

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ Т-ХЕЛПЕРОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ХРОНИЧЕСКИ ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ

А. И. Котикова^{1,2} ✉, Е. А. Блинова^{1,2}, А. В. Аклев^{1,2}¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

К настоящему времени убедительно показано, что воздействие ионизирующего излучения (ИИ) вызывает долгосрочное изменение Т-клеточного иммунитета. Однако количественных исследований влияния хронического радиационного воздействия на различные субпопуляции Т-хелперов в доступной литературе найдено не было. Поэтому целью работы было исследовать количественные характеристики различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, в отдаленные сроки после начала облучения. В исследовании приняло участие 102 хронически облученных жителя прибрежных сел реки Течи (Россия) в возрасте 60–87 лет, которые были подразделены на облученных лиц (средняя накопленная доза облучения красного костного мозга составила 567 ± 73 мГр) и группу сравнения (доза облучения не превышала 70 мГр). Методом проточной цитометрии определяли количественные характеристики субпопуляций Т-хелперов в периферической крови на разной стадии их дифференцировки, а также различные субпопуляции Т-хелперов центральной и эффекторной памяти. В ходе исследования не выявлено статистически значимых различий в субпопуляционном составе Т-хелперов в сравниваемых группах. Отмечено статистически значимое повышение содержания субпопуляции «double positive» фолликулярных Т-хелперов 17 в популяции Т-хелперов центральной памяти с увеличением дозы облучения ККМ ($p = 0,04$; $S = 0,19$), а также тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,03$; $S = 0,22$). В группе облученных лиц зарегистрировано снижение количества наивных Т-хелперов ($p = 0,009$) и «double positive» фолликулярных Т-хелперов 17 в составе субпопуляции T_{EM} ($p = 0,04$) и увеличение количества Т-хелперов эффекторной памяти ($p = 0,04$) с увеличением возраста, чего не наблюдалось в группе сравнения.

Ключевые слова: Т-хелперы, фолликулярные Т-хелперы, иммунитет, хроническое облучение

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания «Состояние клеточного иммунитета человека в период реализации отдаленных эффектов хронического радиационного воздействия» (код 27.002.20.800).

Вклад авторов: А. И. Котикова — разработка методики, лабораторные исследования, статистическая обработка, написание статьи; Е. А. Блинова — разработка методики, написание статьи; А. В. Аклев — концепция исследования, научное руководство, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 1 от 14 апреля 2022 г.). Все участники подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Алиса Игоревна Котикова
ул. Воровского, д. 68, корп. А, г. Челябинск, 454141, Россия; kotikovaalisa@gmail.com

Статья получена: 15.04.2022 **Статья принята к печати:** 12.05.2022 **Опубликована онлайн:** 04.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.018

SUBPOPULATION COMPOSITION OF T-HELPER IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PERSONS CHRONICALLY EXPOSED TO RADIATION IN THE LONG TERM

Kotikova AI^{1,2} ✉, Blinova EA^{1,2}, Akleyev AV^{1,2}¹ Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Earlier, it has been convincingly established that exposure to ionizing radiation (IR) alters the T cell-mediated immunity in the long term. However, a search for papers describing the effect chronic exposure to radiation has on various subpopulations of T-helpers yielded no results. Therefore, we designed this study seeking to investigate the quantitative characteristics of various subpopulations of T-helpers in the peripheral blood of individuals chronically exposed to low-level radiation for a long period of time. The study involved 102 chronically exposed Techa Riverside residents (Russia) aged 60–87 years. The participants were divided into two groups, one comprised of exposed individuals with the average red bone marrow (RBM) irradiation dose of 567 ± 73 mGy, another, the control group, comprised of people with the irradiation dose below 70 mGy. With the help of flow cytometry, we identified the quantitative characteristics of T-helper subpopulations in the peripheral blood at various stages of their differentiation, as well as various T-helper subpopulations of central and effector memory. The study revealed no significant differences in the composition of T-helper subpopulations in the compared groups. We discovered a significant growth of the double positive follicular T-helper 17 subpopulation in the population of central memory T-helpers, which is associated with the increase of RBM ($p = 0,04$; $S = 0,19$), thymus and peripheral lymphoid organs ($p = 0,03$; $S = 0,22$) irradiation dose. In the group of exposed individuals, the number of naive T-helpers ($p = 0,009$) and double positive follicular T-helpers 17 in the T_{EM} subpopulation ($p = 0,04$) was decreasing as the age of participants increased, and the number of effector memory T-helpers, on the contrary, increased with age ($p = 0,04$). We have not registered similar phenomena in the comparison group.

Keywords: T-helpers, follicular T-helpers, immunity, chronic exposure

Funding: the work was carried out as part of the "State of human cellular immunity against manifestation of the long-term effects of chronic exposure to radiation" State Task (code 27.002.20.800).

Author contribution: Kotikova AI — methodology development, laboratory research, statistical processing, article authoring; Blinova EA — methodology development, article authoring; Akleyev AV — development of the research concept, scientific supervision, article authoring.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (Minutes #1 of April 14, 2022). All participants signed a voluntary informed consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alisa I. Kotikova
Vorovskogo, 68, str. A, Chelyabinsk, 454141, Russia; kotikovaalisa@gmail.com

Received: 15.04.2022 **Accepted:** 12.05.2022 **Published online:** 04.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.018

К настоящему времени убедительно показано, что воздействие ионизирующего излучения (ИИ) вызывает долгосрочное изменение Т-клеточного иммунитета. В ряде исследований отмечен повышенный уровень мутаций в генах Т-клеточного рецептора (TCR-мутаций) у облученных лиц, включая жителей прибрежных сел реки Течи. Углубленный анализ иммунного статуса у облученных людей позволил установить особую роль цитотоксических CD3⁺CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов в элиминации TCR-мутантных клеток [1].

В контексте влияния ИИ на популяции Т-клеток существует ряд данных об изменениях показателей Т-хелперов в периферической крови. Так, спустя 20 лет после облучения у переживших атомную бомбардировку Хиросимы и Нагасаки было показано снижение количества наивных Т-хелперов с фенотипом CD4⁺CD45RA⁺ у лиц, облученных в дозе свыше 1 Гр [2]. Схожие данные были получены для лиц, пострадавших при аварии на ЧАЭС: сниженное содержание Т-хелперов в периферической крови наблюдали у лиц, получивших высокие дозы облучения [3]. Исследование работников производственного объединения «Маяк» показало линейное дозозависимое снижение количества Т-хелперов периферической крови [4]. При исследовании влияния низкодозового профессионального облучения на работников болгарской АЭС «Козлодуй» было сделано предположение о возможном смещении иммунного ответа от Th₁ в сторону Th₂ [5]. При этом количественных исследований влияния хронического радиационного воздействия на различные субпопуляции Т-хелперов, в том числе Т-хелперов 17-го типа, Т-хелперов 22-го типа, Т-хелперов 9-го типа и т. д. в доступной литературе найдено не было.

