

Е.А. Козинцева¹, А.А. Аклевев²

ПЕРСПЕКТИВЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины
ФМБА России, Челябинск² Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск

Контактное лицо: Екатерина Александровна Козинцева, e-mail: ovcharova.cat@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

1. Пролиферация лимфоцитов периферической крови как интегративный показатель функциональной активности ИКК в норме и при патологических состояниях.
2. Особенности пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови при действии ИИ.
3. Методические подходы к количественному определению пролиферирующих клеток в субпопуляциях лимфоцитов периферической крови человека.

Заключение

Ключевые слова: хроническое радиационное воздействие, река Теча, лимфоциты периферической крови, пролиферативная активность, индивидуальная радиочувствительность, отдаленные эффекты облучения

Для цитирования: Козинцева Е.А., Аклевев А.А. Перспективы и методы исследования пролиферативного потенциала субпопуляций лимфоцитов периферической крови человека в радиационной медицине // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 5. С. 66–74. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-5-66-74

Е.А. Kodintseva¹, А.А. Akleyev²

Prospects and Methods for Studying the Proliferative Capacity of the Human Peripheral Blood Lymphocyte Subpopulations in Radiation Medicine

¹ Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia² Southern-Urals State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Contact person: E.A. Kodintseva, e-mail: ovcharova.cat@mail.ru

CONTENT

Introduction

1. Proliferation of peripheral blood lymphocytes as an integrative indicator of the functional activity of ICS in normal and pathological conditions.
2. Features of proliferative activity of peripheral blood lymphocytes under the action of AI.
3. Methodological approaches to the quantitative determination of proliferating cells in human peripheral blood lymphocyte subpopulations.

Conclusion

Keywords: chronic radiation exposure, the Techa River, peripheral blood lymphocytes, proliferative activity, individual radiosensitivity, late effects of radiation exposure

For citation: Kodintseva EA, Akleyev AA. Prospects and Methods for Studying the Proliferative Capacity of the Human Peripheral Blood Lymphocyte Subpopulations in Radiation Medicine. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(5):66–74. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-5-66-74

Введение

Острое и хроническое воздействие ионизирующего излучения (ИИ) на многоклеточный организм инициирует каскады сложных взаимодействий между различными отделами иммунной системы. Реакции на облучение со стороны иммунной системы (преимущественно в Т-клеточном звене) регистрируются в течение многих лет после воздействия ИИ у населения прибрежных сел реки Течи и в других когортах пострадавших от

радиации людей [1]. У индивидуумов с высокой радиочувствительностью повреждения стволовых клеток и клеток-предшественников иммуноцитов [2] могут приводить к изменениям физиологических реакций и развитию отдаленных эффектов, например, онкологических заболеваний [3–7], заболеваний сердечно-сосудистой системы [8] и других [9]. Роль иммунной системы в развитии таких патологических состояний не подлежит сомнению [2], однако патогенетические механизмы реали-

зации отдаленных эффектов облучения требуют более детального изучения. Поиск индикаторов повышенного риска развития индуцированных ИИ стохастических эффектов у человека также остается актуальной задачей современной радиационной медицины [10].

Исследование лимфоцитов периферической крови – удобное модельного объекта вследствие их высокой радиочувствительности и способности пролиферировать *in vivo* и *in vitro* [11], – позволяет с высокой долей вероятности судить о процессах, происходящих в других соматических клетках облученного организма. Цитотоксические эффекты, наблюдаемые после облучения в высоких дозах, доказаны, однако после воздействия малых доз ИИ преобладают слабовыраженные количественные и функциональные эффекты, которые могут оставаться компенсированными в течение длительного времени. В отдаленном периоде какое-либо дополнительное воздействие (или комплекс факторов) может проявить или усугубить такие эффекты [12]. Различные субпопуляции лимфоцитов, а также другие иммунокомпетентные клетки (ИКК) и клетки микроокружения играют неоднозначную роль в радиационно-индуцированном канцерогенезе [13]. В настоящее время описано множество методов оценки функциональной активности лимфоцитов периферической крови, однако исследование именно пролиферативного потенциала отдельных субпопуляций лимфоцитов может претендовать на роль интегрального показателя и быть полезным при изучении патогенеза отдаленных эффектов хронического низкоинтенсивного облучения с преимущественным поражением красного костного мозга (ККМ), а также при поиске маркеров индивидуальной радиочувствительности человека. Внедрение в практику метода многоцветной проточной цитометрии открывает новые возможности для радиационно-медицинских исследований. Вышеизложенное, широкий спектр методик анализа пролиферативной активности клеток, а также проблема выбора адекватной методологии исследования, наиболее подходящей для решения конкретных практических задач в области клеточной радиобиологии, определяют актуальность настоящего обзора научной литературы.

Целями работы является анализ актуальной научной информации, касающейся современных методических подходов к количественному определению пролиферирующих клеток в субпопуляциях Т-лимфоцитов человека, а также оценка перспективы их применения при обследовании лиц, подвергшихся хроническому воздействию ИИ, в период реализации канцерогенных эффектов облучения.

1. Пролiferация лимфоцитов периферической крови как интегральный показатель функциональной активности ИКК в норме и при патологических состояниях

Пролiferация лимфоцитов необходима для поддержания клеточного гомеостаза иммунной системы и корректной реализации иммунных ответов. Пролiferативный потенциал лимфоцитов периферической крови человека комплексно характеризует их функциональную активность как основных эффекторных и регуляторных клеток иммунной системы. Показатель широко используется при оценке иммунного статуса в норме и при патологических состояниях (для диагностики аллергических, аутоиммунных заболеваний и др.), для анализа эффективности иммуномодуляторов и цитостатиков, в молекулярно-клеточной биологии при изучении стадий клеточного цикла и механизмов активации клеток в процессе пролиферации [14].

Способность к пролиферации в ответ на антигенную стимуляцию лежит в основе клональной экспансии периферических Т-лимфоцитов, нарушения которой в комплексе с факторами, ассоциированными с возрастом и хроническим вялотекущим воспалением (изменениями микроокружения лимфоидных органов, провоспалительным цитокиновым дисбалансом, оксидативным стрессом и другими), приобретают особую значимость в контексте исследований функций противоопухолевого иммунного надзора. Оценка способности лимфоцитов к спонтанной и индуцированной пролиферации позволяет выявить латентные изменения их функциональной активности, связанные с сублетальными повреждениями клеточных структур, которые могут не иметь явных фенотипических проявлений. Повышенная пролиферативная активность нестимулированных лимфоцитов периферической крови может рассматриваться как маркер воздействий, приводящих к стрессовым реакциям иммунной системы [15]. Низкий пролиферативный ответ свидетельствует об иммуносупрессии, вплоть до анергии лимфоцитов, и часто, но не всегда, наблюдается при патологических состояниях с аутоиммунной компонентой [14]. Функциональная активность Т-лимфоцитов, включая их способность к активации и пролиферации, может изменяться при старении, под влиянием микроокружения опухолей, при системном или локальном воспалении [16]. Например, при сокультивировании Т-лимфоцитов с супернатантами клеточных линий рака молочной железы MDA-MB-231, T47D, MCF-7, MDA-MB-453, продуцирующих растворимую форму лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 (sPD-L1), показано, что sPD-L1 ингибирует пролиферацию и усиливает апоптоз Т-лимфоцитов [17].

У высших млекопитающих и человека число Т-лимфоцитов на периферии относительно постоянно. При этом каждый день из тимуса появляются новые наивные клетки. Повышенные темпы гомеостатической экспансии существуют у новорожденных, пожилых людей или взрослых людей с лимфопенией, например, при ВИЧ-инфекции и после химио- и (или) лучевой терапии [19]. Клеточный гомеостаз и динамичная регуляция количества лимфоцитов в разных субпопуляциях жестко контролируется, при этом регуляторные механизмы полностью не изучены, но роль цитокинов, апоптоза, ряда генов и рецепторов в этом процессе доказана [16].

Гомеостаз генетического аппарата критически важен для корректной реализации процессов клеточного деления, дифференцировки и жизнедеятельности. Изменения в геноме клетки могут модулировать качество ее пролиферации. Например, нарушения в генах контроля клеточного цикла могут приводить к модуляции скорости пролиферации лимфоцитов, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) [18]. Выявлена роль гена *PERP* в поддержании численности пула периферических Т-клеток. Этот ген играет важную роль в сохранении CD4⁺ эффекторных Т-клеток памяти, подвергающихся пролиферации, индуцированной лимфопенией. При этом сбалансированный апоптоз пролиферирующих Т-клеток важен для поддержания относительно постоянного размера пула ТЕМ-клеток и предотвращения развития аутоиммунной патологии [19]. Молекулы Bcl-2, Vim, Mcl-2 и каспаза-8 связаны с апоптозом и регуляцией популяций периферических эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти. При дефектах в генах, опосредующих апоптоз, ТЕМ-клетки с более высоким сродством к аутоантигенам имеют преимущество в выживаемости, что приводит к изменению репертуара Т-лимфоцитов [20].

