

**А.И. Котикова, Е.А. Блинова, А.В. Аклеев**

## **АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ $V\beta$ -СЕГМЕНТОВ Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА У ЖИТЕЛЕЙ ПРИБРЕЖНЫХ СЁЛ РЕКИ ТЕЧИ, ПОДВЕРГШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ, В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ**

Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск  
Челябинский государственный университет, Челябинск

Контактное лицо: Алиса Игоревна Котикова, e-mail: kotikova@urcrm.ru

### **РЕФЕРАТ**

**Цель:** Исследовать репертуар Т-клеточного рецептора у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленном периоде.

**Материал и методы:** В исследовании приняло участие 48 чел., которые были разделены на две группы: облученные лица – 31 чел., со средней накопленной дозой облучения красного костного мозга (ККМ)  $981 \pm 130$  мГр, и группа сравнения – 17 чел., со средней накопленной дозой облучения ККМ  $25,3 \pm 5,91$  мГр. Группы исследования достоверно не отличались по возрасту, полу и этнической принадлежности. Анализ репертуара  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора Т-лимфоцитов периферической крови облученных лиц проводился методом проточной цитометрии; было исследовано 24  $V\beta$ -сегмента Т-клеточного рецептора. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием критерия знаковых рангов Уилкоксона, а непосредственное описание репертуара  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора производилось с помощью кривой Лоренца и коэффициента Джини-TCR.

**Результаты:** У облученных лиц выявлено статистически значимое увеличение количества сегментов  $V\beta 3$  и  $V\beta 5,2$  Т-клеточного рецептора относительно группы сравнения ( $p=0,03$  и  $p=0,003$  соответственно). Также было показано, что  $V\beta$ -сегменты неравномерно представлены в составе Т-клеточного рецептора Т-лимфоцитов в обеих группах исследования. Однако не было выявлено достоверных различий между репертуарами Т-клеточного рецептора исследуемых групп по коэффициенту Джини-TCR ( $p=0,14$ ).

**Ключевые слова:** хроническое радиационное воздействие, резиденты, река Теча, периферическая кровь, Т-клеточный рецептор, иммунитет

**Для цитирования:** Котикова А.И., Блинова Е.А., Аклеев А.В. Анализ разнообразия  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора у жителей прибрежных сёл реки течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленном периоде // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т. 68. № 6. С. 49–54. DOI:10.33266/1024-6177-2023-68-6-49-54

DOI:10.33266/1024-6177-2023-68-6-49-54

**A.I. Kotikova, E.A. Blinova, A.V. Akleyev**

## **Analysis of $V\beta$ -Segment Diversity of T-Cell Receptor in Residents of the Techa Riverside Villages Chronically Exposed to Radiation in the Long-Term Period**

Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia  
Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Contact person: Alisa Igorevna Kotikova, e-mail: kotikova@urcrm.ru

### **ABSTRACT**

**Purpose:** Study the repertoire of the T-cell receptor in persons chronically exposed to radiation in the long-term period.

**Material and methods:** The study involved 48 people, who were divided into two groups: a group of exposed persons – 31 individuals with the average accumulated dose to red bone marrow (RBM) of  $981 \pm 130$  mGy, and a comparison group – 17 individuals, the average accumulated dose to RBM was  $25.3 \pm 5.91$  mGy. The study groups did not differ significantly in age, gender and ethnicity. The repertoire of  $V\beta$ -segments of the T-cell receptor of the peripheral blood T-lymphocytes of exposed persons was analyzed by flow cytometry method. 24  $V\beta$ -segments of the T-cell receptor were studied. Statistical processing of the obtained data was carried out using the Wilcoxon signed-rank test, and a direct description of  $V\beta$ -segment repertoire of the T-cell receptor was performed using the Lorenz curve and the Gini-TCR index.

**Results:** The study revealed a statistically significant increase in the number of  $V\beta 3$  and  $V\beta 5.2$  T-cell receptor segments in exposed individuals relative to the comparison group ( $p=0.03$  and  $p=0.003$ , respectively). It was also shown that the distribution of the  $V\beta$ -segments of the T-cell receptor is uneven in both study groups. However, there was no significant difference between the repertoires of the T-cell receptor of the studied groups by the Gini-TCR index ( $p=0.14$ ).

**Keywords:** chronic radiation exposure, residents, the Techa river, peripheral blood, T-cell receptor, immunity

**For citation:** Kotikova AI, Blinova EA, Akleyev AV. Analysis of  $V\beta$ -Segment Diversity of T-Cell Receptor in Residents of the Techa Riverside Villages Chronically Exposed to Radiation in the Long-Term Period. Medical Radiology and Radiation Safety. 2023;68(6):49–54. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2023-68-6-49-54

## Введение

Разнообразие репертуара Т-клеточных рецепторов (TCR) является определяющим фактором способности иммунной системы распознавать различные антигены [1, 2], в том числе и опухолевые [3]. Высокая изменчивость объясняется тем, что TCR образуется путем V(D)J-рекомбинации генов Т-клеточных рецепторов [4], происходящей на ранних этапах дифференцировки Т-лимфоцитов. Т-клеточный рецептор представляет собой гетеродимер, состоящий из ковалентно связанных  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей гликопротеинов (95 % периферических Т-клеток) или  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепей, которые в большинстве случаев участвуют в узнавании пептида главного комплекса гистосовместимости (МНС) [5]. Каждая цепь TCR состоит из константного домена (C), прикрепленного к плазматической мемbrane,  $\alpha$ -цепь состоит из двух сегментов  $V$  и  $J$ , а  $\beta$ -цепь из трёх –  $V$ ,  $D$  и  $J$ , что увеличивает её структурное разнообразие [6]. Так, согласно авторам [7], индивидуальное разнообразие  $\beta$ -цепей для одного взрослого человека может достигать  $10^8$  вариантов.

