
CXCR3, mean*	152 ± 7	199 ± 11	+
CXCR7, mean	54 ± 5	62 ± 6	-
CCR5, mean	85 ± 8	118 ± 8	+
CCR1, mean	79 ± 5	102 ± 6	+

\* mean – интенсивность флуоресценции, в условных единицах (у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).

Цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты секретируют хемокины, которые привлекают другие клетки иммунной системы в очаг воспаления. Далее мы проанализировали экспрессию рецепторов хемокинов на CD8+ Т-лимфоцитах (Таблица 27 [16]). Было установлено, что рецепторы CXCR3, CX3CR1 и CCR5 достоверно повышены у пациентов с ожирением по сравнению с пациентами нормальной массы тела.

Таблица 27.

Экспрессия рецепторов хемокинов на субпопуляции CD8+ Т-супрессоров/  
цитотоксических лимфоцитов в периферической крови пациентов до абдоминопластики в зависимости от массы тела (по данным проточной цитометрии) [16]

РЕЦЕПТОРЫ	ПАЦИЕНТЫ		P < 0,05#
	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	
CX3CR1, mean*	108 ± 4	131 ± 7	+
CXCR3, mean	96 ± 5	118 ± 3	+
CCR5, mean	145 ± 9	172 ± 5	+

\* mean – интенсивность флуоресценции, в условных единицах (у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2021. – Т.149, №1. – С.50-59).

Т-лимфоциты с фенотипом CXCR3+CD8+ в ответ на неспецифическую активацию продуцируют TNF-α и другие провоспалительные цитокины [107], поэтому установленное

в нашей работе повышение экспрессии рецептора CXCR3+ на CD8+ Т-клетках указывает на их участие в воспалительном процессе в организме.

Также показано повышение экспрессии рецептора CX3CR1, который способствуют миграции CD8+ Т-клеток через эндотелий. Лигандом для CX3CR1 является фракталин (CX3CL1), который стимулирует миграцию Т- и В-лимфоцитов и НК клеток в жировую ткань. Циркулирующие активированные CX3CR1+CD8+ Т-клетки проходят через эндотелий сосудов под влиянием фракталина и IL-15, которые секретируются клетками эндотелия под действием TNF- $\alpha$  [239].

Рецепторы CX3CR1 есть как на CD8+, так и на CD4+ Т-лимфоцитах. В циркуляции число CX3CR1+ CD8+ Т-лимфоцитов составляет 49%, а в жировой ткани – 24% [99]. CXCR3+CD8+ Т-лимфоциты дифференцируются в антиген-специфические эффекторы и продуцируют IL-2 и TNF- $\alpha$  в ответ на неспецифическую активацию [107].

Экспрессия рецептора CCR5 достоверно возрастает у больных с ожирением (**Таблица 27** [16]). CCR5 отвечает за направленное движение цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, НК и других клеток в жировую ткань [229], поэтому можно говорить об активации локального иммунного ответа в жировой ткани при ожирении у наших пациентов.

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+ Т-лимфоцитов, Т-хелперов первого порядка, регуляторных Т-клеток, наивных Т-клеток и Т-клеток памяти.
- 2) Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7, CCR9 достоверно повышена на субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов при ожирении.
- 3) Ожирение ассоциировано с повышением рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3 хемокинов на CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитах, что отражает их способность отвечать на регуляторные хемокины и аккумулироваться в жировой ткани.

### **3.3.2. ХЕМОКИНЫ МОНОЦИТОВ КРОВИ**

Хемокины семейства CCL регулируют сигнальные пути в моноцитах, а также в макрофагах моноцитарного происхождения в тканях. Хемокины CC, ассоциированные с моноцитами, взаимодействуют и с другими клетками иммунной системы. Увеличение экспрессии хемокинов и их рецепторов при ожирении приводит к лейкоцитарной инфильтрации тканей и аккумуляции тканевых макрофагов.

Клетки крови окрашивали антителами к хемокинам и анализировали интенсивность флуоресценции на проточном цитометре в гейте моноцитов. Было показано достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение экспрессии хемокинов семейства CCL на моноцитах периферической крови пациентов с ожирением (Таблица 28), что указывает на существующую предрасположенность к миграции моноцитов в ткани и, соответственно, накоплению макрофагов в жировой ткани с последующим развитием воспаления.

Таблица 28.

Экспрессия хемокинов семейства CCL в гейте моноцитов периферической крови пациентов после абдоминопластики (по данным проточной цитометрии)

Хемокины	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P<0,05#
CCL2, mean*	79 ± 5	198 ± 8	+
CCL3, mean	108 ± 7	181 ± 9	+
CCL4, mean	71 ± 5	154 ± 8	+
CCL5, mean	98 ± 6	162 ± 7	+
CCL6, mean	51 ± 6	73 ± 4	+
CCL18, mean	74 ± 5	136 ± 5	+
CCL20, mean	99 ± 6	181 ± 8	+

\* mean – интенсивность флуоресценции, в условных единицах (у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

CCL2 считается основным хемокином, регулирующим миграцию моноцитов в жировую ткань, а также ранним маркером воспаления, так как CCL2–зависимая локальная пролиферация макрофагов в висцеральной жировой ткани определяет развитие локального воспаления при ожирении [53]. Повышение концентрации CCL2 в ЕСМ жировой ткани повышает функциональную активность адипоцитов и обуславливает привлечение макрофагов в жировую ткань [118]. CCL3 регулирует миграцию клеток иммунной системы и активирует природный и адаптивный иммунный ответ.

Происходящие из макрофагов М1 пенистые клетки секретируют значительный уровень CCL4, что повышает проницаемость эндотелия и адгезию моноцитов. Поляризованная субпопуляция М1 макрофагов продуцирует факторы, регулирующие эндотелиально-мезенхимальную трансформацию клеток. Рецептор CCR5 после связывания с хемокином CCL4 проводит сигнал активации TGF-β. Таким образом,

макрофаги регулируют проницаемость эндотелия сосудов за счёт секреции хемокина CCL4 и активации его рецептора CCR5, сопряжённого с сигнальными путями TGF- $\beta$  [308].

Через сигнальный путь киназы mTOR и её первый комплекс mTORC1 регулируется продукция хемокинов CCL5 макрофагами. Трансляционная репрессия хемокинов CCL5 факторами 4E-BP1 и 4E-BP2 (вторичными мессенджерами киназы mTOR) приводит к ограничению способности макрофагов индуцировать миграцию активированных Т-лимфоцитов [296]. Хемокин CCL18 секретируется макрофагами и является маркёром нарушения метаболизма в тканях [124]. Хемокин CCL20 также участвует в воспалительной реакции в тканях [80].

Далее мы приводим данные проточной цитометрии по экспрессии рецепторов хемокинов CCR1, CCR2 и CCR5 в гейте моноцитов периферической крови пациентов после абдоминопластики (Таблица 29). Все исследуемые рецепторы достоверно повышены ( $P < 0,05$ ) на моноцитах пациентов с ожирением по сравнению с клетками пациентов нормальной массы тела.

**Таблица 29.**

Данные проточной цитометрии по экспрессии рецепторов для хемокинов семейства CCL в гейте моноцитов периферической крови пациентов после абдоминопластики

Рецепторы	ИМТ 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 46)	ИМТ 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , ( n = 46)	P<0,05#
CCR1, mean*	71 ± 5 у.е.	112 ± 6 у.е.	+
CCR2, mean	44 ± 6 у.е.	108 ± 7 у.е.	+
CCR5, mean	92 ± 4 у.е.	138 ± 5 у.е.	+

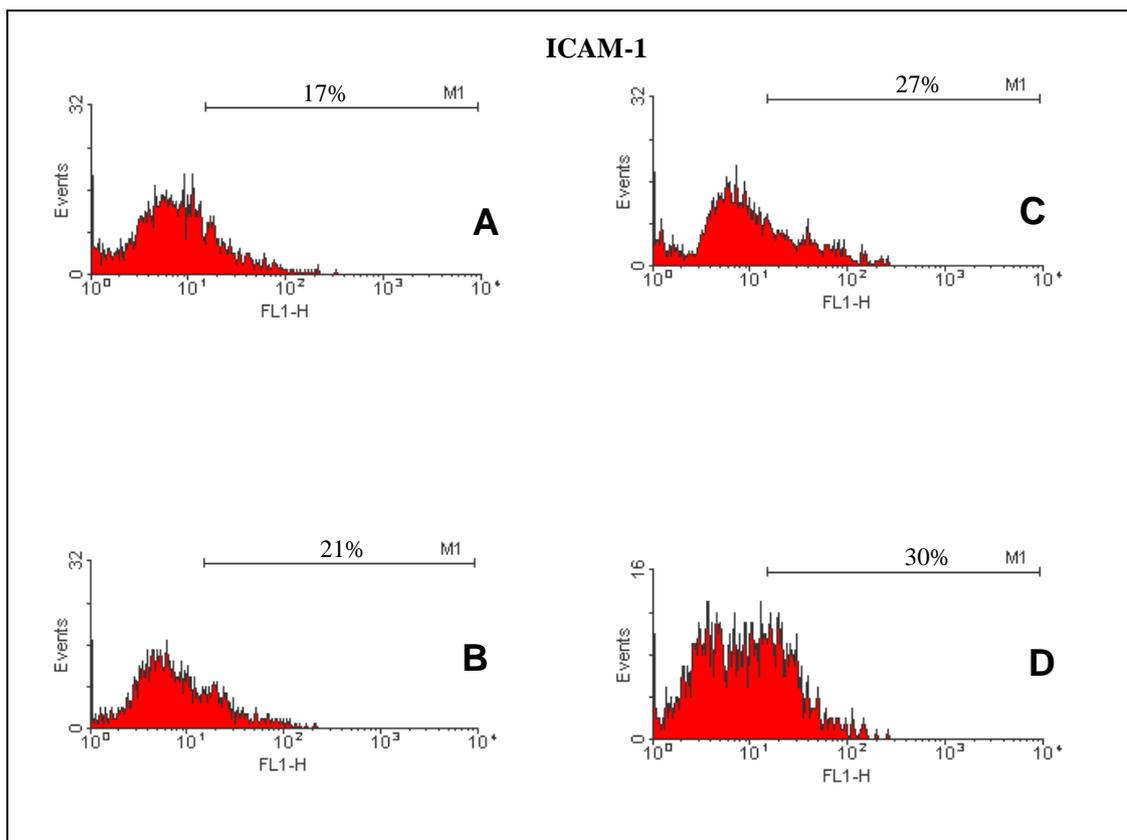
\* mean – интенсивность флуоресценции, в условных единицах (у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами.

Через рецептор CCR5 в моноциты проводятся сигналы от хемокина CCL3, который контролирует миграцию клеток природного и адаптивного иммунного ответа [263]. Если же рецептор CCR5 связывается с хемокином CCL4, то в клетку проходит сигнал активации TGF- $\beta$ , а также инициируется сигнальный путь, регулирующий проницаемость эндотелия сосудов [308]. Хемокины CCL4 также могут перелавать сигнал через рецепторы CCR1. Рецепторы CCR2 проводят сигналы хемокинов CCL2 [154]. Рецепторы CCR2 и CCR5 рассматриваются как маркёры воспаления в тканях [174].

Мононуклеарные клетки крови, которые продуцируют повышенное количество провоспалительных цитокинов IL6, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , также экспрессируют молекулы адгезии ICAM-1, регулирующие взаимодействие моноцитов с клетками эндотелия и миграцию моноцитов в ткани из сосудистого русла. Данные проточной цитометрии по экспрессии рецептора ICAM-1 на клетках представлены на **Рисунке 8**. При нарушении экспрессии рецептора ICAM-1 и его лиганда LFA-1 миграция клеток иммунной системы в ткани может быть существенно снижена, что приводит к снижению защитных функций организма.

Взаимодействие между CX3CL1 и CX3CR1 регулирует инфильтрацию тканей фагоцитами [55]. В сигнальный путь CX3CL1 входят киназы PI3K/AKT; фракталин также регулирует сигналы CX3CL1/ICAM-1/LFA-1, что повышает трансэндотелиальную миграцию путем повышения экспрессии ICAM-1 и проницаемости клеток эндотелия [291].



**Рисунок 8.** Экспрессия молекул адгезии ICAM-1 (CD54) на мононуклеарных клетках крови после абдоминопластики.

*Гистограммы показывают характер распределения клеток, окрашенных антителами к рецепторам ICAM-1, у пациентов с нормальным весом (A), ожирением I степени (B), ожирением II степени (C) и ожирением III степени (D).*

Таким образом, наши исследования моноцитов периферической крови позволили установить различия в экспрессии хемокинов семейства CCL и их рецепторов на клетках пациентов с ожирением и без него, что указывает на участие моноцитов в воспалительной реакции в тканях при ожирении и в развитии осложнений после оперативного вмешательства.

### 3.4. УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АБДОМИНОПЛАСТИКИ

#### 3.4.1. Уровень цитокинов в плазме крови пациентов после абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела и жировой массы тела

Провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-15 и другие играют ведущую роль в развитии воспалительной реакции в жировой ткани, а также в области операционной раны [58, 275]. Уровень провоспалительных цитокинов в крови отражает степень воспалительного процесса в жировой ткани, поэтому мы провели сравнительный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови пациентов с разной массой тела после абдоминопластики. Для исследования нами были выбраны цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-34 и СРБ, которые считаются маркёрами воспалительного процесса в организме [284] и связываются с системной воспалительной реакцией [275].

У мужчин с ожирением на следующий день после абдоминопластики уровень провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-34 в сыворотке крови был достоверно выше ( $P < 0,05$ ) по сравнению с данными пациентов с нормальной массой тела (Таблица 30 [20]). Наши данные согласуются с публикациями, в которых показано повышение уровня TNF- $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови в раннем послеоперационном периоде (в 1-е сутки) [278].

**Таблица 30.**

Концентрация цитокинов в сыворотке крови мужчин после абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела [20]

ЦИТОКИНЫ	ИМТ* 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 22)	ИМТ* 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 36)	P<0,05#
IL-1 $\beta$ , пикограмм/мл	1,18 + 0,21	1,77 + 0,15	+
IL-6, пикограмм/мл	14,48 + 1,34	21,37 + 3,85	+
IL-8, пикограмм/мл	11,21 + 1,11	12,45 + 3,06	-
IL-34, наногамм/мл	0,11 + 0,02	0,24 + 0,05	+
TNF- $\alpha$ , пикограмм/мл	0,86 + 0,11	1,16 + 0,15	+
СРБ, микрограмм/мл	2,21 + 0,53	2,60 + 0,44	-

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

#P<0,05 – достоверное различие между группами сравнения.

(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.51-56).

Значение повышения TNF-α в хирургии определяется его свойством активировать NO-зависимые сигналы в клетках эндотелия, что приводит к повышению уровня ROS и повреждению сосудистой стенки, что является основанием для развития послеоперационных тромбозов [286]. IL-6 регулирует гомеостаз жировой ткани при ожирении, накопление триглицеридов в адипоцитах, поддерживает воспаление и регулирует межклеточные взаимодействия при лимфедеме [102]. В ответ на стресс в жировой ткани повышается секреция TNF-α и IL-6, при этом женщины и мужчины реагируют по-разному в связи с сигналами половых гормонов [113]. Повышение уровня IL-34 в сыворотке крови связано с системным воспалением, его секреция адипоцитами стимулируется TNF-α [90].

У мужчин уровень провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1β, IL-6 и IL-34 в сыворотке крови зависит от уровня жировой массы тела: чем она выше, тем выше уровень цитокинов (P<0,05) (Таблица 31). Зависимость уровня провоспалительных цитокинов сыворотки крови от содержания жировой массы тела более значимая величина, чем зависимость от ИМТ, так как именно количество жировой массы и число адипоцитов, секретирующих гормоны адипокины и провоспалительные цитокины, определяет уровень подострого воспаления в жировой ткани и в организме.

**Таблица 31.**

Концентрация про-воспалительных цитокинов в сыворотке крови мужчин после абдоминопластики в зависимости от количества жировой массы тела

ЦИТОКИНЫ	Жировая масса тела <35 кг	Жировая масса тела ≥36 кг	P<0,05#
IL-1β, пикограмм/мл	1,01 + 0,32	1,89 + 0,24	+
IL-6, пикограмм/мл	12,42 + 1,56	22,71 + 2,94	+
IL-8, пикограмм/мл	11,36 + 1,09	12,88 + 2,31	-
IL-34, нанограмм/мл	0,10 + 0,03	0,23 + 0,05	+
TNF-α, пикограмм/мл	0,82 + 0,17	1,26 + 0,21	+
СРБ, микрограмм/мл	2,13 + 0,62	2,84 + 0,51	-

#P<0,05 – достоверное различие между группами сравнения.

У женщин, как и у мужчин, уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови на следующий день после абдоминопластики зависит от ИМТ и повышен ( $P < 0,05$ ) у пациенток с ожирением по сравнению с пациентками с нормальной массой тела (Таблица 32.).

Таблица 32.

Концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови женщин после абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела

ЦИТОКИНЫ	ИМТ* 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 102)	ИМТ* 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 160)	P<0,05#
IL-1β, пикограмм/мл	1,03 + 0,19	1,61 + 0,17	+
IL-6, пикограмм/мл	12,50 + 1,18	18,29 + 2,11	+
IL-8, пикограмм/мл	9,93 + 1,85	12,01 + 2,26	-
IL-34, нанограмм/мл	0,12 + 0,03	0,25 + 0,07	+
TNF-α, пикограмм/мл	0,72 + 0,21	1,29 + 0,33	+
СРБ, микрограмм/мл	1,37 + 0,62	2,74 + 0,39	-

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

#P<0,05 – достоверное различие между группами сравнения.

Для женщин зависимость уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови от количества жировой массы тела даже более значима, чем для мужчин, повышение в два раза при ожирении показано для IL-1β, IL-6 и IL-34 (Таблица 33).

Таблица 33.

Концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови женщин после абдоминопластики в зависимости от уровня жировой массы тела

Показатели	Жировая масса тела <35 кг	Жировая масса тела ≥36 кг	P<0,05#
IL-1β, пикограмм/мл	09,25 + 0,31	1,90 + 0,27	+
IL-6, пикограмм/мл	11,98 + 2,13	22,96 + 3,14	+
IL-8, пикограмм/мл	11,05 + 2,17	13,24 + 1,99	-
IL-34, нанограмм/мл	0,09 + 0,03	0,24 + 0,06	+
TNF-α, пикограмм/мл	0,80 + 0,21	1,32 + 0,28	+
СРБ, микрограмм/мл	1,95 + 0,92	2,91+ 0,61	-

#P<0,05 – достоверное различие между группами сравнения.

Таким образом, в данном разделе работы показано повышение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови пациентов с ожирением (ИМТ $>30\text{кг/м}^2$ ) по сравнению с пациентами с нормальной массой тела (ИМТ $<25\text{кг/м}^2$ ) после проведения абдоминопластики. Для цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL34 и TNF- $\alpha$  эти различия были статистически достоверны (P $<0,05$ ).

Также показано влияние количества жировой массы тела (в кг) на концентрацию провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Для цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL34 и TNF- $\alpha$  установлено статистически достоверно (P $<0,05$ ) различие между пациентами с нормальным (<35 кг) и повышенным уровнем ( $\geq 36$  кг) жировой массы тела.

Клиническое значение полученных результатов определяется, прежде всего, влиянием провоспалительных цитокинов на область операционной раны, а также повышенным риском развития послеоперационных осложнений (воспалительной реакцией, формированием частичных некрозов операционного шва, послеоперационными тромбозами и т.д.).

Таким образом, в данном разделе работы показано достоверное различие между показателями провоспалительных цитокинов в сыворотке крови людей с нормальной массой тела и больными ожирением, которым проведена абдоминопластика.

### 3.4.2. УРОВЕНЬ ХЕМОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

В **Таблице 34** [13] представлены данные по концентрации хемокинов CCL2 CCL3 и CCL5 в сыворотке крови у мужчин с нормальной массой тела и ожирением на следующий день после абдоминопластики. Для всех исследованных хемокинов показано достоверное повышение концентрации при ожирении (P $<0,05$ ) по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

**Таблица 34.**

Концентрация хемокинов в сыворотке крови мужчин после абдоминопластики в зависимости от индекса массы тела [13]

<b>ХЕМОКИНЫ</b>	<b>ИМТ* 19,8+1,7 кг/м<sup>2</sup>, (n = 22)</b>	<b>ИМТ* 38,3+4,1 кг/м<sup>2</sup>, (n = 36)</b>	<b>P&lt;0,05#</b>
CCL2, пикограмм/мл	161,4 + 9,11	217,3 + 10,08	+
CCL3, пикограмм/мл	8,32 + 1,16	27,54 + 2,35	+
CCL5, пикограмм/мл	205,2 + 11,8	424,5 + 12,22	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

# $P < 0,05$  – достоверное различие между группами сравнения.  
(Копасов А.Е. и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2019. – Т. 167, № 6. – С.682-685).

Далее мы провели сравнительный анализ содержания хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 в сыворотке крови у женщин на следующий день после абдоминопластики в зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Для хемокинов CCL2 и CCL3 установлено достоверное повышение концентрации при ожирении ( $P < 0,05$ ) по сравнению с пациентками с нормальной массой тела (Таблица 35 [13]). Полученные результаты для женщин согласуются с данными других авторов, показавших, что у женщин уровень сывороточного CCL2 положительно коррелирует с ИМТ. Уровень CCL2 достоверно повышается при ожирении, осложнённом метаболическим синдромом [160].

Таблица 35.

Концентрация хемокинов в сыворотке крови женщин после абдоминопластики [13]

ХЕМОКИНЫ	ИМТ 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 102)	ИМТ 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 160)	P<0,05#
CCL2, пикограмм/мл	124,51 + 8,76	182,73 + 7,24	+
CCL3, пикограмм/мл	11,73 + 1,89	24,97 + 2,13	+
CCL5, пикограмм/мл	182,18 + 8,24	225,93 + 9,22	-

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

# $P < 0,05$  – достоверное различие между группами сравнения.  
(Копасов А.Е. и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2019. – Т. 167, № 6. – С.682-685).

Значение измерения уровня хемокинов в крови пациентов определяется способностью хемокинов влиять на миграцию клеток иммунной системы в область операционной раны с последующим развитием воспалительной реакции [205, 309]. Хемокины вызывают лейкоцитарную инфильтрацию жировой ткани, что обуславливает проявление ряда осложнений после операции, ассоциированных с наличием ожирения [118]. Активация некоторых рецепторов хемокинов имеет отношение к развитию послеоперационного болевого синдрома [197].

Хемокин CCL2 определяет миграцию моноцитов в очаг воспаления. Повышение концентрации CCL2 в жировой ткани вызывает приток моноцитов и их терминальную дифференцировку в макрофаги [118]. При ожирении повышение уровня CCL2 в сыворотке крови положительно коррелировало с повышением уровня TNF- $\alpha$  и других провоспалительных цитокинов [72].

Хемокин CCL3 регулирует миграцию клеток иммунной системы и активирует природный и адаптивный иммунный ответ. Сигналы от хемокина CCL3 в клетки проводятся через рецептор CCR5 [263].

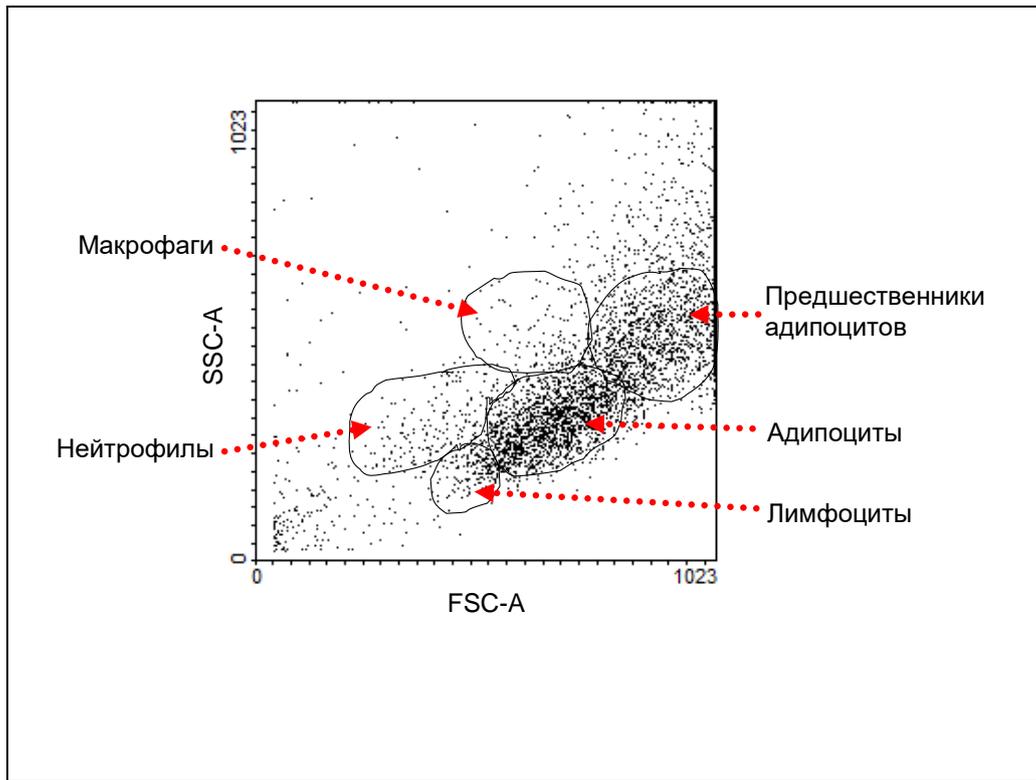
При активации Т-лимфоцитов секретируется хемокин CCL5, который синергично с другими хемокинами усиливает миграцию моноцитов в жировую ткань. CCL5 также продуцируется фибробластами [226], что оказывает влияние на процессы заживления операционной раны.

Значение полученных нами результатов определяется ролью хемокинов в поддержании локального воспаления в тканях, они регулируют уровень сигналов, привлекающих лейкоциты как в жировую ткань, так и в сайт воспаления. У пациентов с ожирением достоверно выше ( $P < 0,05$ ) уровень хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 (у женщин CCL2 и CCL3) в сыворотке крови по сравнению с пациентами без ожирения. В послеоперационном периоде это может отразиться на развитии таких осложнений, как воспаление операционного рубца, удлинение сроков заживления раны, развитие серомы.

### **3.5. ЭКСПРЕССИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ХЕМОКИНОВ И ЦИТОКИНОВ В КЛЕТКАХ ПОДКОЖНО-ЖИРОВОЙ ТКАНИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕ**

#### **3.5.1. Изучение клеток подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при проведении абдоминопластики**

Концентрация хемокинов в сыворотке крови указывает на активность клеток иммунной системы, однако, что происходит в тканях можно понять только при исследовании этих тканей. Поэтому дальнейшая наша работа была направлена на изучение тканей из операционного материала.