Наивные Т-лимфоциты обладают способностью реагировать на специфические антигены посредством массивной пролиферации и дифференцировки в эффекторные Т-клетки, период их полужизни составляет примерно 50 сут. Для выживания наивных Т-лимфоцитов необходимы сигналы, опосредованные взаимодействием TCR-пептид-MHC и цитокинами, главным образом, ИЛ-7 [16]. Зрелые наивные клетки имеют более сильный пролиферативный ответ в присутствии ИЛ-7 [21]. Предполагается, что для активации клеток требуются значительно меньшие концентрации цитокинов, чем для их дифференцировки. Высокие концентрации провоспалительных цитокинов не изменяют функции наивных Т-лимфоцитов, но обуславливают уменьшение их количества [22]. Концентрация ИЛ-7 в норме крайне низка и клетки за него конкурируют, а без достаточной стимуляции – погибают путем апоптоза. ИЛ-4, ИЛ-6, лимфопоэтин и ИЛ-7 отменяют V β 1-2-опосредованный апоптоз лимфоцитов. ИЛ-7 играет в этом процессе основную роль, являясь фактором, лимитирующим общее количество лимфоцитов. Показано, что количество лимфоцитов значительно увеличивается у мышей со сверхэкспрессией ИЛ-7 [16].

Цитокины в физиологических концентрациях обуславливают пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов (ФНО α) и натуральных киллеров (ИЛ-4, ИФН γ) посредством экспрессии генов цитокинов и их рецепторов. Провоспалительные цитокины могут снижать функциональную активность клеток, возможно, путем индукции экспрессии ингибиторных молекул или посредством активации тирозинкиназ. Механизмы прямо противоположного влияния цитокинов по принципу обратной связи в достаточной степени неясны. При высоких уровнях ФНО α , ИФН γ , ИЛ-4 и ИЛ-6 в сыворотке крови гомеостатически ингибируются процессы активации и пролиферации иммуноцитов. Это не связано с инициацией апоптоза (апоптоз усиливается при пролиферации) и с дефицитом энергетического ресурса (содержание CD71⁺ клеток снижается). Инактивация клеток провоспалительными цитокинами в высоких концентрациях может быть обусловлена снижением уровня ядерного фактора активации, стимулирующего продукцию ИЛ-2 или ускоренным шеддингом рецепторов. В качестве общего механизма ингибирующего действия цитокинов рассматривается экспрессия ингибиторов тирозинкиназ [23]. Чувствительность CD8⁺ Т-лимфоцитов к антигенам значительно повышается, если клетки перед контактом с антигеном обрабатывались ИЛ-12, ИЛ-18 и ИФН γ [24].

2. Особенности пролиферации лимфоцитов периферической крови при действии ИИ

В облученных клетках возникает каскад событий, включая процессы повреждения и репарации ДНК, индукции гибели клеток, изменения скорости пролиферации и доли пролиферирующих клеток [25]. Значительные межиндивидуальные вариации в пролиферации лимфоцитов периферической крови обнаружены при облучении проб в высоких дозах в двух модификациях микроядерного теста, применяемых в биодозиметрии. Меньший разброс индивидуальных значений выявлен при культивировании цельной крови по сравнению с изолированными мононуклеарами, что предполагает наличие факторов пролиферации в крови, отсутствующих в культурах изолированных лимфоцитов. Вариации значений показателей при облучении в меньших дозах были обусловлены суточными ритмами и минимизировались после стандартизации условий анализа [26]. Вид

излучения, режим дозирования (острое или пролонгированное воздействие) и мощность дозы ИИ оказывают существенное влияние на показатели, анализируемые в микроядерном тесте, включая пролиферацию лимфоцитов [27, 28].

На организменном уровне малые дозы радиации могут стимулировать врожденный и адаптивный иммунитет, тем самым запуская перепрограммирование клеток микроокружения опухолей. Этот процесс активирует лимфатическую систему и обеспечивает выход в кровоток Т-клеток, в норме отвечающих за элиминацию онкотрансформированных клеток [29].

При воздействии малых доз ИИ блок нормальных клеток в G1-стадии клеточного цикла реализуется через активацию сигнальных путей, инициирующих синтез ДНК и клеточную пролиферацию, что рассматривается как один из механизмов адаптивного ответа [30]. В норме иммунные ответы сопровождаются физиологической пролиферацией эффекторных клонов периферических лимфоцитов и зависят от клеток микроокружения. Прогрессия первичных патологических цитогенетических клонов мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека при однократном рентгеновском облучении в дозах 80, 250 и 1000 мГр описана в эксперименте *in vitro* [31]. Механизмы подобных процессов *in vivo* при воздействии ИИ при разных дозовых диапазонах и режимах облучения, их роль в регуляции иммунных ответов непосредственно после облучения и в отдаленном периоде требуют дальнейшего изучения.

В экспериментах на мышах показано, что ИИ нарушает пролиферацию Т-клеток *in vitro* и *in vivo*. Облученная среда селезенки ограничивает пролиферацию Т-клеток в условиях с облученными клетками-стимуляторами (спленоцитами мыши CD-1). Секреторный фенотип, связанный со старением (предположительно, за счет ИЛ-10), и экспрессия p16INK4a в популяциях клеток селезенки опосредует часть ингибирующего эффекта [32].

В исследовании влияния хронического воздействия малых доз ИИ (питьевая вода с тритием в суммарных дозах 10, 100 и 2000 мГр) на частоту рака молочной железы у мышей FVB/N-Tg(MMTVneu)202Mul/J, обследованных в возрасте трех, пяти, шести и восьми месяцев, не выявлено повышения опухолевой нагрузки. Проллиферативный потенциал натуральных киллеров (НК) и Т-клеток исследовали после стимуляции и трехдневного культивирования *ex vivo*. Отмечено снижение пролиферации НК после стимуляции ИЛ-2 в группе 100 мГр через 3,5 мес; в группах 100 и 2000 мГр – через шесть месяцев; и в группе 2000 мГр – через восемь месяцев. При стимуляции ИЛ-2 пролиферация CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ снижалась через три с половиной месяца в группе 100 мГр и через шесть месяцев в группах 100 и 2000 мГр, но увеличивалась через восемь месяцев в группе 100 мГр. При анти-CD3/CD28 стимуляции наблюдалось снижение пролиферации CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов через три с половиной и шесть месяцев, для CD3⁺CD4⁺ клеток – после облучения в дозах 100 мГр и 2000 мГр. Повышенная пролиферация наблюдалась у CD3⁺CD8⁺ Т-клеток через шесть месяцев в группе с дозой 10 мГр, а также для CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов через восемь месяцев при облучении в дозе 100 мГр. Экспрессия рецептора NKG2D на НК резко снижалась через три с половиной месяца, но повышалась в более поздние сроки, в то время как экспрессия лиганда NKG2D имела противоположную тенденцию: увеличение через три с половиной месяца, затем снижение. В целом, воздействие малых доз ИИ оказывало подавляющее действие

на пролиферацию НК- и Т-клеток на ранних этапах и стимулирующее воздействие на Т-клетки на более поздних стадиях [33].

Гамма-облучение в дозах 25–30 Гр и выше необратимо угнетает пролиферацию лимфоцитов, что используется в медицине, в частности, для предотвращения трансфузионно-ассоциированной реакции «трансплантат против хозяина». При изучении роли свободных радикалов в повреждении эритроцитов в препаратах крови оценивали пролиферативную активность Т-лимфоцитов методом предельных разведений при стимуляции ФГА в смешанной культуре лейкоцитов, содержащей аллогенные клетки-стимуляторы и клетки-ответчики, а также факторы роста Т-клеток. Гамма-облучение образцов крови в дозе 25 Гр на седьмой день после заготовки ингибировало пролиферацию Т-лимфоцитов в $4,7 \times 10^4$ раза как при хранении в условиях гипоксии, так и при обычном хранении [34].