В настоящее время множество работ, как отечественных [8, 9], так и зарубежных [10–13], посвящено влиянию радиационного облучения на иммунную систему различных групп населения. Однако исследования Т-клеточного рецептора у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации, в литературе встречаются довольно редко, но с развитием технологической и методологической базы набирают популярность в научном сообществе. В экспериментальной работе с облученными мышами [14] показано снижение разнообразия репертуара TCR, схожее с инволюционными изменениями, при этом такой эффект был более выражен и сохранялся гораздо дольше у мышей, облученных в малой дозе 0,1 Гр, чем у мышей, облученных в дозе 1 Гр. Авторы отмечают, что такое изменение репертуара генов Т-клеточного рецептора связано с радиационным повреждением гемопоэтических стволовых клеток. Однако в продолжении работы авторы заявляют, что облучение мышей в низких дозах/низких мощностях доз не приводит к нарушениям реаранжировки генов TCR и в целом механизмов, обеспечивающих генетическую стабильность [15]. В свою очередь японские исследователи сообщали об активации радиационно-индукционного апоптоза клеток TCR- $\alpha/\beta^+$  после воздействия  $\gamma$ -облучения на мышей [16].

Для ликвидаторов аварии на ЧАЭС исследование частоты TCR-мутантных клеток показало, что у части ликвидаторов, облученных преимущественно в дозе до 2 Гр, обнаруживается повышение частоты TCR-мутантных клеток в отдаленном периоде, причем данный показатель практически не изменяется со временем после облучения [17, 18]. Авторы предполагают, что такой феномен обусловлен возникновением радиационно-индукционной нестабильностью генома (РИНГ).

Исследование жителей прибрежных сёл реки Течи, облученных вследствие сброса жидких радиоактивных отходов в 1949–1956 гг., проведенное в Уральском научно-практическом центре радиационной медицины, также выявило увеличение частоты TCR-мутантных клеток [19], что связывается с возникновением РИНГ [20]. Следует отметить, что изменения в Т-клеточном рецепторе у хронически облученных лиц в упомянутой работе регистрировались только фенотипически по низкой экспрессии комплекса CD3 и высокой экспрессии комплекса CD4 на поверхности лимфоцита [19].

РИНГ может возникать в любых облученных клетках [21], в том числе и в гемопоэтических клетках и костномозговых клетках-предшественниках, а проявляться в

клетках-потомках в отдаленные сроки. При этом следствием геномной нестабильности может быть нарушение созревания дифференцированных Т-лимфоцитов, выражющееся, кроме всего прочего, в нарушении формирования репертуара Т-клеточных рецепторов [20].

Анализ репертуара Т-клеточного рецептора может производиться различными методами: спектротипированием, секвенированием и проточной цитометрией. Первые два упомянутых метода для анализа требуют сортировки высокоочищенных популяций Т-лимфоцитов и в целом довольно дорогостоящи. По этим причинам в ряде исследований используется метод проточной цитометрии, позволяющий измерить процентное содержание  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора на уровне подмножества Т-клеток без необходимости их сортировки [22].

Поэтому целью данного исследования был анализ репертуара  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора методом проточной цитометрии у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в широком диапазоне доз, в отдаленном периоде.

## Материал и методы

Исследование репертуара Т-клеточного рецептора проводилось у 48 чел., проживавших в одном из 41 прибрежных сёл реки Течи. Жители прибрежных сёл реки Течи подвергались внешнему и внутреннему облучению (преимущественно за счет  $^{90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$ ) в результате сброса жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в 1949–1956 гг. [23].

Расчет накопленных доз облучения каждого исследуемого лица был произведен биофизической лабораторией УНПЦ РМ [24]. Критерии включения и исключения пациентов из исследования подробно описаны в статье [25]. Все участники исследования подписывали добровольное информированное согласие на проведение исследования, утвержденное локальным этическим комитетом Уральского научно-практического центра радиационной медицины.

Все исследуемые лица были разделены на две группы: облученные лица и группа сравнения. В группу облученных людей вошел 31 чел со средней накопленной дозой облучения красного костного мозга (ККМ)  $981 \pm 130$  мГр (в диапазоне доз от 225 до 3716 мГр) и средней накопленной дозой облучения тимуса и периферических лимфоидных органов  $115 \pm 12$  мГр (в диапазоне доз от 10,6 до 337 мГр). Средний возраст в группе составил  $74,9 \pm 0,6$  лет (от 71 до 83 лет). По половому и этническому составу преобладали женщины – 77,4 % (24 чел), представителей тюркской языковой группы (70,9 % или 22 чел) было больше, чем представителей славянской группы.