Целью данной работы было исследовать количественные характеристики различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, в отдаленные сроки после начала облучения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование субпопуляций Т-хелперов проводили у 102 человек, условия и характер радиационного облучения которых были подробно описаны ранее [6]. Облучение жителей прибрежных сел реки Течи было обусловлено как внешним гамма-излучением, так и внутренним облучением (преимущественно за счет ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs) вследствие

сбросов жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в реку Течу. Наибольшие дозы пришлось на красный костный мозг (ККМ) и были сформированы за счет ⁹⁰Sr в 1950–1960 гг. Люди, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию, были разделены на две группы: группу облученных лиц ($n = 54$) и группу сравнения ($n = 48$). Важно отметить, что в настоящее время среди жителей прибрежных сел реки Течи зарегистрирован повышенный уровень заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований, включая лейкозы, для лиц с накопленной дозой облучения свыше 100 мГр на желудок и ККМ соответственно [6].

Критерии включения облученных лиц в исследование: постоянное проживание в одном из 41 сел, расположенных на побережье реки Течи, в период с 01.01.1950 по 31.12.1960; наличие рассчитанных индивидуальных накопленных доз облучения красного костного мозга (ККМ), тимуса и периферических лимфоидных органов на основе дозиметрической системы TRDST 2016 [7]; отсутствие аутоиммунных, онкологических, острых или хронических (период обострения) воспалительных заболеваний, гемобластозов, почечной или печеночной недостаточности, острого нарушения мозгового кровообращения в течение последних трех месяцев; отсутствие приема антибиотиков, глюкокортикоидов и цитостатиков в течение последних шести месяцев; отсутствие рентгенологического обследования в течение последних шести месяцев.

В группу сравнения были включены люди, проживающие в схожих социально-экономических условиях, с дозой облучения ККМ менее 70 мГр, накопленной за весь период своей жизни [8] (табл. 1).

Для исследования у пациентов натошак отбирали кров в вакуумную пробирку с наполнителем K3-EDTA (Greiner Bio-One; Австрия) в объеме 9 мл. Методом проточной цитометрии оценивали относительное количество субпопуляций Т-хелперов по уровню экспрессии CD45RA (маркер «наивных» Т-хелперов), CD62L (маркер направленной миграции клеток в периферические лимфоидные органы), а также CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5. В одну пробирку для проточного цитометра (Beckman Coulter; США) добавляли 100 мкл исследуемого образца, по 5 мкл моноклональных антител CD3 и CD4 (Beckman Coulter, США; конъюгированы с Krome Orange и Pacific Blue соответственно), по 20 мкл моноклональных антител CD45RA и CD62L (Beckman Coulter, США; конъюгированы с PE и FITC соответственно), по 5 мкл

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Характеристика группы		Облученные лица	Группа сравнения
		$n = 54$	$n = 48$
Возраст на момент обследования, лет, $M \pm SE$ (min–max)		73,26 $\pm$ 0,58 (67–84)	68,73 $\pm$ 0,96 (60–87)
Пол, человек (%)	мужчины	22 (40,7)	17 (35,4)
	женщины	32 (59,3)	31 (64,6)
Этническая принадлежность, человек (%)	славяне	17 (31,5)	21 (43,8)
	тюрки	35 (64,8)	26 (54,2)
	не определено	2 (3,7)	1 (2)
Накопленная доза облучения ККМ, мГр, $M \pm SE$ (min–max)		567 $\pm$ 73 (80,20–2930)	17,20 $\pm$ 2,25 (1,89–55)
Накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов, мГр, $M \pm SE$ (min–max)		79,80 $\pm$ 10,70 (4,63–355)	7,35 $\pm$ 1,29 (0,21–39,5)

Примечания: n — число исследуемых; $M \pm SE$ — среднее $\pm$ ошибка среднего.

Таблица 2. Характеристика фенотипов исследуемых субпопуляций Т-хелперов в периферической крови облученных лиц

Фенотип клеток	Название популяции
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Т-хелперы 2 (Th ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Т-хелперы 17 (Th ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Т-хелперы 17 и Т-хелперы 22 (Th ₁₇ и Th ₂₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Т-хелперы 1 и Т-хелперы 9 (Th ₁ и Th ₉)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	«Неклассические» Th ₁₇ (Th ₁₇ /Th ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 2 (Tfh ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 2 (Tfh ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 17 «double negative» («double negative» Tfh ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 17 (Tfh ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 1 (Tfh ₁)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 17 «double positive» («double positive» Tfh ₁₇)

моноклональных антител CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 (Beckman Coulter, США; конъюгированы с APC, Per-CP-eFluorTM710, PE-Cyamine7 и PE-eFluor®610 соответственно). Инкубацию образца проводили 20 мин в темном месте при комнатной температуре. Затем к образцу добавляли 1 мл лизирующего буфера VersaLyse (Beckman Coulter; США) для удаления эритроцитов, повторную инкубацию проводили 10 мин в тех же условиях. После инкубации образец анализировали на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter; США).

Для анализа субпопуляций Т-хелперов применяли следующую тактику гейтирования: Т-хелперы выявляли по наличию на поверхности клеток CD3⁺ и CD4-маркеров. Далее популяцию CD3⁺CD4⁺-клеток разделяли на субпопуляции Т-хелперов на разной стадии дифференцировки по наличию поверхностных маркеров CD45RA и CD62L, а именно наивных Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ (T_{Naive}), Т-хелперов центральной памяти с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ (T_{CM}), Т-хелперов эффекторной памяти с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁻ (T_{EM}) и терминально дифференцированных Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁻ (TEMRA). В популяциях T_{CM} и T_{EM} определяли субпопуляции различных Т-хелперов по наличию маркеров CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 [9–11] (табл. 2).

Статистическую обработку данных проводили в программе SigmaPlot (SYSTAT Software; США). Проверку нормальности распределения показателей — с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Массивы непараметрических данных сравнивали при помощи

U-критерия Манна–Уитни. В первую очередь выше указанные параметры оценивали для Т-хелперов, находящихся на разных уровнях дифференцировки, затем статистическую обработку проводили для субпопуляций Т-хелперов центральной и эффекторной памяти.