Воздействие ИИ (мощность дозы – 2 Гр/мин, доза – 10 Гр) *in vitro* модулирует фенотип индуцированных трансформирующим фактором роста 1 бета (TGF β 1) Т-регуляторных лимфоцитов и снижает их способность подавлять пролиферацию аутологических CD8⁺ Т-клеток. Радиационно-индуцированное угнетение супрессорной активности индуцированных Т-регуляторных CD4⁺ лимфоцитов показано при облучении клеток в терапевтических дозах. Выжившие в течение 48 ч после облучения *in vitro* в дозе 10 Гр TGF β 1-индуцированные Т-регуляторные CD4⁺ клетки человека менее эффективно ингибировали пролиферацию аутологических CD8⁺ Т-клеток при совместном культивировании. Через пять суток сокультивирования с анти-CD3/CD28 стимуляцией уровень пролиферации CD8⁺ клеток составил 90 %, был сопоставим со спонтанной пролиферацией и значительно превышал уровень в положительном контроле (74 %) [13].

Результаты исследований пролиферативного потенциала лимфоцитов периферической крови у людей, подвергшихся воздействию ИИ, представлены в доступной литературе в ограниченном количестве, при этом практически отсутствуют данные о пролиферативной активности отдельных субпопуляций лимфоцитов периферической крови человека.

На основании результатов мета-анализа установлено, что изменения пролиферативного потенциала и активации лимфоцитов периферической крови наблюдаются через один месяц после лучевой терапии при злокачественных новообразованиях пищевода и легких. В течение одного месяца после лучевой терапии у онкологических пациентов с разными диагнозами наблюдаются существенные иммунологические изменения: выраженный апоптоз и снижение числа Т-лимфоцитов, дисбаланс иммунных клеток периферической крови. Степень выраженности иммунного ответа на фоне лучевой терапии существенно зависит от типа опухоли [35]. Эти данные в целом согласуются с результатами других исследований иммунитета у пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗНО), получающими радиотерапию или комбинированное лечение [36, 37].

Отмечено снижение пролиферации лимфоцитов в ответ на стимуляцию ФГА и повышение пролиферативной активности на митоген лаконоса (сдвиг в сторону Т \times 2-зависимого иммунного ответа) у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС в отдаленные сроки. Эти изменения в комплексе с другими количественными и функциональными изменениями показателей иммунного статуса и клинико-лабораторными показателями, по мнению автора, свидетельствовали о снижении

адаптационных возможностей организма и ускорении темпов физиологического старения [38].

В отдаленные сроки после начала облучения было зарегистрировано повышение частоты ускоренно пролиферирующих лимфоцитов, снижение частоты замедленно пролиферирующих клеток и увеличение частоты асимметрично делящихся (трехъядерных) клеток у хронически облученных людей из когорты реки Течи по сравнению с группой людей, не подвергавшихся техногенному облучению. Статистически значимых корреляций пролиферативного индекса от дозы облучения ККМ выявлено не было [18].

Через 1959–1961 гг. после начала хронического радиационного воздействия у жителей побережья Течи (средняя накопленная доза облучения на ККМ составила 1,15 Гр), преимущественно с лейкопенией, отмечено увеличение без дополнительной стимуляции доли Ki-67⁺ (пролиферирующих) и Chk2⁺ (с задержкой клеточного цикла на стадии G1/S) лимфоцитов в периферической крови по сравнению с лицами, не подвергавшимися техногенному облучению [39].

В группе хронически облученных людей с задержкой клеточного цикла (≥ 1 % Chk2⁺ лимфоцитов) доля нестимулированных Ki-67⁺ лимфоцитов периферической крови была статистически значимо выше такого показателя в группе облученных лиц с нормальной (менее 1 %) частотой Chk2⁺ лимфоцитов. После 42 ч инкубации с ФГА процент Ki-67⁺ лимфоцитов в обеих группах не различался. В группе людей, имеющих повышенную частоту Chk2⁺ лимфоцитов, абсолютное количество CD3⁺CD8⁺ клеток было значимо ниже за счет увеличения доли лиц с низкими значениями этого показателя, без изменения соотношения CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов; повышение уровней сывороточных иммуноглобулинов классов А и G, снижение активности фагоцитоза моноцитов, снижение уровней сывороточных ИЛ-2 и ИЛ-6 по сравнению с лицами, у которых частота Chk2⁺ лимфоцитов составляла менее 1 %. Изменения пролиферативной активности лимфоцитов и отдельных иммунологических показателей наблюдались в отдаленные сроки у облученных людей без диагностированных иммунодефицитных состояний [40].

3. Методические подходы к количественному определению пролиферирующих клеток в субпопуляциях лимфоцитов периферической крови человека

Одним из первых методических подходов к оценке пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови стала реакция бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ), разработанная в 1960–1970 гг. и до сих пор успешно применяемая в клинической лабораторной диагностике во фтизиатрии, ревматологии, иммунологии, аллергологии. Принцип анализа заключается в способности лимфоцитов трансформироваться в бластные клетки при повторном контакте с антигеном-сенсбилизатором. Оценивают спонтанный уровень бласттрансформации лимфоцитов периферической крови человека без дополнительной стимуляции и способность клеток превращаться в бласты в присутствии митогена или антигена в интервале от 24 (в модификациях методики) до 72 ч (в классическом варианте). В мазках под микроскопом считают количество лимфоцитов, перешедших в бластную форму, по отношению к общему числу посчитанных лимфоцитов (не менее 500–1000 клеток), результат выражают в процентах [15].

Высокая субъективность микроскопической оценки результатов анализа является главным ограничением

данного методического подхода. Современные модификации методики направлены на упрощение и стандартизацию технологии анализа (использование в культуральной среде аутоплазмы донора взамен сыворотки крупного рогатого скота, сокращение времени инкубации с активаторами пролиферации, использование стандартизованных антигенов и др.), а также автоматизацию учета результатов анализа (использование новых систем визуализации клеток в мазках и программных продуктов, предназначенных для автоматического распознавания нормальных лимфоцитов и бластов на основе характерных морфологических признаков и т.п.) [15].

Метод оценки пролиферативной активности по включению меченого тритием тимидина является «золотым стандартом» при анализе пролиферации клеток, в частности, лимфоцитов периферической крови человека. Суть анализа заключается в культивировании лимфоцитов *in vitro* в течение 72 ч в присутствии митогена. После митогенной стимуляции в течение от 6–8 до 18 ч клетки культивируются в среде с добавлением метил-³H-тимидина, который избирательно включается в ДНК делящихся клеток. Сигнал от бета-частиц трития (количество импульсов в минуту) детектируется минимум для трех идентичных проб сцинтилляционным счетчиком и пропорционален количеству пролиферирующих клеток. Индекс стимуляции равен отношению среднего арифметического сигнала культуры клеток, стимулированных митогеном, к сигналу культуры нестимулированных клеток. Метод имеет ряд модификаций (например, микропланшетный вариант или культивирование клеток в «висячих каплях»), легко поддается стандартизации, является точным и высокочувствительным, но имеет ограничения, препятствующие его широкому применению в практике. Использование радиоактивных соединений в лабораториях законодательно регламентировано и требует наличия квалифицированного персонала и специально оборудованных помещений, соблюдения технологических процедур и специальных правил безопасной работы и охраны труда, создания условий безопасного хранения реагентов и утилизации отходов [41]. Оба классических метода не позволяют одновременно идентифицировать фенотип и функциональную активность пролиферирующих Т-клеток [42].

Ограничения классических методов стимулировали разработку альтернативных методик анализа пролиферативной активности клеток. Предлагались различные методологические подходы с использованием ядерного белка Ki-67 в качестве маркера пролиферации клеток, например, иммуноферментный анализ [43], иммуногистохимический анализ [44], а также подходы с использованием альтернативных маркерных ядерных [45] и ядрышковых [46] белков. При высокой специфичности сложность стандартизации иммунохимических методов остается их основным недостатком.

Соотношение уровня пролиферации лимфоцитов и продукции цитокинов взаимосвязано. На основе классической РБТЛ была разработана методика определения способности мононуклеарных клеток к спонтанной и активированной ФГА в течение 48 ч продукции ИЛ-2, которая позже неоднократно модифицировалась с применением других митогенов и расширением спектра анализируемых цитокинов. Было показано, что уровень пролиферации мононуклеарных клеток можно достоверно оценить после стимуляции конканавалином А (КонА) по уровню ИЛ-2 на вторые сутки и ИФН γ – на пятые сутки, а изменения цитокинового профиля характеризуют функциональную активность Тх1 и Тх2 [47].

Метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) позволяет оценивать спонтанную и индуцированную пролиферативную активность лимфоцитов по уровню стабильных мРНК, характерных для генов отдельных цитокинов, например, генов *IL-2* и *IL-2RA* или других генов, конститутивно экспрессирующихся в процессе клеточного деления. Профили экспрессии мРНК и белка для цитокинов ИЛ-2 и ИФН γ в стимулированных КонА клетках совпадают, а в РБТЛ со стимуляцией КонА через трое суток экспрессия мРНК гена *IFN γ* наиболее точно отражает уровень пролиферации лимфоцитов [47]. Основным преимуществом метода оценки пролиферативной активности мононуклеарных клеток по экспрессии генов является возможность отследить функциональные связи между генами и их белковыми продуктами. Данный подход в отношении специфических генов, например, гена *FDXR* и некоторых других, рассматривается как один из перспективных методов биодозиметрии при воздействии ИИ в диапазоне малых доз [48, 49]. К ограничениям метода следует отнести высокую индивидуальную вариабельность экспрессии цитокиновых генов, нестабильность мРНК многих цитокинов и значительные различия в динамике экспрессии генов цитокинов в ответ на разные митогены, что в комплексе пока создает значительные проблемы для унификации таких методических подходов.

Проблема стандартизации при оценке пролиферативного потенциала клеток успешно решается при использовании методов проточной цитометрии. Использование связывающихся с ДНК флуорохромов (например, йодистого пропидия и 7-AAD) позволяет оценить процент клеток в пробе, находящихся на стадиях клеточного цикла G1/G0, S и G2/M, для более точного разделения фаз анализируют уровни циклинов. Ядерные белки Ki-67 и/или PCNA, меченные флуоресцирующими агентами, позволяют количественно определить покоящиеся и/или вступившие в клеточный цикл клетки, а моноклональные антитела к специфически фосфорилированным формам гистона H3 – разделить клетки на стадии покоя или митоза. Модифицированные нуклеотиды (5-бром-20-дезоксисуридин или BrdU или аналоги) могут применяться для маркировки клеток в S-фазе [50]. Перечисленные выше цитометрические подходы дают возможность идентифицировать фенотип и пролиферацию клеток, но не подходят для сортировки жизнеспособных клеток и дальнейшей оценки их функциональной активности, поскольку включают стадии фиксации и пермеабиллизации [42].

Мембранные или цитоплазматические витальные флуорохромы позволяют оценить количество последовательно пройденных митотических делений клеток за счет равномерного распределения мембраны и цитоплазмы исходной клетки между дочерними в процессе деления [50]. Так, метод оценки клеточной пролиферации с использованием карбоксифлуоресцеина сукцинимидилового эфира (КФСЭ) в качестве метки позволяет оценить в пробе процент пролиферирующих клеток на каждом цикле пролиферации и посчитать число делений (циклов) по двукратному уменьшению внутриклеточного содержания красителя при каждом делении. Следует учитывать необходимость предварительной инкубации клеток с флуорохромом и тщательной отмывки перед *in vitro* стимуляцией митогенами, а также несовместимость флуорохромов с подобными механизмами действия с магнитной сепарацией клеток [42]. Доказана точность, сходимость и воспроизводимость метода с использованием КФСЭ в сравнении с методом оценки

пролиферативной активности по включению меченного тритием тимидина. Метод КФСЭ может одновременно применяться для оценки доли клеток, экспрессирующих поверхностные мембранные маркеры, и процента жизнеспособных клеток [41], однако для расширения потенциала методики необходим проточный цитометр с большим количеством каналов регистрации флуоресценции и оборудование для разделения клеток.

В последнее десятилетие идет активный поиск мембранных клеточных молекул – маркеров пролиферации лимфоцитов. Мембранная молекула CD71 (рецептор трансферрина 1) рассматривается как маркер активации/пролиферации *in vitro* мононуклеарных клеток периферической крови человека [51]. CD71 является ключевым регулятором транспорта железа в клетки посредством связывания и интернализации его лиганда трансферрина. Ионы железа необходимы клеткам для активации циклин-зависимых киназ, синтеза дезоксирибонуклеотидов и железосерных кластеров митохондрий, а истощение внутриклеточного депо железа приводит к блокаде клеточного цикла в G1/S и апоптозу лимфоцитов [53]. Экспрессия CD71 на поверхности лимфоцитов прямо коррелирует с содержанием белка Ki-67 в ядрах Т-клеток, стимулированных *in vitro* [52] и с результатами КФСЭ-анализа [42], что позволяет выделять Т-клетки, пролиферирующие/активированные *in vitro*. Оценка экспрессии двух мембранных молекул – CD71 и CD98 (гликопротеин, тяжелая цепь (CD98hc) которого участвует в передаче сигналов интегрин, а легкая – контролирует транспорт аминокислот) – может быть использована в качестве полного аналога КФСЭ-метода для идентификации и выделения только пролиферирующих Т-лимфоцитов [42]. Анализ пролиферативного потенциала клеток по экспрессии ими ключевых мембранных молекул является простым и надежным, легко сочетается с сепарацией, обеспечивает сохранность клеток, может быть стандартизован и автоматизирован, а палитра современных флуорохромов обеспечивает широкий потенциал применения такого подхода при исследованиях пролиферативного потенциала клеток у биологических объектов разных таксонов.

Заключение

Реакция лимфоцитов на стимуляцию *in vitro* в значительной мере отражает клеточные реакции *in vivo* и является высокоинформативным показателем, комплексно отражающим гомеостаз генетического аппарата клеток, способность к нормальному функционированию,

активации и ответам на митогенную или антигенную стимуляцию. В большинстве ранее выполненных работ исследовалась пролиферативная активность общего пула лимфоцитов периферической крови или клеток в культуре, однако наибольший интерес при изучении патогенетических механизмов отдаленных эффектов воздействия ИИ на человека представляет избирательная оценка пролиферативной активности субпопуляций клеток-эффекторов иммунных ответов. В ходе реализации радиационно-индуцированных канцерогенных эффектов пролиферативный потенциал основных субпопуляций Т-клеток (CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺) может рассматриваться в качестве одного из перспективных комплексных показателей индивидуальной реакции организма человека на хроническое техногенное облучение с преимуществом поражением КKM, а его отклонения от референсных значений (один из признаков иммунодефицитных состояний) у облученных людей – в качестве одного из факторов риска развития радиационно-индуцированных ЗНО.

Современные методические подходы к количественному определению пролиферирующих клеток в субпопуляциях Т-лимфоцитов человека на основе многоцветной проточной цитометрии достаточно разнообразны и позволяют решать широкий спектр научных и прикладных задач. Качество результатов, полученных такими методами, сопоставимо с методом оценки пролиферативной активности по включению тимидина, меченного тритием, который является «золотым стандартом» при анализе пролиферативной активности клеток. Метод оценки доли пролиферирующих/активированных лимфоцитов периферической крови в целевых субпопуляциях клеток, основанный на экспрессии CD71, крайне перспективен при изучении патогенетических аспектов отдаленных эффектов облучения. Он позволяет не только определять долю делящихся/активированных клеток в целевых субпопуляциях лимфоцитов периферической крови, но также открывает дополнительные возможности для изучения функциональной активности и судьбы клеток, экспрессирующих сопряженные с пролиферацией молекулы, но не вступивших в митоз. Эта особенность методики может быть чрезвычайно полезной при поиске маркеров индивидуальной радиочувствительности человека в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия.

Благодарности

Авторы благодарят ведущего специалиста отдела Базы данных «Человек» Н. В. Старцева.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аклеев А.А. Иммунный статус человека в отдаленном периоде хронического радиационного воздействия // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020. Т.65. №4. С. 29-35. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35
2. Аклеев А.В., Варфоломеева Т.А. Состояние гемопоэза у жителей прибрежных сел реки Течи // Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи / Под ред. А.В.Аклеева. Челябинск: Книга, 2016. С. 166-194. DOI: 10.7868/S0869803117020060.
3. Крестинина Л.Ю., Силкин С.С., Микрюкова Л.Д., Епифанова С.Б., Аклеев А.В. Риск заболеваемости солидными злокачественными новообразованиями в Уральской когорте аварийно-облученного населения: 1956–2017 // Радиационная гигиена. 2020. Т.13. №3. С. 6-17. DOI: 10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17.
4. Boulton F. Ionising Radiation and Childhood Leukaemia Revisited // Medicine, Conflict, and Survival. 2019. V.35. No.2. P.144-170. DOI: 10.1080/13623699.2019.1571684.
5. Grant EJ, Brenner A, Sugiyama H, Sakata R, Sadakane A, Utada M, Cahoon EK, Milder CM, Soda M, Cullings HM, Preston DL, Mabuchi K, Ozasa K. Solid Cancer Incidence among the Life Span Study of Atomic Bomb Survivors: 1958-2009. Radiation Research. 2017. V.187. No.5. P.513-537. DOI: 10.1667/RR14492.1.
6. Иванов В.К., Кашцев В.В., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Туманов К.А., Кочергина Е.В., Лашкова О.Е., Меньяло А.Н., Карпенко С.В., Ловачёв С.С., Корело А.М., Власов О.К., Шукина Н.В., Иванов С.А., Капрын А.Д. Оценка радиационных рисков злокачественных новообразований среди населения регионов России, загрязнённых радионуклидами вследствие аварии на Чернобыльской АЭС // Радиация и риск. 2021. Т.30. №1. С. 131-146. DOI: 10.21870/0131-3878-2021-30-1-131-146.
7. Zhuntova GV, Azizova TV, Grigoryeva ES. Risk of Stomach Cancer Incidence in a Cohort of Mayak PA Workers Occupationally Exposed to Ionizing Radiation. PLoS ONE 2020. V.15. No.4. e0231531. Available at: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0231531> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0231531.
8. Крестинина Л.Ю., Силкин С.С., Дегтева М.О., Аклеев А.В. Риск смерти от болезней системы кровообращения в Уральской когорте аварийно-облученного населения за 1950-2015 годы // Радиационная гигиена. 2019. Т.12. №1. С. 52-61. DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-1-52-61.
9. Tang FR, Loganovsky K. Low Dose or Low Dose Rate Ionizing Radiation-Induced Health Effect in the Human. Journal of Environmental Radioactivity. 2018. V.192. P.32-47. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.05.018.
10. Sources, Effects and Risks of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation UNSCEAR 2020/2021. Re-