В группу сравнения вошли 17 чел., проживающих в аналогичных облученным лицам социально-экономических условиях, однако накопленная доза облучения ККМ лиц из группы сравнения не превышала 70 мГр за весь период жизни [26] и составила  $25,3 \pm 5,91$  мГр (в диапазоне доз от 2,73 до 70 мГр), средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов составила  $7,99 \pm 2,06$  мГр (в диапазоне доз от 0,45 до 22,5 мГр). Средний возраст лиц из группы сравнения –  $74,9 \pm 1,3$  лет (от 68 до 86 лет), в группе также наблюдалось больше женщин (70,6 %, 12 чел), а представителей тюркской языковой группы также было больше (70,6 %, 12 чел), чем славян.

Возраст лиц из двух групп исследования статистически значимо не различался (согласно U-критерию Манна–Уитни:  $p=0,95$ ), половой и этнический состав групп

также достоверно не различался (согласно критерию  $\chi^2$ :  $p=0,60$  и  $p=0,98$  соответственно).

Проводился анализ распределения 24  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора в популяции Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ -клеток) методом проточной цитометрии с использованием набора реагентов Beta Mark TCR  $V\beta$  Repertoire Kit (Beckman Coulter, США), позволяющего выявить процентное содержание Т-лимфоцитов, несущих в составе Т-клеточного рецептора следующие  $V\beta$ -сегменты:  $V\beta 5.3$ ,  $V\beta 7.1$ ,  $V\beta 3$ ,  $V\beta 9$ ,  $V\beta 17$ ,  $V\beta 16$ ,  $V\beta 18$ ,  $V\beta 5.1$ ,  $V\beta 20$ ,  $V\beta 13.1$ ,  $V\beta 13.6$ ,  $V\beta 8$ ,  $V\beta 5.2$ ,  $V\beta 2$ ,  $V\beta 12$ ,  $V\beta 23$ ,  $V\beta 1$ ,  $V\beta 21.3$ ,  $V\beta 11$ ,  $V\beta 22$ ,  $V\beta 14$ ,  $V\beta 13.2$ ,  $V\beta 4$ ,  $V\beta 7.2$ . Для лизиса эритроцитов использовался лизирующий буфер Optilyse C (Beckman Coulter, США), исследование проводилось на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США). В используемом нами наборе реагентов 3 разных  $V\beta$ -сегмента TCR скомбинированы в один тест: одно антитело для одного сегмента конъюгировано с красителем FITC, второе антитело для второго сегмента TCR – с PE, третье антитело для третьего сегмента конъюгировано сразу с двумя красителями FITC и PE, таким образом, для каждого пациента было сделано 8 проб. Набор охватывает около 70 % нормального репертуара  $V\beta$ -сегментов TCR [27].

Для анализа у пациентов натощак производился отбор проб цельной периферической крови из локтевой вены в вакуумную пробирку с наполнителем K3-EDTA (Greiner Bio-One; Австрия) в объеме 9 мл. Анализ проб проводился на проточном цитометре Navios с использование следующей тактики гейтирования: в первую очередь выделялась общая популяция лимфоцитов, затем по наличию рецептора CD3 (моноклональное антитело CD3-ER780, Elabscience, КНР) определялась популяция Т-лимфоцитов, и уже в данной популяции были определены Т-клетки, в состав Т-клеточного рецептора которых входят перечисленные выше вариабельные сегменты.

Статистическая обработка результатов проводилась в программах Statistica (ver. 12), SigmaPlot (ver. 12.5), GraphPad Prism (ver. 8.0.1) и MS Excel 2016.

Сравнение количественных показателей сегментов Т-клеточного рецептора между исследуемыми группами проводилось с использованием критерия знаковых рангов Уилкоксона, статистически значимыми считались различия при значении доверительной вероятности ( $p$ ) менее 0,05.

Для оценки распределения  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора в популяции Т-лимфоцитов использовали коэффициент Джини-TCR, где широкий репертуар будет иметь более низкий балл (ближе к 0), а асимметричный и искаженный репертуар – высокий балл (ближе к 100), и кривую Лоренца, описывающую распределение репертуара  $V\beta$ -сегментов графически. Данные статистические методы относятся к экономической статистике и описывают распределение доходов населения, однако авторы [22, 28] отметили сходство в распределении  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора с распределением доходов и предложили использование коэффициента Джини и кривой Лоренца в исследовании TCR.

Для расчета коэффициентов Джини-TCR использовалась рабочая таблица с формулами, выполненная в MS Excel 2016, предоставленная авторами работы [22], что позволило автоматически производить расчёты, используя собственные результаты исследования сегментов  $V\beta$  Т-клеточного рецептора, полученные с использованием проточной цитометрии.

Сравнение коэффициентов Джини исследуемых групп проводилось с использованием критерия знаково-

вых рангов Уилкоксона, достоверными считались различия с уровнем значимости  $p<0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При анализе репертуара  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора были установлены средние значения относительного количества Т-лимфоцитов с входящими в состав Т-клеточного рецептора исследуемыми  $V\beta$ -сегментами, результаты представлены на рис. 1.

