

ПОДХОДЫ К ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ДОЗЫ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ЛИМФОИДНУЮ ТКАНЬ КИШЕЧНИКА

© 2021 г. Е. И. Толстых^{1,*}, М. О. Дегтева¹, А. В. Возилова¹, А. В. Аклев^{1, 2}

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

*E-mail: evgenia.tolstykh@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.11.2020 г.

После доработки 26.04.2021 г.

Принята к публикации 28.04.2021 г.

Анализ хромосомных aberrаций в Т-лимфоцитах периферической крови методом FISH используется для оценки доз облучения у профессионалов и населения. В случае неравномерного распределения β -излучающих радионуклидов в теле, а также в случае сочетанного внутреннего и внешнего облучения интерпретация результатов цитогенетических исследований требует особых модельных подходов. Модель облучения Т-клеток и их предшественников в красном костном мозге была описана нами ранее. Настоящий обзор посвящен подходам к оценкам доз на Т-лимфоциты в лимфоидных тканях кишечника (ЛТК). На основании данных литературы были проанализированы: геометрия облучения ЛТК от пищевого комка (химуса); распределение циркулирующих Т-лимфоцитов в ЛТК; подходы к моделированию облучения Т-лимфоцитов в ЛТК. В результате были определены возрастные особенности пребывания различных субпопуляций Т-клеток в *lamina propria*, кишечном эпителии и лимфатических фолликулах. Была оценена доля циркулирующих Т-клеток от общего числа Т-лимфоцитов в тонком и толстом кишечнике (30–35%). Полученные результаты позволяют также оценить долю времени, которое циркулирующие Т-лимфоциты проводят в тонком и толстом кишечнике (2.4 и 2.7%). Эти значения будут использованы при оценках доз на циркулирующие Т-лимфоциты при интерпретации цитогенетических данных по стабильным хромосомным aberrациям, полученным методом FISH.

Ключевые слова: циркулирующие Т-лимфоциты, резидентные Т-клетки памяти, лимфоидные ткани кишечника, биодозиметрия, β -излучающие радионуклиды

DOI: 10.31857/S0869803121040111

Т-лимфоциты периферической крови являются объектом изучения хромосомных aberrаций, вызванных облучением тела человека. Для оценок количества aberrаций используются различные методы, в том числе и метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Его применяют как для ретроспективной оценки доз в случае профессионального облучения [1, 2], так и при аварийном облучении (например, жителей прибрежных сел р. Теча вследствие сбросов жидких радиоактивных отходов в период 1949–1956 гг. [3, 4]). В последнем случае имело место неравномерное многолетнее облучение за счет ^{89,90}Sr, инкорпорированного в костную ткань, что привело к преимущественному облучению красного костного мозга (ККМ).

Обсуждению применимости биодозиметрических методов для оценок доз при попадании в организм радионуклидов различной тропности, а

также при сочетании внешнего и внутреннего облучения был посвящен последний обзор Европейской группы по радиационной дозиметрии EURADOS [5]. В обзоре отмечается, что интерпретация результатов цитогенетических методов не вызывает больших проблем, когда радионуклиды достаточно равномерно распределены в организме. В то же время в обзоре подчеркивается [5], что наиболее частыми при аварийных ситуациях являются случаи неравномерного распределения радионуклидов в теле, а также сочетание внутреннего и внешнего облучения, поэтому для интерпретации результатов биодозиметрических методов необходимо использовать новые подходы. Эти подходы включают, в частности, моделирование облучения Т-лимфоцитов и их предшественников на основе концепции Т-клеточного рода. Упомянутая модель облучения Т-лимфоцитов [6–8] разрабатывалась для остеотропных β -

излучающих радионуклидов с учетом облучения предшественников Т-лимфоцитов в красном костном мозге (ККМ), облучения Т-лимфоцитов в экстраклеточной лимфоидной ткани и облучения периферических Т-лимфоцитов в ККМ при рециркуляции.

Помимо ККМ, преимущественному или локальному облучению может подвергаться кишечник, если рацион человека загрязнен β -излучающими радионуклидами с небольшим коэффициентом всасывания из кишечника в кровь, такими как ^{144}Ce , ^{95}Zr , $^{103, 106}\text{Ru}$, ^{95}Nb , $^{89, 90}\text{Sr}$. Расстояние, на которых распространяется радиационное воздействие β -излучающих радионуклидов, определяется длиной пробега их электронов. Например, средняя и максимальная длина пробега электронов спектра ^{90}Sr – ^{90}Y составляет в мягких тканях 4.6 и 11 мм соответственно. Принимая во внимание толщину стенок и диаметр просвета кишечника (для тонкого кишечника это 1.2 и 20 мм), преимущественному облучению от содержимого кишечника (химуса) подвергаются стенки кишечника. Они содержат стволовые эпителиальные клетки – основные клетки мишени при возникновении раковых заболеваний кишечника [9], а также лимфоидную ткань, богатую Т-лимфоцитами [10, 11]. Согласно оценкам МКРЗ [9], при однократном поступлении ^{90}Sr с рационом, дозы, накопленные в мягких тканях, не связанных с кишечником (печень, почки, скелетные мышцы), и стенках нижнего отдела толстого кишечника, различаются более чем в 5 раз (соответствующие дозовые коэффициенты составляют 6.28×10^{-10} и 34.8×10^{-10} Гр/Бк). Это означает, что близкие к химусу лимфоидные ткани кишечника подвергаются большему облучению по сравнению с лимфоидными тканями, расположенными в других частях тела (лимфоузлы по ходу сосудов, брыжеечные лимфоузлы, печень, селезенка, лимфоидная ткань в легких и т.д.).