Наличие зависимостей оценивали путем расчета коэффициентов ранговой корреляции по Спирмену и линейной корреляции по Пирсону, а также линейной регрессии. При оценке достоверности результатов был принят 5% уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На сегодняшний день на основе экспрессии CD-маркеров выделяют Т-хелперы, находящиеся на разной стадии дифференцировки. В литературе хорошо описана способность T_{Naive}, не прошедших антигензависимую дифференцировку во вторичных лимфоидных органах, давать начало Т-клеткам памяти и эффекторным клеткам. T_{CM} несут на себе адгезионную молекулу CD62L, которая определяет их способность преимущественно локализоваться во вторичных лимфоидных органах. T_{EM} не способны проникать в периферические лимфоидные органы, однако несут на своей поверхности большой спектр различных адгезионных и хемокиновых молекул, способствующих их миграции в ткани и органы. Способность T_{EM} к пролиферации и дифференцировке снижена, а входящие в эту популяцию клетки являются основными продуцентами эффекторных цитокинов, таких как IFN γ и ИЛ-4. Эффекторные клетки TEMRA считают

Таблица 3. Количество Т-хелперов различных субпопуляций в сравниваемых группах

Показатель	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ –Q ₃)	
Лимфоциты, абс.	2,17 (1,49–2,76)	2,07 (1,62–2,55)
Лимфоциты, %	32,00 (22,00–36,80)	31,10 (26,00–38,75)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -клетки, %	36,34 (31,83–41,54)	39,50 (33,15–45,22)
T _{Naive} , %	26,04 (14,89–39,66)	27,79 (17,46–36,77)
T _{CM} , %	36,83 (30,23–42,65)	36,74 (31,87–43,48)
T _{EM} , %	27,85 (20,35–38,58)	30,63 (23,24–38,09)
TEMRA, %	2,37 (1,15–4,18)	1,83 (1,22–5,72)

Таблица 4. Относительное количество (%) Т-хелперов в популяции TCM в исследуемых группах

Показатель, %	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ –Q ₂)	
Th ₂	2,51 (0,99–5,16)	4,33 (2,54–6,63)
Th ₁₇	2,43 (0,92–3,64)	2,58 (1,38–4,19)
Th ₁₇ и Th ₂₂	0,23 (0,07–0,75)	0,40 (0,07–0,97)
Th ₁ и Th ₉	32,79 (24,65–37,70)	33,03 (25,03–37,43)
Th ₁ /Th ₁₇	1,28 (0,58–2,61)	1,41 (0,36–3,05)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	8,46 (5,69–11,11)	8,03 (5,29–10,68)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	0,13 (0,05–0,39)	0,13 (0,06–0,31)
«double negative» Tfh ₁₇	5,98 (3,26–9,67)	7,56 (4,29–11,32)
Tfh ₁₇	0,14 (0,04–0,34)	0,21 (0,05–0,53)
Tfh ₁	6,11 (4,07–8,92)	6,54 (4,98–8,14)
«double positive» Tfh ₁₇	0,05 (0,00–0,16)	0,04 (0,00–0,08)
Соотношение Th ₁ /Th ₂	11,70 (6,24–32,08)	7,73 (3,60–15,97)
Соотношение Th ₁ /Th ₁₇	13,43 (7,65–38,59)	11,63 (7,51–22,32)

финальной стадией дифференцировки Т-лимфоцитов, обнаруживаемой в периферической крови. Эффекторное свойство TEMRA не нуждается в стимуляции и проявляется под действием цитокинов, продуцируемых воспаленной тканью [12].

На первом этапе работы на основе экспрессии поверхностного маркера CD45RA и маркера направленной миграции клеток в периферические лимфоидные органы CD62L было исследовано относительное количество Т-хелперов, находящихся на разной стадии дифференцировки: T_{Naive}, T_{CM}, T_{EM} и TEMRA (табл. 3).

Не было выявлено статистически значимых различий количественных показателей лимфоцитов и Т-хелперов на разной стадии дифференцировки у облученных лиц, по сравнению с группой сравнения (табл. 3).

На основе экспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 было оценено количество популяций Т-хелперов в субпопуляциях T_{CM} и T_{EM}. Преимущественно в составе популяций клеток T_{CM} и T_{EM} обнаруживаются такие субпопуляции, как Th1, Th2, Th17 и Th22, Th9, а также фолликулярные Т-хелперы. Все эти клетки обладают уникальными путями развития и регуляции и играют разные роли в иммунитете и иммуноопосредованных патологиях [13].

Результаты оценки представленности различных субпопуляций Т-хелперов в популяциях T_{CM} и T_{EM}, а также соотношение Th₁/Th₂ и Th₁/Th₁₇ у облученных лиц представлены в табл. 4 и 5.

Статистически значимых различий субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{CM} между группой облученных и группой сравнения обнаружено не было.

В популяции T_{EM} также не было выявлено статистически значимых различий между показателями субпопуляций Т-хелперов в группе облученных и группе сравнения.

Для определения зависимости количества различных субпопуляций Т-хелперов на разных стадиях дифференцировки в периферической крови облученных лиц в отдаленном периоде от дозы облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов был проведен корреляционный анализ по методу Спирмена и по методу Пирсона, анализ проводили в объединенной группе исследования.

В результате корреляционного анализа не было выявлено достоверных ассоциаций количества Т-хелперов на разной стадии дифференцировки в периферической крови облученных лиц с дозой облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов.

При исследовании зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{CM} от дозы

Таблица 5. Относительное количество (%) Т-хелперов в популяции T_{EM} в исследуемых группах

Показатель, %	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ –Q ₂)	
Th ₂	0,67 (0,26–1,52)	0,94 (0,34–2,30)
Th ₁₇	4,29 (2,37–6,80)	5,22 (3,17–6,82)
Th ₁₇ и Th ₂₂	0,23 (0,03–0,52)	0,17 (0,05–0,59)
Th ₁ и Th ₉	45,96 (39,49–57,57)	51,51 (36,74–56,46)
Th ₁ /Th ₁₇	2,52 (1,08–5,52)	3,34 (1,35–7,23)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	2,29 (1,59–3,33)	2,22 (1,18–7,23)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	0,02 (0–0,09)	0 (0–0,04)
«double negative» Tfh ₁₇	2,11 (1,24–3,45)	2,75 (1,55–4,35)
Tfh ₁₇	0,02 (0–0,10)	0,04 (0–0,15)
Tfh ₁	2,48 (1,49–3,87)	2,42 (1,84–3,62)
«double positive» Tfh ₁₇	0 (0–0,03)	0 (0–0,02)
Соотношение Th ₁ /Th ₂	62,63 (26,95–224,95)	44,66 (20,59–111,95)
Соотношение Th ₁ /Th ₁₇	10,19 (6,13–21,56)	9,92 (6,15–15,25)

Таблица 6. Зависимость показателей различных субпопуляций Т-хелперов от достигнутого возраста на время исследования

Показатель, %	Облученные лица		Группа сравнения	
	$S(p)$	$R(p)$	$S(p)$	$R(p)$
T_{Naive}	-0,35 (0,009)	-0,34 (0,01)	–	–
T_{EM}	0,28 (0,04)	0,33 (0,02)	–	–
Т-хелперы центральной памяти				
«double positive» Tfh17	–	–	–	0,32 (0,03)
Т-хелперы эффекторной памяти				
«double positive» Tfh17	-0,28 (0,04)	–	0,37 (0,01)	0,39 (0,006)

Примечания: $S(p)$ — коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (уровень значимости корреляционной связи); $R(p)$ — коэффициент линейной корреляции по Пирсону (уровень значимости корреляционной связи).