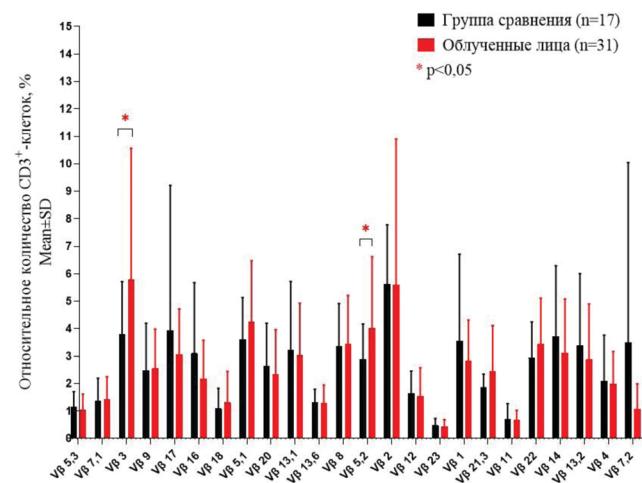


Рис. 1. Относительное количество Т-лимфоцитов с входящими в состав Т-клеточного рецептора исследуемыми  $V\beta$ -сегментами

Fig. 1. Relative number of T-lymphocytes with the studied T-cell receptor  $V\beta$ -segments

У облученных лиц было обнаружено статистически значимое увеличение количества Т-лимфоцитов, содержащих сегменты  $V\beta 3$  и  $V\beta 5.2$  в составе TCR, относительно группы сравнения:  $p=0,03$  и  $p=0,003$  соответственно. Для остальных представленных на рис. 1 показателей не было выявлено достоверных различий между исследуемыми группами. Однако следует отметить, что используемый нами набор реагентов позволяет оценить около 70 % репертуара  $V\beta$ -сегментов [27], ~30 % составляет неопределенность для всего репертуара  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора в данном исследовании.

Японское исследование выживших после атомной бомбардировки Хиросимы также показало изменение репертуара Т-клеточного рецептора, измеренного методом проточной цитометрии: сообщалось о дозависимом изменении репертуара TCR у лиц, облучение которых происходило в возрасте старше 20 лет [29].

Некоторые изменения экспрессии генов  $V\beta$ -сегментов могут быть связаны с патологическими состояниями. Например, в недавнем исследовании [30] было показано, что повышение экспрессии сегмента TRBV6-5 гена Т-клеточного рецептора (участвующего в формировании сегмента  $V\beta 13.1$ ) связано с прогрессированием немелкоклеточного рака легкого и неблагоприятным прогнозом, а экспрессия TRBV20-1 ( $V\beta 2$ ), наоборот, связана с лучшей выживаемостью и ответом на лечение. При этом для сегментов  $V\beta 3$  и  $V\beta 5.2$  в доступной литературе не было найдено информации о связи с патологическим процессом.

Для графического описания распределения вариабельных сегментов была построена кривая Лоренца (рис. 2), для этого полученные средние пропорции распределения  $V\beta$ -сегментов в популяции Т-лимфоцитов,

полученные в группах исследования, были нормализованы до 100 %: по оси абсцисс представлен кумулятивный процент 24 изученных  $V\beta$ -сегментов TCR, по оси ординат – кумулятивная доля Т-лимфоцитов, которые были покрыты этими 24  $V\beta$ -сегментами TCR. Голубая линия описывает гипотетическое идеальное равномерное распределение, серая линия построена для группы сравнения, оранжевая – для облученных лиц.

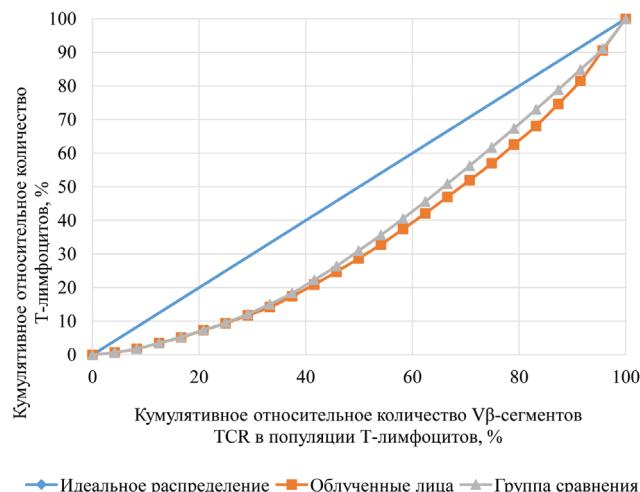


Рис. 2. Кривая Лоренца распределения  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора в Т-лимфоцитах у облученных лиц и лиц из группы сравнения

Fig. 2. Lorentz distribution curve of the T-cell receptor  $V\beta$ -segments in T-lymphocytes of exposed people and members of the control group

Кривая Лоренца распределения  $V\beta$ -сегментов TCR в популяции CD3<sup>+</sup>-клеток как для группы сравнения, так и для облученных лиц далека от идеального равномерного распределения, что указывает на неравномерный характер распределения  $V\beta$ -сегментов TCR на Т-лимфоцитах периферической крови в обеих группах исследования (рис. 2).

Было проведено сравнение коэффициентов Джини-TCR лиц из группы сравнения и облученных лиц, результаты представлены на рис. 3.