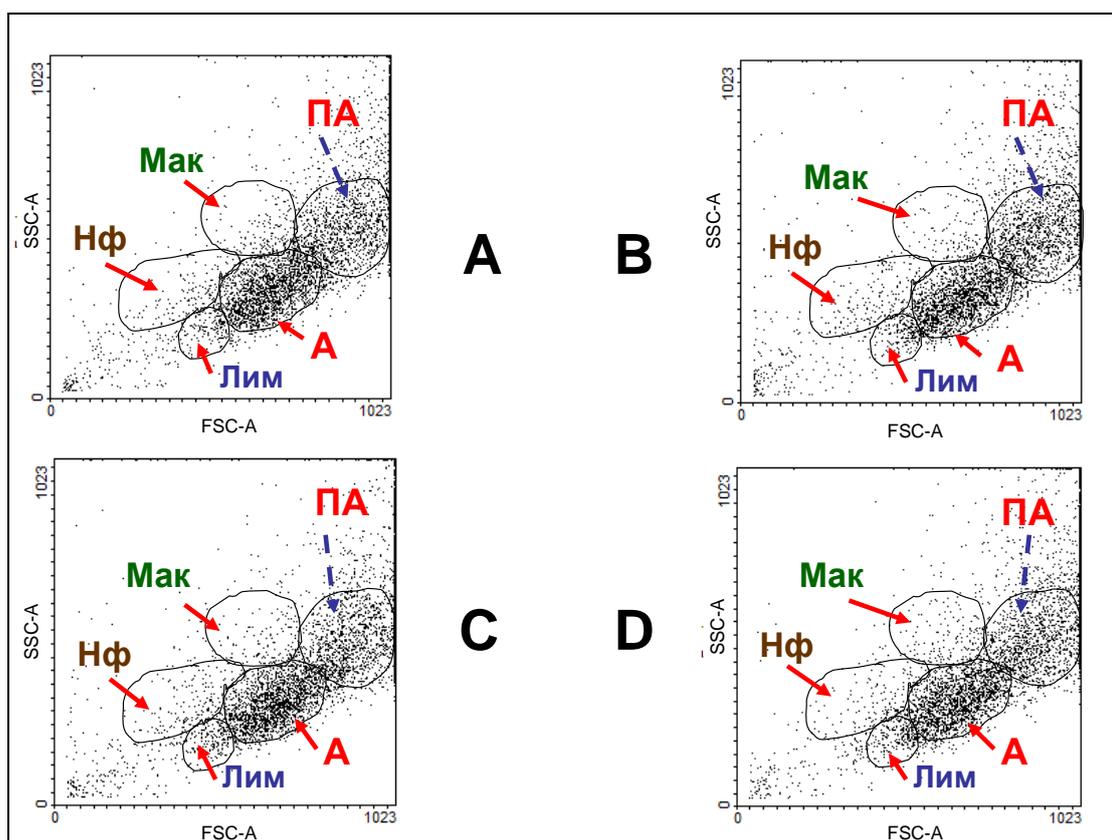
**Рисунок 9.** Распределение популяций клеток, выделенных из образцов операционного материала больных при абдоминопластике (по данным проточной цитометрии) [14].

На рисунке приведены данные пациента. Каждая клетка представлена в системе координат на каналах FSC-A/SSC-A, что даёт представление о физических параметрах клеток, на основании которых они автоматически распределяются по определенным гейтам (окантованы), соответствующим популяциям клеток.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Из образцов подкожно-жировой ткани, полученных при проведении абдоминопластики, были выделены жизнеспособные клетки, которые были проанализированы на проточном цитометре. На **Рисунке 9** [14] приведен пример распределения клеток на каналах FSC/SSC, выделенных из операционного материала. Основная часть клеток представлена зрелыми адипоцитами и пре-адипоцитами, другие популяции клеток – лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы, составляли меньшинство [75].

Следующим шагом была идентификация популяций клеток по экспрессии рецепторов, которые были окрашены антителами, специфическими к данным рецепторам: так, адипоциты были идентифицированы по экспрессии онкостатина М (anti-OSTM), пре-адипоциты – по рецепторам CD29, эпителиальные клетки – по наличию рецепторов эфрина (anti-Eph-R), нейтрофилы – по CD66b, лимфоциты – по CD3, макрофаги – по F4/80. В процентном соотношении число адипоцитов, их предшественников и клеток иммунной системы различалось в зависимости от наличия ожирения и степени его выраженности (**Рисунок 10** [14]).



**Рисунок 10.** Примеры распределения клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани пациентов при проведения абдоминопластики, в зависимости от ожирения [14].

Приведены данные проточной цитометрии клеток пациентов с нормальной массой тела (А), избыточным весом (В), ожирением I степени (С) и ожирением II степени (D). Предшественники адипоцитов (ПА), адипоциты (А), лимфоциты (Лим), нейтрофилы (Нф) и макрофаги (Мак) распределены по гейтам в зависимости от физических параметров клеток, проанализированных на каналах FSC-A/SSC-A. Соотношение разных популяций клеток у пациентов с нормальной массой тела и ожирением различается. (Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Частоту популяций клеток в образцах операционного материала определяли как часть от всех выделенных из подкожно-жировой ткани клеток, принятых за 100%; данные представлены в **Таблице 36** [14]. Показано достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение числа макрофагов и нейтрофилов в образцах операционного материала больных с ожирением II и III степени по сравнению с пациентами с нормальной массой тела. Установлена тенденция ( $P > 0,05$ ) к повышению процента предшественников адипоцитов у больных ожирением по сравнению с лицами нормальной массой тела. Предшественники адипоцитов различаются экспрессией генов и синтезом цитокинов. С возрастом предшественники адипоцитов снижают свои репаративные способности, что подчеркивает возрастные изменения метаболизма жировой ткани [202].

Таблица 36.

Данные проточной цитометрии по относительному содержанию основных популяций клеток, выделенных из подкожно-жировой ткани (ПЖТ) при абдоминопластике [14].

Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	Процент основных популяций клеток, выделенных из ПЖТ##				
	адипоциты	предшественники адипоцитов	лимфоциты	макрофаги	нейтрофилы
<24 (норма)	64 ± 3%	19 ± 5%	4 ± 2%	2 ± 1%	1 ± 4%
>25#	63 ± 3%	21 ± 4%	3 ± 2%	3 ± 2%	1 ± 4%
>30 (I)*	62 ± 3%	22 ± 5%	3 ± 2%	5 ± 3%	4 ± 4%
>35 (II)*	59 ± 2%	25 ± 3%	2 ± 1%	6 ± 2%##	6 ± 3%##
>40 (III)***	56 ± 4%##	26 ± 2%	2 ± 1%	7 ± 2%##	6 ± 2%##

#- избыточный вес, \*- I степень ожирения, \*\*- II степень ожирения, \*\*\*- III степень ожирения;

## P<0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Зрелые адипоциты секретируют гормоны (лептин, адипонектин и другие), которые определяют метаболизм жировой ткани и регулируют межклеточные взаимодействия. Известно, что при ожирении снижена экспрессия адипонектина зрелыми адипоцитами. Адипоциты, выделенные из тканей женщин с ожирением и с нормальной массой тела, различаются по своей активности в отношении клеток эндотелия [73]. Эти данные указывают на количественные и качественные различия между зрелыми адипоцитами и их предшественниками в жировой ткани лиц с нормальной массой тела и ожирением. Преадипоциты и адипоциты секретируют биологически активные пептиды и другие медиаторы [217], а также влияют на резидентные клетки иммунной системы.

Повышение числа макрофагов в жировой ткани прямо влияет на развитие хронического воспаления при ожирении, так как продуцируемые макрофагами белки обладают выраженным провоспалительным действием. Кроме того, макрофаги регулирует повышение проницаемости эндотелия сосудов за счет секреции хемокина CCL4 и активации им рецептора CCR5 [308].

Белки, секретируемые клетками жировой ткани, имеют отношение к процессу заживления ран, поэтому уровень их экспрессии определяет длительность периода заживления шва и состояние рубца после операции.

Нейтрофилы играют важную роль в поддержании воспаления в жировой ткани [237]. При затяжном течении воспалительного процесса в послеоперационном периоде секреция протеолитических ферментов нейтрофилами повышает риск развития таких осложнений, как некроз кожи и подкожно-жировой клетчатки, причём, чем выше ИМТ, тем вероятнее риск развития некроза мягких тканей [224]. Персистирующие нейтрофилы повышают риск развития тромбоза вен после операции [183].

Таким образом, нами были установлены изменения в составе клеток подкожно-жировой ткани при нормальной массе тела и ожирении, которые имели статистически значимые различия при ожирении II и III степени.

### **3.5.2. Определение экспрессии хемокинов клетками подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике**

Следующим этапом данной диссертационной работы было изучение экспрессии хемокинов клетками, выделенными из операционного материала. Клетки были зафиксированы, пермеабелизованы и окрашены соответствующими антителами. При проточной цитометрии выделялся гейт, соответствующий популяции клеток по экспрессии рецепторов, затем измерялась интенсивность флуоресценции (mean), соответствующая экспрессии изучаемого внутриклеточного белка.

Для хемокинов семейства CCL при ожирении показано достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение экспрессии в клетках по сравнению с нормальной массой тела (**Таблица 37** [14]). При ожирении II и III степени показатели хемокинов в полтора-два раза превышали данные для пациентов с нормальной массой тела.

Повышение концентрации CCL2 в жировой ткани влияет на функциональную активность адипоцитов [118]. Секреция хемокина CCL2 адипоцитами достоверно повышается при контакте с макрофагами, продуцирующими TNF- $\alpha$  [49]. На ранних стадиях ожирения CCL2 способствует увеличению числа макрофагов в жировой ткани за счёт их активной пролиферации [164].

**Таблица 37.**

Данные проточной цитометрии по интенсивности флуоресценции (mean, в условных единицах, у.е.) хемокинов семейства CC в клетках, выделенных из подкожно-жировой ткани пациентов при абдоминопластике, в зависимости от индекса массы тела [14]

Хемокины	Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )				
	<24 ## (n=70)	>25### (n=32)	>30 (I)* (n=40)	>35 (II)** (n=52)	>40 (III)*** (n=68)
CCL2, у.е.	82 ± 3	86 ± 4	141 ± 6 #	201 ± 13 #	232 ± 8 #
CCL3, у.е.	114 ± 6	119 ± 7	131 ± 5 #	189 ± 7 #	198 ± 11 #
CCL3L1, у.е.	104 ± 7	116 ± 8	141 ± 4 #	149 ± 46 #	152 ± 6 #
CCL4L1, у.е.	139 ± 4	146 ± 3	149 ± 5 #	155 ± 7 #	169 ± 6 #
CCL4, у.е.	67 ± 8	70 ± 5	84 ± 7 #	133 ± 6 #	181 ± 5 #
CCL5, у.е.	93 ± 4	98 ± 4	112 ± 9 #	148 ± 8 #	163 ± 5 #
CCL6, у.е.	34 ± 5	36 ± 4	41 ± 5	53 ± 8 #	56 ± 7 #
CCL18, у.е.	54 ± 2	61 ± 3 #	91 ± 3 #	124 ± 4 #	122 ± 6 #
CCL20, у.е.	109 ± 2	116 ± 3 #	144 ± 2 #	171 ± 5 #	236 ± 8 #

##- норма, ###- избыточный вес, \*- I степень ожирения, \*\*- II степень ожирения,

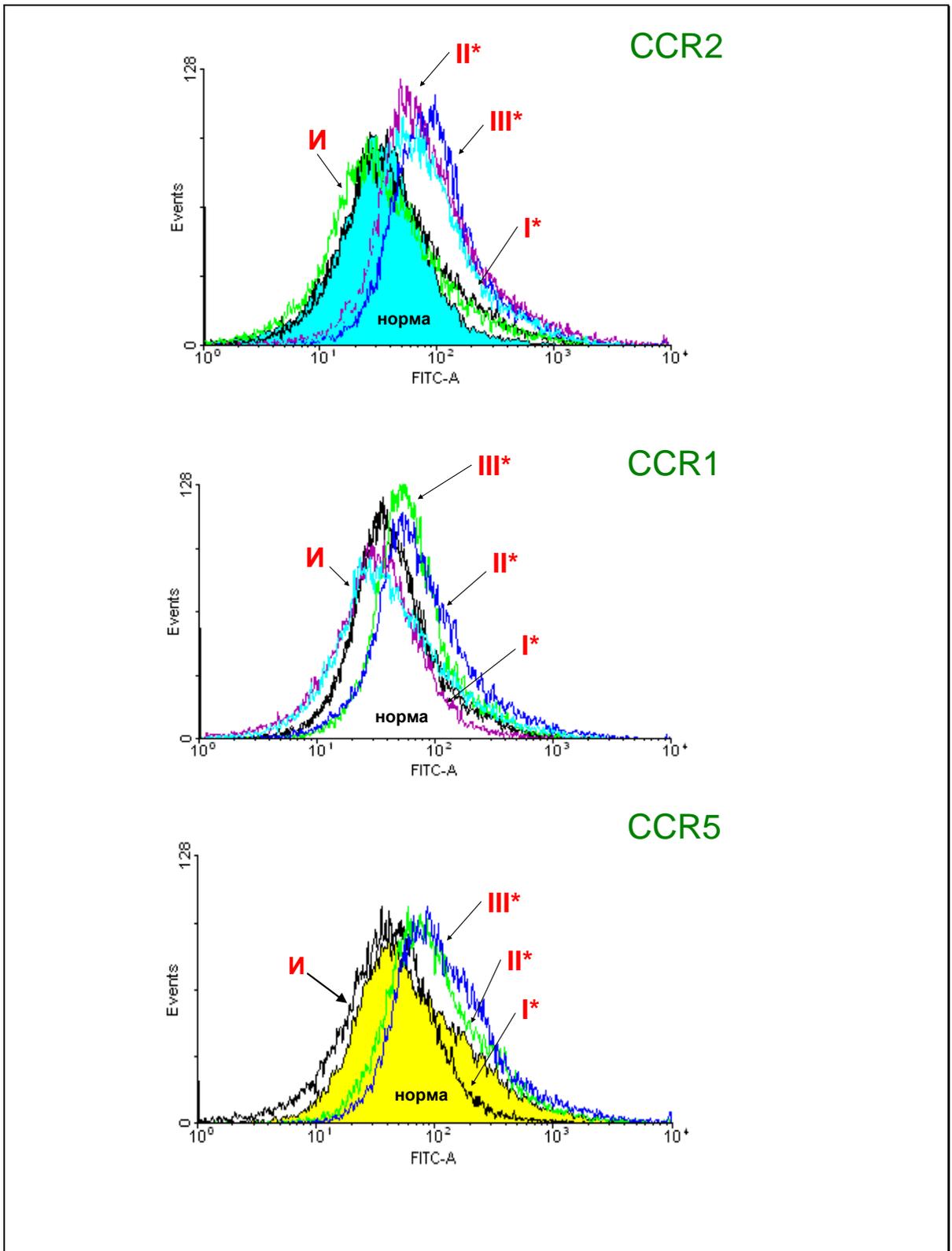
\*\*\*- III степень ожирения; # P<0,05 – достоверные различия по сравнению с нормальной массой тела.

(Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Хемокин CCL3 регулирует миграцию Т-лимфоцитов в очаг воспаления в ткани [175]. Хемокин CCL4 способствует повышению проницаемости эндотелиального барьера и повышению адгезии моноцитов [308]. CCL4 и CCL5 повышают миграцию Т-лимфоцитов из кровяного русла в ткани и повышают Т-клеточную цитотоксичность [317]. Хемокин CCL5 усиливает миграцию моноцитов в ткани [226].

Хемокин CCL18 экспрессируется макрофагами и является маркёром нарушения метаболизма в жировой ткани [124]. Хемокин CCL20 также участвует в воспалительной реакции в тканях, при распознавании его рецептором CCR6 на нейтрофилах активируются сигнальные пути провоспалительных цитокинов [80].

Далее мы приводим данные проточной цитометрии по экспрессии рецепторов хемокинов CCR1, CCR2 и CCR5 на клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике (**Рисунок 11** [14]). При ожирении экспрессия данных рецепторов повышена по сравнению с нормальной массой тела, на что указывает смещение пика гистограммы вправо, что соответствует повышению интенсивности флуоресценции рецепторов на клетках. Числовые значения экспрессии данных рецепторов представлены в **Таблице 38** [14]).



**Рисунок 11.** Экспрессия рецепторов хемокинов на клетках подкожно-жировой ткани (по данным проточной цитометрии) [14]. Гистограммы отражают интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных антителами к рецепторам хемокинов CCR2, CCR1, CCR5. По оси абсцисс отложен логарифм интенсивности флуоресценции клеток на канале FL1-A. Ось ординат соответствует проценту клеток, экспрессирующих данные рецепторы. **И** – гистограмма клеток пациента с избыточной массой тела, **I\***, **II\***, **III\*** - степени ожирения, **норма** – гистограмма пациента с нормальной массой тела. (Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78).

Таблица 38.

Экспрессия рецепторов хемокинов на клетках подкожно-жировой ткани в зависимости от индекса массы тела (по данным проточной цитометрии) [14]

Рецепторы	Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )				
	<24 ## (n=70)	>25### (n=32)	>30 (I)* (n=40)	>35 (II)** (n=52)	>40 (III)*** (n=68)
CCR1, %	12 ± 4 %	13 ± 3 %	18 ± 3 %#	25 ± 4 %#	31 ± 3 %#
CCR1, mean*	76 ± 2 у.е.	70 ± 3 у.е.	73 ± 3 у.е.	85 ± 2 у.е.#	90 ± 2 у.е.#
CCR2, %	32 ± 2 %	38 ± 5 %	40 ± 4 %#	43 ± 3 %#	45 ± 3 %#
CCR2, mean	32 ± 2 у.е.	31 ± 2 у.е.	83 ± 4 у.е.#	94 ± 3 у.е.#	114 ± 2 у.е.#
CCR5, %	34 ± 2 %	37 ± 3 %	39 ± 5 %	47 ± 4 %#	49 ± 5 %#
CCR5, mean	82 ± 3 у.е.	81 ± 3 у.е.	83 ± 5 у.е.	119 ± 2 у.е.#	124 ± 3 у.е.#

##- норма, ###- избыточный вес, \*- I степень ожирения, \*\*- II степень ожирения, \*\*\*- III степень ожирения; # P<0,05 – достоверные различия по сравнению с нормальной массой тела.

Копасов А.Е. и др. // Патогенез. – 2017. – Т.15, №3. – С.70-78.

Рецепторы CCR1 распознают хемокины CCL4. Рецепторы CCR2 проводят сигналы хемокинов CCL2, что регулирует миграцию клеток, секретирующих IL-17, в частности, Th17 [154]. Рецепторы CCR5 проводят сигналы хемокинов CCL3, что регулирует миграцию Т-лимфоцитов в ткани [47].

При связывании рецепторов CCR5 с хемокинами CCL5 повышается миграция γδТ клеток из периферической крови в ткани [317]. При ожирении в подкожно-жировой ткани повышены уровни хемокинов CCL2, CCL5, CCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, а также их рецепторов CCR1, CCR2, CCR5 [270]. Хемокин CXCL13 распознается рецепторами CCR1 и CCR2 на активированных Т-лимфоцитах. Экспрессия хемокинового гена *CCL19* положительно коррелирует с уровнем рецепторов CCR2 и CCR5, которые рассматриваются как маркёры воспаления в подкожно-жировой ткани, [174].

Таким образом, в нашей работе обнаружен более высокий уровень экспрессии рецепторов CCR2, CCR1, CCR5 хемокинов на клетках подкожно-жировой ткани при ожирении по сравнению с клетками лиц с нормальной массой тела. Это согласуется с нашими данными по экспрессии самих хемокинов, ассоциированных с моноцитами, а также с более высоким процентом тканевых макрофагов в подкожно-жировой ткани пациентов с ожирением по сравнению с лицами с нормальной массой тела [14].

### 3.5.3. Экспрессия рецепторов цитокинов клетками подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике

В жировой ткани провоспалительные цитокины секретируются адипоцитами, макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами и другими клетками. При связывании рецепторов на клетках с цитокинами инициируются сигнальные пути, которые приводят к синтезу специфических белков и изменению функциональной активности клетки.

Полученные нами результаты измерения экспрессии рецепторов цитокинов на клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике, указывают на достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение экспрессии рецепторов TNF-R1 и TNF-R2, IL-6-R и IL-1 $\beta$ -R на клетках пациентов со II и III степенями ожирения (Таблица 39).

Таблица 39.

Данные проточной цитометрии по экспрессии рецепторов цитокинов на клетках, выделенных из операционного материала при абдоминопластике

Цитокины	Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )				
	<24 ## (n=70)	>25### (n=32)	>30 (I)* (n=40)	>35 (II)** (n=52)	>40 (III)*** (n=68)
TNF-R1	36 ± 3 %	36 ± 4 %	42 ± 3 %	55 ± 4 %#	57 ± 6 %#
TNF-R2	12 ± 2 %	11 ± 3 %	13 ± 2 %	19 ± 3 %#	24 ± 5 %#
TGF-R	11 ± 4 %	8 ± 5 %	10 ± 4 %	13 ± 6 %	14 ± 5 %
IFN- $\gamma$ -R	26 ± 5 %	28 ± 4 %	22 ± 7 %	28 ± 8 %	26 ± 5 %
IL-1 $\beta$ -R	14 ± 2 %	13 ± 3 %	19 ± 5 %#	21 ± 4 %#	27 ± 5 %#
IL-6-R	19 ± 2 %	23 ± 1 %#	24 ± 2 %#	30 ± 3 %#	34 ± 5 %#

##- норма, ###- избыточный вес, \*- I степень ожирения, \*\*- II степень ожирения, \*\*\*- III степень ожирения; #  $P < 0,05$  – достоверные различия по сравнению с нормальной массой тела.

Сигнальные пути, активированные при связывании цитокинов с их специфическими рецепторами, регулируют физиологические и патологические процессы в организме. Так, IL-1 $\beta$  является вторичным мессенджером сигнальных путей апоптоза и активирует эффекторные каспазы. В ответ на IL-1 $\beta$  и IFN- $\gamma$  изменяется транскрипционный контроль экспрессии генов *Cxcl9*, *Cxcl10*, *Cxcl11* хемокинов и уровни экспрессии самих хемокинов CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [79]. IL-1 $\beta$  стимулирует повышение экспрессии мРНК хемокина CXCL10 в 900 раз [51].

Секреция TNF- $\alpha$  достоверно повышается в период активной пролиферации макрофагов на ранних стадиях ожирения, затем постепенно снижается по мере увеличения объема жировой ткани [319]. Под воздействием TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  ускоряется синтез хемокинов в кератиноцитах [180]. TNF- $\alpha$  стимулирует секрецию хемокина CXCL8 кератиноцитами кожи через активацию сигнального пути киназы mTOR [242]. TNF-R1 проводит провоспалительные и про-апоптозные сигналы в нейтрофилах, а также сигналы, сопряженные с повышением активности хемокина CXCL1 и миграцией нейтрофилов в жировую ткань [272]. Рецептор TNF-R2 имеет органозависимую экспрессию, что определяет его ограниченные функциональные свойства. При связывании TNF- $\alpha$  с рецептором TNF-R2 инициируются сигнальные пути модуляции иммунного ответа и регенерации тканей [307].

Таким образом, изменение концентрации цитокинов и хемокинов в жировой ткани взаимосвязаны, и они участвуют в развитии хронического воспаления у пациентов с ожирением.

### **3.6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ХЕМОКИНОВ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ КОЖИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕ**

Поскольку ранее нами была определена экспрессия хемокинов в клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике, то логичным продолжением работы является определение экспрессии хемокинов в клетках кожи. Хемокины клеток кожи участвуют в заживлении ран, в формировании рубцов, регулируют межклеточные взаимодействия и воспаление в коже. Поэтому мы провели сравнительный анализ экспрессии хемокинов, ассоциированных с клетками кожи, выделенных из операционного материала у пациентов с нормальной массой тела и ожирением при проведении абдоминопластики.

В **Таблице 40** [15] приведены результаты измерения экспрессии хемокинов семейства CXCL, секретируемых клетками кожи, в зависимости от массы тела. Уровни хемокинов CXCL8, CXCL9, CXCL10 и CXCL13 достоверно выше ( $P < 0,05$ ) при ожирении по сравнению с показателями пациентов с нормальной массой тела. Для хемокина CXCL4 не показано достоверных различий между группами сравнения ( $P > 0,05$ ).

Таблица 40.

Экспрессия хемокинов семейства CXCL по интенсивности внутриклеточной флуоресценции (mean, в условных единицах, у.е.) в клетках кожи, выделенных при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением (по данным проточной цитометрии) [15]

ХЕМОКИНЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P<0,05#
CXCL8, mean**, у.е.	81 ± 4 у.е.	142 ± 5 у.е.	+
CXCL9, mean**, у.е.	79 ± 4 у.е.	136 ± 5 у.е.	+
CXCL10, mean**, у.е.	62 ± 5 у.е.	113 ± 3 у.е.	+
CXCL13, mean**, у.е.	84 ± 4 у.е.	139 ± 6 у.е.	+
CXCL14, mean**, у.е.	109 ± 5 у.е.	101 ± 5 у.е.	-

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах – у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами сравнения.

(Копасов А.Е. и др. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.47-53).

Кератиноциты продуцируют хемокины CXCL1, CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL14 [134]. Секретция CXCL8, CXCL9 и CXCL10 стимулируется про-воспалительными цитокинами, что указывает на их участие в воспалении кожи и объясняет их повышение при ожирении [180]. CXCL8 стимулирует хемотаксис нейтрофилов в рану, что может приводить к задержке в заживлении раны [251]. CXCL8 играет роль в повреждении кератиноцитов при растяжении кожи [134]. Фибробласты дермы секретируют CXCL8 и CXCL13, которые имеют отношение к развитию фиброза тканей [195]. Под воздействием IFN-γ Т-лимфоциты индуцируют синтез CXCL9 и CXCL10 в кератиноцитах, что, в свою очередь, способствует миграции Т-клеток в кожу [141].

При ожирении уровень хемокина CXCL13 в клетках кожи достоверно повышен (P<0,05) (Таблица 40 [15]), что согласуется с литературными данными по его участию в воспалении кожи. Повышение уровня CXCL13 в плазме крови положительно коррелирует с воспалением кожи [277]. CXCL13 также секретируется макрофагами и клетками эндотелия мелких сосудов кожи, он регулирует активность В-клеток, фолликулярных Т-клеток, регуляторных Т-клеток и Th17.