- port to the General Assembly, with Scientific Annexes. New York, United Nations, 2021. 244 p.
11. Al Fares E, Sanikidze T, Kalmakhelidze S, Topuria D, Mansi L, Kitson S, Molazadeh M. The Alleviating Effect of Herniarin Against Ionizing Radiation-Induced Genotoxicity and Cytotoxicity in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Current Radiopharmaceuticals*. 2022. V.15. No.2. P.141-147. DOI: 10.2174/1874471014666211012104808.
 12. Lumniczky K, Impens N, Armengol G, Candéias S, Georgakilas AG, Hornhardt S, Martin OA, Rödel F, Schaub D. Low Dose Ionizing Radiation Effects on the Immune System. *Environment International*. 2021. No.149. P.106212. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0265931X1830362X?via%3Dihub> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1016/j.envint.2020.106212.
 13. Beauford SS, Kumari A, Garnett-Benson C. Ionizing Radiation Modulates the Phenotype and Function of Human CD4+ Induced Regulatory T Cells. *BMC Immunology*. 2020. No.21. P.18. Available at: <https://bmccimmunol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12865-020-00349-w#article-info> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1186/s12865-020-00349-w.
 14. Burrack AL, Martinov T, Fife BT. T Cell-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2017. No.8. P.43. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5723426/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3389/fendo.2017.00343.
 15. Манина И.В., Сергеев В.Ю., Голубцова Н.В., Сергеев А.Ю. Модификация реакции бласттрансформации лимфоцитов для применения в аллергологической практике // Российский биотерапевтический журнал. 2018. Т.17. №2. С. 88-92. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-88-92.
 16. Moro-García MA, Mayo JC, Sainz RM, Alonso-Arias R. Influence of Inflammation in the Process of T Lymphocyte Differentiation: Proliferative, Metabolic, and Oxidative Changes. *Frontiers in Immunology*. 2018. No.9. P.339. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5839096/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3389/fimmu.2018.00339.
 17. Han B, Dong L, Zhou J, Yang Y, Guo J, Xuan Q, Gao K, Xu Z, Lei W, Wang J, Zhang Q. The Clinical Implication of Soluble PD-L1 (sPD-L1) in Patients with Breast Cancer and its Biological Function in Regulating the Function of T Lymphocyte. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2021. No.70. P.2893-2909. DOI: 10.1007/s00262-021-02898-4.
 18. Соколова А.С., Ахмадуллина Ю.Р. Оценка кинетики пролиферации ФГА-стимулированных *in vitro* лимфоцитов у хронически облученных людей // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. 2016. Т.5. №4(15). С. 46-49.
 19. Zhou Y, Leng X, Mo C, Zou Q, Liu Y, Wang Y. The P53 Effector Perp Mediates the Persistence of CD4+ Effector Memory T Cell Undergoing Lymphopenia-Induced Proliferation. *Immunology Letters*. 2020. No.224. P.14-20. DOI: 10.1016/j.imlet.2020.05.001.
 20. Ellestad KK, Anderson CC. Two Strikes and You're Out? The Pathogenic Interplay of Coinhibitor Deficiency and Lymphopenia-Induced Proliferation. *Journal of Immunology*. 2017. V.198. No.7. P.2534-2541. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601884>.
 21. Kim HK, Waickman AT, Castro E, Flomerfelt FA, Hawk NV, Kapoor V, Telford WG, Gress RE. Distinct IL-7 Signaling in Recent Thymic Emigrants Versus Mature Naive T Cells Controls T Cell Homeostasis. *European Journal of Immunology*. 2016. V.46. No.7. P.1669-1680. DOI: 10.1002/eji.201546214.
 22. Markwart R, Condotta SA, Requardt RP, Borken F, Schubert K, Weigel C, Bauer M, Griffith TS, Förster M, Brunkhorst FM, Badovinac VP, Rubio I. Immunosuppression After Sepsis: Systemic Inflammation and Sepsis Induce a Loss of Naive T Cells but no Enduring Cell-Autonomous Defects in T Cell Function. *PLoS One*. 2014. V.9. No.12. e115094. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4277344/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0115094.
 23. Патракеева В.П. Цитокиновая регуляция пролиферативной активности клеток периферической крови // Экология человека. 2015. №12. С. 28-33.
 24. Raué HP, Beadling C, Haun J, Slifka MK. Cytokine-Mediated Programmed Proliferation of Virus-Specific CD8(+) Memory T Cells. *Immunity*. 2013. V.38. No.1. P.131-139. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.09.019.
 25. Салеева Д.В., Рождественский Л.М., Раева Н.Ф., Воробьева Е.С., Засухина Г.Д. Механизмы противоопухолевого действия малых доз радиации, связанные с активацией защитных систем клетки // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т. 68. №1. С. 15-18. DOI: 10.33266/1024-6177-2023-68-1-15-18.
 26. Bertucci A, Wilkins RC, Lachapelle S, Turner HC, Brenner DJ, Garty G. Comparison of Isolated Lymphocyte and Whole Blood-Based CBMN Assays for Radiation Triage. *Cytogenetic and Genome Research*. 2024. V.163. No.3-4. P.110-120. DOI: 10.1159/000533488
 27. Garty G, Royba E, Repin M, Shuryak I, Deoli N, Obaid R, Turner HC, Brenner DJ. Sex and Dose Rate Effects in Automated Cytogenetics. *Radiation Protection Dosimetry*. 2023. V.199. No.14. P.1495-1500. DOI: 10.1093/rpd/ncac286.
 28. Royba E, Repin M, Balajee AS, Shuryak I, Pampou S, Karan C, Wang YF, Lemus OD, Obaid R, Deoli N, Wuu CS, Brenner DJ, Garty G. Validation of a High-Throughput Dicentric Chromosome Assay Using Complex Radiation Exposures. *Radiation Research*. 2023. V.199. No.1. P.1-16. DOI: 10.1667/RADE-22-00007.1.
 29. Herrera FG, Romero P, Coukos G. Lighting up the Tumor Fire with Low-Dose Irradiation. *Trends in Immunology*. 2022. V.43(3):173-179. DOI: 10.1016/j.it.2022.01.006.
 30. Rusin M, Ghobrial N, Takacs E, Willey JS, Dean D. Changes in Ionizing Radiation Dose Rate Affect Cell Cycle Progression in Adipose Derived Stem Cells. *PLoS One*. 2021. V.16. No.4. e0250160. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8078807/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0250160.
 31. Никитина В.А., Астрелина Т.А., Нугис В.Ю., Кобзева И.В., Ломоносова Е.Е., Сучкова Ю.Б., Малыванова Т.Ф., Брунчуков В.А., Усупжанова Д.Ю., Брумберг В.А., Расторгуева А.А., Добровольская Е.И., Карасева Т.В., Козлова М.Г., Пустовалова М.В., Чигасова А.К., Воробьева Н.Ю., Осипов А.Н., Самойлов А.С. Цитогенетический анализ клеточной линии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека при длительном культивировании после воздействия рентгеновского излучения в малых и средних дозах // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т. 68. № 1. С. 5-14. DOI: 10.33266/1024-6177-2023-68-1-5-14.
 32. Palacio L, Goyer ML, Maggiorani D, Espinosa A, Villeneuve N, Bourbonnais S, Moquin-Beaudry G, Le O, Demaria M, Davalos AR, Decaluwe H, Beausejour C. Restored Immune Cell Functions upon Clearance of Senescence in the Irradiated Splenic Environment. *Aging Cell*. 2019. V.18. No.4. e12971. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6612633/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1111/acel.12971.
 33. Khan AUH, Blimkie M, Yang DS, Serran M, Pack T, Wu J, Kang J-Y, Laakso H, Lee S-H, Le Y. Effects of Chronic Low-Dose Internal Radiation on Immune-Stimulatory Responses in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. No.22. P.7303. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8306076/> Accessed 30 April 2024. DOI: 10.3390/ijms22147303.
 34. Sowemimo-Coker SO, Fast LD. Effects of Hypoxic Storage on the Efficacy of Gamma Irradiation in Abrogating Lymphocyte Proliferation and on the Quality of Gamma-Irradiated Red Blood Cells in Additive Solution 3. *Transfusion*. 2021. V.61. No.12. P.3443-3454. DOI: 10.1111/trf.16683.
 35. Wang Q, Li S, Qiao S, Zheng Z, Duan X, Zhu X. Changes in T Lymphocyte Subsets in Different Tumors Before and After Radiotherapy: A Meta-analysis. *Frontiers in Immunology*. 2021. No.12. P.648652. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8242248/> Accessed 30 April 2024. DOI: 10.3389/fimmu.2021.648652.
 36. Busato F, Khouzai BE, Mognato M. Biological Mechanisms to Reduce Radioresistance and Increase the Efficacy of Radiotherapy: State of the Art. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. No.23. P.10211. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9499172/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3390/ijms231810211.
 37. Duan WH, Jin LY, Cai ZC, Lim D, Feng ZH. 2-Hexyl-4-Pentylenic Acid (HPTA) Stimulates the Radiotherapy-Induced Abscopal Effect on Distal Tumor through Polarization of Tumor-associated Macrophages. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2021. V.34. No.9. P.693-704. DOI: 10.3967/bes2021.097.
 38. Алтухова Н.А. Клинико-лабораторные критерии ускорения темпов старения участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2005. 24 с.
 39. Маркина Т.Н., Аклеев А.В., Веремева Г.А. Проллиферативная активность и клеточный цикл лимфоцитов периферической крови (ЛПК) человека в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия // Радиация и риск. 2011. Т.20. № 1. С. 50-58.
 40. Аклеев А.А., Блинова Е.А., Долгушин И.И. Митотическая активность лимфоцитов и иммунный статус человека в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия // Иммунология. 2018. Т.39. №4. С. 202-207. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-4-202-207.
 41. Faivre L, Lecoufflet L, Liu W-Q, Khadher I, Lahaie C, Vidal M, Legouvello S, Beaumont J-L, Bierling P, Rouard H, Birebent B. Quality Control of Extracorporeal Photochemotherapy: Proliferation Assay Using CFSE Validated According to ISO 15189:2007 Standards. *Cytometry: Part B*. 2015. V.88. B. P.30-39. DOI: 10.1002/cytob.21188.
 42. Elias G, Ogunjimi B, Van Tendeloo V. Tracking Dye-Independent Approach to Identify and Isolate *in vitro* Expanded T Cells. *Cytometry: Part A*. 2019. V.95. No.10. P.1096-1107. DOI: 10.1002/cyto.a.23867.
 43. Frahm SO, Zott B, Dworeck C, Steinmann J, Neppert J, Parwaresch R. Improved ELISA Proliferation Assay (EPA) for the Detection of *in Vitro* Cell Proliferation by a New Ki-67-Antigen Directed Monoclonal Antibody (Ki-S3). *Journal of Immunological Methods*. 1998. V.211. No.1-2. P.43-50. DOI: 10.1016/S0022-1759(97)00175-0.
 44. Бульчева Т.И., Дейнеко Н.Л., Григорьев А.А. Иммуногистохимическая оценка стимуляции лимфоцитов фитогемагглютинином реакции бласттрансформации лимфоцитов с моноклональными антителами Ki-67 // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. Т.59. №7. С. 51-54.
 45. Frahm SO, Rudolph P, Dworeck C, Zott B, Heidebrecht H, Steinmann J, Neppert J, Parwaresch R. Immunoenzymatic Detection of the New Proliferation Associated Protein P100 by Means of a Cellular ELISA: Specific Detection of Cells in Cell Cycle Phases S, G2 and M. *Journal of Immunological Methods*. 1999. V.223. No.2. P.147-153. DOI: 10.1016/S0022-1759(98)00217-8.
 46. Малышева М.В., Моралева А.А., Дейнеко Н.Л., Бульчева Т.И., Зацепина О.В. Сравнительный анализ экспрессии ключевых белков ядрышка в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров, активированных к пролиферации *in vitro* // Иммунология. 2010. Т.31. № 1. С. 13-17.
 47. Чулкина М.М., Трофимов Д.Ю., Кофиади И.А., Алексеев Л.П., Савилова А.М. Комплексный анализ кинетики экспрессии мРНК цитокинов в реакции бластной трансформации с митогеном КонА // Иммунология. 2014. Т.36. №6. С. 306-312.
 48. Vosoughi H, Azimian H, Khademi S, Rezaei AR, Najafi-Amiri M, Vaziri-Nezamdoost F, Bahreyni-Toossi MT. PHA Stimulation May Be Useful for FDXR Gene Expression-Based Biodosimetry. *Iranian Journal*