Полученные результаты представлены в диапазоне значений от 0 %, где распределение считается равномерным (количество Т-клеток с разными  $V\beta$ -сегментами в составе TCR одинаково), до 100 %, где распределение носит максимально неравномерный характер (количество Т-клеток с одним  $V\beta$ -сегментом в составе TCR преобладает над всеми остальными). Так, было показано, что достоверного различия между распределениями  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора в исследуемых группах не обнаружено: в группе сравнения средний коэффициент Джини-TCR составил 40,51 %, в группе облученных лиц – 41,98 % (уровень значимости различий равен 0,14, рис. 3). При этом по литературным данным коэффициент Джини-TCR для здоровых людей определяется в диапазоне 40–55 % [22], чему соответствую-

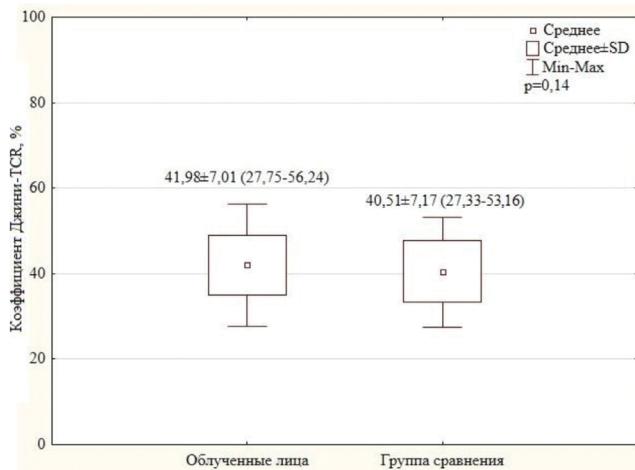


Рис. 3. Коэффициент Джини-TCR в CD3<sup>+</sup>-клетках исследуемых групп (в скобках на графике представлены минимальные и максимальные значения коэффициента Джини-TCR в исследуемых группах)

Fig. 3. Gini TCR index in CD3<sup>+</sup>-cells in members of the studied groups (minimum and maximum values of the Gini TCR index in the studied groups are given in parentheses in the graph)

ют полученные нами результаты в обеих исследуемых группах.

В данной работе выявлено статистически значимое увеличение количества Т-лимфоцитов, в составе Т-клеточного рецептора которых обнаруживается два  $V\beta$ -сегмента:  $V\beta 3$  и  $V\beta 5,2$ , у облученных лиц относительно группы сравнения. Однако мы не обнаружили изменений в распределении  $V\beta$ -сегментов TCR у облученных лиц, характер распределения для этой группы был на одном уровне с лицами из группы сравнения. И хотя ранее мы получали результаты, косвенно свидетельствующие об интенсификации процессов старения иммунной системы облученных лиц [25], для репертуара Т-клеточного рецептора подобного эффекта на данном этапе работы не отмечено.

Результаты работы являются предварительными. Продолжение исследования позволит получить более надежные данные о влиянии низкоинтенсивного облучения красного костного мозга на репертуар Т-клеточного рецептора в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия.

## Выводы

- У жителей прибрежных сел реки Течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию с преимущественным облучением ККМ в диапазоне доз от 225 мГр до 3716 мГр, в отдаленном периоде обнаружено достоверное увеличение количества Т-лимфоцитов, в состав Т-клеточного рецептора которых входят сегменты  $V\beta 3$  и  $V\beta 5,2$ , у облученных лиц относительно группы сравнения.
- Не было обнаружено достоверных различий между распределениями  $V\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора по коэффициентам Джини в исследуемых группах.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Wang G.C., Dash P., McCullers J.A., Doherty P.C., Thomas P.G. T Cell Receptor  $\alpha\beta$  Diversity Inversely Correlates with Pathogen-Specific Antibody Levels in Human Cytomegalovirus Infection // Sci. Transl. Med. 2012. V.4, No. 128. P. 128ra42. doi:10.1126/scitranslmed.3003647.
- Qi Q., Liu Y., Cheng Y., et al. Diversity and Clonal Selection in the Human T-Cell Repertoire // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V.111, No. 36. P. 13139-13144. doi:10.1073/pnas.1409155111.
- Schrama D., Ritter C., Becker J.C. T Cell Receptor Repertoire Usage in Cancer as a Surrogate Marker for Immune Responses // Semin Immunopathol. 2017. V.39, No. 3. P. 255-268. doi:10.1007/s00281-016-0614-9.
- McLean-Tooke A., Barge D., Spickett G.P., Gennery A.R. T Cell Receptor  $V\beta$  repertoire of T Lymphocytes and T Regulatory