В последние несколько лет были значительно расширены наши знания о клеточном составе и особенностях формирования иммунного барьера в кишечнике [10, 11]. Одним из важных результатов стало понимание того, что состав субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови, лимфоидных тканей, ассоциированных с легкими, кожей и кишечником, и прочих лимфоидных органов существенно различается [12, 13]. В этой связи задачи настоящей работы:

- рассмотреть геометрию облучения лимфоидных тканей кишечника (ЛТК) (мишеней облучения) от пищевого комка – химуса (источника облучения);
- проанализировать распределение циркулирующих Т-лимфоцитов в ЛТК;
- определить подходы к моделированию облучения Т-лимфоцитов в ЛТК.

РАСПОЛОЖЕНИЕ ЛТК

Кишечник является полым органом, и строение кишечной стенки описано в многочисленных руководствах (например, [14, 15]). Стенка состоит из концентрических слоев или оболочек, которые включают слизистую оболочку, обращенную к содержимому кишечника, подслизистую оболочку, мышечную оболочку, содержащую два слоя мышечных волокон, а также тонкую серозную оболочку, покрывающую мышечные слои. Именно слизистая оболочка кишечника содержит значительное количество лимфоцитов и является “вместилищем” ЛТК, формируя иммунный барьер кишечника [16].

Схема строения слизистой представлена на рис. 1, где показана в разрезе одна из многочисленных кишечных *ворсинок* (пальцеобразные выпячивания слизистой в сторону химуса, которая окружена химусом и участвует во всасывании питательных веществ) и *крипта* (углубления в слизистой, где происходит синтез ферментов, и в основании которых располагаются стволовые эпителиальные клетки). ЛТК в слизистой (рис. 1) представлены одиночными лимфоцитами в кишечном эпителии (интраэпителиальные лимфоциты, эти лимфоциты расположены наиболее близко к химусу¹ [17, 18]) и лимфоцитами, диффузно расположенными под эпителием в собственной пластинке (*lamina propria*)² по всему кишечнику [16].

Помимо этого, к ЛТК относят одиночные или солитарные лимфоидные фолликулы (рис. 1), которые имеются во всех отделах кишечника, а также крупные скопления лимфоидных фолликулов в виде Пейеровых бляшек в подвздошной кишке и аппендиксе (рис. 2). С кишечником также связаны брыжеечные лимфоузлы, расположенные по ходу кровеносных сосудов, отходящих от кишечника (эти лимфоузлы отдалены от химуса и не рассматриваются в настоящей работе как мишень облучения). Распознавание чужеродных антигенов и генерация устойчивого иммунного ответа производится непосредственно в кишечном эпителии и слизистой оболочке с участием Т-лимфоцитов [10].

Пейеровы бляшки заслуживают более подробного описания, поскольку это относительно крупные образования, вытянутые в длину по ходу тонкого кишечника [22–24]. Длина типичной

¹ Между эпителиальными клетками и пищевым комком находится слой слизи (*mucus*), толщина которого в тонком и толстом кишечнике человека варьирует от 10 до 750 мкм [20].

² *Lamina propria* заполняет внутреннюю часть кишечных ворсинок в тонком кишечнике, а также пространство между криптами. *Lamina propria* с одной стороны ограничена кишечным эпителием, с другой стороны – тонкой мышечной пластинкой, отделяющей слизистую оболочку от подслизистой.



Рис. 1. Схема строения слизистой оболочки тонкого кишечника и ее кровоснабжения (на основе [19] с модификациями). Горизонтальная пунктирная линия показывает границу между слизистой и подслизистой оболочкой. Показаны кровеносные и лимфатические капилляры, находящиеся в слизистой, и сосуды (венулы, артериолы и лимфатические сосуды), расположенные в подслизистой. Интраэпителиальные лимфоциты, «встроенные» в однослойный кишечный эпителий, показаны светлыми кружками, лимфоциты в *lamina propria* (темные кружки) расположены диффузно или собраны в фолликулы.

Fig. 1. Scheme of the structure of the small intestine mucosa and its blood supply (based on [19] with modifications). The horizontal dashed line shows the border between mucosa and submucosa. Blood and lymphatic capillaries located in the mucosa and vessels (venules, arterioles and lymphatic vessels) located in the submucosa are shown. Intraepithelial lymphocytes “embedded” in the single-layered epithelium are shown by light circles; lymphocytes in the *lamina propria* (dark circles) are scattered or aggregated into a follicle.