CXCL14 работает как хемоаттрактант для активированных макрофагов, незрелых дендритных клеток и NK клеток [83]. CXCL14 может играть роль в нарушении васкуляризации в коже [132].

Далее представлены данные по экспрессии хемокинов семейства CCL в клетках кожи, изолированных из операционного материала при абдоминопластике, в зависимости от массы тела пациентов (Таблица 41 [15]).

Таблица 41.

Экспрессия хемокинов семейства CCL по интенсивности внутриклеточной флуоресценции (mean, в условных единицах, у.е.) в клетках кожи, выделенных при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением (по данным проточной цитометрии) [15]

ХЕМОКИНЫ	ИМТ 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P<0,05#
CCL17, mean*, у.е.	101 ± 3 у.е.	92 ± 2 у.е.	+
CCL22, mean*, у.е.	106 ± 4 у.е.	90 ± 5 у.е.	+
CCL24, mean*, у.е.	79 ± 3 у.е.	123 ± 4 у.е.	+
CCL27, mean*, у.е.	84 ± 3 у.е.	118 ± 3 у.е.	+
CCL28, mean*, у.е.	102 ± 5 у.е.	87 ± 5 у.е.	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

\*\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах – у.е.);

#P<0,05 – достоверные различия между группами сравнения.

(Копасов А.Е. и др. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.47-53).

Экспрессия CCL17, CCL22 и CCL28 в клетках коже несколько снижена при ожирении (P<0,05), что может указывать на наличие проблем с операционной раной при повышении жировой массы, так как эти хемокины участвуют в реэпителизации раны [94, 295]. Экспрессия хемокинов CCL24 и CCL27 при ожирении достоверно повышена (P<0,05), что согласуется с данными по их участию в миграции Т-клеток в кожу [198].

Хемокины CCL17, CCL20, CCL22, CCL24, CCL27, CCL28 продуцируются кератиноцитами [198]. Фибробласты дермы продуцируют CCL20, CCL24, CCL27, которые регулируют процессы активации и фиброобразования тканей [195]. CCL24 также продуцируется клетками эндотелия. CCL24 и CCL27 регулируют процессы активации фибробластов и развитие фиброза кожи [220].

Скорейшему заживлению ран способствует отложение белков ECM и реэпителизация раны, что обеспечивается высоким уровнем хемокинов CCL17 и CCL22 в коже, продуцируемых поляризованными M2 макрофагами [295]. Заживление ран также регулирует сигнальный путь CCL28/CCR10. Снижение уровня CCL28 ассоциировано с ускорением заживления ран, так как прерывается активированный этим хемокином

сигнальный путь через рецепторы CCR10 и их взаимодействие с эндотелиальной NO-синтазой [94].

Данные по экспрессии рецепторов хемокинов на клетках кожи представлены в **Таблице 42** [15]. Показано достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение уровня рецепторов CXCR3 и CCR10 при ожирении. Это согласуется с тем, что они связывают хемокины, участвующие в воспалении кожи [198]. У больных ожирением не было достоверного повышения уровня рецепторов CCR3 и CXCR4, однако, у 5% больных ожирением уровень экспрессии этих рецепторов превышал норму в 2 раза.

**Таблица 42.**

Данные проточной цитометрии по экспрессии рецепторов хемокинов на клетках кожи у пациентов с нормальной массой тела и ожирением после абдоминопластики [15]

РЕЦЕПТОРЫ	ИМТ* 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ* 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P<0,05#
CXCR3, %	32 ± 3%	56 ± 4%	+
CXCR4, %	19 ± 1%	22 ± 3%	-
CCR3, %	27 ± 2%	29 ± 3%	-
CCR10, %	25 ± 3%	44 ± 2%	+

\*ИМТ – индекс массы тела, кг/м<sup>2</sup>;

# P<0,05 – достоверные различия между группами сравнения.

(Копасов А.Е. и др. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.47-53).

Инфильтрирующие кожу лимфоциты экспрессируют рецепторы CXCR3, которые распознают хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11; они нарушают пролиферацию кератиноцитов и их дифференцировку в корнеоциты [141]. Рецепторы CCR3 и CXCR4 экспрессируются на лимфоцитах и инициируют сигнальные пути, принимающие участие в развитии фиброза кожи [220]. За счет взаимодействия с рецепторами CCR10 на лимфоцитах хемокины CCL27 регулируют хоминг Т-клеток в кожу [198]. Сигнальный путь от рецептора CCR10 при связывании CCL28 регулирует заживление ран [94].

Таким образом, в данной главе показано, что

1) в коже пациентов с ожирением повышен процент клеток, экспрессирующих рецепторы CXCR3 и CCR10, которые регулируют секрецию хемокинов кератиноцитами и фибробластами кожи;

2) в клетках кожи пациентов с ожирением повышена экспрессия хемокинов CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL13, имеющих отношение в развитию и поддержанию воспаления в коже;

3) у пациентов с ожирением снижен уровень экспрессии хемокинов CCL17, CCL22, CCL28 и повышен уровень экспрессии хемокинов CCL24 и CCL27 в клетках кожи, что указывает на нарушение хемокиновой регуляции при ожирении и является основой для развития осложнений после абдоминопластики.

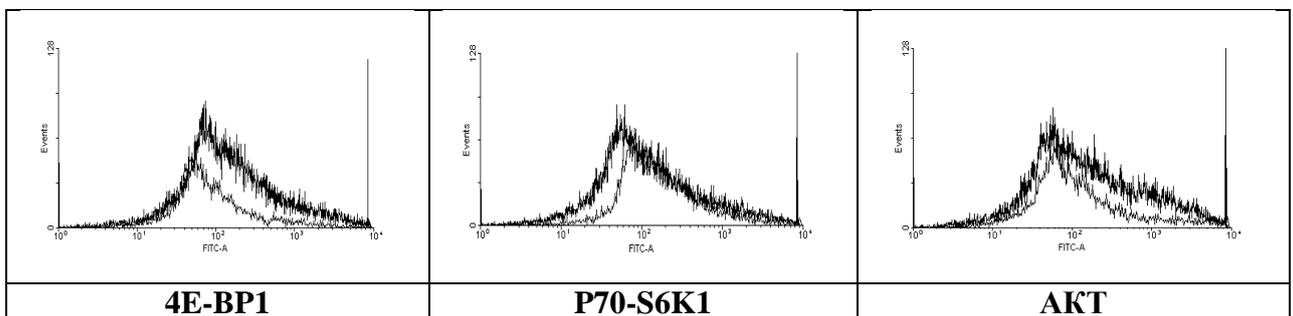
### 3.7. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК КОЖИ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ АБДОМИНОПЛАСТИКЕЗ.

#### 3.7.1. Киназа mTOR и ассоциированные белки в клетках кожи

Следующим этапом работы было изучение экспрессии киназы mTOR на клетках кожи, выделенных из операционного материала. Этот раздел работы появился в связи с данными литературы о сопряжении сигнальных путей хемокинов с киназой mTOR.

Данные, касающиеся киназы mTOR, важны для понимания процессов, происходящих в коже при операции абдоминопластики, особенно при наличии ожирения. Подострое воспаление в жировой ткани при ожирении сопряжено с активацией сигнальных путей mTORC1 [241]. Ингибирование киназы mTOR нарушает поляризацию M2 макрофагов и повышает поляризацию их в M1 фенотип, что отражается на воспалительных процессах в тканях [171].

В сигнальные пути комплекса mTORC1 входят, в частности, вторичные мессенджеры, передающие сигналы для синтеза белка – 4E-BP1 и рибосомальная киназа p70-S6K1. На **Рисунке 12** [28] представлены данные проточной цитометрии пациентов, у которых измеряли интенсивность флуоресценции внутриклеточных сигнальных белков АКТ, 4E-BP1 и p70-S6K1. При ожирении (гистограммы с жирной линией) экспрессия указанных выше белков повышается по сравнению с данными пациентов с нормальной массой тела (тонкие линии).



**Рисунок III.7.1.1.** Данные проточной цитометрии по экспрессии внутриклеточных белков, ассоциированных с киназой mTOR, в клетках кожи пациентов после абдоминопластики [28].

*Тонкая линия обозначает гистограмму пациента с нормальной массой тела, жирная линия обозначает гистограмму пациента с ожирением.*

*(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).*

Таблица 43.

Экспрессия белков, связанных с киназой mTOR, (по интенсивности флуоресценции (mean) в условных единицах, у.е.) в суспензии клеток кожи, выделенных из операционного материала при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением (по данным проточной цитометрии) [28]

БЕЛКИ	Интенсивность флуоресценции белков, mean** (у.е.)		
	ИМТ* 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ* 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P < 0,05#
Киназа mTOR	132 ± 5 у.е	138 ± 7 у.е.	-
Raptor	119 ± 3 у.е	130 ± 4 у.е.,	+
Rictor	124 ± 6 у.е	129 ± 5 у.е.	-
4E-BP1	80 ± 2 у.е	94 ± 3 у.е	+
p70-S6K1	99 ± 4 у.е	104 ± 3 у.е	-
АКТ	85 ± 2 у.е	98 ± 2 у.е	+

\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

#P<0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).

В **Таблице 43** [28] представлены данные проточной цитометрии по интенсивности флуоресценции белков mTOR, Raptor, Rictor, 4E-BP1, рибосомальной киназы p70-S6K1 и киназы АКТ в суспензии клеток кожи, выделенных из операционного материала при абдоминопластике. Экспрессия белков Raptor, 4E-BP1 и АКТ выше при ожирении, чем у пациентов с нормальной массой тела (P<0,05); экспрессия основного белка комплекса mTORC2 – Rictor, практически не изменена (P>0,05).

Представленные результаты указывают на повышение активности комплекса mTORC1 при ожирении. Киназа АКТ может быть ассоциирована как с mTORC1, для которого она является предшествующим мессенджером, так и с mTORC2, при котором она работает как вторичный мессенджер. Наши данные указывают на участие киназы АКТ в изменении метаболизма клеток кожи при ожирении.

Чтобы определить активацию сигнальных белков киназы mTOR, выделенные клетки кожи окрашивали антителами к фосфорилированным белкам (p): (p)-mTOR, (p)-Raptor, (p)-Rictor, (p)-p70-S6K1, (p)-4E-BP1 и (p)-АКТ (**Таблица 44** [28]).

Таблица 44.

Уровень фосфорилированных белков, ассоциированных с киназой mTOR (по интенсивности внутриклеточной флуоресценции (mean) в условных единицах, у.е.), в клетках кожи, выделенных из операционного материала при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением [28]

Интенсивность флуоресценции белков, mean* (у.е.)	ИМТ 19,8±1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3±4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P < 0,05#
(p)**-mTOR	171 ± 5 у.е	248 ± 7 у.е.	+
(p)-Raptor	156 ± 3 у.е	181 ± 5 у.е.	+
(p)-Rictor	139 ± 4 у.е	146 ± 6 у.е.	-
(p)-4E-BP1	169 ± 5 у.е	214 ± 4 у.е.	+
(p)- p70-S6K1	152 ± 4 у.е	233 ± 7 у.е.	+
(p)-АКТ	168 ± 9 у.е	213 ± 5 у.е.	+

\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

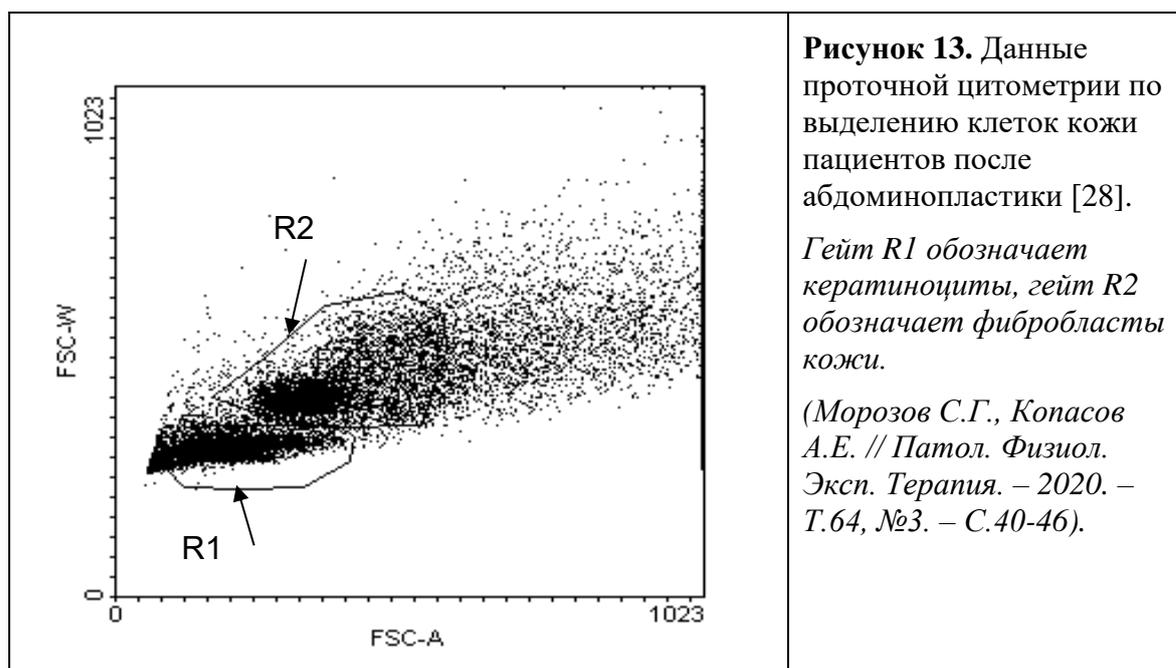
\*\**(p)* – фосфорилированные белки,

# P < 0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).

Было показано, что экспрессия активированных белков (p)-mTOR, (p)-Raptor, (p)-p70-S6K1, (p)-4E-BP1 и (p)-АКТ достоверно повышена в клетках кожи пациентов с ожирением (P < 0,05). Это указывает на повышенную активность комплекса mTORC1 и активацию синтеза белка в клетках кожи при ожирении.

В выделенных клетках кожи из образцов операционного материала при анализе на проточном цитометре были идентифицированы кератиноциты и фибробласты. На **Рисунке 13** [28] приведен пример данных проточной цитометрии по распределению клеток кожи, выделенных из образца, полученного при абдоминопластике. В данной системе координат можно разделить клетки с близкими физическими параметрами.



**Рисунок 13.** Данные проточной цитометрии по выделению клеток кожи пациентов после абдоминопластики [28].

*Гейт R1 обозначает кератиноциты, гейт R2 обозначает фибробласты кожи.*

*(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).*

Были определены уровни экспрессии сигнальных белков киназы mTOR в отдельных популяциях клеток кожи. Данные для кератиноцитов представлены в **Таблице 45** [28]. Далее мы определили уровень экспрессии фосфорилированных белков в фибробластах кожи (**Таблица 46**[28]).

Представленные данные указывают на различия в активности белков, ассоциированных с киназой mTOR, в кератиноцитах и в фибробластах, но во всех типах клеток показано достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение уровня фосфорилированных белков, что указывает на их повышенную активацию у пациентов с ожирением по сравнению с пациентами с нормальной массой тела. По данным литературы активация комплекса mTORC1 в фибробластах повышается при заживлении ран [156]. Оба комплекса – mTORC1 и mTORC2, регулируют морфогенез кожи и формирование эпидермального барьера [114], поэтому активация киназы mTOR и ассоциированных белков отражает процессы заживления раны после операции.

Таблица 45.

Уровень фосфорилированных белков, ассоциированных с киназой mTOR (по интенсивности внутриклеточной флуоресценции (mean) в условных единицах, у.е.), в *кератиноцитах кожи*, выделенных из операционного материала при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением [28]

Интенсивность флуоресценции белков, mean* (у.е.)	ИМТ 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P < 0,05#
(p)**-mTOR	102 ± 3 у.е.	118 ± 4 у.е.	+
(p)-Raptor	96 ± 4 у.е.	112 ± 2 у.е.	+
(p)-Rictor	76 ± 2 у.е.	87 ± 4 у.е.	+
(p)-4E-BP1	79 ± 3 у.е.	92 ± 5 у.е.	+
(p)- p70-S6K1	61 ± 4 у.е.	77 ± 3 у.е.	+
(p)-АКТ	75 ± 4 у.е.	90 ± 4 у.е.	+

\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

\*\* (p) – фосфорилированные белки,

# P < 0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).

Таблица 46.

Уровень фосфорилированных белков, ассоциированных с киназой mTOR (по интенсивности внутриклеточной флуоресценции (mean) в условных единицах, у.е.), в *фибробластах кожи*, выделенных из операционного материала при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением [28]

Интенсивность флуоресценции белков, mean* (у.е.)	ИМТ 19,8+1,7 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	ИМТ 38,3+4,1 кг/м <sup>2</sup> , (n = 46)	P < 0,05#
(p)**-mTOR	186 ± 5 у.е.	251 ± 6 у.е.	+
(p)-Raptor	161 ± 4 у.е.	182 ± 4 у.е.	+
(p)-Rictor	145 ± 5 у.е.	160 ± 4 у.е.	+
(p)-4E-BP1	172 ± 5 у.е.	238 ± 5 у.е.	+
(p)- p70-S6K1	161 ± 4 у.е.	249 ± 5 у.е.	+
(p)-АКТ	173 ± 6 у.е.	237 ± 6 у.е.	+

\*mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах),

\*\* (p) – фосфорилированные белки,

# P < 0,05 по сравнению с нормальной массой тела.

(Морозов С.Г., Копасов А.Е. // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46).

При связывании хемокина CCL17 с рецептором CCR4 сигнал передается на киназу mTOR и комплекс mTORC1 [311]. Продукция хемокинов CCL5 и CXCL10 макрофагами также регулируется сигналами mTORC1. Трансляционная репрессия хемокинов CCL5 и CXCL10 факторами 4E-BP1 и 4E-BP2 (вторичными мессенджерами киназы mTOR) приводит к ограничению способности макрофагов индуцировать миграцию активированных Т-лимфоцитов [296]. Под действием TNF- $\alpha$  кератиноциты человека секретируют CXCL8 и IL-6, сигнал проводится через киназу mTOR [242].

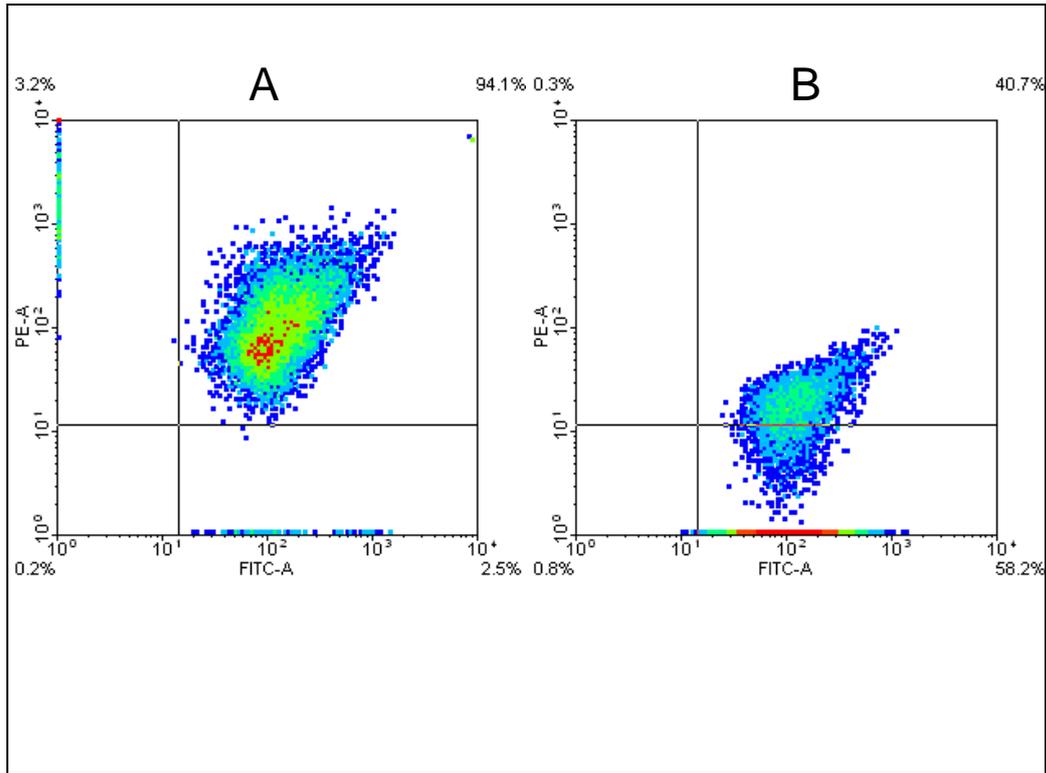
Таким образом, белки комплекса mTORC1 активированы в кератиноцитах и фибробластах кожи и имеют отношение к процессам, связанным с заживлением раны после операции. Повышенная активация киназы mTOR в фибробластах кожи при ожирении может иметь отношение в развитию осложнений после абдоминопластики. Поскольку при ожирении повышен процент осложнений, связанный с задержкой заживления операционной раны, а также с частичными некрозами операционного шва, можно говорить о том, что наши данные отражают патогенез ожирения, что может оказывать влияние на послеоперационные осложнения после абдоминопластики.

**ВЫВОДЫ** для данного раздела:

1. Показано повышение уровня экспрессии белков, ассоциированных с киназой mTOR, в клетках кожи пациентов с ожирением.
2. Показано преимущественное участие первого комплекса киназы mTOR – mTORC1, в активации клеток кожи при ожирении у пациентов после абдоминопластики.
3. Установлено повышение активности вторичных мессенджеров киназы mTOR – фактора 4E-BP1 и рибосомальной киназы p70-S6K1, передающих сигналы на рибосомы для синтеза белка, в фибробластах и кератиноцитах кожи пациентов с ожирением после абдоминопластики.

### **3.7.2. Измерение мембранного потенциала митохондрий ( $\Delta\Psi$ ) клеток, выделенных из операционного материала**

Целью данного раздела работы было изучение энергетического состояния клеток подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при проведении абдоминопластики. Примеры анализа на проточном цитометре адипоцитов, выделенных из операционного материала и окрашенных митохондриальным красителем JC-1, приведены на **Рисунке 14** [19]. Клетки представлены в системе координат FL1/FL2, перемещение гейта клеток вниз по каналу FL2 отражает снижение интенсивности флуоресценции красителя в красной зоне спектра, что говорит об изменении мембранного потенциала митохондрий и, соответственно, об энергетическом статусе клеток.



**Рисунок 14.** Примеры окраски JC-1 клеток, выделенных их операционного материала пациентов при проведении абдоминопластики [19].

*А) клетки пациентов с I степенью ожирения, В) клетки пациентов с III степенью ожирения.*

*(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Анналы пластической реконструктивной и эстетической хирургии, 2017, №1, С.100-101).*

**Таблица 47.**

Интенсивность флуоресценции адипоцитов, выделенных из операционного материала больных ожирением при абдоминопластике, и окрашенных красителем JC-1 (маркёром  $\Delta\Psi\mu^*$ ) [19]

	Степени ожирения		
	I	II	III
	ИМТ 32,1±0,7 (n = 8)	ИМТ 36,3±2,1 (n = 12)	ИМТ 45,3±4,6 (n = 14)
mean** JC-1	112 ± 21	86 ± 11	52 ± 19
P< 0,05#		-	+

\*  $\Delta\Psi\mu$  - мембранный потенциал митохондрий,

\*\* mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах):

# P<0,05 по отношению к I степени ожирения.

*(Копасов А.Е., Морозов С.Г. // Анналы пластической реконструктивной и эстетической хирургии, 2017, №1, С.100-101).*

При III степени ожирения достоверно снижен мембранный потенциал митохондрий адипоцитов ( $P < 0,05$ ) (Таблица 47 [19]). Это указывает на готовность клеток погибнуть при активации дополнительных сигналов апоптоза, связанных, например, с ишемией или снижением активности киназы mTOR, координирующей сигнальные пути в клетке от ростовых факторов.

Энергетическое состояние клеток в области операционного шва определяет возможное развитие осложнений в послеоперационном периоде, связанных с гибелью клеток в подкожно-жировой клетчатке. Анализ состояния митохондрий клеток в области шва указывает на снижение энергетического потенциала митохондрий при выраженном ожирении.

Выводом из данного раздела работы может быть рекомендация о проведении перед операцией короткого курса приёма препаратов, повышающих метаболизм клеток, в частности, янтарной кислоты, коэнзима Q и т.д., что может предотвратить развитие частичных некрозов операционного шва после абдоминопластики.

### **3.8. ДАННЫЕ ПО БАКТЕРИАЛЬНОЙ И МИКОЗНОЙ КОНТАМИНАЦИИ КОЖИ ЖИВОТА ПАЦИЕНТОВ ПЕРЕД АБДОМИНОПЛАСТИКОЙ**

#### **3.8.1. Показатели бактериальной контаминации абдоминальной области**

Кожа человека – это первая линия защиты организма человека от проникновения микроорганизмов и паразитов. Микробиом человека включает в себя бактерии, микроскопические грибы, вирусы, гельминты и имеет различия в зависимости от расы, пола и возраста [227]. Микробиота – это сообщество бактерий, колонизирующих организм, представлена миллиардами бактерий (более 300-х видов), основными из которых являются *Actinobacteria*, *Firmicytes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes*, состав микробиоты кожи зависит от расположения на теле человека [69]. Микроорганизмы кожи разделяют на резидентные, транзиторные и патогенные; резидентные колонизируют роговой слой эпидермиса и не оказывают вредного воздействия на здоровую кожу, однако, при повреждении кожи или её заболеваниях они могут рассматриваться как патогенные. Патогенная микрофлора (золотистый стафилококк,  $\beta$ -гемолитические стрептококки и др.) характерна для кожных инфекционных заболеваний. Транзиторная микрофлора появляется на поверхности кожи после контакта [11]. На поверхности эпителия бактерии существуют, в основном, в виде биопленок, что позволяет им адаптироваться, регулировать рост и метаболизм колоний, поддерживать резистентность к антибиотикам и влиять на иммунный ответ организма хозяина и его метаболизм.

Действия природного иммунитета против бактерий имеет фундаментальную основу – это PRRs (Pattern Recognition Receptors), компоненты которой распознают патогены, запускают сигнальные пути защиты организма хозяина от инфекции. Нарушение регуляции в этой системе приводит к развитию хронического воспаления [126]. Антимикробные пептиды AMPs (antimicrobial peptides/proteins) (дефенсины, кателицидины, белки S100, рибонуклеазы, дермцидин и т.д.) обладают киллерной активностью в отношении бактерий и других патогенов, также участвуют в локальном иммунном ответе в коже [230].