- Cells by Flow Cytometric Analysis in Healthy Children // Clin. Exp. Immunol. 2008. V.151, No. 1. P. 190-198. doi:10.1111/j.1365-2249.2007.03536.x.
5. De Souza-Silva T.G., Gollob K.J., Dutra W.O. T-Cell Receptor Variable Region Usage in Chagas Disease: A Systematic Review of Experimental and Human Studies // PLoS Negl. Trop. Dis. 2022. V.16, No. 9. P. e0010546. doi:10.1371/journal.pntd.0010546.
  6. Fernández-Quintero M.L., Pomarici N.D., Seidler C.A., Liedl K.R. T-Cell Receptor CDR3 Loop Conformations in Solution Shift the Relative V $\alpha$ -V $\beta$  Domain Distributions // Front Immunol. 2020. No. 11. P. 1440. doi:10.3389/fimmu.2020.01440.
  7. Израельсон М., Касацкая С., Погорелый М., Киргизова В., Путинцева, Е., Егоров Е.С., Британова О.В., Чудаков Д.М. Анализ индивидуальных репертуаров Т-клеточных рецепторов // Иммунология. 2016. Т.37, № 6. С. 347-352. doi: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-347-352.
  8. Аклеев А.А., Долгушин И.И. Особенности иммунного статуса у людей, перенесших хронический лучевой синдром, в отдаленные сроки // Радиация и риск. 2018. Т.27, № 2. С. 76-85. doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85.
  9. Rybkina V.L., Bannikova M.V., Adamova G.V., Dörr H., Scherthan H., Azizova T.V. Immunological Markers of Chronic Occupational Radiation Exposure // Health Phys. 2018. V.115, No. 1. P. 108-113. doi:10.1097/HP.0000000000000855.
  10. 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. V.68, No. 5. P. 497-508. doi:10.1080/09553009514551491.
  11. 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. V.1846, No. 1. P. 121-129. doi:10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
  12. Yoshida K., Misumi M., Kubo Y., Yamaoka M., Kyoizumi S., Ohishi W., Hayashi T., Kusunoki Y. Long-Term Effects of Radiation Exposure and Metabolic Status on Telomere Length of Peripheral Blood T Cells in Atomic Bomb Survivors // Radiat. Res. 2016. No. 186. P. 367-376. doi: 10.1667/RR14389.1.
  13. Kyoizumi S., Yamaoka M., Kubo Y., et al. Memory CD4 T-Cell Subsets Discriminated by CD43 Expression Level in A-Bomb Survivors // Int. J. Radiat. Biol. 2010. V.86, No. 1. P. 56-62. doi:10.3109/09553000903272641.
  14. Candéias S.M., Mika J., Finnon P., et al. Low-Dose Radiation Accelerates Aging of the T-Cell Receptor Repertoire in CBA/Ca Mice // Cell. Mol. Life Sci. 2017. V.74, No. 23. P. 4339-4351. doi:10.1007/s00018-017-2581-2.
  15. Candéias S.M., Kabacik S., Olsen A.K., et al. Ionizing Radiation Does Not Impair the Mechanisms Controlling Genetic Stability During T Cell Receptor Gene Rearrangement in Mice // Int. J. Radiat. Biol. 2018. V.94, No. 4. P. 357-365. doi:10.1080/09553002.2018.1439195.
  16. Seki H., Kanegane H., Iwai K., et al. Ionizing Radiation Induces Apoptotic Cell Death in Human TcR-Gamma/Delta+ T and Natural Killer Cells Without Detectable p53 Protein // Eur. J. Immunol. 1994. V.24, No. 11. P. 2914-2917. doi:10.1002/eji.1830241150.
  17. Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Замулаева И.А., Ткаченко Н.П., Лозебной Н.И., Каплан М.А., Туманов К.А., Кащеев В.В., Иванов В.К., Саенко А.С. Мониторинг частоты лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора, у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленный пострадиационный период // Радиация и риск. 2012. Т.21, № 1. С. 20-29.
  18. Saenko A.S., Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., et al. Determination of Somatic Mutant Frequencies at Glycophorin A and T-Cell Receptor Loci for Biodosimetry of Acute and Prolonged Irradiation // Appl. Radiat. Isot. 2000. V.52. No. 5. P. 1145-1148. doi:10.1016/s0969-8043(00)00061-0.
  19. Блинова Е.А., Веремеева Г.А., Маркина Т.Н., Аклеев А.В. Апоптоз лимфоцитов периферической крови и мутации в гене Т-клеточного рецептора у лиц, перенесших хроническое радиационное воздействие // Вопросы радиационной безопасности. 2011. № 4. С. 38-44.
  20. Аклеев 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. Т.22, № 1. С. 13-23.
  21. Smith L.E., Nagar S., Kim G.J., Morgan W.F. Radiation-Induced Genomic Instability: Radiation Quality and Dose Response // Health Phys. 2003. V.85, No. 1. P. 23-29. doi:10.1097/00004032-200307000-00006.
  22. Van der Geest K.S., Abdulahad W.H., Horst G., Lorenzetti P.G., Bijzet J., Arends S., van der Heiden M., Buisman A.M., Kroesen B.J., Brouwer E., Boots A.M. Quantifying Distribution of Flow Cytometric TCR-V $\beta$  Usage with Economic Statistics // PLoS One. 2015. V.10, No. 4. P. e0125373. doi: 10.1371/journal.pone.0125373.
  23. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи / Под ред. Аклеева А.В. Челябинск: Книга. 2016. 390 с.
  24. Дегтева М.О., Напье Б.А., Толстых Е.И., Шишкова Е.А., Бугров Н.Г., Крестинина Л.Ю., Аклеев А.В. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019. Т.64, № 3. С. 46-53. doi: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475.
  25. Котикова А.И., Блинова Е.А., Аклеев А.В. Субпопуляционный состав Т-хеллеров в периферической крови хронически облученных лиц в отдаленном периоде // Медицина экстремальных ситуаций. 2022. Т.24, № 2. С. 65-73. doi: 10.47183/mes.2022.018.
  26. СанПин 2.6.1.2523-09. Нормы радиационной безопасности (НРБ - 99/2009). М., 2009. 225 с.
  27. Протокол анализа репертуара V $\beta$ -сегментов Т-клеточного рецептора Beta Mark TCR V $\beta$  Repertoire Kit. Beckman Coulter.
  28. Huang L., Betjes M.G.H., Klepper M., Langerak A.W., Baan C.C., Litjens N.H.R. End-Stage Renal Disease Causes Skewing in the TCR V $\beta$ -Repertoire Primarily within CD8+ T Cell Subsets // Front. Immunol. 2017. V.2017, No. 8. P. 1826. doi:10.3389/fimmu.2017.01826.
  29. Kusunoki Y., Yamaoka M., Kasagi F., Hayashi T., MacPhee D.G., 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. V.122, No. 6. P. 975-984. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
  30. Goulielmaki M., Davanos N., Kogionou P., et al. The Impact of Radiation Therapy on the TCR V $\beta$  Chain Repertoire in Patients with Prostate Cancer // Int. J. Oncol. 2022. V.60, No. 6. P. 71. doi:10.3892/ijo.2022.5361.