бляшки у человека колеблется в пределах 20–40 мм, ширина, определяемая на поперечных срезах, составляет 4–10 мм. Количество бляшек зависит от возраста, и по оценкам [23, 24], общее число бляшек, содержащих более пяти фолликулов, составляет около 200 у детей и подростков и около 100 у людей в возрасте 70–95 лет. Количество бляшек с числом фолликулов более 25 примерно в 2 раза ниже этих значений. Пейеровы бляшки, с одной стороны, выходят на поверхность слизистой оболочки (хотя и остаются покрытыми специализированными эпителиальными клетками), с другой стороны, они иногда захватывают часть подслизистой оболочки. Помимо этого, Пейеровы бляшки содержат Т- и В-лимфоциты, расположенные неравномерно внутри фолликулов [25, 26]. Фолликулы в составе Пейеровых бляшек содержат в центре группу В-лимфоцитов (обведены черной пунктирной линией на рис. 2, б), окруженную различными субпопуляциями Т-лимфоцитов. Строение одиночных (солитарных) фол-

ликул принципиально не отличается от таковых в составе Пейеровых бляшек.

Толщина слизистой оболочки, где в основном сосредоточены лимфоциты, определяется высотой ворсинок и/или глубиной крипт. Ворсинки и крипты в разных отделах кишечника различаются по размеру. В верхнем отделе тонкого кишечника, т.е. в *двенадцатиперстной кишке*, слизистая содержит невысокие и расширяющиеся кверху ворсинки. В следующем отделе тонкого кишечника, *тощей кишке*, ворсинки высокие и тонкие. В *подвздошной кишке* ворсинки также тонкие, но не высокие, а слизистая *толстого кишечника* вообще не содержит ворсинок, имеются только глубокие крипты. Такие отличия связаны с особенностями переваривания пищи и всасывания питательных веществ в каждом отделе.

ЛТК тесно связаны с циркуляторной системой (рис. 1). Лимфоциты, которые диффузно распределены в *lamina propria* или организованы в одиночные фолликулы и Пейеровы бляшки, могут

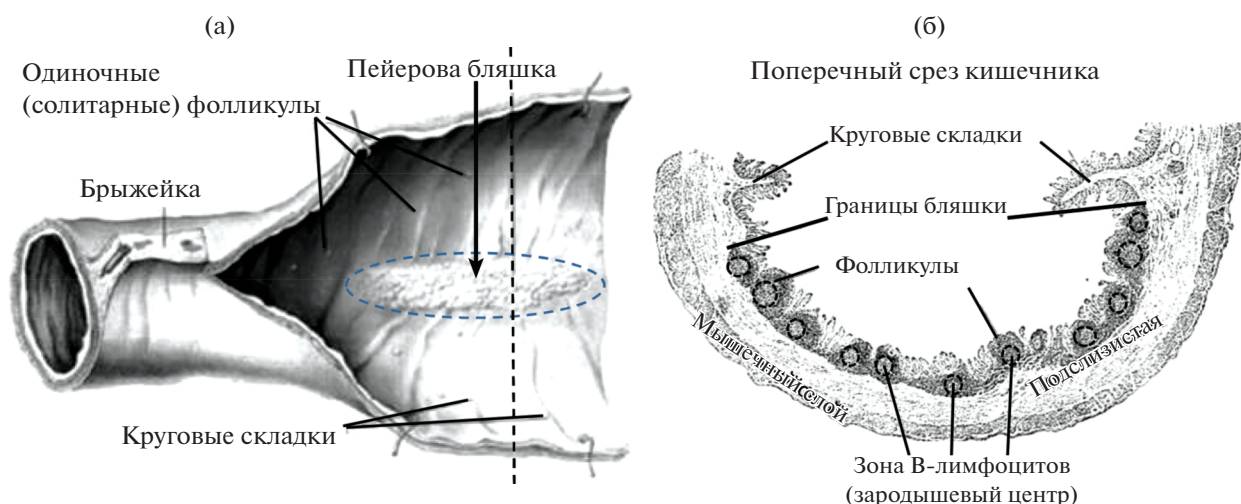


Рис. 2. Пейерова бляшка, (а) вид с внутренней стороны стенки подвздошной кишки; вертикальная пунктирная линия показывает положение поперечного среза; (б) рисунок поперечного среза стенки тонкого кишечника через Пейерову бляшку (на основе [21] с модификациями), пунктирной круговой линией выделены зоны В-лимфоцитов (зародышевые центры), вокруг которых располагаются Т-лимфоциты. На панели (б) видны более темный мышечный слой и подслизистая. Круговые складки кишечника (*plica circulares*), увеличивающие площадь всасывающей поверхности, показаны на панелях (а) и (б).