В клинике пластической хирургии, в частности, при проведении абдоминопластики, инфицирование кожи бактериями является фактором риска развития некроза кожи в послеоперационном периоде. Ожирение ассоциировано с повышенным риском развития инфекционных осложнений после операций [61, 117]. По данным литературы у большинства больных с ожирением перед операциями на брюшной стенке было выявлено наличие бактериального загрязнения кожи живота. Ожирение приводит к изменению состава микробиоты, снижается число *Bacteroidetes* и возрастает число *Firmicutes*, на коже живота женщин с ожирением имеется высокий уровень контаминации *Staphylococcus*, *Corynebacterium* и *Micrococcus* [254]. Кожа внизу живота у женщин при выраженном ожирении имеет отличия по составу микроорганизмов по сравнению с кожей женщин с нормальной массой тела [289].

Несмотря на антисептическую обработку и стерильность операционной, есть ряд факторов, которые могут привести к развитию послеоперационного некроза мягких тканей. В больничных условиях часто регистрируется резистентность микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Согласно рекомендациям Института Роберта Коха для дезинфекции поверхности кожи рекомендовано использование спиртосодержащих ингредиентов, а также хлоргексидина и октенидина. При подозрении на бактериальную контаминацию также рекомендована премедикация антибиотиками [288]. Предоперационная подготовка рук с использованием спиртосодержащих антисептиков (80 об.% этанола или 75 об.% изопропанола) считается оптимальной, но в последнее время появились многочисленные публикации о резистентности микроорганизмов к антисептикам [11].

В связи с этим считаем целесообразными исследования локальной микробиоты и локального иммунного ответа при операционных вмешательствах.

У всех пациентов ( $n=80$ ) были получены положительные результаты при исследовании микрофлоры; были обнаружены: *Propionibacteria* spp. (70%), *Corynebacteria* spp. (45%) *Staphylococcus* spp. (21%), *Lactococcus* spp. (11%), *Streptococcus* spp. (5%),

*Enterobacteria* spp. (5%), *E.coli* (5%). *S.aureus* - фактор риска некроза тканей - обнаружен у 15 (19%) пациенток. Результаты этих исследований явились основанием для введения антибиотиков перед операцией (однократно i.v.), а также для промывания ими ран перед закрытием кожного покрова. После абдоминопластики не было ни одного осложнения, связанного с инфицированием операционного шва. Время заживление раны было оптимальным [17].

Таким образом, проведение анализа кожи на наличие микробной контаминации и проведение индивидуальной антибиотикотерапии перед абдоминопластикой и во время операции являются факторами оптимизации послеоперационного периода и профилактики послеоперационного некроза мягких тканей.

### 3.8.2. Изучение грибковой контаминации кожи абдоминальной области

Кожа человека колонизирована многочисленными сапрофитными грибами. В течение последнего десятилетия появилось много публикаций о возрастающей частоте обнаружения патогенных и условно-патогенных микроскопических грибов на коже здоровых людей. Одной из причин может быть неконтролируемый прием антибиотиков, что оказывает влияние на потенциал роста микроскопических грибов, колонизирующих кожу человека. Контаминация кожи дрожжами *Candida* spp. обуславливает развитие послеоперационных осложнений при проведении операций на брюшной полости. Также в последние годы широко изучаются грибы рода *Malassezia* spp., которые присутствуют на здоровой коже, а также высеваются в значительном проценте случаев при дерматологической патологии. По нашим данным, достаточно высока частота высеваания дрожжей рода *Rhodotorula* spp., которые мы обнаруживали на коже больных с различными соматическими патологиями, а также у здоровых лиц, которые были донорами.

Задачей данного раздела диссертационной работы было проведение микологического анализа соскобов кожи живота в области предполагаемого операционного воздействия перед проведением абдоминопластики для выявления контаминации микроскопическими грибами рода *Candida*, *Rhodotorula*, *Malassezia*.

Из 80 обследованных пациентов перед проведением абдоминопластики контаминация искомыми микроскопическими дрожжами обнаружена у практически половины – 37 (46%), из них 18 мужчин (52%) и 19 женщин (41%). Среди контаминированных мужчин частота обнаружения *Candida* spp. – 44% (n = 8), *Rhodotorula* spp. – 17% (n = 3), *Malassezia* spp. – 78% (n = 14). У 7 из 18 мужчин диагностирован микст *Candida* spp. + *Malassezia* spp. У контаминированных женщин частота обнаружения

*Candida spp.* – 31,5% (n = 6), *Rhodotorula spp.* – 10,5% (n = 2), *Malassezia spp.* – 58% (n = 11).

Среди всех образцов рода *Candida* (n = 15) были обнаружены *C. albicans* в 53% (n = 8), *C. tropicalis* – 20% (n = 3), *C. glabrata* – 20% (n = 3), *C. parapslosis* – 7% (n = 1).

Был обнаружен только один вид *Rhodotorula glutinis*. Достаточно высокая частота обнаружения *Rhodotorula spp.* в нашей работе согласуется с наблюдениями других авторов по увеличению частоты обнаружения этих микроорганизмов в последнее время.

Среди грибов рода *Malassezia* (n = 25) были определены *M. sympodialis* в 80% (n = 20), *M. globosa* – 16% (n = 4), *M. restricta* – 4% (n = 1). Эти данные несколько различаются от опубликованных в печати результатов по диагностике *Malassezia* у здоровых лиц, однако, следует отметить различия в методах исследования.

Таким образом, полученные данные указывают на высокую частоту контаминации кожи живота у внешне здоровых лиц микроскопическими грибами рода *Candida*, *Malassezia* и *Rhodotorula*, что может рассматриваться как фактор риска развития инфекционных осложнений в области послеоперационного рубца после проведения абдоминопластики [18].

Для предотвращения развития осложнений всем пациентам, у которых была верифицирована грибковая контаминация кожи, проведена обработка кожи живота антимикотическими средствами, которые также назначались коротким курсом *per os* за 7 дней до проведения абдоминопластики. Такой подход позволил устранить возможность развития инфекционного поражения раневой поверхности в период после операции.

Полученные данные указывают на высокую частоту контаминации кожи живота у внешне здоровых лиц микроскопическими грибами рода *Candida*, *Malassezia* и *Rhodotorula*, что может рассматриваться как фактор риска развития инфекционных осложнений в области послеоперационного рубца после проведения абдоминопластики.

### **3.9. ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ПАЦИЕНТАМИ ПОСЛЕ АБДОМИНОПЛАСТИКИ**

После проведенной абдоминопластики пациенты находились под динамическим наблюдением в течение 30 дней. В этот период было установлено наличие ряда осложнений, в том числе, удлинение сроков заживления операционной раны у лиц с III степенью ожирения. Частичный некроз в области операционного шва был зарегистрирован у 1 больной с I степенью ожирения, у 1 больной со II степенью и у 4 больных с III степенью ожирения. Некроз операционного шва, после чего потребовалась

повторная хирургическая ревизия раны под местной анестезией, зарегистрирован у 1 пациентки с III степенью ожирения.

В случае удаления значительного объема тканей (>4 кг) при абдоминопластике у 4 пациентов потребовалось переливание крови для коррекции развившейся анемии. В трех случаях (у 1 мужчины и 2-х женщин) регистрировалось расхождение кожных покровов на месте операционной раны, что потребовало повторного оперативного вмешательства и проведение пластики кожным лоскутом.

При анализе группы больных ожирением (n = 28), у которых в течение первой недели после операции абдоминопластики было субъективное ощущение сильной боли в абдоминальной области и гиперестезия, выявлено достоверное повышение уровня провоспалительных цитокинов в крови по сравнению с данными больных ожирением, которые не жаловались на выраженный болевой синдром после операции абдоминопластики. Концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови через неделю после абдоминопластики была повышена более, чем в два раза, а уровни интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-33 были достоверно выше нормы. У больных ожирением повышенные значения цитокинов сохранялись в течение 7 дней после операции, тогда как у пациенток с нормальной массой тела к этому времени уровень цитокинов существенно снижался.

Повышенный уровень провоспалительных цитокинов в крови указывает на роль воспалительного компонента в индукции боли, а также указывает на мишени действия для купирования болевого синдрома.

У пациентов, которым по медицинским показаниям проведена круговая абдоминопластика (15 мужчин и 77 женщин), серома развилась у 9 больных, расхождение швов в области некроза кожи – у 4 больных, инфицирование шва – у 4 больных, гематома – у 8 больных, неровный рубец – у 7 больных.

У пациентов с ожирением после традиционной абдоминопластики (180<sup>0</sup>) частота осложнений была выше на 12% по сравнению с частотой осложнений у пациентов с нормальной массой тела.

Большинство пациентов с нормальной массой тела проводили абдоминопластику по эстетическим показаниям, желая получить омоложение фигуры или восстановить нормальные контуры. После операции у всех пациентов отмечалось повышение физической активности, существенное повышение качества жизни, повышение уровня социальной значимости, повышение самооценки и уровня собственной привлекательности.

### **Алгоритм действий для минимизации осложнений после абдоминопластики**

Во избежание осложнений после абдоминопластики мы предлагаем алгоритм действий, который включает в себя дополнительные анализы, которых раньше не было в перечне предоперационных исследований.

- 1) Определение иммунного статуса пациента, что указывает на группу риска по развитию инфекционных осложнений.
- 2) Исследование крови методом ИФА на содержание цитокинов и хемокинов, что позволит выделить пациента в группу риска по возможному появлению осложнений в послеоперационном периоде и проводить дополнительные терапевтические мероприятия по коррекции этих нарушений.
- 3) Пациенты с продвинутыми степенями ожирения изначально относятся к группе риска по возможным осложнениям в послеоперационном периоде. Таким пациентам рекомендован прием противовоспалительных препаратов, а также клеточных энергетиков, чтобы избежать развития несостоятельности операционного шва или частичного некроза операционного шва.
- 4) Исследование кожи на предмет грибковой или бактериальной контаминации. При её обнаружении рекомендовано проведение превентивной терапии антибактериальными или антигрибковыми препаратами.

Наши рекомендации носят предварительный характер, так как для разработки полноценного протокола ведения больных в предоперационный период перед абдоминопластикой требуется проведение многочисленных и длительных исследований.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ожирение рассматривается в настоящее время как болезнь цивилизации, которая приводит к ухудшению качества жизни и ранней смертности людей, так как является причиной развития сердечно-сосудистой патологии, сахарного диабета, метаболического синдрома и т.д. Проведение операций у пациентов с ожирением приводит к высокому проценту осложнений вследствие нарушения трофики тканей, местной воспалительной реакции и метаболических нарушений. В патогенезе ожирения присутствует подострое воспаление жировой ткани, сопряженное с накоплением клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины. За направленное движение этих клеток в жировую ткань отвечают хемокины – низкомолекулярные белки, активирующие сигнальные пути в клетке, отвечающие за движение в сторону определенного градиента.

Основанием для проведения исследований по данной теме явились следующие доказанные научные положения:

- 1) Ожирение является фактором риска развития послеоперационных осложнений, в частности, в связи с тем, что в жировой ткани поддерживается постоянный уровень воспалительной реакции из-за секреции клетками провоспалительных цитокинов.
- 2) Связанное с ожирением вялотекущее воспаление удлиняет сроки заживления ран и является причиной заживления ран вторичным натяжением, что приводит к нежелательным грубым рубцам в месте операции.
- 3) Проблема ожирения при абдоминопластике не изучена с точки зрения роли хемокинов и их рецепторов в миграции клеток в зону оперативного вмешательства, что может оказывать влияние на развитие осложнений после абдоминопластики, хотя известно, что хемокины регулируют миграцию клеток иммунной системы в сайт воспаления.
- 4) Изучение факторов, секретируемых клетками висцеральной жировой ткани и подкожно-жировой ткани, является источником информации для разработки новых подходов к предупреждению послеоперационных осложнений.

В связи с вышеперечисленным, основной темой данной диссертационной работы стало изучение вопросов, связанных с ролью хемокинов в развитии осложнений после абдоминопластики у пациентов с ожирением.

Для проведения работы были разработаны критерии отбора пациентов в группы для исследования. Группами сравнения были пациенты с нормальной массой тела (ИМТ <25 кг/м<sup>2</sup>) и пациенты с ожирением разной степени выраженности (ИМТ >30 кг/м<sup>2</sup>). Первоначально планировалась работа только на пациентах мужчинах в связи с более однородными показателями, связанными с клетками иммунной системы (хорошо

известны факты гормонального влияния на активность нейтрофилов у женщин в критические дни). Однако по объективным причинам группа пациентов была расширена, а работа была проведена, в большей степени, на пациентках женщинах, в связи с тем, что в Клинике пластической хирургии, на базе которой выполнены все клинические работы, основным контингентом являются женщины.

До операции всем пациентам определяли состав тела методом биоимпедансного анализа. Было показано, что у мужчин и у женщин с ожирением имелись разнообразные нарушения состава тела, связанные с избыточной жировой массой в области живота, что требовало коррекции по медицинским показаниям для восстановления нормального метаболизма. У пациенток с нормальной массой тела проведение абдоминопластики было обусловлено эстетическими показаниями, особенно у молодых женщин после родов, когда имелся птоз кожи и подкожной клетчатки, требовавший иссечения излишков кожи. Поэтому две группы сравнения – с ожирением и без него, подразумевают достоверные различия в метаболизме жировой ткани и клеток кожи.

В начале исследований был определен иммунный статус пациентов, так как клетки природного и адаптивного иммунитета играют роль в поддержании воспаления в жировой ткани, что является основной причиной развития осложнений после операций [58]. Было показано, что иммунный статус пациентов с ожирением отличается от иммунного статуса лиц с нормальной массой тела. Далее были исследованы нейтрофилы крови пациентов и выявлены повышения экспрессии рецепторов CD16b, CD85a, CD282, CD11b, CD63, CD66b, TNFR1, TNFR2 и рецепторов для бактериальных пептидов FPR1 и FPR2 у пациентов с ожирением по сравнению с лицами с нормальной массой тела. В связи с этим был сделан вывод об изменении функциональной активности нейтрофилов при ожирении, что могло оказывать влияние на уровень воспаления в жировой ткани. При стрессе, вызванном хирургической операцией, в жировой ткани изменяется уровень цитокинов, что может привести к снижению антимикробной активности нейтрофилов [113]. С другой стороны, нарушение функциональной активности нейтрофилов, связанное со снижением хемотаксиса и экспрессии рецепторов, недостаточной активностью генерации супероксидного аниона при окислительном взрыве, повышает риск развития септического шока [108]. При системном воспалении дисфункция нейтрофилов может быть в результате их контакта со стафилококками после активации комплементом, в результате резко снижается экспрессия рецепторов для C5a компонента комплемента, что приводит к падению фагоцитарной активности [264]. Дисфункция нейтрофилов приводит к персистенции патогенов в тканях [189]. Однако избыточная активность нейтрофилов или удлинение времени их жизни приводят к воспалительной реакции в области

операционной раны. У пациентов с ожирением нейтрофилы имеют более длительный период жизни и снижение активности апоптоза. Персистирующие нейтрофилы, а также повышение абсолютного числа нейтрофилов  $\geq 9 \times 10^9 / \text{л}$  в течение  $> 2$ -х месяцев после операции, повышает риск развития венозной тромбоэмболии после операции в два раза [183].

Таким образом, проведенные нами исследования состояния клеток иммунной системы и нейтрофилов крови позволили установить нарушения в рецепторном аппарате нейтрофилов и их связь с ответом на бактериальные антигены у пациентов с ожирением.

Следующим логичным этапом работы было измерение экспрессии рецепторов хемокинов на нейтрофилах периферической крови. Хотя из литературных данных известно, что в сайте воспаления в тканях нейтрофилы меняют репертуар рецепторов хемокинов: снижается экспрессия CXCR2 и повышается CCR1, CCR2, CCR5, что способствует активации фагоцитоза и продукции ROS [85], однако, для продвижения нейтрофилов в ткани работают те рецепторы, которые имеются на клетках в периферической крови. Нами установлено, что на нейтрофилах крови экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR2, CXCR6, CXCR4, CXCR1 повышена при ожирении по сравнению с нормальной массой тела.

При связывании рецептора CXCR2 хемокином CXCL8 происходит стимуляция хемотаксиса нейтрофилов в сайт воспаления [197]. Рецептор CXCR2 на нейтрофилах может работать синергично с FPR1 и FPR2 для активации сигналов хемотаксиса [105]. Активация CXCR2 имеет отношение к развитию послеоперационного болевого синдрома.

При связывании рецептора CXCR6 хемокином CCL20 активируются сигнальные пути синтеза провоспалительных цитокинов и их секреции в ECM, что поддерживает постоянный уровень воспаления в тканях. При связывании рецептора CXCR1 хемокинами CXCL6 и CXCL8 активируется сигнальный путь с участием PLD, необходимый для генерации ROS [85]. Повышение экспрессии CXCR1 отражает способность нейтрофилов к более выраженному кислородному взрыву при ожирении по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

На нейтрофилах рецепторы CCR2, CCR6 и CCR7 связывают хемокины семейства CCL. Сигнальный путь от рецептора CCR6 активирует секрецию провоспалительных цитокинов [316]; по нашим данным, экспрессия CCR6 повышалась у пациентов с ожирением ( $P < 0,05$ ). Повышение экспрессии рецептора CCR7 связывают с выраженным воспалением, при ожирении экспрессия CCR7 была повышена ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, установлено, что у пациентов с ожирением имеется нарушение рецепции нейтрофилов, связанное с повышением экспрессии хемокиновых рецепторов,

сопряженных с сигнальными путями провоспалительных цитокинов и генерации реактивных метаболитов кислорода.

Далее мы измерили уровень экспрессии самих хемокинов в нейтрофилах крови. Показано повышение ( $P < 0,05$ ) экспрессии хемокинов CCL2, CCL3, CCL5 CXCL1, CXCL2, CXCL8 у пациентов с ожирением. Хемокин CCL2 ранее считался моноцитарным, но в настоящее время установлено, что его секретируют две субпопуляции нейтрофилов: одна продуцирует ROS и провоспалительные хемокины CCL2, CCL3, CXCL8; другая субпопуляция появляется в ответ на стимуляцию TGF- $\beta$  и секретирует CCL2, CCL5, эластазу нейтрофилов, катепсин и аргиназу-2 [85]. Продуцируемые нейтрофилами хемокины CXCL2 распознают рецепторы CXCR1 и CXCR2, а также атипичные рецепторы ACKR1 на клетках эндотелия, что позволяет нейтрофилам мигрировать через посткапиллярные вены [85]. Хемокины семейства CXCL связаны с защитой и с ответом организма на стресс [130]. Хемокин CXCL8 – один из наиболее активных провоспалительных факторов, при его связывании с рецепторами CXCR1 и CXCR2 активируются сигнальные пути воспаления и фиброза тканей [54].

Полученные нами данные указывают на более высокую хемотаксическую активность нейтрофилов крови больных с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела после абдоминопластики. Клинический смысл полученных результатов состоит в повышении персистенции нейтрофилов в области операционного рубца у тучных пациентов, что сопряжено с возможными послеоперационными осложнениями.

В следующем разделе мы определили уровень экспрессии рецепторов хемокинов на лимфоцитах периферической крови у пациентов с ожирением и с нормальной массой тела. Уровень рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7 и CCR9 достоверно повышен на субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Эти рецепторы необходимы для миграции Т-лимфоцитов через эндотелий сосудов в ткани [91]. Рецептор CCR6 распознает хемокин CCL20, продуцируемый клетками эндотелия, и отвечает за миграцию лейкоцитов и Т-лимфоцитов через сосудистую стенку [210]. Рецепторы CCR7 экспрессируются на Treg и Th17 лимфоцитах [292]. CCR9<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-хелперы в ответ на IL-7 секретируют повышенные уровни IFN- $\gamma$ , IL-21, IL-17 и IL-4 [70].

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 (Treg) и Т-хелперов первого порядка (Th1). Регуляторные клетки CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> играют ключевую роль в периферической толерантности, предотвращая развитие иммунного ответа на аутоантигены и аллергены. Tregs мигрируют в ответ на хемокины

CCL17 и CCL22 [205]. Накопление и активация Tregs регулируются хемокинами CXCL10 и их рецепторами CXCR3.

Мы определяли Th1 клетки как CD3+CD4+CXCR3+CCR5+ Т-лимфоциты [292]. Известно, что 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  $\alpha V\beta 3$ . 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. Далее было установлено, что на Th1 клетках периферической крови пациентов с ожирением достоверно выше экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR3, CCR5 и CCR1. Рецепторы CXCR3 связывают хемокины CXCL9 и CXCL10, секретируемые в ответ на IFN- $\gamma$ , которые стимулируют хемотаксис активированных CXCR3+ Т-клеток в ткани, их аккумуляцию и развитие воспаления [191]. Активированные Th1 клетки сопряжены с хемокинами CCL4, рецепторами которых являются CCR5, а также CCL16, рецепторами служат CCR1.

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, а хемокины CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL13, CX3CL1 экспрессируются 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 [92].

Цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты секретируют хемокины, которые привлекают другие клетки иммунной системы в очаг воспаления. Мы проанализировали экспрессию рецепторов хемокинов на CD8+ Т-лимфоцитах. Установлено, что рецепторы CXCR3, CX3CR1 и CCR5 повышены ( $P < 0,05$ ) у пациентов с ожирением по сравнению с пациентами без ожирения. CXCR3+CD8+ Т-клетки в ответ на неспецифическую активацию продуцируют TNF- $\alpha$  и другие провоспалительные цитокины [107], поэтому установленное в нашей работе повышение экспрессии рецептора CXCR3+ на CD8+ Т-клетках указывает на их участие в воспалительном процессе в организме. Также показано повышение экспрессии рецептора CX3CR1, регулирующего миграцию CD8+ Т-клеток через эндотелий. Лигандом для CX3CR1 является фракталин (CX3CL1), который стимулирует миграцию Т- и В-лимфоцитов и НК клеток в жировую ткань. Циркулирующие активированные CX3CR1+CD8+ Т-клетки проходят через эндотелий

сосудов под влиянием факталиина и IL-15, которые секретируются клетками эндотелия под действием TNF- $\alpha$  [239].

Рецепторы CX3CR1 есть как на CD8+, так и на CD4+ Т-лимфоцитах. В циркуляции число CX3CR1+ CD8+ Т-лимфоцитов составляет 49%, а в жировой ткани – 24% [99]. CXCR3+CD8+ Т-лимфоциты дифференцируются в антиген-специфические эффекторы и продуцируют IL-2 и TNF- $\alpha$  в ответ на неспецифическую активацию [107].

Экспрессия рецептора CCR5 достоверно возрастает у больных с ожирением. CCR5 отвечает за направленное движение цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, НК и других клеток в жировую ткань [229], поэтому можно говорить об активации локального иммунного ответа в жировой ткани при ожирении у наших пациентов.

Таким образом, было показано, что у пациентов с ожирением в периферической крови достоверно повышен уровень CD4+ Т-лимфоцитов, Т-хелперов первого порядка, регуляторных Т-клеток, наивных Т-клеток и Т-клеток памяти. Экспрессия рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7, CCR9 достоверно повышена на субпопуляции CD4+ Т-лимфоцитов при ожирении. Ожирение ассоциировано с повышением рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3 хемокинов на CD8+ Т-лимфоцитах, что отражает их способность отвечать на регуляторные хемокины и накапливаться в жировой ткани.

В следующем разделе работы были исследованы хемокины и их рецепторы, сопряженные с моноцитами. Этот раздел имеет существенное клиническое значение, так как большая часть тканевых макрофагов жировой ткани представляет собой пришедшие из циркуляции моноциты в их терминальной дифференцировке. В настоящее время достоверно показано наличие резидентных тканевых макрофагов, но основной процент клеток происходит из моноцитов.

Клетки крови окрашивали антителами и анализировали интенсивность флуоресценции на проточном цитометре в гейте моноцитов. Было показано повышение ( $P < 0,05$ ) экспрессии хемокинов семейства CCL на моноцитах крови пациентов с ожирением, что указывает на предрасположенность к миграции моноцитов в ткани и, соответственно, к накоплению макрофагов в жировой ткани с последующим развитием воспаления при ожирении. Далее мы измерили экспрессию рецепторов для хемокинов семейства CCL в гейте моноцитов, все исследуемые рецепторы достоверно повышены ( $P < 0,05$ ) у пациентов с ожирением по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

Таким образом, наши исследования моноцитов периферической крови позволили установить различия в экспрессии хемокинов семейства CCL и их рецепторов на клетках

пациентов с ожирением и без него, что указывает на участие моноцитов в воспалении в тканях при ожирении и в развитии осложнений после оперативного вмешательства.

Далее было проведено определение уровня маркеров воспаления в сыворотке крови. Маркерами, которые отражают степень воспалительной реакции в жировой ткани, являются, в частности, СРБ, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-34, прокальцитонин, MCP-1, MIP1 $\alpha$  и другие. Были проведены измерения IL-6, IL-8, IL-34, TNF- $\alpha$  и СРБ, которые считаются маркерами воспалительного процесса в организме [284] и связываются с системной воспалительной реакцией [275]. Значение повышения TNF- $\alpha$  в хирургии определяется его свойством активировать NO-зависимые сигналы в клетках эндотелия, что приводит к повышению уровня ROS и повреждению сосудистой стенки, что имеет следствием развитие послеоперационных тромбозов [286]. IL-6 регулирует гомеостаз жировой ткани при ожирении, накопление триглицеридов в адипоцитах, поддерживает воспаление и регулирует межклеточные взаимодействия при лимфедеме [102]. В ответ на стресс в жировой ткани повышается секреция TNF- $\alpha$  и IL-6, при этом женщины и мужчины реагируют по-разному в связи с сигналами половых гормонов [113]. Повышение уровня IL-34 в сыворотке крови связано с системным воспалением, его секреция адипоцитами стимулируется TNF- $\alpha$  [90].

У мужчин с ожирением на следующий день после абдоминопластики уровень цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-34 в сыворотке крови был достоверно выше ( $P < 0,05$ ) по сравнению с данными пациентов без ожирения, что согласуется с публикациями, в которых показано повышение уровня TNF- $\alpha$  и IL-6 в сыворотке крови в раннем послеоперационном периоде (в 1-е сутки) [278]. У мужчин уровень цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-34 в сыворотке крови также зависит от уровня жировой массы тела: чем она выше, тем выше уровень цитокинов ( $P < 0,05$ ). При этом зависимость уровня цитокинов сыворотки крови от содержания жировой массы тела более значимая величина, чем зависимость от ИМТ, так как именно количество жировой массы и число адипоцитов, секретирующих гормоны адипокины и цитокины, определяет уровень подострого воспаления в жировой ткани.