## REFERENCES

1. Wang G.C., Dash P., McCullers J.A., Doherty P.C., Thomas P.G. T Cell Receptor  $\alpha\beta$  Diversity Inversely Correlates with Pathogen-Specific Antibody Levels in Human Cytomegalovirus Infection. Sci. Transl. Med. 2012;4;128:128ra42. doi:10.1126/scitranslmed.3003647.
2. Qi Q., Liu Y., Cheng Y., et al. Diversity and Clonal Selection in the Human T-Cell Repertoire. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014;111;36:13139-13144. doi:10.1073/pnas.1409155111.
3. Schrama D., Ritter C., Becker J.C. T Cell Receptor Repertoire Usage in Cancer as a Surrogate Marker for Immune Responses. Semin Immunopathol. 2017;39;3:255-268. doi:10.1007/s00281-016-0614-9.
4. McLean-Tooke A., Barge D., Spickett G.P., Gennery A.R. T Cell Receptor Vbeta Repertoire of T Lymphocytes and T Regulatory Cells by Flow Cytometric Analysis in Healthy Children. Clin. Exp. Immunol. 2008;151;1:190-198. doi:10.1111/j.1365-2249.2007.03536.x.
5. De Souza-Silva T.G., Gollob K.J., Dutra W.O. T-Cell Receptor Variable Region Usage in Chagas Disease: A Systematic Review of Experimental and Human Studies. PLoS Negl. Trop. Dis. 2022;16;9:e0010546. doi:10.1371/journal.pntd.0010546.
6. Fernández-Quintero M.L., Pomarici N.D., Loeffler J.R., Seidler C.A., Liedl K.R. T-Cell Receptor CDR3 Loop Conformations in Solution Shift the Relative V $\alpha$ -V $\beta$  Domain Distributions. Front Immunol. 2020;11:1440. doi:10.3389/fimmu.2020.01440.
7. Израельсон М., Касатская С., Погорелый М., Киргизова В., Путинцева, Е., Егоров Е.С., Британова О.В., Чудаков Д.М. Анализ индивидуальных репертуаров Т-клеточных рецепторов. Immunologiya. 2016;37;6:347-352. doi: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-347-352 (In Russ.).
8. Аклеев А.А., Долгушин И.И. Immune Status of Persons with CRS at Later Time Points. Radiatsiya i Risk = Radiation and Risk. 2018;27;2:76-85. doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85 (In Russ.).