Fig. 2. Peyer's patch, (a) view from the inside of the ileal wall; the vertical dashed line shows the position of the cross-section; (b) a cross-section of the small intestine wall through the Peyer's patch (based on [21] with modifications); the zones of B-lymphocytes (germinal centers) are marked by a circular dotted line, they are surrounded by T-lymphocytes. Panel (b) shows a darker muscle layer and submucosa. Circular intestinal folds (*plica circulares*) that increase the surface area for absorption are shown in the panels (a) and (b).

попасть в кровяное русло и включиться в циркуляцию, перемещаясь последовательно через лимфатические капилляры и сосуды, лимфоузлы и кровеносные сосуды [27].

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ В ЛТК

Для количественной оценки циркулирующих лимфоцитов в тканях кишечника необходимо определить следующие параметры: 1) соотношение Т : В лимфоцитов в различных отделах кишечника; 2) долю циркулирующих Т-клеток среди Т-лимфоцитов в различных отделах кишечника

Соотношение Т- и В-лимфоцитов в различных отделах кишечника

Одиночные (солитарные) фолликулы и lamina propria. По данным [28] у взрослых отношение Т : В в солитарных фолликулах и соседних участках *lamina propria* различается примерно в 2 раза и составляет 1.3 и 2.4 соответственно. При этом в разных отделах кишечника состав фолликулов значительно не отличался друг от друга, отношение Т : В варьировало от 1.0 до 1.6 [28]. Однако по данным [29] в фолликулах тонкого кишечника отношение Т : В выше, чем в толстом кишечнике; в первом случае отношение варьирует от 2.5 до 6.0, а во втором составляет около единицы. Если рассматривать слизистую оболочку в целом, исключая Пей-

еровы бляшки, то по данным [30] в слизистой тонкого и толстого кишечника у взрослых отношение Т : В оценивается как близкое к 5. В работе [31] также представлены близкие значения Т : В для слизистой тонкого и толстого кишечника; для лиц в возрасте 15–25 лет эти значения составляют 3.5–5.0. В работе [31] также отмечается, что у детей в возрасте 0–2 года отношение Т : В значительно ниже (около единицы). Mc Donald [32], при исследовании слизистой толстого кишечника у детей в возрасте 2–14 лет, оценил отношение Т : В как близкое к 4.

Пейеровы бляшки. Несмотря на сходство гистологического строения одиночных фолликулов и фолликулов в составе Пейеровых бляшек, некоторые исследователи отмечают различия между ними по составу лимфоцитов. По данным [29], в Пейеровых бляшках, в отличие от одиночных фолликулов, преобладают В-лимфоциты, и отношение Т : В находится в пределах 0.3–0.5 у взрослых. Напротив, данные работы [32] по оценке соотношения Т : В в Пейеровых бляшках у детей в возрасте 2–14 лет говорят о преобладании Т-лимфоцитов, отношение Т : В находится в пределах 2–4.

Как видно, данные о соотношении Т- и В-лимфоцитов весьма противоречивы. Вероятно, это связано с неравномерным распределением лимфоцитов в *lamina propria* и внутри фолликулов, где в центре располагается ядро с В-лимфо-

цитами (рис. 2, б). В качестве усредненного значения для слизистой тонкого и толстого кишечника (*lamina propria* и лимфоидные фолликулы) отношение T : B принимается равным 1.5, т.е. доля T -лимфоцитов составляет 60%.

Субпопуляции T -лимфоцитов и доля циркулирующих T -клеток в разных отделах кишечника

Популяция T -лимфоцитов в лимфоидных тканях слизистой оболочки кишечника весьма неоднородна [10, 33]. Следует отметить, что изучение состава субпопуляций T -лимфоцитов в различных лимфоидных тканях сопряжено со значительными трудностями. Это требует отбора биопсийного материала от здоровых доноров разного возраста и маркеров, позволяющих с помощью проточной цитометрии количественно оценивать различные субпопуляции T -клеток. Значительные успехи в этом направлении были сделаны в последние годы [13, 29–31, 34–37], когда были объединены усилия трансплантологов и иммунологов, и оказалось возможным исследовать пробы лимфоидных тканей доноров, умерших вследствие смерти мозга и не имевших иммунных и инфекционных заболеваний. В результате проведенных исследований оказалось, что соотношение различных субпопуляций T -лимфоцитов в периферической крови, лимфатических узлах, селезенке, слизистой оболочке легких и кишечника различно и зависит от возраста [12, 13, 29–31, 36, 38, 39].

На рис. 3 представлен процентный вклад различных субпопуляций T лимфоцитов в разных отделах кишечника (слизистая без Пейеровых бляшек) для двух возрастных групп на основе данных [13, 30, 31]. Для сравнения на рис. 3 также представлен состав T -клеточных субпопуляций в периферической крови.

Как видно, даже у детей 0–2 лет вклад наивных клеток в общее количество T -лимфоцитов в кишечнике значительно ниже, чем в периферической крови (рис. 3, а, б). Что касается клеток памяти, то их количество увеличивается в ряду периферическая кровь, толстый кишечник, подвздошная и тощая кишка.