У женщин уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови на следующий день после абдоминопластики так же зависит от ИМТ и повышен ( $P < 0,05$ ) у пациенток с ожирением по сравнению с пациентками с нормальной массой тела. Для женщин зависимость уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови от количества жировой массы тела даже более выражена, чем для мужчин, повышение в два раза при ожирении показано для IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-34.

Клиническое значение полученных результатов определяется влиянием провоспалительных цитокинов на область операционной раны, а также повышенным риском развития послеоперационных осложнений (воспалительной реакцией, формированием частичных некрозов операционного шва, послеоперационными тромбозами и т.д.).

Далее мы провели сравнительный анализ содержания хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 в сыворотке крови у женщин на следующий день после абдоминопластики в зависимости от наличия или отсутствия ожирения. Для хемокинов CCL2 и CCL3 установлено повышение концентрации при ожирении ( $P < 0,05$ ) по сравнению с пациентками с нормальной массой тела, эти результаты согласуются с данными других авторов, показавших, что у женщин уровень сывороточного CCL2 положительно коррелирует с ИМТ. Уровень CCL2 достоверно повышается при ожирении, осложнённом метаболическим синдромом [160]. У мужчин показано достоверное повышение концентрации хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 в сыворотке крови при ожирении ( $P < 0,05$ ) по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.

Хемокин CCL2 определяет миграцию моноцитов в очаг воспаления. Повышение концентрации CCL2 в жировой ткани вызывает приток моноцитов и их терминальную дифференцировку в макрофаги [118]. При ожирении повышение уровня CCL2 в сыворотке крови положительно коррелировало с повышением уровня TNF- $\alpha$  и других провоспалительных цитокинов [72]. Хемокин CCL3 регулирует миграцию клеток иммунной системы и активирует природный и адаптивный иммунный ответ. Сигналы от CCL3 в клетки проводятся через рецептор CCR5 [263]. При активации Т-лимфоцитов секретируется хемокин CCL5, который синергично с другими хемокинами усиливает миграцию моноцитов в жировую ткань. CCL5 также продуцируется фибробластами [226], что оказывает влияние на процессы заживления операционной раны.

Значение измерения уровня хемокинов в крови пациентов определяется способностью хемокинов влиять на миграцию клеток иммунной системы в область операционной раны с последующим развитием воспалительной реакции [205,309]. Хемокины вызывают лейкоцитарную инфильтрацию жировой ткани, что обуславливает проявление ряда осложнений после операции, ассоциированных с наличием ожирения [118]. Активация некоторых рецепторов хемокинов имеет отношение к развитию послеоперационного болевого синдрома [197]. Повышение уровня хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 в сыворотке крови в после операции может отразиться на развитии таких осложнений, как воспаление операционного рубца, удлинение сроков заживления раны, развитие серомы.

Следующим этапом диссертационной работы было изучение экспрессии хемокинов клетками, выделенными из операционного материала. При ожирении II и более степени показатели хемокинов семейства CCL в полтора – два раза превышали данные для пациентов с нормальной массой тела. Повышение концентрации CCL2 в жировой ткани влияет на функциональную активность адипоцитов [118]. Секреция CCL2 адипоцитами повышается ( $P < 0,05$ ) при контакте с макрофагами, продуцирующими TNF- $\alpha$  [49]. На ранних стадиях ожирения CCL2 способствует увеличению числа макрофагов в жировой ткани за счёт их активной пролиферации [164]. Хемокин CCL3 регулирует миграцию Т-лимфоцитов в очаг воспаления в ткани [175]. Хемокин CCL4 способствует повышению проницаемости эндотелиального барьера и повышению адгезии моноцитов [308]. CCL4 и CCL5 повышают миграцию Т-лимфоцитов из кровяного русла в ткани и повышают Т-клеточную цитотоксичность [317]. CCL5 усиливает миграцию моноцитов в ткани [226]. CCL18 экспрессируется макрофагами и отражает нарушения метаболизма в жировой ткани [124]. CCL20 участвует в воспалении в тканях, при распознавании его рецептором CCR6 на нейтрофилах активируются сигнальные пути провоспалительных цитокинов [80].

Далее были измерены уровни экспрессии рецепторов хемокинов CCR1, CCR2 и CCR5 на клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике. CCR1 распознают хемокины CCL4; CCR2 проводят сигналы от CCL2, что регулирует миграцию клеток, секретирующих IL-17. В частности, Th17 [154]. CCR5 проводят сигналы от CCL3, что регулирует миграцию Т-лимфоцитов в ткани [47]. При ожирении в подкожно-жировой ткани повышены уровни хемокинов CCL2, CCL5, CCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, а также их рецепторов CCR1, CCR2, CCR5 [270]. Хемокин CXCL13 распознается рецепторами CCR1 и CCR2 на активированных Т-лимфоцитах.

В нашей работе обнаружен более высокий уровень экспрессии рецепторов CCR2, CCR1 и CCR5 на клетках подкожно-жировой ткани при ожирении по сравнению с клетками лиц без него. Это согласуется с нашими данными по экспрессии хемокинов, связанных с моноцитами, а также с более высоким процентом тканевых макрофагов в подкожно-жировой ткани пациентов с ожирением по сравнению с лицами без ожирения [14].

Повышение уровней хемокинов в образцах подкожно-жировой ткани, выделенных при абдоминопластике от пациентов с ожирением по сравнению с пациентами нормальной массы тела, также положительно коррелируют с повышением уровней провоспалительных цитокинов в соответствующих образцах. Полученные данные по экспрессии рецепторов цитокинов на клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из

операционного материала при абдоминопластике, указывают на повышение ( $P < 0,05$ ) экспрессии рецепторов TNF-R1 и TNF-R2, IL-6-R и IL-1 $\beta$ -R на клетках пациентов со II и III степенями ожирения.

В жировой ткани провоспалительные цитокины секретируются адипоцитами, макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами и другими клетками. При связывании цитокинов с рецепторами на клетках инициируются сигнальные пути, которые приводят к синтезу специфических белков и изменению функциональной активности клетки. Так, IL-1 $\beta$  является вторичным мессенджером сигнальных путей апоптоза и активирует эффекторные каспазы. В ответ на IL-1 $\beta$  и IFN- $\gamma$  изменяются уровни экспрессии хемокинов CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [79]. Секреция TNF- $\alpha$  повышается в период активной пролиферации макрофагов на ранних стадиях ожирения [319]. Под воздействием TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  ускоряется синтез хемокинов в кератиноцитах [180]. TNF- $\alpha$  стимулирует секрецию хемокина CXCL8 кератиноцитами через активацию сигнального пути киназы mTOR [242]. TNF-R1 проводит провоспалительные и про-апоптотические сигналы в нейтрофилах, а также сигналы, сопряженные с повышением активности хемокина CXCL1 и миграцией нейтрофилов в жировую ткань [272]. При связывании TNF- $\alpha$  с рецептором TNF-R2 инициируются сигнальные пути модуляции иммунного ответа и регенерации тканей [307].

Таким образом, нами было установлено достоверное повышение уровня хемокинов и их рецепторов, а также уровня провоспалительных цитокинов, в образцах подкожно-жировой ткани пациентов с ожирением по сравнению с пациентами нормальной массы тела. Это является основанием для развития осложнений после операции у пациентов с ожирением, так как хемокины и цитокины регулируют уровень воспаления в тканях, а также приток клеток, поддерживающих эти изменения.

Состояние операционного шва после проведенной абдоминопластики является одним из основных показателей качества выполненной операции. Для формирования практически невидимого шва необходимо, чтобы в коже была восстановлена микроциркуляция, энергетика клеток должна быть на дооперационном уровне, а в тканях не должно быть воспалительной реакции. Негативным фактором, провоцирующим формирование грубого рубца, является воспаление тканей, вызванное притоком клеток иммунной системы под влиянием хемокинов. В связи с вышеизложенным, в диссертационной работе мы измерили уровни экспрессии хемокинов семейства CXCL, секретируемых клетками кожи, в зависимости от массы тела пациентов. Уровни хемокинов CXCL8, CXCL9, CXCL10 и CXCL13 достоверно выше ( $P < 0,05$ ) при ожирении по сравнению с показателями пациентов с нормальной массой тела.

Секрция CXCL8, CXCL9 и CXCL10 кератиноцитами повышается под влиянием провоспалительных цитокинов, что указывает на их участие в воспалении кожи и объясняет их повышение при ожирении [180]. Хемокин CXCL8 играет роль в повреждении кератиноцитов при растяжении кожи [134], он стимулирует хемотаксис нейтрофилов в рану, что может приводить к задержке в заживлении раны [251]. CXCL14 работает как хемоарктант для активированных макрофагов, незрелых дендритных клеток и NK клеток [83]. CXCL14 может играть роль в нарушении васкуляризации в коже [132].

Фибробласты дермы секретируют CXCL8 и CXCL13, которые имеют отношение к развитию фиброза тканей [195]. При ожирении уровень хемокина CXCL13 в клетках кожи достоверно повышен ( $P < 0,05$ ), что согласуется с литературными данными по его участию в воспалении кожи, а повышение уровня CXCL13 в плазме крови положительно коррелирует с воспалением кожи [277].

Далее мы измерили уровень экспрессии хемокинов семейства CCL в клетках кожи, выделенных из операционного материала при абдоминопластике. Хемокины CCL17, CCL20, CCL22, CCL24, CCL27, CCL28 продуцируются кератиноцитами [198], а CCL20, CCL24, CCL27 - фибробластами дермы [195]. CCL24 также продуцируется клетками эндотелия. CCL24 и CCL27 регулируют процессы активации фибробластов и развитие фиброза кожи [220]. Экспрессия CCL24 и CCL27 при ожирении достоверно повышена ( $P < 0,05$ ), что согласуется с данными по их участию в миграции Т-клеток в кожу [198].

Заживлению ран способствует отложение белков ECM и реэпителизация раны, что обеспечивается высоким уровнем хемокинов CCL17 и CCL22 в коже, продуцируемых M2 макрофагами [295]. Экспрессия CCL17, CCL22 и CCL28 в клетках кожи снижена при ожирении ( $P < 0,05$ ), что указывает на проблемы с операционной раной при повышении жировой массы [94]. В заживлении ран участвует сигнальный путь CCL28/CCR10. При снижении уровня CCL28 прерываются сигналы от рецептора CCR10 и их взаимодействие с эндотелиальной NO-синтазой [94].

Инфильтрирующие кожу лимфоциты экспрессируют рецепторы CXCR3, которые распознают хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11. Они нарушают пролиферацию кератиноцитов и их дифференцировку в корнеоциты [141]. Рецепторы CCR3 и CXCR4 на лимфоцитах инициируют сигнальные пути, принимающие участие в развитии фиброза кожи [220]. За счет взаимодействия с рецепторами CCR10 на лимфоцитах хемокины CCL27 регулируют перемещение Т-клеток в кожу [198]. Показано повышение ( $P < 0,05$ ) уровня рецепторов CXCR3 и CCR10 при ожирении. Это согласуется с данными о том, что они связывают хемокины, участвующие в воспалении кожи [198]. У лиц с ожирением не

было достоверного повышения уровня рецепторов CCR3 и CXCR4, однако, у 5% больных ожирением уровень экспрессии этих рецепторов превышал норму в 2 раза.

Таким образом, при анализе образцов кожи пациентов, выделенных при абдоминопластике, показано, что при ожирении повышен процент клеток, экспрессирующих рецепторы CXCR3, CXCR4, CCR3, CCR10, которые регулируют секрецию хемокинов кератиноцитами и фибробластами кожи. Также установлено, что в клетках кожи пациентов с ожирением повышена экспрессия хемокинов CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL13, имеющих отношение к поддержанию воспаления в коже. У пациентов с ожирением в клетках кожи снижен уровень экспрессии хемокинов CCL17, CCL22, CCL28 и повышен уровень экспрессии хемокинов CCL24 и CCL27, что указывает на нарушение хемокиновой регуляции при ожирении и является основой для развития осложнений после абдоминопластики.

В настоящее время считается, что в клетках есть центральный «диспетчерский» узел, регулирующий все сигнальные пути и активность клетки, который представляет собой белковые комплексы, сформированные киназой mTOR. Ряд публикаций указывали на сопряжение киназы mTOR и сигнальных путей хемокинов. В частности, при связывании хемокина CCL17 с рецептором CCR4 сигнал передается на киназу mTOR и комплекс mTORC1 [311], под действием TNF- $\alpha$  кератиноциты человека секретируют CXCL8 и IL-6, сигнал проводится через киназу mTOR [242]. Сигнальный путь CXCL12/CXCR4 повышает уровень фосфорилирования киназы mTOR, способствует эпителиально-мезенхимальному переходу клеток и регулирует аутофагию в клетках кожи [137, 170]. Продукция хемокинов CCL5 и CXCL10 макрофагами также регулируется сигналами mTORC1 [296]. В связи с вышеизложенными фактами, нами было принято решение провести дополнительные исследования, касающиеся активности сигнальных белков, сопряженных с киназой mTOR, в клетках кожи, выделенных при проведении абдоминопластики. В выделенных клетках кожи из образцов операционного материала при анализе на проточном цитометре были идентифицированы кератиноциты и фибробласты, в которых была измерена экспрессия сигнальных белков киназы mTOR, то есть самой киназы mTOR, белка первого комплекса Raptor, белка второго комплекса Rictor, двух вторичных мессенджеров, передающих сигналы для синтеза белка – 4E-BP1 и рибосомальной киназы p70-S6K1, а также протеинкиназы B (АКТ). Было показано, что экспрессия Raptor, 4E-BP1 и АКТ выше у пациентов с ожирением по сравнению с пациентом с нормальной массой тела ( $P < 0,05$ ); экспрессия Rictor – основного белка комплекса mTORC2, практически не изменена ( $P > 0,05$ ). Также было показано, что экспрессия активированных (фосфорилированных) белков (p)-mTOR, (p)-Raptor, (p)-p70-

S6K1, (p)-4E-BP1 и (p)-АКТ достоверно повышена в клетках кожи пациентов с ожирением ( $P < 0,05$ ). Это указывает на повышенную активность комплекса mTORC1 и активацию синтеза белка в клетках кожи при ожирении. По данным литературы, активация комплекса mTORC1 в фибробластах повышается при заживлении ран [156]. Оба комплекса – mTORC1 и mTORC2, регулируют морфогенез кожи и формирование эпидермального барьера [114], поэтому активация киназы mTOR и сопряженных белков отражает процессы заживления раны после операции.

Таким образом, белки комплекса mTORC1 активированы в кератиноцитах и фибробластах кожи, и эта активность выше у пациентов с ожирением по сравнению с лицами нормальной массы тела. Поскольку при ожирении повышен процент осложнений, связанный с задержкой заживления операционной раны, можно говорить о том, что наши данные отражают влияние ожирения на осложнения после абдоминопластики.

Кроме задержки сроков заживления операционной раны при ожирении имеются и другие осложнения, связанные, в частности, с частичными некрозами операционного шва, что обусловлено нарушением энергетики клетки. Для уточнения характера изменения клеток при ожирении мы измерили мембранный потенциал митохондрий клеток подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при проведении абдоминопластики. В частности, были выделены из операционного материала адипоциты и окрашены митохондриальным красителем JC-1 [19]. Работа с этим красителем очень удобна для проточной цитометрии, так как на изменение мембранного потенциала митохондрий и, соответственно, энергетического статуса клеток, указывает перемещение гейта клеток вниз по каналу FL2 в связи со снижением интенсивности флуоресценции красителя в красной зоне спектра. Было установлено, что при III степени ожирения достоверно снижен мембранный потенциал митохондрий адипоцитов ( $P < 0,05$ ). Это указывает на готовность клеток погибнуть при активации дополнительных сигналов апоптоза, связанных, например, с ишемией или снижением активности киназы mTOR, координирующей сигнальные пути в клетке от ростовых факторов.

Энергетическое состояние клеток в области операционного шва определяет возможное развитие осложнений в послеоперационном периоде, связанных с гибелью клеток в подкожно-жировой клетчатке. Анализ состояния митохондрий клеток в области шва указывает на снижение энергетического потенциала митохондрий при выраженном ожирении.

В заключении нами был предложен алгоритм действий, который, с нашей точки зрения, позволит ограничить частоту осложнений после абдоминопластики. Он включает в себя дополнительные анализы, прежде всего, это определение иммунного

статуса пациента, что сразу указывает на группу риска по развитию инфекционных осложнений. Второе, это исследование кожи на предмет грибковой или бактериальной контаминации. Если обнаружено, что пациент имеет такие нарушения, то проводится превентивная терапия антибактериальными или антигрибковыми препаратами. Исследование крови методом ИФА на содержание цитокинов и хемокинов сейчас внедряется в план работы Клиники пластической хирургии. При этом я хотел бы подчеркнуть, что данная диссертационная работа носит, скорее, фундаментальный характер, мы исследовали механизмы, лежащие в основе патологических изменений после операции абдоминопластики. Для формирования протокола предоперационных исследований необходимо проведение ещё многих исследовательских работ в этом направлении. Нельзя на основании только одной диссертационной работы рекомендовать строгий алгоритм действий. Поэтому наши рекомендации носят предварительный характер.

Современные тенденции развития данного направления заключаются в комплексном изучении подкожно-жировой ткани, выявлении новых маркеров, указывающих на высокую вероятность развития осложнений после пластических операций, и коррекции выявляемых нарушений. Это позволит существенно улучшить состояние тканей в области операционного шва, повысить уровень локального иммунного ответа, что, в конечном счете, окажет положительное влияние на скорость репарации тканей после операции и минимизирует частоту послеоперационных осложнений.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в сыворотке крови пациентов с ожирением повышены уровни хемокинов CCL2, CCL3 и CCL5 (у мужчин) и провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-34).
2. Установлено, что на нейтрофилах крови пациентов с ожирением повышены уровни активационных антигенов (CD38, HLA-DR), экспрессия рецепторов CD16b, CD85a, CD282, CD11b, CD63, CD66b, TNF, рецепторов FPR1 и FPR2 для бактериальных пептидов, а также экспрессия хемокинов, регулирующих миграцию нейтрофилов в ткани и в сайт воспаления (CCL20).
3. Показано, что при ожирении на субпопуляции CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов повышена экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR6, CCR7, CCR9; на CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитах отмечено повышение количества рецепторов CCR5, CX3CR1, CXCR3, что отражает их способность отвечать на хемокины и аккумулироваться в жировой ткани.
4. Показано, что на клетках подкожно-жировой ткани, выделенных из операционного материала при абдоминопластике у пациентов со II и III степенями ожирения, повышена экспрессия рецепторов TNF, IL-6 и IL-1 $\beta$ , а также рецепторов хемокинов семейства CCR – CCR1, CCR2, CCR5.
5. При ожирении в клетках кожи повышена экспрессия хемокинов CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL13, CCL24 и CCL27, рецепторов хемокинов CXCR3 и CCR10; при этом наблюдается снижение уровня хемокинов CCL17, CCL22 и CCL28, что указывает на нарушение хемокиновой регуляции и является основой для развития осложнений после абдоминопластики.
6. Показано, что при ожирении в фибробластах и кератиноцитах кожи повышена активность вторичных мессенджеров киназы mTOR (фактора 4E-BP1 и рибосомальной киназы p70-S6K1), передающих сигналы для синтеза белка, а также повышена экспрессия белков, ассоциированных с киназой mTOR, преимущественно первого комплекса mTORC1.
7. У пациентов с ожирением III степени снижен мембранный потенциал митохондрий адипоцитов, что указывает на готовность клеток погибнуть при активации дополнительных сигналов апоптоза.

**СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ**

7TM – рецепторы с 7 трансмембранными доменами

Ab – антитело

Ag – антиген

ACKR (atypical chemokine receptor) – атипичные рецепторы хемокинов

ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) – семейство металлопротеиназ

BSA - бычий сывороточный альбумин

CCL (C-C Motif Chemokine Ligand) – обозначение хемокинов семейства CCL

CCR (C-C motif chemokine receptor) – обозначение рецепторов для хемокинов CCL

CD – кластеры дифференцировки

CTL – цитотоксические Т-лимфоциты

CX3CL (C-X3-C motif ligand) – обозначение хемокинов семейства CX3CL

DPP4 – дипептидил-пептидаза-4

eIF2a – фактор транскрипции

ELISA – ферментосвязующий иммуносорбентный анализ

ECM – экстраклеточный матрикс

F(ab)2 – фрагмент иммуноглобулина, связывающий антиген

FACS – флуоресцентно – активирующий клеточный сортер

FCS – эмбриональная телячья сыворотка, ЭТС

FITC – флуоресцеин изотиоцианат

Fmlp (N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine) – формил-пептид

g – единица гравитации

GCSF (granulocyte colony stimulating factor) – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

GPCR (G protein-coupled receptor) – G-протеин сопряжённые рецепторы

HSP – белки теплового шока

ICAM (intercellular adhesion molecules) – молекула межклеточной адгезии

IFN-  $\gamma$  – интерферон гамма

Ig – иммуноглобулин

IL – интерлейкин

ILC (innate lymphoid cells) – лимфоидные клетки природного иммунитета

IP-10 (interferon- $\gamma$ -inducible protein-10) – интерферон- $\gamma$  индуцибельный белок-10

IRF5 (Interferon regulatory factor-5) – интерферон- $\gamma$  регуляторный фактор-5

L – лиганд

mAb – моноклональные антитела

МАРК – митогенактивированная протеинкиназа

MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) – моноцитарный хемотаксический белок-1

MHC – главный комплекс гистосовместимости

MIP-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 alpha) – макрофагальный воспалительный белок-1 альфа

MIP-1 $\beta$  (Macrophage-derived inflammatory protein-1 beta) – макрофагальный воспалительный белок-1 бета

MMP – матриксные металлопротеиназы

NETs (neutrophil extracellular traps) – нейтрофильные экстраклеточные частицы

NF- $\kappa$ B – ядерный фактор транскрипции

NK – натуральные киллеры

NKT клетки – натуральные киллерные лимфоциты

PAR-1 – протеазо-активированный рецептор

PBS - фосфатный буферный раствор

PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) – ростовой фактор тромбоцитов

PF4 (platelet factor 4) – тромбоцитарный фактор-4

PI – пропидиум иодид

PKC – протеинкиназа C

PLA2 – фосфолипаза A2

PLC – фосфолипаза C

PLD - фосфолипаза D

PMA – форболовый эфир ацетата миристиновой кислоты

PPAR- $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ) – пероксисомный пролиферативно-активированный рецептор

PTK – протеинтирозинкиназа

PTP – протеинтирозинфосфатаза

R – рецептор

RANKL (receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand) – сигнальный белок

RANTES (regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted) – CCL5

RIPK3 (Receptor-interacting Protein Kinase 3) – сигнальный белок

ROS – реактивные метаболиты кислорода

s – (soluble), растворимый

STAT (signal transducer and activator of transcription) – сигнальный белок

TCR/CD3 – антиген-специфический рецептор Т лимфоцитов

TGF $\beta$  (Transformed growth factor beta) – трансформирующий ростовой фактор бета

Th1 – Т хелперы первого порядка

Th2 – Т хелперы второго порядка

TLR (Toll-like receptor) – толл-подобные рецепторы

TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухолей альфа

TRAIL – лиганд, ассоциированный с рецептором TNF- $\alpha$

Treg – регуляторные Т клетки

VEGF-R2 (Vascular Endothelium Growth Factor) – ростовой фактор роста сосудов

АТФ – аденозинтрифосфат

ДК – дендритные клетки

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИМТ – индекс массы тела

ЛПС – бактериальный липополисахарид

М – молярность

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

pH - концентрация ионов водорода

РНК - рибонуклеиновая кислота

СРБ - С-реактивный белок

УФ – ультрафиолет

ЦНС – центральная нервная система

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Андреева Е.Н., Абсатарова Ю.С., Шереметьева Е.В., Фурсенко В.А. Ожирение и репродуктивная функция у женщин: эпигенетические и сомато-психологические особенности // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №2. – С.9-15.
- 2) Байтингер В.Ф., Селянинов К.В. Венозный тромбоз в свободных микрохирургических лоскутах // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №1. – С.22-35.
- 3) Богданов С.Б., Каракулев А.В., Поляков А.В., Аладьина В.А., Гилевич И.В., Мелконян К.И., Сотниченко А.С. Совершенствование комплексного применения клеточной терапии и биологических раневых покрытий в лечении пациентов с дефектами кожных покровов // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. – №4. – С.43-49.
- 4) Бондарева Э.А., Задорожная Л.В., Хомякова И.А. Т/А-полиморфизм гена FTO и образ жизни ассоциированы с накоплением жира в разных возрастных группах мужчин // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №2. – С.49-53.
- 5) Бродовская Т.О., Ковин Е.А., Баженова О.В., Гришина И.Ф., Перетолчина Т.Ф. Предикторы висцерального ожирения у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна и нормальной массой тела // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №2. – С.29-35.
- 6) Васюкова О.В. Ожирение у детей и подростков: критерии диагноза // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №1. – С.70-73.
- 7) Гатиатулина Е.Р., Мантурова Н.Е., Димов Г.П., Васильев В.С., Терюшкова Ж.И. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани: механизм действия, перспективы и риски местного применения // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. – №2. – С.43-48.
- 8) Горлова И.А., Омельченко М.Ю., Соколова, Л.А. Бондаренко Б.Б. Тромбоэмболические осложнения на фоне гормональной терапии у женщин. Позиция кардиолога // Трансляционная медицина. – 2020. – Т.7, №4. – С 6-11.
- 9) Егорова М.О., Старцева О.Н., Власенко Е.Ю. Скрининговый тест выявления тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2018. – №3. – С.67-77.
- 10) Елистратова И.В., Тарасова М.В., Морозов С.Г. Динамика генерации супероксидного аниона нейтрофилами крови больных атопическим дерматитом в молодом возрасте // Патогенез. – 2015. – Т.13, №4. – С.41-46.
- 11) Кампф Г. Гигиена рук в медицинских организациях // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2018. – Т.3, №4. – С. 60-72.
- 12) Кандалова О.В., Таратутина Т.В., Мартынова Е.А. Сравнение спонтанного и церамид-индуцированного апоптоза в клетках кожи больных атопическим дерматитом, экземой и псориазом // Патогенез. – 2012. – Т.10, №4. – С.60-65.
- 13) Копасов А.Е., Блохин С.Н., Волкова Е.Н., Морозов С.Г. Экспрессия хемокинов в нейтрофилах и клетках подкожной жировой клетчатки при абдоминопластике у пациентов с ожирением и нормальной массой тела // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2019. – Т. 167, № 6. – С.682-685.
- 14) 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. – Т.15, №3. – С.70-78.
- 15) Копасов А.Е., Волкова Е.Н., Блохин С.Н., Морозов С.Г. Уровень хемокинов, продуцируемых кератиноцитами и фибробластами кожи, при абдоминопластике у пациентов с нормальной массой тела и ожирением // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. –

2020. – Т.64, №3. – С.47-53.