облучения ККМ и тимуса и периферических лимфоидных органов было зарегистрировано статистически значимое повышение содержания субпопуляции «double positive» Tfh₁₇ от дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,02$; $S = 0,23$). Однако линейный регрессионный анализ не показал достоверных дозовых зависимостей. Для остальных исследуемых субпопуляций Т-хелперов не было выявлено статистически значимых зависимостей от дозовых характеристик.

Аналогичное исследование было проведено для анализа зависимостей содержания различных субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{EM} от дозы облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов. Не было обнаружено статистически значимых зависимостей исследуемых показателей популяции T_{EM} от дозовых характеристик облучения.

Известно, что с возрастом у человека происходят инволюционные изменения иммунной системы: снижается количество некоторых субпопуляций Т-хелперов [14], изменяется направление дифференцировки [15], и нарушается их функционирование [16]. Поэтому было проведено исследование зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови исследуемых лиц от достигнутого возраста на время исследования (табл. 6).

В результате корреляционного анализа было выявлено достоверное снижение количества T_{Naive} , ассоциированное с возрастом в группе облученных лиц (по методу Спирмена $p = 0,009$, $S = -0,35$; по методу Пирсона — $p = 0,01$, $R = -0,34$). В группе сравнения аналогичной зависимости не отмечено. В группе

облученных лиц было также обнаружено статистически значимое возрастное увеличение количества T_{EM} (по методу Спирмена $p = 0,04$, $S = 0,28$; по методу Пирсона — $p = 0,02$, $R = 0,33$), которое тоже отсутствовало в группе сравнения. Для данных зависимостей был проведен линейный регрессионный анализ (рис. 1; графики скользящей средней).

Обнаружена достоверная возрастная зависимость содержания «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляции T_{EM} в периферической крови как облученных лиц, так и лиц из группы сравнения. Однако ассоциации носили разнонаправленный характер: у облученных лиц отмечено достоверное снижение количества данной популяции клеток ($p = 0,04$; $S = -0,28$) с возрастом, а в группе сравнения наоборот — увеличение (по методу Спирмена $p = 0,003$; $S = 0,32$; по методу Пирсона $p = 0,05$; $R = 0,29$). Кроме того, в группе сравнения выявлено возрастное увеличение «double positive» Tfh₁₇ в субпопуляции T_{CM} ($p = 0,009$; $R = 0,38$), при этом в группе облученных лиц данной зависимости зарегистрировано не было.

Линейный регрессионный анализ зависимости количества «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляций T_{CM} и T_{EM} от возраста исследуемых лиц в группе облученных не выявил статистически значимых результатов, для группы сравнения результаты представлены в виде графика скользящей средней на рис. 2.

Анализ зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови облученных лиц от достигнутого возраста на начало облучения показал следующие корреляции: количество T_{Naive} также снижалось с увеличением возраста

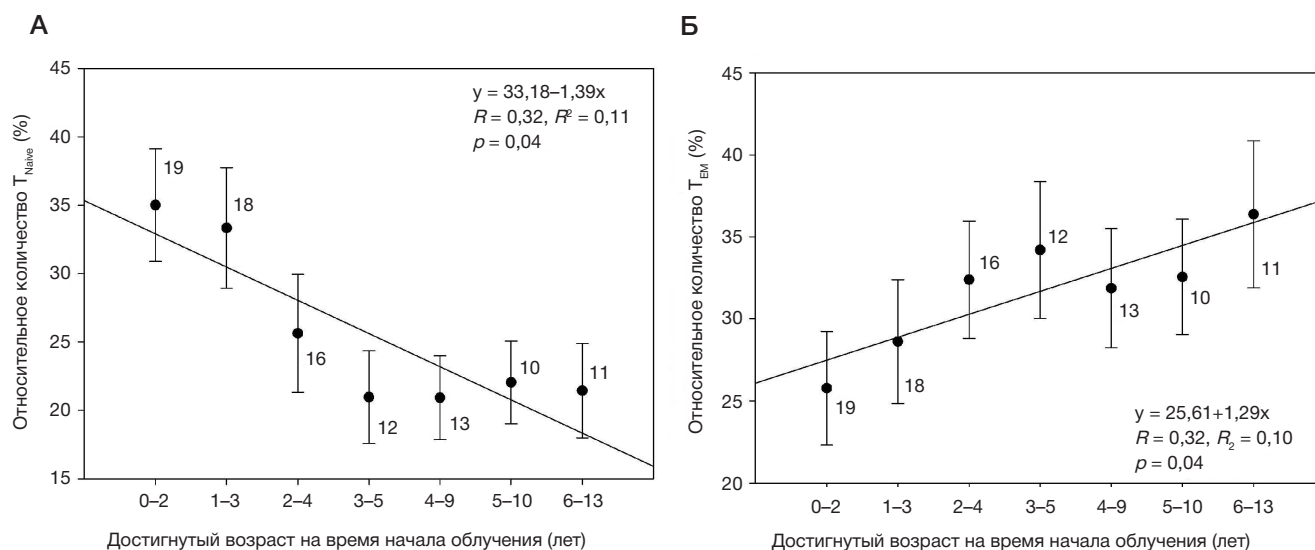


Рис. 1. Линейная регрессионная возрастная зависимость относительного количества T_{Naive} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови облученных лиц