Эта же закономерность остается и в следующей возрастной группе 15–25 лет, только различия между периферической кровью и тканями кишечника становятся более резкими (рис. 3, в, г). Обращает на себя внимание, что возрастные изменения аналогичны как для $CD4^+$ (рис. 3, а, в), так и $CD8^+$ T -лимфоцитов (рис. 3, б, г). Следует только отметить, что $CD8^+$ клетки памяти содержат больший процент T_{EMRA} (эффекторные клетки памяти, повторно приобретшие маркер наивных клеток $CD45RA$, так называемые терминальные эффекторные клетки “terminal effector”), чем

$CD4^+$. Для интерпретации цитогенетических данных по хромосомным aberrациям в T -лимфоцитах необходимо оценить, какая доля T -лимфоцитов из указанных на рис. 3 подгрупп относится к циркулирующим. Способность лимфоцитов выходить в кровяное русло и циркулировать в организме оценивается по активационному маркеру $CD69$ и/или интегрину $CD103$, вовлеченному в задержку лимфоцитов в тканях [40]. Ниже перечислены основные группы T -лимфоцитов, которые циркулируют в периферической крови или, напротив, являются резидентными (не циркулирующими) клетками в тканях кишечника [12, 13, 40].

Циркулирующие T -лимфоциты, обнаруживаемые как в периферической крови, так и в тканях кишечника:

- $CD4^+$ и $CD8^+$ T -клетки, которые имеют $\alpha\beta$ -цепи TCR (обычные или “conventional” T -лимфоциты) и подразделяются соответственно на пул наивных клеток и клеток памяти. Практически все наивные клетки являются циркулирующими. Среди клеток памяти к циркулирующим субпопуляциям относятся эффекторные клетки памяти (T_{EM} , без маркера $CD69$ и/или $CD103$), центральные клетки памяти (T_{CM}) и клетки памяти со свойствами стволовых (не показаны на рис. 3), а также эффекторные клетки памяти T_{EMRA} , более выраженные среди $CD8^+$ (рис. 3). Все вместе эти обычные T -лимфоциты составляют абсолютное большинство циркулирующих лимфоцитов в периферической крови (85–95%);

- сравнительно небольшая популяция регуляторных $CD4^+$ $\alpha\beta$ клеток (T_{regs}) – имеют маркер $CD25^+$ и экспрессируют транскрипционный фактор Foxp3 (могут быть и наивными, и клетками памяти). Значительное количество этих клеток обнаруживается и в периферической крови, и в кишечнике в первые годы жизни – 10–30% от всех $CD4^+$ клеток; у взрослых эта величина не превышает 5% [13, 31, 42].

Не циркулирующие T -лимфоциты тканей кишечника (не обнаруживаются в периферической крови) [10, 13, 39, 40, 43, 44]:

- резидентные T -клетки памяти (T_{RM}), относящиеся к эффекторным $CD4^+$ и $CD8^+$ клеткам, имеющим $\alpha\beta$ -цепи TCR (обычные T -лимфоциты) с тканевым маркером $CD69$ и/или $CD103$. Они происходят из наивных $CD4^+$ и $CD8^+$, которые циркулировали в кровотоке, но встретили антиген в кишечных лимфоузлах, после чего стали эффекторными клетками памяти и получили тканевый маркер $CCR9$, дающий возможность задерживаться в тканях кишечника, а также мар-