16) 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. – Т.149, №1. – С.50-59.

17) 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. – (Suppl. I). – С.42-44.

18) Копасов А.Е., Иванченко О.Б., Морозов С.Г. Контаминация кожи абдоминальной области условно-патогенными дрожжами как фактор риска развития осложнений после абдоминопластики // Успехи медицинской микологии. – 2017. – Т.ХVII. – С.253-255.

19) 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. – С.100-101.

20) Копасов А.Е., Морозов С.Г. Сравнение хемотаксических свойств и экспрессии рецепторов нейтрофилов у пациентов с ожирением и нормальным весом после проведения абдоминальной пластики // Патогенез. – 2016. – Т.14, №4. – С.51-56.

21) Короткевич О.С., Мозес В.Г., Эйзенах И.А., Соловьев А.В., Власова В.В. Исходы оперативного лечения недостаточности мышц тазового дна 3 степени у женщин пожилого возраста // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2019. – Т.4, №4. – С. 38-46.

22) Круглик Е.В., Круглик С.В., Аронов П.В. Дисморфии (дисморфофобии и дисморфомании) в косметологии и эстетической медицине // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №1. – С.58-64.

23) Куприн П.Е., Фишман М.Б. Сравнительная оценка современных рестриктивных операций у больных с ожирением // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2018. – №4. – С.102.

24) Лескова И.В., Ершова Е.В., Никитина Е.А., Красниковский В.Я., Ершова, Ю.А., Адамская Л.В. Ожирение в России: современный взгляд под углом социальных проблем // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №1. – С.20-26.

25) Мазурина Н.В., Лескова И.В., Трошина Е.А., Логвинова О.В., Адамская Л.В., Красниковский В.Я. Ожирение и стресс: эндокринные и социальные аспекты проблемы в современном российском обществе // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №4. – С.18-24.

26) Мантурова Н.Е., Ступин В.А., Орлова А.С., Силина Е.В. Роль, место и перспективы применения жировых клеток в пластической хирургии // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2020. – №3. – С.76-83.

27) Мишина Е.С., Омельяненко Н.П., Ковалев А.В., Волков А.В., Сморгчов М.М. Структурная динамика кожи при моделировании дерматотензии // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2018. – №4. – С.109.

28) Морозов С.Г., Копасов А.Е. Киназа MTOR и ассоциированные с ней белки в клетках кожи, выделенных при абдоминопластике у пациенток с нормальной массой тела и ожирением // Патол. Физиол. Эксп. Терапия. – 2020. – Т.64, №3. – С.40-46.

29) Москаленко М.И., Пономаренко И.В., Полоников А.В., Сорокина И.Н., Батлуцкая И.В., Чурносоев М.И. Роль ожирения в реализации генетической предрасположенности к развитию гипертонической болезни у мужчин // Ожирение и метаболизм. – 2019. – Т.16, №4. – С.66-72.

30) Обыденнов С.А., Обыденнов Д.С. Анатомическое обоснование абдоминопластики // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2018. – №4. – С.111-112.

31) Плегунова С.И., Зотов В.А., Побережная О.О. Варианты техник в

- абдоминопластике: исторический экскурс и современный взгляд на расположение операционных разрезов // *Фундаментальная и клиническая медицина.* – 2018. – Т.3, №1. – С. 77-89.
- 32) Полянцев А.А., Фролов Д.В., Линченко Д.В., Щелокова Ю.В., Литвинова Т.А., Дьячкова Ю.А. Анализ эффективности терапии варфарином и ривароксабаном тромбоза глубоких вен нижних конечностей в отдалённом периоде // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2020. – №1. – С.56-64.
- 33) Рахимов А.Я., Файзуллин Т.Р., Васильев В.С., Сергеев И.В. Безопасность липофилинга: механизмы, методы профилактики и лечения тяжелых осложнений инъекционной трансплантации жировой ткани // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2020. – №4. – С.73-78.
- 34) Резник А.В. Дермально-субдермальная атрофия после подкожного введения глюкокортикостероидов // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2018. – №4. – С.122.
- 35) Седышев С.Х. Алгоритм оптимизации результатов и снижения количества осложнений после абдоминопластики // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2018. – №4. – С.126.
- 36) Сергиенко Е.Н., Волынская И.А. Абдоминопластика у пациентов с большими вентральными грыжами // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.* – 2018. – №4. – С.126-127.
- 37) Силина Е.В., Мантурова Н.Е., Моргулис Н.В., Ступин В.А. Физиология старения кожи // *Пластическая хирургия и эстетическая медицина.* – 2020. – №2. – С.40-45.
- 38) Тачкова О.А. Артымук Н.В., Сутурина Л.В. Случай беременности и родов после хирургического лечения ожирения // *Фундаментальная и клиническая медицина.* – 2018. – Т.3, №3. – С.97-100.
- 39) Тятенкова Н.Н., Уварова Ю.Е. Распространенность избыточной массы тела и ожирения среди взрослого населения Ярославской области // *Ожирение и метаболизм.* – 2020. – Т.17, №2. – С. 164-170.
- 40) Юдин Д.В., Шулутко Е.М., Валетова В.В., Савушкин А.В., Дубровина Р.С. Выбор теста тромбоэластометрии для оценки эффекта профилактической дозы низкомолекулярных гепаринов // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2020. – №4. – С.71-77.
- 41) GLI2012 <http://www.lungfunction.org>
- 42) GenBank database, Available at <http://www.ncbi.nih.gov/Genbank/>
- 43) [http://www.bdbiosciences.com/ds/ab/others/551302\\_Book\\_Website.pdf](http://www.bdbiosciences.com/ds/ab/others/551302_Book_Website.pdf)
- 44) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- 45) Aboyousssef A., Abdel-Sattar A., Abdel-Bakky M., Messiha B. Enoxaparin prevents CXCL16/ ADAM10-mediated cisplatin renal toxicity: Role of the coagulation system and the transcriptional factor NF- $\kappa$ B // *Life Sci.* -2021. – Vol.270. – P.119120.
- 46) Abusamra D., Panjwani N., Argüeso P. Induction of CXCL10-mediated cell migration by different types of galectins // *Cells.* – 2021. – Vol.10, N.2. – P.274-281.
- 47) Ackun-Farmmer M., Soto C., Lesch M., Byun D., Yang L., Calvi L., Benoit D., Frisch B. Reduction of leukemic burden via bone-targeted nanoparticle delivery of an inhibitor of C-chemokine (C-C motif) ligand 3 (CCL3) signaling // *FASEB J.* – 2021. – Vol.35, N.4. – P.e21402.
- 48) Afshin A., Forouzanfar M., Reitsma M., Sur P., Estep K., Lee A. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years // *N. Engl. J. Med.* – 2017. – Vol.377, N.1. – P.13-27.
- 49) Alizada A., Khyzha N., Wang L., Antounians L., Chen X., Khor M., Liang M., Rathnakumar K., Weirauch M., Medina-Rivera A., Fish J., Wilson M. Conserved regulatory logic

- at accessible and inaccessible chromatin during the acute inflammatory response in mammals // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol.12, N.1. – P.567574.
- 50) Almutairi K., Gusenoff J., Rubin J. Body contouring // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2016. – Vol.137, N.3. – P.586e-602e.
- 51) 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. – Vol.122, N.3. – P.117-122.
- 52) Aly A., Mueller M. Circumferential truncal contouring: the belt lipectomy // *Clin. Plast. Surg.* – 2014. – Vol.41, N.4. – P.765-774.
- 53) Amano S., Cohen J., Vangala P., Tencerova M., Nicoloro S., Yawe J., Shen Y., Czech M., Aouadi M. Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation // *Cell. Metab.* – 2014. – Vol.19. – P.162–171.
- 54) Amrouche L., Desbuissons G., Rabant M., Sauvaget V., Nguyen C., Benon A., Rabaté C., Lebreton X., Gallazzini M., Legendre C., Terzi F., Anglicheau D. MicroRNA-146a in human and experimental ischemic AKI: CXCL8-dependent mechanism of action // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2017. – Vol.28, N.2. – P.479-493.
- 55) Amsellem V., Abid S., Poupel L., Parpaleix A., Rodero M., Gary-Bobo G., Latiri M., Dubois-Rande J., Lipskaia L., Combadiere C., Adnot S. Roles for the CX3CL1/CX3CR1 and CCL2/CCR2 chemokine systems in hypoxic pulmonary hypertension // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2017. – Vol.56, N.5. – P.597-608.
- 56) 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. – Vol.107, N.3. – P.455-466.
- 57) Anderson D., Jones A., Gaido C., Carter K., Laing I., Bosco A., Thomas W., Hales B. Differential gene expression of lymphocytes stimulated with rhinovirus A and C in children with asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2020. – Vol.202, N.2. – P.202-209.
- 58) Apostolopoulos V., de Courten M., Stojanovska L., Blatch G., Tangalakis K., de Courten B. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2016. – Vol.60, N.1. – P.43-57.
- 59) Arnaoutakis D., Scully R., Sharma G., Shah S., Ozaki C., Belkin M., Nguyen L. Impact of body mass index and gender on wound complications after lower extremity arterial surgery // *J. Vasc. Surg.* – 2017. – Vol.65, N.6. – P.1713-1718.
- 60) Arshid S., Tahir M., Fontes B., de Souza-Montero E., Castro M., Sidoli S., Roepstorff P., Fontes W. High performance mass spectrometry based proteomics reveals enzyme and signaling pathway regulation in neutrophils during the early stage of surgical trauma // *Proteomics. Clin. Appl.* – 2017. – Vol.11, N.1-2. – P.78-84.
- 61) Atamna A., Elis A., Gilady E., Gitter-Azulay L., Bishara J. How obesity impacts outcomes of infectious diseases // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2017. – Vol.36, N.3. – P.585-591.
- 62) Bachelierie F, Graham G, Locati M, Mantovani A, Murphy P, Nibbs R., Rot A., Sozzani S., Thelen M. New nomenclature for atypical chemokine receptors // *Nat. Immunol.* – 2014. – Vol.15, N.3. – P.207-208.
- 63) Bachelierie F, Graham G, Locati M, Mantovani A, Murphy P, Nibbs R., Rot A., Sozzani S., Thelen M. An atypical addition to the chemokine receptor nomenclature: IUPHAR Review 15 // *Br. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol.172, N.16. – P.3945-3949.
- 64) Baëhl S., Garneau H., Le Page A., Lorrain D., Viens I., Svtelis A., Lord J., Phillips A., Cabana F., Larbi A., Dupuis G., Fülöp T. Altered neutrophil functions in elderly patients during a 6-month follow-up period after a hip fracture // *Exp. Gerontol.* – 2015. – Vol.65. – P.58-68.
- 65) Bapat S., Liang Y., Zheng Y. Characterization of immune cells from adipose tissue // *Curr. Protoc. Immunol.* – 2019. – Vol.126, N.1. – P.e86-e91.

- 66) Barry J., Simtchouk S., Durrer C., Jung M., Little J. Short-term exercise training alters leukocyte chemokine receptors in obese adults // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2017. – Vol.49, N.8. – P.1631-1640.
- 67) Bartels E., Andersen E., Olsen J., Kristensen L., Bliddal H., Danneskiold-Samsøe B., Harrison A. Muscle assessment using multi-frequency bioimpedance in a healthy Danish population aged 20-69 years: a powerful non-invasive tool in sports and in the clinic // *Physiol. Rep.* – 2019. – Vol.7, N.11. – P.e14109.
- 68) Basic M., Peppermüller P., Bolsega S., Bleich A., Bornemann M., Bode U., Buettner M. Lymph node stromal cells from different draining areas distinctly regulate the development of chronic intestinal inflammation // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol.11. – P.549473.
- 69) Béke G., Dajnoki Z., Kapitány A., Gáspár K., Medgyesi B., Póliska S. Hendrik Z., Péter Z., Törőcsik D., Bíró T., Szegedi A. Immunotopographical differences of human skin // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol.9. – P.424-432.
- 70) 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. – Vol.91, N.3. – P.e12852.
- 71) Bloom M., Zaw A., Hoang D., Mason R., Alban R., Chung R. Body mass index strongly impacts the diagnosis and incidence of heparin-induced thrombocytopenia in the surgical intensive care unit // *J. Trauma Acute Care Surg.* – 2016. – Vol.80, N.3. – P.398-403.
- 72) Bodo M., Jimenez E., Conn C., Dye A., Pomo P., Kolkmeier D., Orlando R., Kong A. Association between circulating CCL2 levels and modifiable behaviors in overweight and obese adolescents: a cross-sectional pilot study // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol.29, N.4. – P.441-449.
- 73) Bougaret L., Delort L., Billard H., Lequeux C., Goncalves-Mendes N., Mojallal A., Damour O., Vasson M., Caldefie-Chezet F. Supernatants of adipocytes from obese versus normal weight women and breast cancer cells: In vitro impact on angiogenesis // *J. Cell. Physiol.* – 2017. – Vol.232, N.7. – P.1808-1816.
- 74) Bradley D., Shantaram D., Smith A., Hsueh W. Adipose tissue T regulatory cells: implications for health and disease // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2021. – Vol.1278. – P.125-139.
- 75) Brake D., Smith C. Flow cytometry on the stromal-vascular fraction of white adipose tissue // *Methods Mol. Biol.* – 2008. – Vol.456. – P.221-229.
- 76) Brotfain E., Hadad N., Shapira Y., Avinoah E., Zlotnik A., Raichel L., Levy R. Neutrophil functions in morbidly obese subjects // *Clin. Exp. Immunol.* – 2015. – Vol.181, N.1. – P.156-163.
- 77) Browne T., Dearman R., Poles A. Human neutrophil antigens: Nature, clinical significance and detection // *Int. J. Immunogenet.* – 2021. – Vol.48, N.2. – P.145-156.
- 78) Buitrago M., Aguado J., Ballen A., Bernal-Martinez L., Prieto M., Garcia-Reyne A., Garcia-Rodriguez J., Rodriguez-Tudela J., Cuenca-Estrella M. Efficacy of DNA amplification in tissue biopsy samples to improve the detection of invasive fungal disease // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2013. – Vol.19, N.6. – P.E271-E277.
- 79) 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. – Vol.42, N.6. – P.703-715.
- 80) Burke S., Karlstad M., Regal K., Sparer T., Lu D., Elks C., Grant R., Stephens J., Burk D., Collier J. CCL20 is elevated during obesity and differentially regulated by NF- $\kappa$ B subunits in pancreatic  $\beta$ -cells // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2015. – Vol.1849, N.6. – P.637-652.
- 81) Calvez J., de Ávila C., Timofeeva E. Sex-specific effects of relaxin-3 on food intake and body weight gain // *Br. J. Pharmacol.* – 2017. – Vol.174, N.10. – P.1049-1060.
- 82) Cano-Gamez E., Soskic B., Roumeliotis T., So E., Smyth D., Baldrighi M., Willé D., Nakic N., Esparza-Gordillo J., Larminie C., Bronson P., Tough D., Rowan W., Choudhary J.,

- Trynka G. Single-cell transcriptomics identifies an effectorness gradient shaping the response of CD4+ T cells to cytokines // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol.11, N.1. – P.1801-1816.
- 83) Cao J., Zhu W., Yu D., Pan L., Zhong L., Xiao Y., Gao Y., Jiao Y., Zhang Q., Ji J., Yang H., Zhang S., Cao J. The involvement of SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis in radiation-induced acute injury and fibrosis of skin // *Radiat. Res.* – 2019. – Vol.192, N.4. – P.410-421.
- 84) Cappellano G., Morandi E., Rainer J., Grubwieser P., Heinz K., Wolfram D., Bernhard D., Lobenwein S., Pierer G., Ploner C. Human macrophages preferentially infiltrate the superficial adipose tissue // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol.19, N.5. – P.1404-1409.
- 85) Capucetti A., Albano F., Bonecchi R. Multiple roles for chemokines in neutrophil biology // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11 – P.1259-1268.
- 86) Carloni R., De Runz A., Chaput B., Herlin C., Girard P., Watier E., Bertheuil N. Circumferential contouring of the lower trunk: Indications, operative techniques, and outcomes – A systematic review // *Aesthetic Plast. Surg.* – 2016. – Vol.40, N.5. – P.652-668.
- 87) Carloni R., Naudet F., Chaput B., de Runz A., Herlin C., Girard P., Watier E., Bertheuil N. Are there factors predictive of postoperative complications in circumferential contouring of the lower trunk? A Meta-Analysis // *Aesthet. Surg. J.* – 2016. – Vol.36, N.10. – P.1143-1154.
- 88) Cerri C., Caleo M., Bozzi Y. Chemokines as new inflammatory players in the pathogenesis of epilepsy // *Epilepsy Res.* – 2017. – Vol.136. – P.77-83.
- 89) Chang C., Chang Y., Liu P., Wu S., Chiu C., Chen C., Wu C. Interaction of central obesity and sarcopenia on nutritional status in the community-dwelling older people // *Arch. Gerontol. Geriatr.* – 2020. – Vol.87. – P.104003.
- 90) Chang E., Lee S., Song Y., Jang Y., Park H., Hong J., Ko A., Kim D., Kim J., Lee Y., Heo Y. IL-34 is associated with obesity, chronic inflammation, and insulin resistance // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol.99, N.7. – P.E1263-E1271.
- 91) Chauveau A., Pirogova G., Cheng H., De Martin A., Zhou F., Wideman S., Rittscher J., Ludewig B., Arnon T. Visualization of T cell migration in the spleen reveals a network of perivascular pathways that guide entry into T zones // *Immunity.* – 2020. – Vol.52, N.5. – P.794-807.
- 92) Chen B., Li H., Xia W. The role of Th1/Th2 cell chemokine expression in hypertrophic scar // *Int. Wound J.* – 2020. – Vol.17, N.1. – P.197-205.
- 93) Chen P., Wu C., Fang J., Chen H., Feng L., Huang C., Wei K., Fang J., Lin C. Functional change of effector tumor-infiltrating CCR5+CD38+HLA-DR+CD8+ T Cells in glioma microenvironment // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.2395-2399.
- 94) Chen Z., Haus J., Chen L., Wu S., Urao N., Koh T., Minshall R. CCL28-induced CCR10/eNOS interaction in angiogenesis and skin wound healing // *FASEB J.* – 2020. – Vol.34, N.4. – P.5838-5850.
- 95) Cheng F., Gao X., Bao L., Mitchell D., Wood C., Sliwinski M., Smiciklas-Wright H., Still C., Rolston D., Jensen G. Obesity as a risk factor for developing functional limitation among older adults: A conditional inference tree analysis // *Obesity (Silver Spring).* – 2017. – Vol.25, N.7. – P.1263-1269.
- 96) Chetta M., Aliu O., Tran B., Abdulghani M., Kidwell K., Momoh A. Complications in body contouring stratified according to weight loss method // *Plast. Surg. (Oakv).* – 2016. – Vol.24, N.2. – P.103-109.
- 97) Cho K., Morris D., Lumeng C. Flow cytometry analyses of adipose tissue macrophages // *Methods Enzymol.* – 2014. – Vol.537. – P.297-314.
- 98) Colebunders B., Van Landuyt K. Abdominoplasty and gluteoplasty after massive weight loss: an all-in-one technique // *Acta Chir. Belg.* – 2016. – Vol.1. – P.5-9.
- 99) 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. – Vol.9. – P.1867-1881.
- 100) Correia-Gonçalves I., Valença-Filipe R., Carvalho J., Rebelo M., Peres H., Amarante J., Costa-Ferreira A. Abdominoplasty with Scarpa fascia preservation - comparative study in a bariatric population // *Surg. Obes. Relat. Dis.* – 2017. – Vol.13, N.3. – P.423-428.
- 101) 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. – Vol.35, N.4. – P.841-846.
- 102) Cuzzzone D., Weitman E., Albano N., Ghanta S., Savetsky I., Gardenier J., Joseph W., Torrisi J., Bromberg J., Olszewski W., Rockson S., Mehrara B. IL-6 regulates adipose deposition and homeostasis in lymphedema // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2014. – Vol.306, N.10. – P.H1426-H1434.
- 103) Dam V., Sikder T., Santosa S. From neutrophils to macrophages: differences in regional adipose tissue depots // *Obes. Rev.* – 2016. – Vol.17, N.1. – P.1-17.
- 104) Davenport A., Alexander S., Sharman J., Pawson A., Benson H., Monaghan A., Liew W., Mpamhanga C., Bonner T., Neubig R., Pin J., Spedding M., Harmar A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXVIII. G protein-coupled receptor list: recommendations for new pairings with cognate ligands // *Pharmacol. Rev.* – 2013. – Vol.65, N.3. – P.967-986.
- 105) De Buck M., Berghmans N., Pörtner N., Vanbrabant L., Cockx M., Struyf S., Opdenakker G., Proost P., Van Damme J., Gouwy M. Serum amyloid A1 $\alpha$  induces paracrine IL-8/CXCL8 via TLR2 and directly synergizes with this chemokine via CXCR2 and formyl peptide receptor 2 to recruit neutrophils // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol.98, N.6. – P.1049-1060.
- 106) De Filippo K., Dudeck A., Hasenberg M., Nye E., van Rooijen N., Hartmann K., Gunzer M., Roers A., Hogg N. Mast cell and macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation // *Blood.* – 2013 – Vol.121, N.24. – P.4930-4937.
- 107) De Simone G., Mazza E., Cassotta A., Davydov A., Kuka M., Zanon V. CXCR3 identifies human Naive CD8+T Cells with enhanced effector differentiation potential // *J. Immunol.* – 2019. – Vol.203, N.12. – P.3179-3189.
- 108) Demaret J., Venet F., Friggeri A., Cazalis M., Plassais J., Jallades L., Malcus C., Poitevin-Later F., Textoris J., Lepape A., Monneret G. Marked alterations of neutrophil functions during sepsis-induced immunosuppression // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol.98, N.6. – P.1081-1090.
- 109) Deng Y., Tan R., Li F., Liu Y., Shi J., Gong Q. Isorhynchophylline ameliorates cerebral ischemia / reperfusion injury by inhibiting CX3CR1-mediated microglial activation and neuroinflammation // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol.12. – P.574793.
- 110) Di Ciaula A., Portincasa P. Diet and contaminants: Driving the rise to obesity epidemics? // *Curr. Med. Chem.* – 2019. – Vol.26, N.19. – P.3471-3482.
- 111) Di Ciaula A., Portincasa P. The environment as a determinant of successful aging or frailty // *Mech. Ageing Dev.* – 2020. – Vol.188. – P.111244.
- 112) Di Sano K., Gilli F., Pachner A. Are CSF CXCL13 concentrations solely dependent on intrathecal production? A commentary on "Chemokine CXCL13 in serum, CSF, and blood-CSF barrier function" // *Fluids Barriers CNS.* – 2021. – Vol.18, N.1. – P.9-11.
- 113) Diebel M., Diebel L., Liberati D. Gender dimorphism in adipose tissue response to stress conditions: A plausible mechanism to explain the conflicting data regarding trauma and obesity // *J. Trauma Acute Care Surg.* – 2016. – Vol.81, N.6. – P.1028-1034.
- 114) Ding X., Bloch W., Iden S., Rüegg M., Hall M., Leptin M., Partridge L., Eming S. mTORC1 and mTORC2 regulate skin morphogenesis and epidermal barrier formation // *Nat. Commun.* – 2016. – Vol.7. – P.13226-13231.
- 115) Divoux A., Sandor K., Bojcsuk D., Yi F., Hopf M., Smith J., Balint B., Osborne T., Smith S. Fat distribution in women is associated with depot-specific transcriptomic signatures and

chromatin structure // *J. Endocr. Soc.* – 2020. – Vol.4, N.6. – P.bvaa042.

116) Divoux A., Xie H., Li J., Karastergiou K., Perera R., Chang R., Fried S., Smith S. MicroRNA-196 regulates HOX gene expression in human gluteal adipose tissue // *Obesity (Silver Spring)*. – 2017. – Vol.25, N.8. – P.1375-1383.

117) Dobner J., Kaser S. Body mass index and the risk of infection - from underweight to obesity // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2018. – Vol.24, N.1. – P.24-28.

118) Dommel S., Blüher M. Does C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) link obesity to a pro-inflammatory state? // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.3. – P.1500-1512.

119) Dorward D., Lucas C., Chapman G., Haslett C., Dhaliwal K., Rossi A. The role of formylated peptides and formyl peptide receptor 1 in governing neutrophil function during acute inflammation // *Am. J. Pathol.* – 2015. – Vol.185, N.5. – P.1172-1184.

120) Duscher D., Pollhammer M., Wenny R., Shamiyeh A., Schmidt M., Huemer G. Barbed sutures in body-contouring: outcome analysis of 695 procedures in 623 patients and technical advances // *Aesthetic Plast. Surg.* – 2016. – Vol.40, N.6. – P.815-821.

121) Emdin C., Khera A., Kathiresan S. Genetic predisposition to abdominal obesity and cardiometabolic risk-reply // *J.A.M.A.* – 2017. – Vol.317, N.22. – P.2334-2335.

122) Epstein S., Epstein M., Gutowski K. Lipoabdominoplasty without drains or progressive tension sutures: an analysis of 100 consecutive patients // *Aesthet. Surg. J.* – 2015. – Vol.35, N.4. – P.434-440.

123) Erdal E., İnanir M. Platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and Plateletcrit (PCT) in young patients with morbid obesity // *Rev. Assoc. Med. Bras.* (1992). – 2019. – Vol.65, N.9. – P.1182-1187.

124) Eriksson-Hogling D., Petrus P., Gao H., Bäckdahl J., Dahlman I., Laurencikiene J., Acosta J., Ehrlund A., Näslund E., Kulyte A., Mejhert N., Andersson D., Arner P., Rydén M. Adipose and circulating CCL18 levels associate with metabolic risk factors in women // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol.101, N.11. – P.4021-4029.

125) Esteve-Ràfols M. Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity // *Endocrinol. Nutr.* – 2014. – Vol.61, N.2. – P.100-112.

126) Fawcner-Corbett D., Simmons A., Parikh K. Microbiome, pattern recognition receptor function in health and inflammation // *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* – 2017. – Vol.31, N.6. – P.683-691.

127) Fischer T., Schoeder C., Zellmann T., Stichel J., Meiler J., Beck-Sickinger A. Cyclic analogues of the chemerin C-terminus mimic a loop conformation essential for activating the chemokine-like receptor 1 // *J. Med. Chem.* – 2021. – Vol.64, N.6. – P.3048-3058.

128) 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. – Vol.14, N.7. – P.e0219545.

129) Froylich D., Corcelles R., Daigle C., Aminian A., Isakov R., Schauer P., Brethauer S. Weight loss is higher among patients who undergo body contouring procedures after bariatric surgery // *Surg. Obes. Relat. Dis.* – 2016. – Vol.12, N.9. – P.1731-1736.