- of Basic Medical Sciences. 2020. No.23. P.449-453. DOI: 10.22038/ijbms.2020.42350.9997.
49. Schüle S, Hackenbroch C, Beer M, Muhtadi R, Hermann C, Stewart S, Schwanke D, Ostheim P, Port M, Scherthan H, Abend M. Ex-Vivo Dose Response Characterization of the Recently Identified EDA2R Gene after Low Level Radiation Exposures and Comparison with FDXR Gene Expression and the γ H2AX Focus Assay. *International Journal of Radiation Biology*. 2023. V.99. No.10. P.1584-1594. DOI: 10.1080/09553002.2023.2194402.
 50. Кудряцев И.В., Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Черешнев В.А. Применение метода проточной цитофлуориметрии для оценки пролиферативной активности клеток в медико-биологических исследованиях // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6(14), №3(1). С. 21-40.
 51. Schwab L, Michel G, Bein G, Hackstein H. CD71 Surface Analysis of T Cells: a Simple Alternative for Extracorporeal Photopheresis Quality Control. *Vox Sang*. 2020. V.115. No.1. P.81-93. DOI: 10.1111/vox.12850.
 52. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagol KV, Shive CL, Freeman ML, Panigrahi S, Zwegig S, Balderas R, Margolis L, Douek DC, Anthony DD, Pandiyan P, Cameron M, Sieg SF, Calabrese LH, Rodriguez B, Lederman MM. Cycling CD4+ T Cells in HIV Infected Immune Nonresponders Have Mitochondrial Dysfunction. *Journal of Clinical Investigation*. 2018. V.128. No.11. P.5083-5094. DOI: 10.1172/JCI120245.
 53. Марченко Д.М., Сайдакова Е.В. Новые маркеры для исследования пролиферации Т-лимфоцитов человека // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. №4. С. 316-323. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-4-316-323.