9. Rybkina V.L., Bannikova M.V., Adamova G.V., Dörr H., Scherthan H., Azizova T.V. Immunological Markers of Chronic Occupational Radiation Exposure. *Health Phys.* 2018;115:1:108-113. doi:10.1097/HP.00000000000000855.
10. 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;68:5:497-508. doi:10.1080/09553009514551491.
11. 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;1846:1:121-129. doi:10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
12. Yoshida K., Misumi M., Kubo Y., Yamaoka M., Kyoizumi S., Ohishi W., Hayashi T., Kusunoki Y. Long-Term Effects of Radiation Exposure and Metabolic Status on Telomere Length of Peripheral Blood T Cells in Atomic Bomb Survivors. *Radiat. Res.* 2016;186:367-376. doi: 10.1667/RR14389.1.
13. Kyoizumi S., Yamaoka M., Kubo Y., et al. Memory CD4 T-Cell Subsets Discriminated by CD43 Expression Level in A-Bomb Survivors. *Int. J. Radiat. Biol.* 2010;86:1:56-62. doi:10.3109/09553000903272641.
14. Candéias S.M., Mika J., Finnon P., et al. Low-Dose Radiation Accelerates Aging of the T-Cell Receptor Repertoire in CBA/Ca Mice. *Cell. Mol. Life Sci.* 2017;74:23:4339-4351. doi:10.1007/s00018-017-2581-2.
15. Candéias S.M., Kabacik S., Olsen A.K., et al. Ionizing Radiation Does Not Impair the Mechanisms Controlling Genetic Stability During T Cell Receptor Gene Rearrangement in Mice. *Int. J. Radiat. Biol.* 2018;94:4:357-365. doi:10.1080/09553002.2018.1439195.
16. Seki H., Kanegane H., Iwai K., et al. Ionizing Radiation Induces Apoptotic Cell Death in Human TcR-Gamma/Delta+ T and Natural Killer Cells Without Detectable p53 Protein. *Eur. J. Immunol.* 1994;24:11:2914-2917. doi:10.1002/eji.1830241150.
17. Smirnova S.G., Orlova N.V., Zamulayeva I.A., Tkachenko N.P., Lozebnov N.I., Kaplan M.A., Tumanov K.A., Kashcheyev V.V., Ivanov V.K., Sayenko A.S. Monitoring of the Frequency of Lymphocytes with Mutations at T-Cell Receptor Locus in Chernobyl Cleanup Workers. *Radiatsiya i Risk = Radiation and Risk.* 2012;21:1:20-29. (In Russ.).
18. Saenko A.S., Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., et al. Determination of Somatic Mutant Frequencies at Glycophorin A and T-Cell Receptor Loci for Biodosimetry of Acute and Prolonged Irradiation. *Appl. Radiat. Isot.* 2000;52:5:1145-1148. doi:10.1016/s0969-8043(00)00061-0.
19. Blinova E.A., Veremeyeva G.A., Markina T.N., Akleyev A.V. Apoptosis of Blood Lymphocytes and Muta-Tions in the T-Cell Receptor of Late Time after Chronic Radiation Exposure in Humans. *Voprosy Radiatsionnoy Bezopasnosti = Journal of Radiation Safety Issues.* 2011;4:38-44 (In Russ.).
20. Akleyev A.A., Blinova E.A., Dolgushin I.I. TCR-Mutations in Peripheral Blood Lymphocytes and Immune Status in Individuals Exposed to Chronic Radiation Exposure. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal = Russian Journal of Immunology.* 2019;22:1:13-23. doi: 10.31857/S102872210005016-2 (In Russ.)
21. Smith L.E., Nagar S., Kim G.J., Morgan W.F. Radiation-Induced Genomic Instability: Radiation Quality and Dose Response. *Health Phys.* 2003;85:1:23-29. doi:10.1097/00004032-200307000-00006.
22. Van der Geest K.S., Abdulahad W.H., Horst G., Lorencetti P.G., Bijzet J., Arends S., van der Heiden M., Buisman A.M., Kroesen B.J., Brouwer E., Boots A.M. Quantifying Distribution of Flow Cytometric TCR-V $\beta$  Usage with Economic Statistics. *PLoS One.* 2015;10:4:e0125373. doi: 10.1371/journal.pone.0125373.
23. Consequences of radioactive Contamination of the Techa River. Ed. Akleyev A.V. Chelyabinsk Publ., 2016. 390 p. (In Russ.).
24. Degteva M.O., Napye B.A., Tolstykh E.I., Shishkina E.A., Bugrov N.G., Krestinina L.Yu., Akleyev A.V. Individual Dose Distribution in Cohort of People Exposed as a Result of Radioactive Contamination of the Techa River. *Meditinskaya Radiobiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost = Medical Radiobiology and Radiation Safety.* 2019;64:3:46-53 (In Russ.). doi: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475.
25. Kotikova A.I., Blinova E.A., Akleyev A.V. Subpopulation Composition of T-helpers in the Peripheral Blood of Persons Chronically Exposed to Radiation in the Long Term. *Meditina Ekstremalnykh Situatsiy = Extreme Medicine.* 2022;24:2:65-73. doi: 10.47183/mes.2022.018.
26. Sanitary Rules and Regulations SanPin 2.6.1.2523-09. Standards of Radiation Safety (NRB - 99/2009). Moscow Publ., 2009. 225 p. (In Russ.).
27. Protocol of Analysis Beta Mark TCR V $\beta$  Repertoire Kit, Beckman Coulter.
28. Huang L., Betjes M.G.H., Klepper M., Langerak A.W., Baan C.C., Litjens N.H.R. End-Stage Renal Disease Causes Skewing in the TCR V $\beta$ -Repertoire Primarily within CD8+ T Cell Subsets. *Front. Immunol.* 2017;2017;8:1826. doi:10.3389/fimmu.2017.01826.
29. Kusunoki Y., Yamaoka M., Kasagi F., Hayashi T., MacPhee D.G., 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;122:6:975-984. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
30. Goulielmaki M., Davanos N., Kogionou P., et al. The Impact of Radiation Therapy on the TCR V $\beta$  Chain Repertoire in Patients with Prostate Cancer. *Int. J. Oncol.* 2022;60:6:71. doi:10.3892/ijo.2022.5361.

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

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках прикладной научно-исследовательской работы по теме: «Исследование влияние хронического радиационного воздействия на состояние Т-клеточного звена иммунной системы человека».

**Участие авторов.** А.И. Котикова – постановка методики, лабораторные исследования, статистическая обработка, написание текста статьи; Е.А. Блинова – постановка методики, написание текста статьи; А.В. Аклеев – концепция исследования, написание текста статьи, научное руководство.

**Поступила:** 20.07.2023. Принята к публикации: 27.08.2023.

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

**Financing.** The work was carried out as part of the: “Study on the effect of chronic radiation exposure on the state of the human T-cell immune system”.

**Contribution.** Kotikova A.I. – methodology development, laboratory research, statistical processing, article authoring; Blinova E.A. – methodology development, article authoring; Akleyev A.V. – development of the research concept, scientific supervision, article authoring.

**Article received:** 20.07.2023. Accepted for publication: 27.08.2023.