130) Fu Q., Zeng Q., Li Y., Yang Y., Li C., Liu S., Zhou T., Li N., Yao J., Jiang C., Li D., Liu Z. The chemokine superfamily in channel catfish: I. CXC subfamily and their involvement in disease defense and hypoxia responses // *Fish Shellfish Immunol.* – 2017. – Vol.60. – P.380-390.

131) Fujishiro K., Lividoti-Hibert E., Schernhammer E., Rich-Edwards J. Shift work, job strain and changes in the body mass index among women: a prospective study // *Occup. Environ. Med.* – 2017. – Vol.74, N.6. – P.410-416.

132) Fukui Y., Miyagawa T., Hirabayashi M., Yamashita T., Saigusa R., Miura S., Nakamura K., Yoshizaki A., Sato S., Asano Y. Possible association of decreased serum CXCL14 levels with digital ulcers in patients with systemic sclerosis // *J. Dermatol.* – 2019. – Vol.46, N.7. – P.584-

589.

- 133) Funk L., Shan Y., Voils C., Kloke J., Hanrahan L. Electronic health record data versus the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): A comparison of overweight and obesity rates // *Med. Care.* – 2017. – Vol.55, N.6. – P.598-605.
- 134) Furue K., Ito T., Tanaka Y., Yumine A., Hashimoto-Hachiya A., Takemura M., Murata M., Yamamura K., Tsuji G., Furue M. Cyto/chemokine profile of in vitro scratched keratinocyte model: Implications of significant upregulation of CCL20, CXCL8 and IL36G in Koebner phenomenon // *J. Dermatol. Sci.* – 2019. – Vol.94, N.1. – P.244-251.
- 135) Furuncuoğlu Y., Tulgar S., Dogan A., Cakar S., Tulgar Y., Cakiroglu B. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol.20, N.7. – P.1300-1306.
- 136) Galyfos G., Geropapas G., Kerasidis S., Sianou A., Sigala F., Filis K. The effect of body mass index on major outcomes after vascular surgery // *J. Vasc. Surg.* – 2017. – Vol.65, N.4. – P.1193-1207.
- 137) Gao D., Tang T., Zhu J., Tang Y., Sun H., Li S. CXCL12 has therapeutic value in facial nerve injury and promotes Schwann cells autophagy and migration via PI3K-AKT-mTOR signal pathway // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – Vol.124. – P.460-468.
- 138) Gericke M., Weyer U., Braune J., Bechmann I., Eilers J. A method for long-term live imaging of tissue macrophages in adipose tissue explants // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol.308, N.11. – P.E1023-E1033.
- 139) Getachew A., Yang Z., Huang X., Wu F., Liu Y., Yan C., Yang F., Li Y. Generation of a TLR2 homozygous knockout human embryonic stem cell line WAe001-A-64 using CRISPR/Cas9 editing // *Stem Cell Res.* – 2021. – Vol.54. – P.102401.
- 140) Ghnnam W., Elrahawy A., Moghazy M. The effect of body mass index on outcome of abdominoplasty operations // *World J. Plast. Surg.* – 2016. – Vol.5, N.3. – P.244-251.
- 141) Gonzales K., Fuchs E. Skin and its regenerative powers: an alliance between stem cells and their niche // *Dev. Cell.* – 2017. – Vol.43. – P.387-401.
- 142) Gopalakrishnan A., Dietzold J., Verma S., Bhagavathula M., Salgame P. Toll-like receptor 2 prevents neutrophil-driven immunopathology during infection with *Mycobacterium tuberculosis* by curtailing CXCL5 production // *Infect. Immun.* – 2019. – Vol.87, N3. – P.e00760-18.
- 143) Gouwy M., Ruytinx P., Radice E., Claudi F., Van Raemdonck K., Bonecchi R., Locati M., Struyf S. CXCL4 and CXCL4L1 differentially affect monocyte survival and dendritic cell differentiation and phagocytosis // *PLoS One.* – 2016. – Vol.11, N.11. – P.e0166006.
- 144) Groeneveld C., Fontugne J., Cabel L., Bernard-Pierrot I., Radvanyi F., Allory Y., de Reyniès A. Tertiary lymphoid structures marker CXCL13 is associated with better survival for patients with advanced-stage bladder cancer treated with immunotherapy // *Eur. J. Cancer.* – 2021. – Vol.148. – P.181-189.
- 145) Guo X., Cheng L., Yang S., Che H. Pro-inflammatory immunological effects of adipose tissue and risk of food allergy in obesity: Focus on immunological mechanisms // *Allergol. Immunopathol. (Madr).* – 2020. – Vol.48, N3. – P.306-312.
- 146) Gupta V., Winocour J., Rodriguez-Feo C., Bamba R., Shack R., Grotting J., Higdon K. Safety of aesthetic surgery in the overweight patient: Analysis of 127 961 patients // *Aesthet. Surg. J.* – 2016. – Vol.36, N.6. – P.718-729.
- 147) Haam J., Kim Y., Koo H., Haam J., Seo N., Kim H., Park K., Park K., Kim M. Intermuscular adipose tissue is associated with monocyte chemoattractant protein-1, independent of visceral adipose tissue // *Clin. Biochem.* – 2016. – Vol.49, N.6. – P.439-443.
- 148) Hagman D., Kuzma J., Larson I., Foster-Schubert K., Kuan L., Cignarella A., Geamanu E., Makar K., Gottlieb J., Kratz M. Characterizing and quantifying leukocyte populations in

- human adipose tissue: impact of enzymatic tissue processing // *J. Immunol. Methods.* – 2012. – Vol.386, N.1-2. – P.50-59.
- 149) Hamra S., Small K. Cosmetic body lift // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2016. – Vol.137, N.2. – P.453-461.
- 150) Hellmann J., Sansbury B., Holden C., Tang Y., Wong B., Wysoczynski M., Rodriguez J., Bhatnagar A., Hill B., Spite M. CCR7 maintains nonresolving lymph node and adipose inflammation in obesity // *Diabetes.* – 2016. – Vol.65, N.8. – P.2268–2281.
- 151) Honda M., Takeichi T., Hashimoto S., Yoshii D., Isono K., Hayashida S., Ohya Y., Yamamoto H., Sugawara Y., Inomata Y. Intravital imaging of neutrophil recruitment reveals the efficacy of FPR1 blockade in hepatic ischemia-reperfusion injury // *J. Immunol.* – 2017. – Vol.198, N.4. – P.1718-1728.
- 152) Hsieh C., Hsu S., Yao M., Huang D. CD9 upregulation-decreased CCL21 secretion in mesenchymal stem cells reduces cancer cell migration // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol.22, N.4. – P.1738-1745.
- 153) Hsu H., Chen Y., Chen Y., Lin C., Chen P., Liao S., Lim C., Yamaguchi Y., Hsu C., Dzhagalov I. Heparan sulfate is essential for thymus growth // *J. Biol. Chem.* – 2021. – Vol.296. – P.100419.
- 154) Hu L., Hu J., Chen L., Zhang Y., Wang Q., Yang X. Interleukin-22 from type 3 Innate Lymphoid Cells aggravates lupus nephritis by promoting macrophage infiltration in lupus-prone mice // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol.12. – P.584414.
- 155) Hu M., Longaker M. Dipeptidyl peptidase-4, wound healing, scarring, and fibrosis // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2016. – Vol.138, N.5. – P.1026-1031.
- 156) Hu X., Zhang H., Li X., Li Y., Chen Z. Activation of mTORC1 in fibroblasts accelerates wound healing and induces fibrosis in mice // *Wound Repair Regen.* – 2020. – Vol.28, N.1. – P.6-15.
- 157) 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. – Vol.9, N.5. – P.2723-2730.
- 158) Hywood J., Rice G., Pigeon S., Read M., Biro M. Detection and characterization of chemotaxis without cell tracking // *J. R. Soc. Interface.* – 2021. – Vol.18, N.176. – P.20200879.
- 159) Ignacio R., Gibbs C., Lee E., Son D. Differential chemokine signature between human preadipocytes and adipocytes // *Immune Netw.* – 2016. – Vol.16, N.3. – P.189-194.
- 160) Ishii M., Araki S., Goto M., Yamamoto Y., Kusuhara K. CCL2 level is elevated with metabolic syndrome and CXCL10 level is correlated with visceral fat area in obese children // *Endocr. J.* – 2016. – Vol.63, N.9. – P.795-804.
- 161) Iwamoto R., Takahashi T., Yoshimi K., Imai Y., Koide T., Hara M., Ninomiya T., Nakamura H., Sayama K., Yukita A. Chemokine ligand 28 (CCL28) negatively regulates trabecular bone mass by suppressing osteoblast and osteoclast activities // *J. Bone Miner. Metab.* – 2021. – Vol.39, N.2. – P.323-334.
- 162) Janssens R., Struyf S., Proost P. The unique structural and functional features of CXCL12 // *Cell. Mol. Immunol.* – 2018. – Vol.15, N.4. – P.299-311.
- 163) Jo J., Kennedy E., Kong H. Research techniques made simple: Bacterial 16S ribosomal RNA gene sequencing in cutaneous research // *J. Invest. Dermatol.* – 2016. – V.136. – P.23-27.
- 164) Joshi N., Nagar N., Gulati K., Gangele K., Mishra A., Kumar D., Poluri K. Dissecting the differential structural and dynamics features of CCL2 chemokine orthologs // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2020. – Vol.156. – P.239-251.
- 165) Jovic S., Linge H., Shikhagaie M., Olin A., Lannefors L., Erjefält J., Mörgelin M., Egesten A. The neutrophil-recruiting chemokine GCP-2/CXCL6 is expressed in cystic fibrosis airways and retains its functional properties after binding to extracellular DNA // *Mucosal*

Immunol. – 2016. – Vol.9, N.1. – P.112-123.

166) Kang L., Schmalzl A., Leupold T., Gonzalez-Acera M., Atreya R., Neurath M., Becker C., Wirtz S. CCR8 signaling via CCL1 regulates responses of intestinal IFN- $\gamma$  producing Innate Lymphoid Cells and protects from experimental colitis // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol.11. – P.609400.

167) Kawamura N., Katsuura G., Yamada-Goto N., Novianti E., Inui A., Asakawa A. Impaired brain fractalkine-CX3CR1 signaling is implicated in cognitive dysfunction in diet-induced obese mice // *BMJ Open Diabetes Res. Care.* – 2021. – Vol.9, N.1. – P.e001492.

168) Kim B., Pallua N., Bernhagen J., Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor protein superfamily in obesity and wound repair // *Exp. Mol. Med.* – 2015. – Vol.47. – P.e161-e167.

169) Kim D., Haynes C. On-chip evaluation of neutrophil activation and neutrophil-endothelial cell interaction during neutrophil chemotaxis // *Anal. Chem.* – 2013. – Vol.85, N.22. – P.10787-10796.

170) Kim H., Sung J., Kim H., Ryu H., Cho Park H., Oh Y., Lee H., Oh K., Ahn C. Expression and secretion of CXCL12 are enhanced in autosomal dominant polycystic kidney disease // *BMB Rep.* – 2019. – Vol.52, N.7. – P.463-468.

171) Kimura T., Nada S., Takegahara N., Okuno T., Nojima S., Kang S., Ito D., Morimoto K., Hosokawa T., Hayama Y., Mitsui Y., Sakurai N., Sarashina-Kida H., Nishide M., Maeda Y., Takamatsu H., Okuzaki D., Yamada M., Okada M., Kumanogoh A. Polarization of M2 macrophages requires Lamtor1 that integrates cytokine and amino-acid signals // *Nat. Commun.* 2016. – Vol.7. – P.13130.

172) Kitaura A., Nishinaka T., Hamasaki S., Hatipoglu O., Wake H., Nishibori M., Mori S., Nakao S., Takahashi H. Advanced glycation end-products reduce lipopolysaccharide uptake by macrophages // *PLoS One.* – 2021. – Vol.16, N.1. – P.e0245957.

173) Klinedinst B., Pappas C., Le S., Yu S., Wang Q., Wang L., Allenspach-Jorn K. Mochel J., Willette A. Aging-related changes in fluid intelligence, muscle and adipose mass, and sex-specific immunologic mediation: A longitudinal UK Biobank study // *Brain Behav. Immun.* – 2019. – Vol.82. – P.396-405.

174) 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. – Vol.35, N.2. – P.e3087- e3092.

175) Komissarov A., Potashnikova D., Freeman M., Gontarenko V., Maytesyan D., Lederman M., Vasilieva E., Margolis L. Driving T-cells to human atherosclerotic plaques: CCL3/CCR5 and CX3CL1/CX3CR1 migration axes // *Eur. J. Immunol.* – 2021, - Vol.51, N.3. – P.834-845.

176) Kosaka K., Kubota Y., Adachi N., Akita S., Sasahara Y., Kira T. Kuroda M., Mitsukawa N., Bujo H., Satoh K. Human adipocytes from the subcutaneous superficial layer have greater adipogenic potential and lower PPAR- $\gamma$  DNA methylation levels than deep layer adipocytes // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2016. – Vol.311, N.2. – P.C322-C329.

177) Králová Lesná I., Kralova A., Cejkova S., Froněk J., Petras M., Sekerkova A., Thieme F., Janousek L., Poledne R. Characterization and comparison of adipose tissue macrophages from human subcutaneous, visceral and perivascular adipose tissue // *J. Transl. Med.* – 2016. – Vol.14, N.1. – P.208-215.

178) Kretschmer D., Rautenberg M., Linke D., Peschel A. Peptide length and folding state govern the capacity of staphylococcal  $\beta$ -type phenol-soluble modulins to activate human formyl-peptide receptors 1 or 2 // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol.97, N.4. – P.689-697.

179) Kung T., Champaneria M., Maki J., Neligan P. Current concepts in the surgical management of lymphedema // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2017. – Vol.139, N.4. – P.1003e-1013e.

180) Kuo P., Tuong Z., Teoh S., Frazer I., Mattarollo S., Leggatt G. HPV16E7-induced hyperplasia promotes CXCL9/10 expression and induces CXCR3 + T-cell migration to skin // *J.*

Invest. Dermatol. – 2018. – Vol.138, N.6. – P.1348-1359.

181) Kuroki L., Mullen M., Massad L., Wu N., Liu J., Mutch D., Powell M., Hagemann A., Thaker P., McCourt C., Novetsky A. Wound complication rates after staples or suture for midline vertical skin closure in obese women: A randomized controlled trial // *Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol.130, N.1. – P.91-99.

182) Kursawe R., Dixit V., Scherer P., Santoro N., Narayan D., Gordillo R., Giannini C., Lopez X., Pierpont B., Nouws J., Shulman G., Caprio S. A role of the inflammasome in the low storage capacity of the abdominal subcutaneous adipose tissue in obese adolescents // *Diabetes.* – 2016. – Vol.65, N.3. – P.610-618.

183) Kushnir M., Cohen H., Billett H. Persistent neutrophilia is a marker for an increased risk of venous thrombosis // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2016. – Vol.42, N.4. – P.545-551.

184) Lakschevitz F., Hassanpour S., Rubin A., Fine N., Sun C., Glogauer M. Identification of neutrophil surface marker changes in health and inflammation using high-throughput screening flow cytometry // *Exp. Cell. Res.* – 2016. – Vol.342, N.2. – P.200-209.

185) Lande R., Lee E., Palazzo R., Marinari B., Pietraforte I., Santos G., Mattenberger Y., Spadaro F., Stefanantoni K., Iannace N., Dufour A., Falchi M., Bianco M., Botti E., Bianchi L., Alvarez M., Ricciari V., Truchetet M., Wong G., Chizzolini C., Frasca L. CXCL4 assembles DNA into liquid crystalline complexes to amplify TLR9-mediated interferon- $\alpha$  production in systemic sclerosis // *Nat. Commun.* – 2019. – Vol.10, N.1. – P.1731-1742.

186) Lavie L., Dyugovskaya L., Polyakov A., Rogovoy O., Leder E. Development and identification of a novel subpopulation of human neutrophil-derived giant phagocytes in vitro // *J. Vis. Exp.* – 2017. – Vol.119. – P.54826.

187) Ledo C., Gonzalez C., Garofalo A., Sabbione F., Keitelman I. Gai C., Stella I., Trevani A., Gómez M. Protein A modulates neutrophil and keratinocyte signaling and survival in response to *Staphylococcus aureus* // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol.11. – P.524180.

188) Leighton S., Nerurkar L., Krishnadas R., Johnman C., Graham G., Cavanagh J. Chemokines in depression in health and in inflammatory illness: a systematic review and meta-analysis // *Mol. Psychiatry.* – 2018. – Vol.23, N.1. – P.48-58.

189) Leliefeld P., Wessels C., Leenen L., Koenderman L., Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation // *Crit. Care.* – 2016. – Vol.20. – P.73-79.

190) Lesna I., Cejkova S., Kralova A., Fronck J., Petras M., Sekerkova A., Thieme F., Janousek L., Poledne R. Human adipose tissue accumulation is associated with pro-inflammatory changes in subcutaneous rather than visceral adipose tissue // *Nutr. Diabetes.* – 2017. – Vol.7, N.4. – P.e264-e271.

191) Lewis D., Lysaght J., Wu H. Editorial: T cell alterations in adipose tissue during obesity, HIV, and cancer // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol.10. – P.1190-1196.

192) Li J., Luco A., Camirand A., St-Arnaud R., Kremer R. Vitamin D regulates CXCL12/CXCR4 and epithelial-to-mesenchymal transition in a model of breast cancer metastasis to lung // *Endocrinology.* – 2021. – Vol.162, N.7. – P.bqab049.

193) Li J., Wu Y., Chen P., Huang X., Liu Y., Peng M., Wu R. CXCL12 promotes spinal nerve regeneration and functional recovery after spinal cord injury // *Neuroreport.* – 2021. – Vol.32, N.6. – P.450-457.

194) Lim J., Leung B., Ding Y., Tay L., Ismail N., Yeo A., Yew S., Chong M. Monocyte chemoattractant protein-1: a proinflammatory cytokine elevated in sarcopenic obesity // *Clin. Interv. Aging.* – 2015. – Vol.10. – P.605-609.

195) Limandjaja G., van den Broek L., Waaijman T., Breetveld M., Monstrey S., Scheper R., Niessen F., Gibbs S. Reconstructed human keloid models show heterogeneity within keloid scars // *Arch. Dermatol. Res.* – 2018. – Vol.310, N.10. – P.815-826.

196) Linke M., Fritsch S., Sukhbaatar N., Hengstschläger M., Weichhart T. mTORC1 and mTORC2 as regulators of cell metabolism in immunity // *FEBS Lett.* – 2017. – Vol.591, N.19. –

P.3089-3103.

- 197) Lopes A., Brandolini L., Aramini A., Bianchini G., Silva R., Zaperlon A., Verri W., Alves-Filho J., Cunha F., Teixeira M., Allegretti M., Cunha T. DF2755A, a novel non-competitive allosteric inhibitor of CXCR1/2, reduces inflammatory and post-operative pain // *Pharmacol. Res.* – 2016. – Vol.103. – P.69-79.
- 198) Lopes-Marques M., Alves L., Fonseca M., Secci-Petretto G., Machado A., Ruivo R., Castro L. Convergent inactivation of the skin-specific C-C motif chemokine ligand 27 in mammalian evolution // *Immunogenetics.* – 2019. – Vol.71, N.5-6. – P.363-372.
- 199) López-Gil J., Martín-Hijano L., Hermann P., Sainz B. The CXCL12 crossroads in cancer stem cells and their niche // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol.13, N.3. – P.469-478.
- 200) Luo X., Tai W., Sun L., Pan Z., Xia Z., Chung S., Cheung C. Crosstalk between astrocytic CXCL12 and microglial CXCR4 contributes to the development of neuropathic pain // *Mol. Pain.* – 2016. – Vol. 12. – P.1–15.
- 201) Ly C., Kataru R., Mehrara B. Inflammatory manifestations of lymphedema // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol.18, N.1. – P.171-178.
- 202) Ma N., Qiao C., Zhang W., Luo H., Zhang X., Liu D., Zang S., Zhang L., Bai J. Original Research: Adipose-derived stem cells from younger donors, but not aging donors, inspire the host self-healing capability through its secreta // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2017. – Vol.242, N.1. – P.68-79.
- 203) Ma Z., Ma C., Zhang Q., Bai Y., Mu K., Liu X., Yang Q. Role of CXCL16 in BLM-induced epithelial-mesenchymal transition in human A549 cells // *Respir. Res.* – 2021. – Vol.22, N.1. – P.42-53.
- 204) Maffetone P., Rivera-Dominguez I., Laursen P. Overfat and underfat: new terms and definitions long overdue // *Front. Public Health.* – 2016. – Vol.4. – P.279-284.
- 205) 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. – Vol.479. – P.112747.
- 206) Marshall L., Marubayashi S., Jorapur A., Jacobson S., Zibinsky M., Robles O., Hu D., Jackson J., Pookot D., Sanchez J., Brovarney M., Wadsworth A., Chian D., Wustrow D., Kassner P., Cutler G., Wong B., Brockstedt D., Talay O. Tumors establish resistance to immunotherapy by regulating Treg recruitment via CCR4 // *J. Immunother. Cancer.* – 2020. – Vol.8, N.2. – P.e000764.
- 207) Martins-Green M., Petreaca M., Wang L. Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing // *Adv. Wound Care.* – 2013. – Vol.2. – P.327-347.
- 208) Mascherini G., Petri C., Galanti G. Link between body cellular mass and left ventricular hypertrophy in female and male athletes // *J. Sports Med. Phys. Fitness.* – 2019. – Vol.59, N.1. – P.164-170.
- 209) Matsushita Y., Chu A., Ono W., Welch J., Ono N. Intercellular Interactions of an adipogenic CXCL12-expressing stromal cell subset in murine bone marrow // *J. Bone Miner. Res.* – 2021. – Vol.36, N.3. – P.385-393.
- 210) 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. – Vol.107, N.6. – P.1137-1154.
- 211) McAllister D., Wild S.H., MacLay J., Robson A., Newby D., MacNee W., Innes J., Zamvar V., Mills N. Forced expiratory volume in one second predicts length of stay and in Hospital mortality in patients undergoing cardiac surgery: A retrospective cohort study // *PLoS One.* – 2013. – Vol.8, N.5. – P.e64565.
- 212) McKay H., Bream J., Margolick J., Martínez-Maza O., Phair J., Rinaldo C., Abraham A., Jacobson L. Host factors associated with serologic inflammatory markers assessed using multiplex assays // *Cytokine.* – 2016. – Vol.85. – P.71-79.

- 213) Mehta A., Croft M. Rhinovirus infection promotes eosinophilic airway inflammation after prior exposure to house dust mite allergen // *Immunohorizons*. – 2020. – Vol.4, N.8. – P.498-507.
- 214) Metzemaekers M., Mortier A., Vacchini A., Boff D., Yu K., Janssens R., Farina F., Milanesi S., Berghmans N., Pörtner N., Van Damme J., Allegretti M., Teixeira M., Locati M., Borroni E., Amaral F., Proost P. Endogenous modification of the chemoattractant CXCL5 alters receptor usage and enhances its activity toward neutrophils and monocytes // *Sci. Signal*. – 2021. – Vol.14, N.673. – P.eaax3053.
- 215) Meyrath M., Reynders N., Uchański T., Chevigné A., Szpakowska M. Systematic reassessment of chemokine-receptor pairings confirms CCL20 but not CXCL13 and extends the spectrum of ACKR4 agonists to CCL22 // *J. Leukoc. Biol*. – 2021. – Vol.109, N.2. – P.373-376.
- 216) Miller M., Mayo K. Chemokines from a structural perspective // *Int. J. Mol. Sci*. – 2017. – Vol.18, N.10. – P.2088-2104.
- 217) Milling S. Adipokines and the control of mast cell functions: from obesity to inflammation? // *Immunology*. – 2019. – Vol.158, N.1. – P.1-2.
- 218) Modarressi A., Meia-Rüegg E., Bezzola T., Pittet-Cuénod B. Circular abdominoplasty after massive weight loss: Is it a risky procedure? // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg*. – 2016. – Vol.69, N.11. – P.1497-1505.
- 219) Mohan T., Deng L., Wang B. CCL28 chemokine: An anchoring point bridging innate and adaptive immunity // *Int. Immunopharmacol*. – 2017. – Vol.51. – P.165-170.
- 220) Mor A., Segal-Salto M., Katav A., Barashi N., Edelshtein V., Manetti M., Levi Y., George J., Matucci-Cerinic M. Blockade of CCL24 with a monoclonal antibody ameliorates experimental dermal and pulmonary fibrosis // *Ann. Rheum. Dis*. – 2019. – Vol.78, N.9. – P.1260-1268.
- 221) Morooka N., Ueguri K., Yee K., Yanase T., Sato T. Androgen-androgen receptor system improves chronic inflammatory conditions by suppressing monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in adipocytes via transcriptional regulation // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 2016. – Vol.77, N.4. – P.895-901.
- 222) Murphy P., Heusinkveld L. Multisystem multitasking by CXCL12 and its receptors CXCR4 and ACKR3 // *Cytokine*. – 2018. – Vol.109. – P.2-10.
- 223) Muszer M., Noszczyńska M., Kasperkiewicz K., Skurnik M. Human microbiome: when a friend becomes an enemy // *Arch. Immunol. Ther. Exp*. – 2015. – Vol.63. – P.287-298.
- 224) Myung Y., Heo C. Relationship between obesity and surgical complications after reduction mammoplasty: A systematic literature review and meta-analysis // *Aesthet. Surg. J*. – 2017. – Vol.37, N.3. – P.308-315.
- 225) Nagashimada M., Sawamoto K., Ni Y., Kitade H., Nagata N., Xu L., Kobori M., Mukaida N., Yamashita T., Kaneko S., Ota T. CX3CL1-CX3CR1 signalling deficiency exacerbates obesity-induced inflammation and insulin resistance in male mice // *Endocrinology*. – 2021. – Vol.162, N.6. – P.bqab064.
- 226) Nakamura K., Kiniwa Y., Okuyama R. CCL5 production by fibroblasts through a local renin-angiotensin system in malignant melanoma affects tumor immune responses // *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. – 2021. – Vol.147, N.3. – P.801-814.
- 227) Nichols R., Peters J., Patterson A. Interplay between the host, the human microbiome, and drug metabolism // *Hum. Genomics*. – 2019. – Vol.13, N.1. – P.2734-2741.
- 228) Nigi L., Brusco N., Grieco G., Licata G., Krogvold L., Marselli L., Gysemans C., Overbergh L., Marchetti P., Mathieu C., Jørgensen K., Sebastiani G., Dotta F. Pancreatic alpha-cells contribute together with beta-cells to CXCL10 expression in type 1 diabetes // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2020. – Vol.11, N.630. – P.1-13.
- 229) Niño J., Pigeon S., Tay S., Colakoglu F., Kempe D., Hywood J., Mazalo J., Cremasco J., Govendir M., Dagley L., Hsu K., Rizzetto S., Zieba J., Rice G., Prior V., O'Neill G., Williams R., Nisbet D., Kramer B., Webb A., Luciani F., Read M., Biro M. Cytotoxic T cells swarm by

homotypic chemokine signalling // *Elife.* – 2020. – Vol.9. – P.e56554.