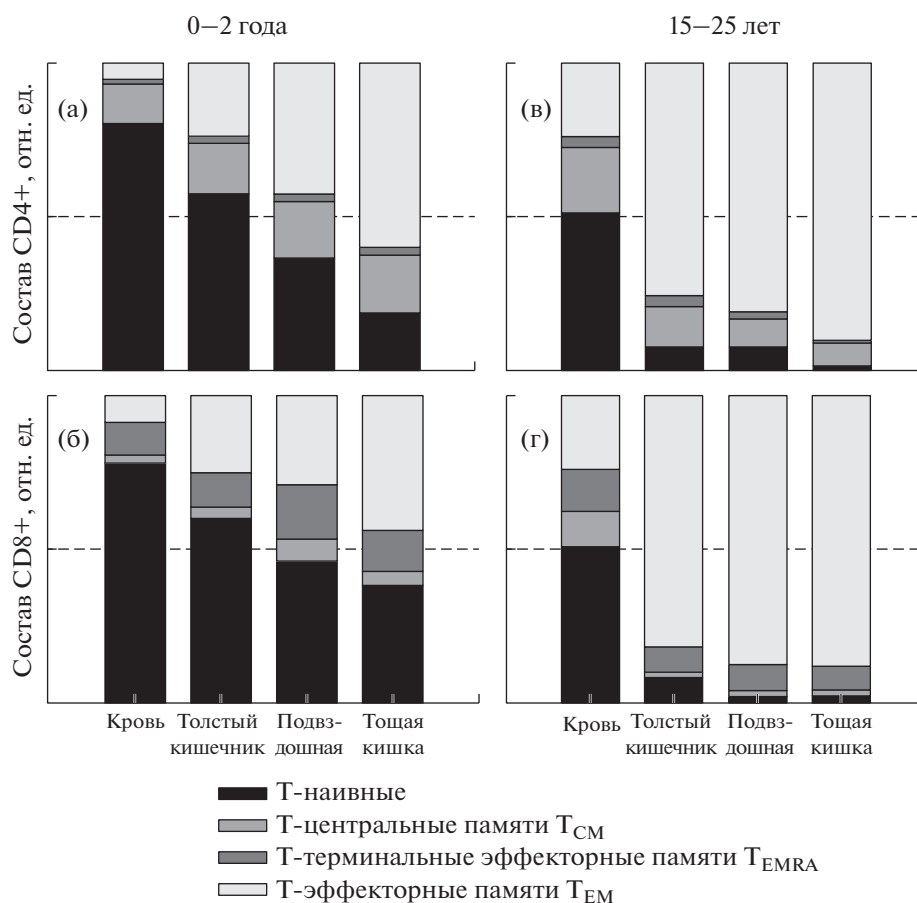


Рис. 3. Состав Т-лимфоцитов в слизистой толстого кишечника (Толст.), подвздошной кишки (Подвз.) и тощей кишки (Тош.), данные по крови представлены для сравнения. (а) CD4+, (б) CD8+ в возрастной группе 0–2 года; (в) CD4+, (г) CD8+ в возрастной группе 15–25 лет. На основе данных [13, 30, 31, 39, 41].

Fig. 3. Composition of T-lymphocytes (relative units) in the mucosa of the colon, ileum and jejunum, blood data are shown for comparison. (a) CD4+, (b) CD8+ in the age group of 0–2 years; (c) CD4+, (d) CD8+ in the age group of 15–25 years. Based on data from [13, 30, 31, 39, 41].

керы CD69 и/или CD103. T_{tm} составляют основную массу Т-клеток *lamina propria*;

- группа лимфоцитов, которые в основном являются интраэпителиальными. Эти клетки, как правило, направляются в кишечный эпителий сразу после созревания в тимусе, где приобретают необходимый тканевый маркер. Эта группа включает: 1) обычные наивные CD4+ и CD8+ $\alpha\beta$ -клетки, получившие в тимусе маркер CCR9, которые направляются в кишечник, где встречаются антиген и быстро становятся резидентными клетками памяти; 2) необычные (“unconventional”) Т-лимфоциты с маркерами CD8 $\alpha\alpha$ + CD8 $\alpha\alpha$ -; CD4-CD8- $\gamma\delta$ и др., [10]. Все эти лимфоциты связаны с регуляцией иммунного ответа на пищевые антигены, а также регуляцией взаимодействия с резидентной (собственной) микрофлорой.

Для количественной оценки доли циркулирующих Т-клеток в ЛТК в разные возрастные периоды мы использовали данные [29, 31], включая

сопроводительные материалы к статьям, где в табличной форме указывался процент T_{EM} , экспрессирующего маркер CD69 и/или CD103. Рис. 4 иллюстрирует оцененную нами долю циркулирующих Т-лимфоцитов.

Как следует из рис. 4, доля циркулирующих Т-лимфоцитов в кишечнике снижается с возрастом, как среди CD4+, так и среди CD8+. Максимальная доля циркулирующих Т-клеток определяется в группе детей (0–2 года), значения для группы подростков и взрослых различаются только для CD8+ клеток толстого кишечника. Для толстого кишечника, в целом, характерно более высокое содержание циркулирующих Т-клеток. Отметим, что и в периферической крови, и в тканях кишечника количество CD4+ выше, чем CD8+ [30, 31, 35, 36, 45]. Это превышение наблюдается как у новорожденных, так и лиц более старшего возраста. Оцененные отношения CD4 : CD8 колеблются в большом диапазоне, с верхней границей