REFERENCES

1. Akleyev AA. Immune Status of a Man Long after Chronic Radiation Exposure. *Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost' = Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020;65(4):29-35 (In Russ.). DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35.
2. Akleyev AV, Varfolomeyeva TA. *Sostoyaniye Gemopoeza u Zhiteley Pri-brezhnykh Sel Reki Techy = Status of Hematopoiesis in Residents of the Techa Riverside Villages. Consequences of Radioactive Contamination of the Techa River*. Ed. A.V.Akleyev. Chelyabinsk, *Kniga Publ.*, 2016. P. 166-194 (In Russ.). DOI: 10.7868/S0869803117020060.
3. Krestinina LYu, Silkin SS, Mikryukova LD, Epifanova SB, Akleyev AV. Solid Cancer Incidence Risk in the Ural Cohort of the Accidentally Exposed Population: 1956–2017. *Radiatsionnaya Gigiyena = Radiation Hygiene*. 2020;13(3):6-17 (In Russ.). DOI: 10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17.
4. Boulton F. Ionising Radiation and Childhood Leukaemia Revisited. *Medicine, Conflict, and Survival*. 2019;35(2):144-170. DOI: 10.1080/13623699.2019.1571684.
5. Grant EJ, Brenner A, Sugiyama H, Sakata R, Sadakane A, Utada M, Cahoon EK, Milder CM, Soda M, Cullings HM, Preston DL, Mabuchi K, Ozasa K. Solid Cancer Incidence among the Life Span Study of Atomic Bomb Survivors: 1958–2009. *Radiation Research*. 2017;187(5):513-537. DOI: 10.1667/RR14492.1.
6. Ivanov VK, Kashcheev VV, Chekin SYu, Maksyutov MA, Tumanov SA, Kochergina EV, Lashkova OE, Menyailo AN, Karpenko SV, Lovachev KS, Korelo AM, Vlasov OK, Shchukina NV, Ivanov SA, Kaprin AD. Assessment of Radiation Risks of Malignant Neoplasms among the Population of Russian Regions Contaminated with Radionuclides as a Result of the Chernobyl Accident. *Radiatsiya i Risk = Radiation and Risk*. 2021;30(1):131-146 (In Russ.). DOI: 10.21870/0131-3878-2021-30-1-131-146.
7. Zhuntova GV, Azizova TV, Grigoryeva ES. Risk of stomach cancer incidence in a cohort of Mayak PA workers occupationally exposed to ionizing radiation. *PLoS ONE* 2020;15(4):e0231531. Available at: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0231531>. (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0231531.
8. Krestinina LYu, Silkin SS, Degteva MO, Akleyev AV. Risk Analysis of the Mortality from the Diseases of the Circulatory System in the Ural Cohort of Emergency-Irradiated Population for the Years 1950–2015. *Radiatsionnaya Gigiyena = Radiation Hygiene*. 2019;12(1):52-61 (In Russ.). DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-1-52-61.
9. Tang FR, Loganovsky K. Low Dose or Low Dose Rate Ionizing Radiation-Induced Health Effect in the Human. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2018;192:32-47. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.05.018.
10. Sources, Effects and Risks of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation UNSCEAR 2020/2021. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. New York, United Nations, 2021. 244 p.
11. Al Fares E, Sanikidze T, Kalmakhelidze S, Topuria D, Mansi L, Kitson S, Molazadeh M. The Alleviating Effect of Herniarin Against Ionizing Radiation-Induced Genotoxicity and Cytotoxicity in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Current Radiopharmaceuticals*. 2022;15(2):141-147. DOI: 10.2174/1874471014666211012104808.
12. Lumniczky K, Impens N, Armengol G, Candéias S, Georgakilas AG, Hornhardt S, Martin OA, Rödel F, Schae D. Low dose ionizing radiation effects on the immune system. *Environment International*. 2021;149:106212. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269931X1830362X?via%3Dihub>. Accessed 30 April 2024. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106212.
13. Beauford SS, Kumari A, Garnett-Benson C. Ionizing Radiation Modulates the Phenotype and Function of Human CD4+ Induced Regulatory T Cells. *BMC Immunology*. 2020;21:18. Available at: <https://bmcimmunol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12865-020-00349-w#article-info>. (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1186/s12865-020-00349-w.
14. Burrack AL, Martinov T, Fife BT. T Cell-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*. 2017;8:343. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5723426/> Accessed 30 April 2024. DOI: 10.3389/fendo.2017.00343.
15. Manina IV, Sergeev VYu, Golubtsova NV, Sergeev AYu. Lymphocytes Blast-Transformation Reaction: Modification for Allergological Practice. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2018;17(2):88-92 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-88-92.
16. Moro-García MA, Mayo JC, Sainz RM, Alonso-Arias R. Influence of Inflammation in the Process of T Lymphocyte Differentiation: Proliferative, Metabolic, and Oxidative Changes. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:339. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5839096/> Accessed 30 April 2024. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00339.
17. Han B, Dong L, Zhou J, Yang Y, Guo J, Xuan Q, Gao K, Xu Z, Lei W, Wang J, Zhang Q. The Clinical Implication of Soluble PD-L1 (sPD-L1) in Patients with Breast Cancer and its Biological Function in Regulating the Function of T Lymphocyte. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2021;70:2893-2909. DOI: 10.1007/s00262-021-02898-4.
18. Sokolova AS, Akhmadullina YR. Evaluation of the Proliferation Kinetics of PHA-Stimulated Lymphocytes of Chronically Exposed Individuals. *Vestnik Soveta Molodykh Uchenykh i Spetsialistov Chelyabinskoy Oblasti = Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region*. 2016;5(4-15):46-49. (In Russ.).
19. Zhou Y, Leng X, Mo C, Zou Q, Liu Y, Wang Y. The P53 Effector Perp Mediates the Persistence of CD4+ Effector Memory T Cell Undergoing Lymphopenia-Induced Proliferation. *Immunology Letters*. 2020;(224):14-20. DOI: 10.1016/j.imlet.2020.05.001.
20. Ellestad KK, Anderson CC. Two Strikes and You're Out? The Pathogenic Interplay of Coinhibitor Deficiency and Lymphopenia-Induced Proliferation. *Journal of Immunology*. 2017;198(7):2534-2541. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601884>.
21. Kim HK, Waickman AT, Castro E, Flomerfelt FA, Hawk NV, Kapoor V, Telford WG, Gress RE. Distinct IL-7 Signaling in Recent Thymic Emigrants Versus Mature Naive T Cells Controls T Cell Homeostasis. *European Journal of Immunology*. 2016;46(7):1669-1680. DOI: 10.1002/eji.201546214.
22. Markwart R, Condotta SA, Requardt RP, Borken F, Schubert C, Weigel C, Bauer M, Griffith TS, Förster M, Brunkhorst FM, Badovinac VP, Rubio I. Immunosuppression After Sepsis: Systemic Inflammation and Sepsis Induce a Loss of Naive T Cells but no Enduring Cell-Autonomous Defects in T Cell Function. *PLoS One*. 2014;9(12):e115094. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4277344/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0115094.
23. Patrakeeva VP. Cytokine Regulation of Proliferative Activity of Peripheral Blood Cells. *Ekologiya Cheloveka = Human Ecology*. 2015;12:28-33. (In Russ.).
24. Räué HP, Beadling C, Haun J, Slika MK. Cytokine-Mediated Programmed Proliferation of Virus-Specific CD8(+) Memory T Cells. *Immunity*. 2013;38(1):131-139. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.09.019.
25. Saleeva DV, Rozhdestvenskiy LM, Raeva NF, Vorobyeva ES, Zasukhina GD. Mechanisms of Antitumor Activity of Low Doses of Radiation Associated with Activation of Cells' Defense System. *Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost' = Medical Radiology and Radiation Safety*. 2023;68(1):15–18. (In Russ.). DOI: 10.33266/1024-6177-2023-68-1-15-18.
26. Bertucci A, Wilkins RC, Lachapelle S, Turner HC, Brenner DJ, Garty G. Comparison of Isolated Lymphocyte and Whole Blood-Based CBMN Assays for Radiation Triage. *Cytogenetic and Genome Research*. 2024;163(3-4):110-120. DOI: 10.1159/000533488.
27. Garty G, Royba E, Repin M, Shuryak I, Deoli N, Obaid R, Turner HC, Brenner DJ. Sex and Dose Rate Effects in Automated Cytogenetics. *Radiation Protection Dosimetry*. 2023;199(14):1495-1500. DOI: 10.1093/rdp/ncac286.
28. Royba E, Repin M, Balajee AS, Shuryak I, Pampou S, Karan C, Wang YF, Lemus OD, Obaid R, Deoli N, Wu CS, Brenner DJ, Garty G. Validation of a High-Throughput Divalent Chromosome Assay Using Complex Radiation Exposures. *Radiation Research*. 2023;199(1):1-16. DOI: 10.1667/RADE-22-00007.1.
29. Herrera FG, Romero P, Coukos G. Lighting up the Tumor Fire with Low-Dose Irradiation. *Trends in Immunology*. 2022;43(3):173-179. DOI: 10.1016/j.it.2022.01.006.
30. Rusin M, Ghobrial N, Takacs E, Willey JS, Dean D. Changes in Ionizing Radiation Dose Rate Affect Cell Cycle Progression in Adipose Derived Stem Cells. *PLoS One*. 2021;16(4):e0250160. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8078807/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1371/journal.pone.0250160.
31. Nikitina VA, Astrelina TA, Nugis VYu, Kobzeva IV, Lomonosova EE, Suchkova YuB, Malivanova TF, Brunchukov VA, Usupzhanova DYu, Brumberg VA, Rastorgueva AA, Dobrovolskaya EI, Karaseva TV, Kozlova MG, Pustovalova MV, Chigasova AK, Vorobyeva NYu, Osipov AN, Samohlov AS. Cytogenetic Analysis of the Cell Line of Multipotent Human Mesenchymal Stromal Cells during Long-Term Cultivation after Exposure to X-Ray Radiation at Low and Medium Doses. *Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost' = Medical Radiology and*