230) Niyonsaba F., Kiatsurayanon C., Chieosilapatham P., Ogawa H. Friends or Foes? Host defense (antimicrobial) peptides and proteins in human skin diseases // *Exp. Dermatol.* – 2017. – Vol.26, N.11. – P.989-998.

231) Nomiya H., Osada N., Yoshie O. A family tree of vertebrate chemokine receptors for a unified nomenclature // *Dev. Comp. Immunol.* – 2011. – Vol.35, N.7. – P.705-715.

232) Nomiya H., Osada N., Yoshie O. Systematic classification of vertebrate chemokines based on conserved synteny and evolutionary history // *Genes Cells.* – 2013. – Vol.18, N.1. – P.1-16.

233) O'Brien P., Hinder L., Callaghan B., Feldman E. Neurological consequences of obesity // *Lancet Neurol.* – 2017. – Vol.16, N.6. – P.465-477.

234) Oka T., Sugaya M., Takahashi N., Takahashi T., Shibata S., Miyagaki T., Asano Y., Sato S. CXCL17 attenuates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation by recruiting myeloid-derived suppressor cells and regulatory T cells // *J. Immunol.* – 2017. – Vol.198, N.10. – P.3897-3908.

235) Okamoto Y., Shikano S. Tyrosine sulfation and O-glycosylation of chemoattractant receptor GPR15 differentially regulate interaction with GPR15L // *J. Cell. Sci.* – 2021. – Vol.134, N.8. – P.jcs.247833.

236) Olguin-Olguin A., Aalto A., Maugis B., Boquet-Pujadas A., Hoffmann D., Ermlich L., Betz T., Gov N., Reichman-Fried M., Raz E. Chemokine-biased robust self-organizing polarization of migrating cells *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2021. – Vol.118, N.7. – P.e2018480118.

237) Ozment T. Pulmonary myeloperoxidase activity // *Bio. Protoc.* – 2015. – Vol.3, N.15. – P.e851-e857.

238) Pan L., Lv J., Zhang Z., Zhang Y. Adaptation and constraint in the atypical chemokine receptor family in mammals // *Biomed. Res. Int.* – 2018. – Vol.2018. – P.9065181.

239) Panigrahi S., Chen B., Fang M., Potashnikova D., Komissarov A., Lebedeva A., Michaelson G., Wyrick J., Morris S., Sieg S., Paiardini M., Villinger F., Harth K., Kashyap V., Cameron M., Cameron C., Vasilieva E., Margolis L., Younes S., Funderburg N., Zidar D., Lederman M., Freeman M. CX3CL1 and IL-15 promote CD8 T cell chemoattraction in HIV and in atherosclerosis // *PLoS Pathog.* – 2020. – Vol.16, N.9. – P.e1008885.

240) Park E., Myint P., Appiah M., Worawattananutai P., Inprasit J., Prajuabjinda O., Soe Z., Gaowa A., Kawamoto E., Shimaoka M. Ligand-competent fractalkine receptor is expressed on exosomes // *Biochem. Biophys. Res.* – 2021. – Vol.26. – P.100932.

241) Paschoal V., Amano M., Belchior T., Magdalon J., Chimin P., Andrade M., Ortiz-Silva M., Castro E., Yamashita A., Neto J., Câmara N., Festuccia W. mTORC1 inhibition with rapamycin exacerbates adipose tissue inflammation in obese mice and dissociates macrophage phenotype from function // *Immunobiology.* – 2017. – Vol.222, N.2. – P.261-271.

242) Patel A., Tsilioni I., Weng Z., Theoharides T. TNF stimulates IL-6, CXCL8 and VEGF secretion from human keratinocytes via activation of mTOR, inhibited by tetramethoxyluteolin // *Exp. Dermatol.* – 2018. – Vol.27, N.2. – P.135-143.

243) Pellegatta T., Saler M., Bonfanti V., Nicoletti G., Faga A. Novel perspectives on the role of the human microbiota in regenerative medicine and surgery // *Biomed. Reports.* – 2016. – V.5, N.5. – P.519-524.

244) Peng H., Zhang H., Zhu H. Blocking CXCR7-mediated adipose tissue macrophages chemotaxis attenuates insulin resistance and inflammation in obesity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2016. – Vol.479, N.4. – P.649-655.

245) Perry D., Titov A., Sobel E., Brusko T., Morel L. Immunophenotyping reveals distinct subgroups of lupus patients based on their activated T cell subsets // *Clin. Immunol.* – 2020. – Vol.221. – P.108602.

- 246) Puchert M., Koch C., Zieger K., Engele J. Identification of CXCL11 as part of chemokine network controlling skeletal muscle development // *Cell. Tissue Res.* – 2021. – Vol.384, N.2. – P.499-511.
- 247) Qin X., Lin X., Xue G., Fan H., Wang H., Wu J., Pei D. CXCL10 is a potential biomarker and associated with immune infiltration in human papillary thyroid cancer // *Biosci. Rep.* – 2021. – Vol.41, N.1. – P.BSR20203459.
- 248) Qu L., Fu K., Shimada S., LaMotte R. Cl- channel is required for CXCL10-induced neuronal activation and itch response in a murine model of allergic contact dermatitis // *J. Neurophysiol.* – 2017. – Vol.118, N.1. – P.619-624.
- 249) Rauschenberger T., Schmitt V., Azeem M., Klein-Hessling S. Murti K., Grän F., Goebeler M., Kerstan A., Klein M., Bopp T., Serfling E., Muhammad K. T cells control chemokine secretion by keratinocytes // *Front Immunol.* – 2019 – Vol.10. – P.1917-1923.
- 250) Ribeiro A., Schoenfeld B., Dos Santos L., Nunes J., Tomeleri C., Cunha P., Sardinha L., Cyrino E. Resistance training improves a cellular health parameter in obese older women: A randomized controlled trial // *J. Strength. Cond. Res.* – 2020. – Vol.34, N.10. – P.2996-3002.
- 251) Riise R., Odqvist L., Mattsson J., Monkley S., Abdillahi S., Tyrchan C., Muthas D., Yrliid L. Bleomycin hydrolase regulates the release of chemokines important for inflammation and wound healing by keratinocytes // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol.9, N.1. – P.20407.
- 252) Roberts J., Barb A. A single amino acid distorts the Fc gamma receptor IIIb/CD16b structure upon binding immunoglobulin G1 and reduces affinity relative to CD16a // *J. Biol. Chem.* – 2018. – Vol.293, N.51. – P.19899-19908.
- 253) Rodríguez-Rodríguez E., López-Sobaler A., Ortega R., Delgado-Losada L., López-Parra A., Aparicio A. Association between neutrophil-to-lymphocyte ratio with abdominal obesity and healthy eating index in a representative older spanish population // *Nutrients.* – 2020. – Vol.12, N.3. – P.855-861.
- 254) Rood K., Buhimschi I., Jurcisek J., Summerfield T., Zhao G., Ackerman W., Wang W., Rumpf W., Thung S., Bakaletz L., Buhimschi C. Skin microbiota in obese women at risk for surgical site infection after cesarean delivery // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol.8, N.1. – P.8756-8763.
- 255) Russell T., Watad A., Bridgewood C., Rowe H., Khan A., Rao A., Loughenbury P., Millner P., Dunsmuir R., Cuthbert R., Altaie A., Jones E., McGonagle D. IL-17a and TNF modulate normal human spinal enthesal bone and soft tissue mesenchymal stem cell osteogenesis, adipogenesis, and stromal function // *Cells.* – 2021. – Vol.10, N.2. – P.341-349.
- 256) Ryder E., Diez-Ewald M., Mosquera J., Fernández E., Pedrañez A., Vargas R., Peña C., Fernández N. Association of obesity with leukocyte count in obese individuals without metabolic syndrome // *Diabetes Metab. Syndr.* – 2014. – Vol.8, N.4. – P.197-204.
- 257) Rymarz A., Mosakowska M., Niemczyk S. The significance of metalloproteinase 3 (MMP-3), chemokine CXC ligand 13 (CXCL-13) and complement component C5a in different stages of ANCA associated vasculitis // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol.11, N.1. – P.5132-5140.
- 258) Sabia S., Cogranne P., van Hees V., Bell J., Elbaz A., Kivimaki M., Singh-Manoux A. Physical activity and adiposity markers at older ages: accelerometer vs questionnaire data // *J. Am. Med. Dir. Assoc.* – 2015. – Vol.16, N.5. – P.438.e7-13.
- 259) Sachs U., Radke C., Bein G., Grabowski C., Simtong P., Bux J., Bayat B., Reil A. Primary structure of human neutrophil antigens 1a and 1b // *Transfusion.* – 2020. – Vol.60, N.4. – P.815-821.
- 260) Salvi V., Francesca Sozio F., Silvano Sozzani S., Del Prete A. Role of atypical chemokine receptors in microglial activation and polarization // *Front. Aging Neurosci.* – 2017. – Vol.9, N.148. – P.1-8.
- 261) 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. – Vol.15, N.9. – P.e0237496.
- 262) Scapini P., Marini O., Tecchio C., Cassatella M. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions // *Immunol. Rev.* – 2016. – Vol.273, N.1. – P.48-60.
- 263) Schaller T., Batich K., Suryadevara C., Desai R., Sampson J. Chemokines as adjuvants for immunotherapy: implications for immune activation with CCL3 // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2017. – Vol.13, N.11. – P.1049-1060.
- 264) Schmidt T., Brodesser A., Schnitzler N., Grüger T., Brandenburg K., Zinserling J., Zündorf J. CD66b overexpression and loss of C5a receptors as surface markers for *Staphylococcus aureus* - induced neutrophil dysfunction // *PLoS One.* – 2015. – Vol.10, N.7. – P.e0132703.
- 265) Sepuru K., Rajarathnam K. Structural basis of a chemokine heterodimer binding to glycosaminoglycans // *Biochem. J.* – 2021. – Vol.478, N.5. – P.1009-1021.
- 266) Shay P., Taub P., Silver L. Improved techniques and future advances in plastic surgery in global health // *Ann. Glob. Health.* – 2016. – Vol.82, N.4. – P.644-648.
- 267) Shehu A., Zhu J., Li J., Lu J., McMahon D., Xie W., Gonzalez F., Ma X. Targeting xenobiotic nuclear receptors PXR and CAR to prevent cobicistat hepatotoxicity // *Toxicol. Sci.* – 2021. – Vol.181, N.1. – P.58-67.
- 268) Sieffert M., Fox J., Abbott L., Johnson R. Obesity is associated with increased health care charges in patients undergoing outpatient plastic surgery // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2015. – Vol.135, N.5. – P.1396-1404.
- 269) Sindhu S., Akhter N., Arefanian H., Al-Roub A., Ali S., Wilson A., Al-Hubail A., Al-Beloushi S., Al-Zanki S., Ahmad R. Increased circulatory levels of fractalkine (CX3CL1) are associated with inflammatory chemokines and cytokines in individuals with type-2 diabetes // *J. Diabetes Metab. Disord.* – 2017. – Vol.16, N.15. – P. 10-18.
- 270) 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. – Vol.8, N.11. – P.1418-1423.
- 271) Soto B., Gallastegi-Mozos T., Rodríguez C., Martínez-González J., Escudero J., Vila L., Camacho M. Circulating CCL20 as a new biomarker of abdominal aortic aneurysm // *Sci Rep.* – 2017. – Vol.7, N.1. – P.17331.
- 272) Souza-Almeida G., D'Avila H., Almeida P., Luna-Gomes T., Liechocki S., Walzog B., Hepper I., Castro-Faria-Neto H., Bozza P., Bandeira-Melo C., Maya-Monteiro C. Leptin mediates in vivo neutrophil migration: involvement of tumor necrosis factor-alpha and CXCL1 // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol.9. – P.111-117.
- 273) Spinnen J., Fröhlich K., Sinner N., Stolk M., Ringe J., Shopperly L., Sittlinger M., Dehne T., Seifert M. Therapies with CCL25 require controlled release via microparticles to avoid strong inflammatory reactions // *J. Nanobiotechnology.* – 2021. – Vol.19, N.1. – P.83-91.
- 274) Srikakulapu P., McNamara C. B lymphocytes and adipose tissue inflammation // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2020. – Vol.40, N.5. – P.1110-1122.
- 275) Starling S. Role for a TNF superfamily network in human obesity // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2020. – Vol.16, N.10. – P.539-543.
- 276) Sun X., He X., Zhang Y., Hosaka K., Andersson P., Wu J., Wu J., Jing X., Du Q., Hui X., Ding B., Guo Z., Hong A., Liu X., Wang Y., Ji Q., Beyaert R., Yang Y., Li Q., Cao Y. Inflammatory cell-derived CXCL3 promotes pancreatic cancer metastasis through a novel myofibroblast-hijacked cancer escape mechanism // *Gut.* – 2021. – Vol.70, N.4. – P.435-447.
- 277) Taniguchi T., Miyagawa T., Toyama S., Yamashita T., Nakamura K., Saigusa R., Ichimura Y., Takahashi T., Toyama T., Yoshizaki A., Sato S., Asano Y. CXCL13 produced by macrophages due to Fli1 deficiency may contribute to the development of tissue fibrosis, vasculopathy, and immune activation in systemic sclerosis // *Exp. Dermatol.* – 2018. – Vol.27, N.9. – P.1030-1037.

- 278) Teplan V., Senolt L., Hulejova H., Teplan V., Stollova M., Gurlich R. Early changes in serum visfatin after abdominal surgery: a new pro-inflammatory marker in diagnosis? // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2015. – Vol.159, N.3. – P.489-496.
- 279) ter Horst R., van den Munckhof I., Schraa K., Aguirre-Gamboa R., Jaeger M., Smeekens S., Brand T., Lemmers H., Dijkstra H., Galesloot T., de Graaf J., Xavier R., Li Y., Joosten L., Rutten J., Netea M., Riksen N. Sex-specific regulation of inflammation and metabolic syndrome in obesity // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2020. – Vol.40, N.7. – P.1787-1800.
- 280) Tokunaga R., Zhang W., Naseem M., Puccini A., Berger M., Soni S., McSkane M., Baba H., Lenz H. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation - A target for novel cancer therapy // *Cancer Treat. Rev.* – 2018. – Vol.63. – P.40-47.
- 281) Vaahtomeri K., Moussion C., Hauschild R., Sixt M. Shape and function of interstitial chemokine CCL21 gradients are independent of heparan sulfates produced by lymphatic endothelium // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol.12. – P.630002.
- 282) Vacchini A., Locati M., Borroni E. Overview and potential unifying themes of the atypical chemokine receptor family // *J. Leukoc. Biol.* – 2016. – Vol.99, N.6. – P.883-892.
- 283) Vaidya S., Shantanu P., Tiwari V. Attenuation of ongoing neuropathic pain by peripheral acting opioid involves activation of central dopaminergic neurocircuitry // *Neurosci. Lett.* – 2021. – Vol.754. – P.135751.
- 284) Van Asten S., Nichols A., La Fontaine J., Bhavan K., Peters E., Lavery L. The value of inflammatory markers to diagnose and monitor diabetic foot osteomyelitis // *Int. Wound J.* – 2017. – Vol.14, N.1. – P.40-45.
- 285) Vasileiadis G., Lundell A., Zhang Y., Andersson K., Gjertsson I., Rudin A., Maglio C. Adipocytokines in untreated newly diagnosed rheumatoid arthritis: association with circulating chemokines and markers of inflammation // *Biomolecules.* – 2021. – Vol.11, N.2. – P.325-338.
- 286) Viridis A., Duranti E., Rossi C., Dell'Agnello U., Santini E., Anselmino M., Chiarugi M., Taddei S., Solini A. Tumour necrosis factor- $\alpha$  participates on the endothelin-1/nitric oxide imbalance in small arteries from obese patients: role of perivascular adipose tissue // *Eur. Heart J.* – 2015. – Vol.36, N.13. – P.784-794.
- 287) Vogt P., Mett T., Henkenberens C., Radtke C., Ipaktchi R. Plastic reconstruction of radiation injuries // *Chirurg.* – 2017. – Vol.88, N.6. – P.541-552.
- 288) Volk T., Kubulus C. Recommendations on hygiene in regional anaesthesia // *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* – 2020. – Vol.55, N.7-8. – P. 486-492.
- 289) Vongsa R., Hoffman D., Shepard K., Koenig D. Comparative study of vulva and abdominal skin microbiota of healthy females with high and average BMI // *BMC Microbiol.* – 2019. – Vol.19, N.1. – P.1623-1631.
- 290) Walker J., Garcet S., Aleman J., Mason C., Danko D., Butler D., Zuffa S., Swann J., Krueger J., Breslow J., Holt P. Obesity and ethnicity alter gene expression in skin // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol.10, N.1. – P.14079-14082.
- 291) Wang K., Jiang L., Hu A., Sun C., Zhou L., Huang Y., Chen Q., Dong J., Zhou X., Zhang F. Vertebral-specific activation of the CX3CL1/ICAM-1 signaling network mediates non-small-cell lung cancer spinal metastasis by engaging tumor cell-vertebral bone marrow endothelial cell interactions // *Theranostics.* – 2021. – Vol.11, N.10. – P.4770-4789.
- 292) 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. – Vol.42, N.1. – P.68-76.
- 293) White T., Bruns S., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics / In: Innis M., Gelfand J., Sninsky J., White T., eds. *PCR protocols. A guide to methods and applications* // San Diego, CA: Academic Press. – 1990. – P.315–324.

- 294) White U., Fitch M., Beyl R., Hellerstein M., Ravussin E. Differences in *in vivo* cellular kinetics in abdominal and femoral subcutaneous adipose tissue in women // *Diabetes*. – 2016. – Vol.65, N.6. – P.1642-1647.
- 295) Wilkinson H., Roberts E., Stafford A., Banyard K., Matteucci P., Mace K., Hardman M. Tissue iron promotes wound repair via M2 macrophage polarization and the chemokine (C-C Motif) ligands 17 and 22 // *Am. J. Pathol.* – 2019. – Vol.189, N.11. – P.2196-2208.
- 296) William M., Leroux L., Chaparro V., Graber T. Alain T., Jaramillo M. Translational repression of Ccl5 and Cxcl10 by 4E-BP1 and 4E-BP2 restrains the ability of mouse macrophages to induce migration of activated T cells // *Eur. J. Immunol.* – 2019. – Vol.49, N.8. – P.1200-1212.
- 297) Winneberger J., Schöls S., Lessmann K., Rández-Garbayo J., Bauer A., Mohamud-Yusuf A., Hermann D., Gunzer M., Schneider S., Fiehler J., Gerloff C., Gelderblom M., Ludewig P., Magnus T. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 is a gatekeeper of neutrophil trans-endothelial migration in ischemic stroke // *Brain Behav. Immun.* – 2021. – Vol.93. – P.277-287.
- 298) Witte A., Rohlfing A., Dannenmann B., Dicenta V., Nasri M., Kolb K., Sudmann J., Castor T., Rath D., Borst O., Skokowa J., Gawaz M. The chemokine CXCL14 mediates platelet function and migration via direct interaction with CXCR4 // *Cardiovasc. Res.* – 2021. – Vol.117, N.3. – P.903-917.
- 299) Woodman R., Newburger P., Anklesaria P., Erickson R., Rae J., Cohen M., Curnutte J. A new X-linked variant of chronic granulomatous disease characterized by the existence of a normal clone of respiratory burst-competent phagocytic cells // *Blood*. – 1995. – Vol.85, N.1. – P.231–241.
- 300) Wouters K., Gaens K., Bijnen M., Verboven K., Jocken J., Wetzels S., Wijnands E., Hansen D., van Greevenbroek M., Duijvestijn A., Biessen E., Blaak E., Stehouwer C., Schalkwijk C. Circulating classical monocytes are associated with CD11c+ macrophages in human visceral adipose tissue // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol.7. – P.42665.
- 301) Xie L., Yin Y., Benowitz L. Chemokine CCL5 promotes robust optic nerve regeneration and mediates many of the effects of *CNTF* gene therapy // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2021. – Vol.118, N.9. – P.e2017282118.
- 302) Xu X., Gera N., Li H., Yun M., Zhang L., Wang Y., Wang Q., Jin T. GPCR-mediated PLC $\beta$ /PKC $\beta$ /PKD signaling pathway regulates the cofilin phosphatase slingshot 2 in neutrophil chemotaxis // *Mol. Biol. Cell*. – 2015. – Vol.26, N.5. – P.874-886.
- 303) Xue S., Tang H., Zhao G., Fang C., Shen Y., Yan D., Yuan Y., Fu W., Shi Z., Tang X., Guo D. C-C motif ligand 8 promotes atherosclerosis via NADPH oxidase 2/reactive oxygen species-induced endothelial permeability increase // *Free Radic. Biol. Med.* – 2021. – Vol.167. – P.181-192.
- 304) Yamauchi T., Hoki T., Oba T., Jain V., Chen H., Attwood K., Battaglia S., George S., Chatta G., Puzanov I., Morrison C., Odunsi K., Segal B., Dy G., Ernstoff M., Ito F. T-cell CX3CR1 expression as a dynamic blood-based biomarker of response to immune checkpoint inhibitors // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol.12, N.1. – P.1402-1412.
- 305) Yan L., Li Y., Li Y., Bai Y., Wan Z., Fan J., Luo L., Wang L., Shi Y. Role of serum CXCL9 and CXCL13 in predicting infection after kidney transplant: A STROBE study // *Medicine (Baltimore)*. – 2021. – Vol.100, N.11. – P.e24762.
- 306) Yang P., Neal S., Buehne K., Tewkesbury G., Klingeborn M., Yang Y., Baciu P., Jaffe G. Complement-mediated release of fibroblast growth factor 2 from human RPE cells // *Exp, Eye, Res.* – 2021. – Vol.204. – P.108471.
- 307) Yang S., Wang J., Brand D., Zheng S. Role of TNF-TNF Receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol.9. – P.784-792.
- 308) Yang Y., Luo N., Ying R., Xie Y., Chen J., Wang X., Gu Z., Mai J., Liu W., Wu M., Chen Z., Fang Y., Zhang H., Zuo Z., Wang J., Chen Y. Macrophage-derived foam cells impair

- endothelial barrier function by inducing endothelial-mesenchymal transition via CCL4 // *Int. J. Mol. Med.* – 2017. – Vol.40, N.2. – P.558-568.
- 309) Yoshitomi H. CXCL13-producing PD-1<sup>hi</sup>CXCR5<sup>-</sup> helper T cells in chronic inflammation // *Immunol. Med.* – 2020. – Vol.43, N.4. – P.156-160.
- 310) 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., Saksena N., Kelleher A. Mapping the extent of heterogeneity of human CCR5<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells in peripheral blood and lymph nodes // *AIDS.* – 2020. – Vol.34, N.6. – P.833-848.
- 311) Zhang A., Xu Y., Xu H., Ren J., Meng T., Ni Y., Zhu Q., Zhang W., Pan Y., Jin J., Bi Y., Wu Z., Lin S., Lou M. Lactate-induced M2 polarization of tumor-associated macrophages promotes the invasion of pituitary adenoma by secreting CCL17 // *Theranostics.* – 2021. – Vol.11, N.8. – P.3839-3852.
- 312) Zhang M., Schumann M., Huang T., Törmäkangas T., Cheng S. Normal weight obesity and physical fitness in Chinese university students: an overlooked association // *BMC Public Health.* – 2018. – Vol.18, N.1. – P.1334-1339.
- 313) Zhang P., Sun H., Ji Z. Downregulating lncRNA PVT1 relieves astrocyte overactivation induced neuropathic pain through targeting MIR-186-5p/CXCL13/CXCR5 axis // *Neurochem. Res.* – 2021. – Vol.46, N.6. – P.1457-1469.
- 314) Zhang Q., He L., Chen M., Yang H., Cao X, Liu X, Hao Q, Chen Z, Liu T, Wei X, Rong L. PSD-93 mediates the crosstalk between neuron and microglia and facilitates acute ischemic stroke injury by binding to CX3CL1 // *J. Neurochem.* – 2021. – Vol.157, N.6. – P.2145-2157.
- 315) Zhang X., Zhao J., Sun L., Liu X. Expression of CXCL16/CXCR6 in fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis and its role in synoviocyte proliferation // *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2017. – Vol.49, N.4. – P.663-668.
- 316) Zhao J., Xie X., Di T., Liu Y., Qi C., Chen Z., Li P., Wang Y. Indirubin attenuates IL-17A-induced CCL20 expression and production in keratinocytes through repressing TAK1 signaling pathway // *Int. Immunopharmacol.* – 2021. – Vol.94. – P.107229.
- 317) Zhao N., Dang H., Ma L., Martin S., Forgues M., Ylaya K., Hewitt S., Wang X. Intratumoral  $\gamma\delta$ T-cell infiltrates, chemokine (C-C motif) Ligand 4/chemokine (C-C motif) Ligand 5 protein expression and survival in patients with hepatocellular carcinoma // *Hepatology.* – 2021. – Vol.73, N.3. – P.1045-1060.
- 318) Zhao Y., van Woudenberg E., Zhu J., Heck A., van Kessel K., de Haas C., Aerts P., van Strijp J., McCarthy A. The orphan immune receptor LILRB3 modulates Fc receptor-mediated functions of neutrophils // *J. Immunol.* – 2020. – Vol.204, N.4. – P.954-966.
- 319) Zheng C., Yang Q., Cao J., Xie N., Liu K., Shou P., Qian F., Wang Y., Shi Y. Local proliferation initiates macrophage accumulation in adipose tissue during obesity // *Cell. Death Dis.* – 2016. – Vol.7, N.3. – P.e2167-e2172.
- 320) Zhou X., Peng M., He Y., Peng J., Zhang X., Wang C., Xia X., Song W. CXC chemokines as therapeutic targets and prognostic biomarkers in skin cutaneous melanoma microenvironment // *Front. Oncol.* – 2021. – Vol.11. – P.619003.
- 321) Zhu J. T helper cell differentiation, heterogeneity, and plasticity // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2018. – Vol.10, N.10. – P.a030338.
- 322) Zhu Y., Yang S., Zhao N., Liu C., Zhang F., Guo Y., Liu H. CXCL8 chemokine in ulcerative colitis // *Biomed. Pharmacother.* – 2021. – Vol.138. – P.111427.