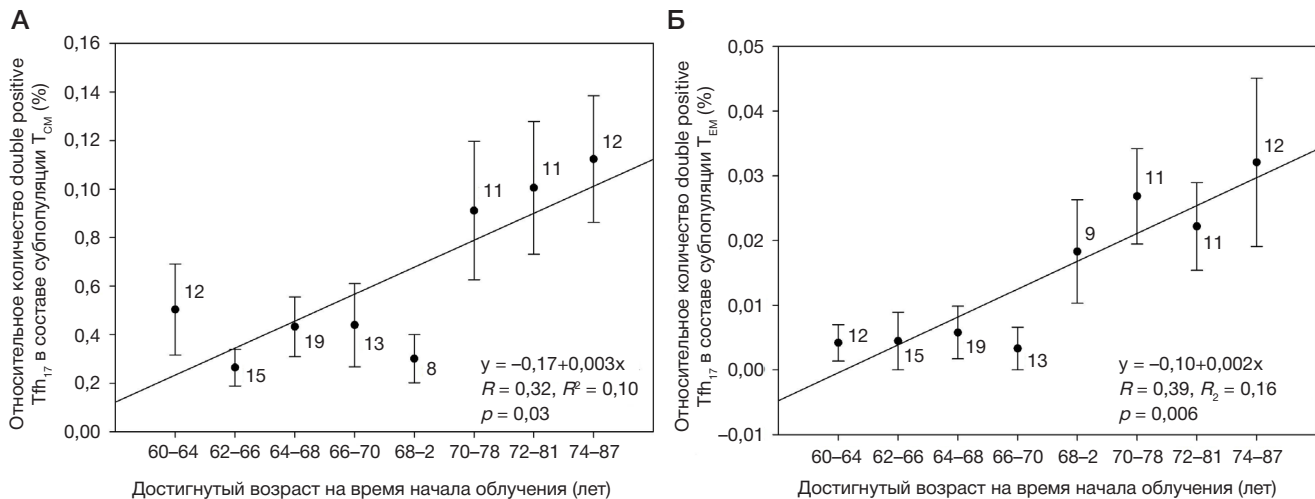


Рис. 2. Линейная регрессионная зависимость содержания «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляции T_{CM} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови от возраста на момент исследования лиц из группы сравнения

(по методу Спирмена $p = 0,03$, $S = -0,34$; по методу Пирсона $p = 0,04$; $R = -0,32$), а количество T_{EM} увеличивалось (по методу Спирмена $p = 0,03$, $S = 0,35$; по методу Пирсона $p = 0,04$, $R = 0,32$) (рис. 3).

Для остальных популяций Т-хелперов не было выявлено статистически значимых зависимостей от достигнутого возраста на время исследования и на время начала облучения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Т-хелперы играют важнейшую роль в регуляции иммунной системы: от активации В-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов и других популяций клеток до подавления иммунного ответа.

Однако помимо поддержания функций адаптивного иммунитета Т-хелперы могут принимать участие и в развитии таких патологических состояний, как аутоиммунные [17, 18] и онкологические заболевания [19, 20]. Так, сообщается, что развитие хронического лимфолейкоза связано с распространением аномальных фолликулярных Т-хелперов, продуцирующих повышенные уровни цитокинов и костимулирующих факторов, способствующих пролиферации опухолевых клеток [21]. Показана также проопухолевая активность Th₁₇,

выражающаяся в продукции иммуносупрессивных цитокинов и хемокинов в микроокружении опухоли, что приводит к стимуляции роста опухоли и метастазов [22, 23].

Важную роль в иммунном ответе играет баланс различных субпопуляций Т-хелперов. Например, цитокины, продуцируемые клетками Th2, блокируют продукцию цитокинов Th1 и естественными киллерами. Кроме того, клетки Th1 могут ингибировать дифференцировку и пролиферацию базофилов и эозинофилов, активность которых находится под контролем синтеза цитокинов Th2 [24]. Влияние ионизирующего излучения вызывает иммунный дисбаланс Th1/Th2 в направлении доминирования Th2, и этот дисбаланс может способствовать дисфункции иммунной системы после облучения [25]. В ряде работ представлены данные о смещении баланса Th1/Th2 в сторону Th2 при гематологических злокачественных новообразованиях [26–28]. В последнее время начали появляться данные и о другом соотношении иммунокомпетентных клеток, а именно Th1/Th17, дисбаланс которого участвует в развитии аутоиммунных заболеваний, в первую очередь ревматоидного артрита [29, 30].

В проведенном нами исследовании не было выявлено статистически значимых различий относительного содержания различных субпопуляций Т-хелперов, а также соотношения Th1/Th2 и Th1/Th17 в периферической

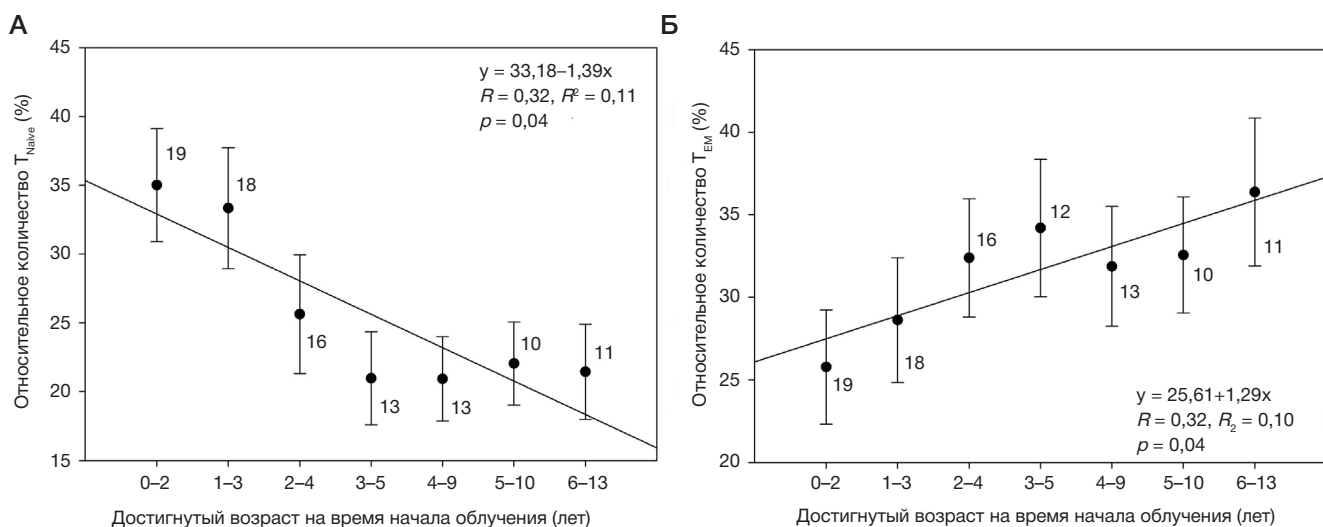


Рис. 3. Линейная регрессионная зависимость относительного количества T_{Naive} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови облученных лиц от достигнутого возраста на начало облучения

крови между группой облученных лиц и группой сравнения в отдаленные сроки после начала облучения. Однако у облученных людей были отмечены некоторые различия зависимости отдельных популяций Т-хелперов периферической крови в исследуемых группах от дозы облучения тимуса, периферических лимфоидных органов и достигнутого возраста.