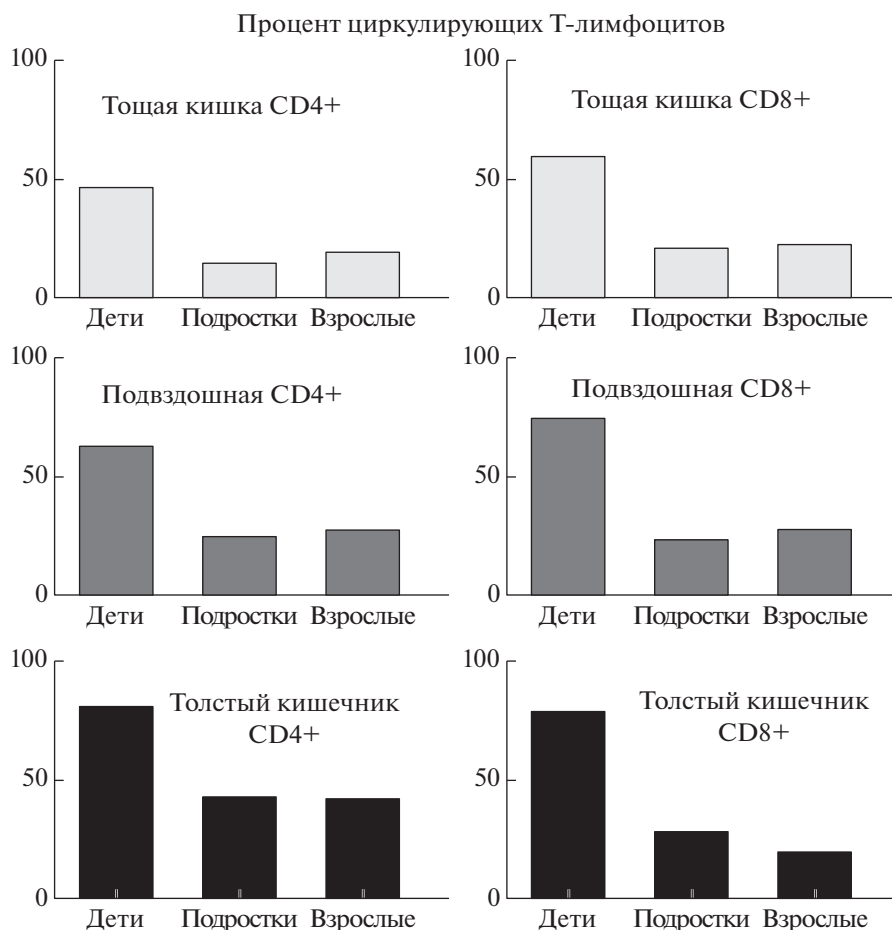


Рис. 4. Вклад циркулирующих лимфоцитов в общее количество CD4+ (левая панель), а также CD8+ (правая панель) в разных отделах кишечника в зависимости от возраста. Дети – группа в возрасте 0–2 года, подростки – условно выделенная группа, включает всех лиц в возрасте от 0 до 25 лет, взрослые – лица в возрасте старше 25 лет. На основе данных [29, 31].

Fig. 4. Contribution of circulating lymphocytes to the total number of CD4+ (left panel), as well as CD8+ (right panel) in different parts of the intestine, depending on age. Children – a group aged 0–2 years, adolescents – a conditionally selected group, includes all persons aged from 0 to 25 years, adults – persons over the age of 25 years. Based on the data from [29, 31].

около пяти [29], но в среднем отношение CD4 : CD8 оценивается как близкое к двум [30, 46].

Согласно данным [29], Пейеровы бляшки по составу Т-лимфоцитов занимают промежуточное положение между значениями для толстого кишечника и брыжеечными лимфоузлами, для которых характерен более высокий процент наивных клеток и более низкий вклад резидентных клеток памяти (эти лимфоузлы не облучаются за счет β -излучающих радионуклидов в кишечнике и не рассматриваются в обзоре). В целом Пейеровы бляшки взрослых содержат более высокий процент циркулирующих Т-лимфоцитов (около 40%), чем слизистая тонкого и толстого кишечника, которая включает *lamina propria* и одиночные лимфоузлы.

Усредняя описанные данные (с учетом отношения CD4 : CD8 = 2), мы получили, что *процент*

циркулирующих Т-лимфоцитов для взрослых составляет в тонком кишечнике 29%, в толстом кишечнике 36%.

ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ОБЛУЧЕНИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ЛТК

Ранее нами была разработана модель, позволяющая оценивать дозу на Т-лимфоциты с учетом облучения Т-предшественников в ККМ, а также самих Т-лимфоцитов во внескелетных тканях и ККМ при рециркуляции [7]. Моделировалась динамика Т-лимфоцитов и их предшественников в зависимости от возраста, и для оценки доз, полученных Т-лимфоцитами в разных компартментах (ККМ и внескелетных тканях), использовали ранее созданные биокинетические и дозиметрические модели. В самом общем виде можно сказать, что была создана модель форми-

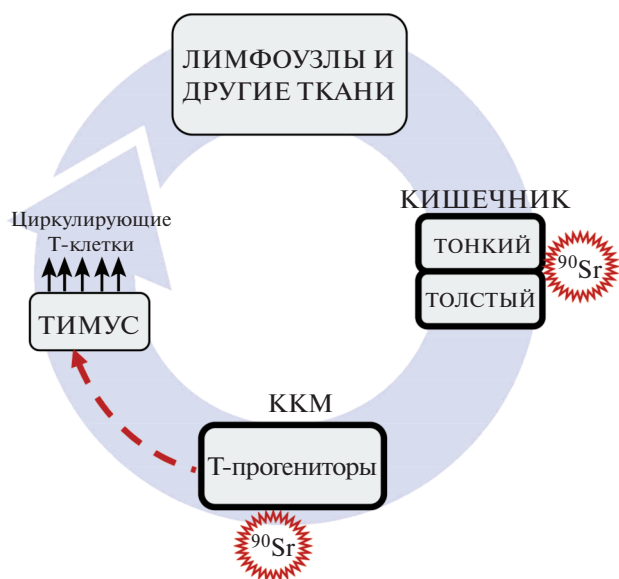


Рис. 5. Органы и ткани, в которых происходит локальное облучение Т-клеток и их предшественников: ККМ — красный костный мозг, где находятся Т-прогениторы, которые через кровь попадают в тимус; в нем в результате пролиферации, дифференцировки и селекции формируются Т-лимфоциты, выходящие в кровеносное русло; при циркуляции Т-лимфоциты проходят через кишечник, а также лимфоузлы и другие ткани, где задерживаются на некоторое время. Особый интерес представляют органы, которые включают ткань источник, т.е. содержащие радионуклиды: кость с красным костным мозгом и/или кишечник с загрязненным химусом.