- Radiation Safety. 2023;68(1):5-14. (In Russ.). DOI: 10.33266/1024-6177-2023-68-1-5-14.
32. Palacio L, Goyer ML, Maggiorani D, Espinosa A, Villeneuve N, Bourbonnais S, Moquin-Beaudry G, Le O, Demaria M, Davalos AR, Decaluwe H, Beauséjour C. Restored Immune Cell Functions upon Clearance of Senescence in the Irradiated Splenic Environment. *Aging Cell*. 2019;18(4):e12971. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6612633/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.1111/ace1.12971.
 33. Khan AUH, Blimkie M, Yang DS, Serran M, Pack T, Wu J, Kang J-Y, Laakso H, Lee S-H, Le Y. Effects of Chronic Low-Dose Internal Radiation on Immune-Stimulatory Responses in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22:7303. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8306076/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3390/ijms22147303.
 34. Sowemimo-Coker SO, Fast LD. Effects of Hypoxic Storage on the Efficacy of Gamma Irradiation in Abrogating Lymphocyte Proliferation and on the Quality of Gamma-Irradiated Red Blood Cells in Additive Solution 3. *Transfusion*. 2021;61(12):3443-3454. DOI: 10.1111/trf.16683.
 35. Wang Q, Li S, Qiao S, Zheng Z, Duan X, Zhu X. Changes in T Lymphocyte Subsets in Different Tumors Before and After Radiotherapy: a Meta-analysis *Frontiers in Immunology*. 2021;12:648652. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8242248/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3389/fimmu.2021.648652.
 36. Busato F, Khouzai BE, Mognato M. Biological Mechanisms to Reduce Radioresistance and Increase the Efficacy of Radiotherapy: State of the Art. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23:10211. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9499172/> (Accessed 30 April 2024). DOI: 10.3390/ijms231810211.
 37. Duan WH, Jin LY, Cai ZC, Lim D, Feng ZH. 2-Hexyl-4-Pentylenic Acid (HPTA) Stimulates the Radiotherapy-Induced Apoptosis Effect on Distal Tumor through Polarization of Tumor-associated Macrophages. *Bio-medical and Environmental Sciences*. 2021;34(9):693-704. DOI: 10.3967/bes2021097.
 38. Altukhova NA. *Kliniko-Laboratornye Kriterii Uskoreniya Tempov Stareniya Uchastnikov Likvidatsii Posledstviy Avarii na ChAES = Clinical and Laboratory Criteria for Accelerating the Rate of Aging of Participants in the Liquidation of the Consequences of the Chernobyl Accident*. Extended abstract of candidate's thesis in Biol. St. Petersburg, 2005. 24 p. (In Russ.).
 39. Markina TN, Akleyev AV, Veremeyeva GA. Proliferative Activity and Cell Cycle of Peripheral Blood Lymphocytes (PBL) at Late Time after Chronic Radiation Exposure in Man. *Radiatsiya i Risk = Radiation and Risk*. 2011;20(1):50-58. (In Russ.).
 40. Akleyev AA, Blinova EA, Dolgushin II. Mitotic Activity of Lymphocytes and Immunological Status of Man at Later Time Points after Chronic Radiation Exposure. *Immunologiya = Immunology*. 2018;39(4):202-207. (In Russ.). DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-4-202-207.
 41. Faivre L, Lecoufflet L, Liu W-Q, Khadher I, Lahaie C, Vidal M, Legouvello S, Beaumont J-L, Bierling P, Rouard P, Birebent B. Quality Control of Extracorporeal Photochemotherapy: Proliferation Assay Using CFSE Validated According to ISO 15189:2007 Standards. *Cytometry. Part B*. 2015;88B:30-39. DOI: 10.1002/cytob.21188.
 42. Elias G, Ogunjimi B, Van Tendeloo V. Tracking Dye-Independent Approach to Identify and Isolate *in vitro* Expanded T Cells. *Cytometry. Part A*. 2019;95(10):1096-1107. DOI: 10.1002/cyto.a.23867.
 43. Frahm SO, Zott B, Dworeck C, Steinmann J, Neppert J, Parwaresch R. Improved ELISA Proliferation Assay (EPA) for the Detection of *in vitro* Cell Proliferation by a New Ki-67-Antigen Directed Monoclonal Antibody (Ki-S3). *Journal of Immunological Methods*. 1998;211(1-2):43-50. DOI: 10.1016/S0022-1759(97)00175-0.
 44. Bulycheva TI, Deyneko NL, Grigor'eva AA. The Immune Cytochemical Evaluation of Reaction of Phytohemagglutinin Stimulation of Lymphocytes with Monoclonal Antibodies Ki-67. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*. 2014;59(7):51-54. (In Russ.).
 45. Frahm SO, Rudolph P, Dworeck C, Zott B, Heidebrecht H, Steinmann J, Neppert J, Parwaresch R. Immunoenzymatic Detection of the New Proliferation Associated Protein P100 by Means of a Cellular ELISA: Specific Detection of Cells in Cell Cycle Phases S, G2 and M. *Journal of Immunological Methods*. 1999;223(2):147-153. DOI: 10.1016/S0022-1759(98)00217-8.
 46. Malisheva MV, Moraleva AA, Deyneko NL, Bulycheva TI, Zatssepina OV. Comparative Analysis of the Expression of Key Nucleolar Proteins in Peripheral Blood Lymphocytes of Healthy Donors Activated for Proliferation *in vitro*. *Immunologiya = Immunology*. 2010;31(1):13-17. (In Russ.).
 47. Chulkina MM, Trofimov DY, Kofiadi IA, Alekseev LP, Savilova AM. Comparative Analysis of Different Cytokines and Transcription Factors mRNA Expression in Lymphocytes Activated by ConA. *Immunologiya = Immunology*. 2014;35(6): 306-312. (In Russ.).
 48. Vosoughi H, Azimian H, Khademi S, Rezaei AR, Najafi-Amiri M, Vaziri-Nezamdoost F, Bahreyni-Toossi MT. PHA Stimulation May Be Useful for FDXR Gene Expression-Based Biodosimetry. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2020;(23):449-453. DOI: 10.22038/ijbms.2020.42350.9997.
 49. Schüle S, Hackenbroch C, Beer M, Muhtadi R, Hermann C, Stewart S, Schwanke D, Ostheim P, Port M, Scherthan H, Abend M. Ex-Vivo Dose Response Characterization of the Recently Identified EDA2R Gene after Low Level Radiation Exposures and Comparison with FDXR Gene Expression and the γ H2AX Focus Assay. *International Journal of Radiation Biology*. 2023;99(10):1584-1594. DOI: 10.1080/09553002.2023.2194402.
 50. Kudryavtsev IV, Zurochka AV, Khaydukov SV, Chereshevnev VA. Application of the Flow Cytometry Method to Assess the Proliferative Activity of Cells in Biomedical Research. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal = Russian Journal of Immunology*. 2012;6-14(3-1):21-40 (In Russ.).
 51. Schwab L, Michel G, Bein G, Hackstein H. CD71 Surface Analysis of T Cells: a Simple Alternative for Extracorporeal Photopheresis Quality Control. *Vox Sang*. 2020;115(1):81-93. DOI: 10.1111/vox.12850.
 52. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagel KV, Shive CL, Freeman ML, Panigrahi S, Zweig S, Balderas R, Margolis L, Douek DC, Anthony DD, Pandiyan P, Cameron M, Sieg SF, Calabrese LH, Rodriguez B, Lederman MM. Cycling CD4+ T Cells in HIV Infected Immune Nonresponders Have Mitochondrial Dysfunction. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(11):5083-5094. DOI: 10.1172/JCI120245.
 53. Marchenko DM, Saydakova EV. Novel Puman T Cell Proliferation Markers. *Vestnik Permskogo Universiteta. Biologiya = Bulletin of Perm University. Series Biology*. 2021;(4):316-323. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-4-316-323.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Научно-исследовательская работа выполнена в рамках государственного контракта ФМБА России по теме «Оценка медико-биологических эффектов хронического радиационного воздействия и механизмов их развития для оптимизации методологий раннего выявления последствий облучения» (Иммуногемопоз-24).

Участие авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Кодинцева Е.А. – разработала концепцию статьи, подготовила первый вариант документа, прочитала и согласовала последний вариант рукописи. Аклев А.А. – разработал концепцию статьи, выполнил научное редактирование, прочитал и утвердил последний вариант рукописи.

Поступила: 20.05.2024. Принята к публикации: 25.06.2024.

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

Financing. This study was carried out within the framework of the state assignment of the FMBA of Russia: "Evaluation of the medical and biological effects of chronic radiation exposure and mechanisms of their development to improve the methods for early detection of exposure effects" (Immunohematopoiesis-24)".

Contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria. Kodintseva E. A. – conceived and designed the study, prepared the first draft of the article, read and approved the final version before publication. Akleyev A. A. – conceived and designed the study, scientific editing, read and approved the final version before publication.

Article received: 20.05.2024. Accepted for publication: 25.06.2024.