У облученных лиц было обнаружено дозозависимое повышение количества «double positive» Tfh17, входящих в состав популяции T_{CM} , в периферической крови в зависимости от дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов. Дозозависимые изменения количества Т-хелперов, а также их функциональных характеристик наблюдались и в исследованиях других популяций облученных лиц. У переживших атомную бомбардировку Хиросимы и Нагасаки было зарегистрировано дозозависимое снижение количества $CD4^+$ -Т-клеток в периферической крови [3], повышение мутации Т-клеточного рецептора в основном в популяции $CD4^+$ -Т-клеток [31], а также дозозависимое укорочение длины теломер Т-хелперов при дозах свыше 0,5 Гр [32]. У работников ПО «Маяк», подвергшихся хроническому радиационному воздействию, также выявлены изменения в Т-звене иммунной системы: с увеличением дозы внешнего облучения (2–4 Гр) снижалось количество $CD4^+$ -клеток [33], изменялись концентрации ряда цитокинов и хемокинов. Полученные результаты позволили сделать вывод, что выявленные изменения иммунных показателей у обследованных лиц способствовали поддержанию хронического воспалительного статуса и могли способствовать развитию поздних радиационно-обусловленных патологий, таких как сердечно-сосудистые и злокачественные заболевания [5, 34].

Помимо дозовых зависимостей, в обследованных группах обнаружены и возрастные изменения. Нами было выявлено возрастное снижение количества T_{Naive} в периферической крови облученных лиц, а также увеличение с возрастом количества T_{EM} , способных к миграции через эндотелий сосудов и тканей в очаги воспаления и развитию быстрого иммунного ответа с синтезом преимущественно эффекторных цитокинов [12]. Полученные результаты согласуются с литературными данными, описывающими феномен снижения количества наивных Т-хелперов с возрастом у лиц старше 70–75 лет [14]. Кроме того, в пожилом возрасте наивные Т-клетки приобретают склонность к эффекторной дифференцировке [35]. Стоит заметить, что в группе сравнения подобных корреляций выявлено не было; для этой группы

обследованных лиц отмечено увеличение с возрастом количества «double positive» Tfh17 в субпопуляциях T_{CM} и T_{EM} . При этом содержание «double positive» Tfh17 в субпопуляции T_{EM} у облученных лиц наоборот очень слабо снижалось с возрастом. Фолликулярные Т-хелперы экспрессируют хемокиновый рецептор CXCR5, что позволяет им мигрировать к его лиганду CXCL13 В-клеточного фолликула. Нормальные фолликулярные Т-хелперы продуцируют уникальный спектр цитокинов и хемокинов, необходимых для поддержания выживания и пролиферации В-клеток в зародышевых центрах [9, 21, 36, 37]. Так, Tfh17 продуцируют ИЛ-21 и ИЛ-17, участвующие в усилении взаимодействия Т- и В-клеток и необходимые для образования зародышевых центров [38].

Таким образом, у облученных лиц в отдаленном периоде после хронического радиационного воздействия наблюдаются некоторые изменения в Т-хелперном звене, которые зависят как от дозы облучения, так и от достигнутого возраста на момент исследования, однако в связи с небольшим количеством лиц, вошедших в обследованные группы, однозначные выводы на данном этапе работы невозможно сделать, и требуется дальнейшее продолжение исследований.

ВЫВОДЫ

1. В отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия с преимущественным облучением ККМ (средняя накопленная доза облучения ККМ 567 ± 73 мГр) у жителей прибрежных сел реки Течи в возрастном диапазоне 67–84 года не установлено изменения относительного содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови. 2. Относительное количество «double positive» Tfh17, содержащихся в популяции TCM в периферической крови облученных лиц, положительно коррелировало с дозой облучения тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,02$), однако линейной регрессионной зависимости зарегистрировано не было. 3. Полученные данные косвенно свидетельствуют об интенсификации инволюционных процессов у облученных лиц за счет снижения с возрастом количества T_{Naive} и увеличения T_{EM} . У облученных лиц в отдаленном периоде регистрируются следующие возрастные зависимости: снижение относительного количества T_{Naive} ($p = 0,009$) и «double positive» Tfh17 в составе субпопуляции T_{EM} ($p = 0,04$), а также увеличение относительного содержания T_{EM} ($p = 0,04$) в периферической крови. Однако в группе сравнения аналогичных зависимостей не отмечено.

Литература

1. Аклев А. А., Блинова Е. А., Долгушин И. И. TCR-мутации в лимфоцитах периферической крови и иммунный статус у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки. Российский иммунологический журнал. 2019; 13 (22,1): 13–23. DOI: 10.31857/S102872210005016-2.
2. Nalbant A. IL17, IL21, and IL22 Cytokines of T Helper 17 Cells in Cancer. J Interferon Cytokine Res. 2019; 39 (1): 56–60. DOI: 10.1089/jir.2018.0057.
3. Akiyama M, Late effects of radiation on the human immune system: an overview of immune response among the atomic-bomb survivors. Int J Radiat Biol. 1995; 68: 497–508.
4. Heylmann D, Rödel F, Kindler T, Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Reviews on Cancer. 2014; 1846 (1): 121–29. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
5. Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological markers of chronic occupational radiation exposure. Health Phys. 2018; 115 (1): 108–13. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855.
6. Аклев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи. Челябинск: Книга, 2016; 390 с.
7. Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю., Аклев А. В. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. Медицинская

- радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475.
8. СанПин 2.6.1.2523-09 «Нормы радиационной безопасности (НРБ - 99/2009)». М., 2009; 225 с.
 9. Зурочка А. В., Хайдуков С. В., Кудрявцев И. В., Черешнев В. А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018; 720 с.
 10. Кудрявцев И. В., Серебрякова М. К., Тотолян А. А. Значения нормы субпопуляций Т-хелперов различного уровня дифференцировки в периферической крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (3): 179–84. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-179-184.
 11. Кудрявцев И. В., Борисов А. Г., Кробинец И. И., Савченко А. А., Серебрякова М. К., Тотолян А. А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции. Медицинская иммунология. 2016; 18 (3): 239–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250.
 12. Кудрявцев И. В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки. Российский иммунологический журнал. 2014; 8 (17): 947–64.
 13. Dong C. Cytokine Regulation and Function in T Cells. *Annu Rev Immunol*. 2021; 39: 51–76. DOI: 10.1146/annurev-immunol-061020-053702.
 14. Goronzy JJ, Lee WW, Weyand CM. Aging and T-cell diversity. *Exp Gerontol*. 2007; 42 (5): 400–6. DOI: 10.1016/j.exger.2006.11.016.
 15. Lefebvre JS, Lorenzo EC, Masters AR, et al. Vaccine efficacy and T helper cell differentiation change with aging. *Oncotarget*. 2016; 7 (23): 33581–94. DOI: 10.18632/oncotarget.9254.
 16. Haynes L, Lefebvre JS. Age-related Deficiencies in Antigen-Specific CD4 T cell Responses: Lessons from Mouse Models. *Aging Dis*. 2011; 2 (5): 374–81.
 17. Huang J, Xu X, Yang J. miRNAs Alter T Helper 17 Cell Fate in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2021; 12: 593473. DOI: 10.3389/fimmu.2021.593473.
 18. Takeuchi Y, Hirota K, Sakaguchi S. Impaired T cell receptor signaling and development of T cell-mediated autoimmune arthritis. *Immunol Rev*. 2020; 294 (1): 164–76. DOI: 10.1111/immr.12841.
 19. Shao F, Zheng P, Yu D, Zhou Z, Jia L. Follicular helper T cells in type 1 diabetes. *FASEB J*. 2020; 34 (1): 30–40. DOI: 10.1096/fj.201901637R.
 20. Chang SH. T helper 17 (Th17) cells and interleukin-17 (IL17) in cancer. *Arch Pharm Res*. 2019; 42 (7): 549–59. DOI: 10.1007/s12272-019-01146-9.
 21. Wu X, Fajardo-Despaigne JE, Zhang C, et al. Altered T Follicular Helper Cell Subsets and Function in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2021; 11: 674492. DOI: 10.3389/fonc.2021.674492.
 22. Dahal LN. The dichotomy of T helper 17 cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17 (9): 592. DOI: 10.1038/nri.2017.93.
 23. Marshall EA, Ng KW, Kung SH, et al. Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis. *Mol Cancer*. 2016; 15 (1): 67. DOI: 10.1186/s12943-016-0551-1.
 24. Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. *Allergy*. 2000; 55 (Suppl 61): 6–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.00511.x.
 25. Chen R, Wang YW, Fornace AJ Jr, Li HH. Impairment of the Intrinsic Capability of Th1 Polarization in Irradiated Mice: A Close Look at the Imbalanced Th1/Th2 Response after Irradiation. *Radiat Res*. 2016; 186 (6): 559–67. DOI: 10.1667/RR14401.1.
 26. Zhang X-L, Komada Y, Chipeta J, Li Q-S, Inaba H, Azuma E, Yamamoto H, Sakurai M. Intracellular cytokine profile of T cells from children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Immunol Immunother*. 2000; 49: 165–72.
 27. Yatnda P, Mintz P, Grigoriadou K, Lemonnier F, Vilmer E, Langlade-Demoyen P. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells. *Exp Hematol*. 1999; 27: 1375–83.
 28. De Toter D, Reato G, Mauro F, et al. IL-4 production and increased CD30 expression by a unique CD8 — T-cell subset in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1999; 104: 589–99.
 29. Pan B, Zeng L, Cheng H, et al. Altered balance between Th1 and Th17 cells in circulation is an indicator for the severity of murine acute GVHD. *Immunol Lett*. 2012; 142 (1–2): 48–54. DOI: 10.1016/j.imlet.2011.12.005.
 30. Bazzazi H, Aghaei M, Memarian A, Asgarian-Omran H., Behnampour N, Yazdani Y. Th1–Th17 ratio as a new insight in rheumatoid arthritis disease. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2018; 17 (1): 68–77.
 31. Kusunoki Y, Yamaoka M, Kasagi F, Hayashi T, MacPhee DG, Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta repertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. *Br J Haematol*. 2003; 122: 975–84. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
 32. Yoshida K, Misumi M, Kubo Y, Yamaoka M, Kyoizumi S, Ohishi W, et al. Long-term effects of radiation exposure and metabolic status on telomere length of peripheral blood T cells in atomic bomb survivors. *Radiat Res*. 2016; 186: 367–76. DOI: 10.1667/RR14389.1.
 33. Kiselev SM, Sokolnikov ME, Lyss LV, Ilyina NI. Immunological monitoring of the personnel at radiation hazardous facilities. *Radiation Protection Dosimetry*. 2016; 173 (1–3): 124–30. DOI: 10.1093/rpd/ncw346.
 34. Rybkina VL, Azizova TV, Scherthan H, Meineke V, Doerr H, Adamova GV, et al. Expression of blood serum proteins and lymphocyte differentiation clusters after chronic occupational exposure to ionizing radiation. *Radiat Environ Biophys*. 2014; 53 (4): 659–70. DOI: 10.1007/s00411-014-0556-3.
 35. Zhang H, Weyand CM, Goronzy JJ. Hallmarks of the aging T-cell system. *FEBS J*. 2021; 288 (24): 7123–42. DOI: 10.1111/febs.15770.
 36. Benteibibel SE, Lopez S, Obermoser G, et al. Induction of ICOS+CXCR3+CXCR5+ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. *Sci Transl Med*. 2013; 5 (176): 176ra32. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005191.
 37. Brenna E, Davydov AN, Ladell K, et al. CD4+ T Follicular Helper Cells in Human Tonsils and Blood Are Clonally Convergent but Divergent from Non-Tfh CD4+ Cells. *Cell Rep*. 2020; 30 (1): 137–52. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.016.
 38. Olatunde AC, Hale JS, Lamb TJ. Cytokine-skewed Tfh cells: functional consequences for B cell help. *Trends Immunol*. 2021; 42 (6): 536–50. DOI: 10.1016/j.it.2021.04.006.

References

1. Akleev AA, Blinova EA, Dolgushin II. TCR-mutacii v limfocitax perifericheskoy krovi i immunnyj status u lic, podverghshixsya xronicheskomu radiacionnomu vozdejstviyu, v otdalennye sroki. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2019; 13 (22,1): 13–23. DOI: 10.31857/S102872210005016-2. Russian.
2. Nalbant A. IL17, IL21, and IL22 Cytokines of T Helper 17 Cells in Cancer. *J Interferon Cytokine Res*. 2019; 39 (1): 56–60. DOI: 10.1089/jir.2018.0057.
3. Akiyama M. Late effects of radiation on the human immune system: an overview of immune response among the atomic-bomb survivors. *Int J Radiat Biol*. 1995; 68: 497–508.
4. Heylmann D, Rödel F, Kindler T, Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Reviews on Cancer*. 2014; 1846 (1): 121–29. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
5. Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological markers of chronic occupational radiation exposure. *Health Phys*. 2018; 115 (1): 108–13. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855.
6. Akleev AV, redaktor. *Posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya reki Techii*. Chelyabinsk: Kniga, 2016; 390 s. Russian.
7. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Bougrov NG, Krestinina LYU, et al. *Raspredelenie individual'nyx doz v kogorte*

- lyudej, obluchennyx v rezul'tate radioaktivnogo zagryazneniya reki Tchi. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475. Russian.
8. SanPin 2.6.1.2523-09 «Normy radiacionnoj bezopasnosti (NRB - 99/2009)». M., 2009; 225 s. Russian.
 9. Zurochka AV, Khaidukov SV, Kudryavtsev IV, Chereshnev VA. Protochnaya citometriya v biomedicinskix issledovaniyax. Ekaterinburg: RIO UrO RAN, 2018; 720 s. Russian.
 10. Kudryavtsev IV, Serebryakova MK, Totolyan AA. Znacheniya normy subpopulyacij T-xelperov razlichnogo urovnya differencirovki v perifericheskoj krovi. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2016; 61 (3): 179–84. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-179-184. Russian.
 11. Kudryavtsev IV, Borisov AG, Krobinets II, Savchenko AA, Serebryakova MK, Totolyan AA. Xemokinovye receptory na T-xelperax razlichnogo urovnya differencirovki: osnovnye subpopulyacii. Medicinskaya immunologiya. 2016; 18 (3): 239–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250. Russian.
 12. Kudryavtsev IV. T-kletki pamyati: osnovnye populyacii i stadii differencirovki. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2014; 8 (17): 947–64. Russian.
 13. Dong C. Cytokine Regulation and Function in T Cells. Annu Rev Immunol. 2021; 39: 51–76. DOI: 10.1146/annurev-immunol-061020-053702.
 14. Goronzy JJ, Lee WW, Weyand CM. Aging and T-cell diversity. Exp Gerontol. 2007; 42 (5): 400–6. DOI: 10.1016/j.exger.2006.11.016.
 15. Lefebvre JS, Lorenzo EC, Masters AR, et al. Vaccine efficacy and T helper cell differentiation change with aging. Oncotarget. 2016; 7 (23): 33581–94. DOI: 10.18632/oncotarget.9254.
 16. Haynes L, Lefebvre JS. Age-related Deficiencies in Antigen-Specific CD4 T cell Responses: Lessons from Mouse Models. Aging Dis. 2011; 2 (5): 374–81.
 17. Huang J, Xu X, Yang J. miRNAs Alter T Helper 17 Cell Fate in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. Front Immunol. 2021; 12: 593473. DOI: 10.3389/fimmu.2021.593473.
 18. Takeuchi Y, Hirota K, Sakaguchi S. Impaired T cell receptor signaling and development of T cell-mediated autoimmune arthritis. Immunol Rev. 2020; 294 (1): 164–76. DOI: 10.1111/imr.12841.
 19. Shao F, Zheng P, Yu D, Zhou Z, Jia L. Follicular helper T cells in type 1 diabetes. FASEB J. 2020; 34 (1): 30–40. DOI: 10.1096/fj.201901637R.
 20. Chang SH. T helper 17 (Th17) cells and interleukin-17 (IL17) in cancer. Arch Pharm Res. 2019; 42 (7): 549–59. DOI: 10.1007/s12272-019-01146-9.
 21. Wu X, Fajardo-Despaigne JE, Zhang C, et al. Altered T Follicular Helper Cell Subsets and Function in Chronic Lymphocytic Leukemia. Front Oncol. 2021; 11: 674492. DOI: 10.3389/fonc.2021.674492.
 22. Dahal LN. The dichotomy of T helper 17 cells in cancer. Nat Rev Immunol. 2017; 17 (9): 592. DOI: 10.1038/nri.2017.93.
 23. Marshall EA, Ng KW, Kung SH, et al. Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis. Mol Cancer. 2016; 15 (1): 67. DOI: 10.1186/s12943-016-0551-1.
 24. Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. Allergy. 2000; 55 (Suppl 61): 6–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.00511.x.
 25. Chen R, Wang YW, Fornace AJ Jr, Li HH. Impairment of the Intrinsic Capability of Th1 Polarization in Irradiated Mice: A Close Look at the Imbalanced Th1/Th2 Response after Irradiation. Radiat Res. 2016; 186 (6): 559–67. DOI: 10.1667/RR14401.1.
 26. Zhang X-L, Komada Y, Chipeta J, Li Q-S, Inaba H, Azuma E, Yamamoto H, Sakurai M. Intracellular cytokine profile of T cells from children with acute lymphoblastic leukemia. Cancer Immunol Immunother. 2000; 49: 165–72.
 27. Yatnda P, Mintz P, Grigoriadou K, Lemonnier F, Vilmer E, Langlade-Demoyen P. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells. Exp Hematol. 1999; 27: 1375–83.
 28. De Totero D, Reato G, Mauro F, et al. IL-4 production and increased CD30 expression by a unique CD8⁺ T-cell subset in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Br J Haematol. 1999; 104: 589–99.
 29. Pan B, Zeng L, Cheng H, et al. Altered balance between Th1 and Th17 cells in circulation is an indicator for the severity of murine acute GVHD. Immunol Lett. 2012; 142 (1–2): 48–54. DOI: 10.1016/j.imlet.2011.12.005.
 30. Bazzazi H, Aghaei M, Memarian A, Asgarian-Omran H., Behnampour N, Yazdani Y. Th1–Th17 ratio as a new insight in rheumatoid arthritis disease. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2018; 17 (1): 68–77.
 31. Kusunoki Y, Yamaoka M, Kasagi F, Hayashi T, MacPhee DG, Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta repertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. Br J Haematol. 2003; 122: 975–84. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
 32. Yoshida K, Misumi M, Kubo Y, Yamaoka M, Kyoizumi S, Ohishi W, et al. Long-term effects of radiation exposure and metabolic status on telomere length of peripheral blood T cells in atomic bomb survivors. Radiat Res. 2016; 186: 367–76. DOI: 10.1667/RR14389.1.
 33. Kiselev SM, Sokolnikov ME, Lyss LV, Ilyina NI. Immunological monitoring of the personnel at radiation hazardous facilities. Radiation Protection Dosimetry. 2016; 173 (1–3): 124–30. DOI: 10.1093/rpd/ncw346.
 34. Rybkina VL, Azizova TV, Scherthan H, Meineke V, Doerr H, Adamova GV, et al. Expression of blood serum proteins and lymphocyte differentiation clusters after chronic occupational exposure to ionizing radiation. Radiat Environ Biophys. 2014; 53 (4): 659–70. DOI: 10.1007/s00411-014-0556-3.
 35. Zhang H, Weyand CM, Goronzy JJ. Hallmarks of the aging T-cell system. FEBS J. 2021; 288 (24): 7123–142. DOI: 10.1111/febs.15770.
 36. Bentebibel SE, Lopez S, Obermoser G, et al. Induction of ICOS+CXCR3+CXCR5+ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. Sci Transl Med. 2013; 5 (176): 176ra32. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005191.
 37. Brenna E, Davydov AN, Ladell K, et al. CD4⁺ T Follicular Helper Cells in Human Tonsils and Blood Are Clonally Convergent but Divergent from Non-Tfh CD4⁺ Cells. Cell Rep. 2020; 30 (1): 137–52. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.016.
 38. Olatunde AC, Hale JS, Lamb TJ. Cytokine-skewed Tfh cells: functional consequences for B cell help. Trends Immunol. 2021; 42 (6): 536–50. DOI: 10.1016/j.it.2021.04.006.