Fig. 5. Organs and tissues where local irradiation of T-cells and their progenitors occurs: RBM — red bone marrow is the location of T-progenitors which enter the thymus through the blood; there, as a result of proliferation, differentiation and selection T-lymphocytes exiting into the bloodstream are formed; while circulating T-lymphocytes pass through the intestines, lymph nodes and other tissues, where they stay for a while. Organs that have source tissue, i.e. contain radionuclides, are of particular interest: bones with bone marrow and/or intestines with contaminated chyme.

рования и перемещения по организму ткани-мишени (Т-лимфоциты и их предшественники) с использованием готовых биокинетических и дозиметрических моделей для тканей-источников. Однако, как уже говорилось, в разработанную нами модель не было включено облучение циркулирующих Т-лимфоцитов в ЛТК.

Рисунок 5 иллюстрирует схему облучения Т-лимфоцитов на примере ^{90}Sr и показывает пути перемещения Т-предшественников и циркулирующих Т-лимфоцитов. На рис. 5 также выделены органы, в которых происходит основное облучение Т-клеток при их циркуляции: ККМ (который подвержен облучению ^{90}Sr из кости), а также слизистая кишечника, подверженная облучению ^{90}Sr

из пищевого комка. Последний компартмент не был ранее включен в модель.

Динамика циркулирующих Т-лимфоцитов с учетом ЛТК

Для описания динамики циркулирующих Т-лимфоцитов необходимо знать, какое время (в относительных единицах) Т-клетки проводят в выделенных компартаментах: ККМ, тонком и толстом кишечнике. Эти оценки опираются на данные по распределению циркулирующих Т-клеток в органах и тканях человека. Принимая неизменной среднюю скорость циркуляции, доля времени, проведенная в конкретном органе, будет равна доле циркулирующих Т-лимфоцитов, обнаруживаемых в этом органе. Время, проводимое Т-клетками в ККМ, было ранее оценено по данным [47–49] как 12% от общего времени при циркуляции. Данные, описанные в предыдущем разделе, позволяют оценить время пребывания циркулирующих Т-лимфоцитов в толстом и тонком кишечнике, если известно абсолютное количество лимфоцитов в этих органах.

Оценка общего количества лимфоцитов и их распределения по различным отделам тела была сделана в [50]. Согласно этим оценкам, общее число лимфоцитов в теле взрослого человека составляет примерно 460×10^9 клеток, на долю Пейеровых бляшек и одиночных (солитарных) фолликулов в кишечнике приходится 20×10^9 или 4.3%; на долю *lamina propria* всего кишечника — 30×10^9 или 6.5%; в крови одновременно находится 10×10^9 лимфоцитов (2.2%), а наибольшее количество лимфоцитов присутствует в лимфоузлах (190×10^9 или 41.3%). Эти значения и в настоящее время используются для оценки клеточности субпопуляций лимфоцитов в органах и тканях [51–53]³. Обобщая данные литературы, [51] указывает, что доля Т-лимфоцитов в *lamina propria* и лимфоидных фолликулах, включая Пейеровы бляшки, составляет 70 и 53% соответственно, т.е. количество Т-лимфоцитов оценивается как 21×10^9 и 10.6×10^9 . [52] приводит более низкие значения количества Т-лимфоцитов для Пейеровых бляшек (8×10^9).

Важно отметить, что выделенные авторами компартменты (*lamina propria* и лимфоидные фолликулы + Пейеровы бляшки) не совпадают с компартаментами, которые выделяются в дозиметрических и биокинетических моделях, где используют разделение на тонкий и толстый кишечник [9]. Если отталкиваться от суммарной оценки числа лимфоцитов во всех тканях кишеч-

³ Более поздние оценки, основанные на биопсиях прямой и сигмовидной кишки человека [54], в целом подтверждают результаты, описанные ранее [50].

Таблица 1. Параметры для расчета объема слизистой оболочки различных отделов кишечника для взрослых мужчин согласно МКРЗ [9]. Толщина слизистого слоя принималась равной 0.4 мм [55]
Table 1. Parameters for calculation of the mucosa volume for different parts of the intestine for adult men according to ICRP-100. The thickness of the mucous layer was taken to be equal to 0.4 mm [55]

Отдел кишечника	Длина мм	Внутренний диаметр, мм	Объем слизистой, мм ³
Тонкий кишечник	2800	20	71 779
Толстый кишечник*			
Правая часть	340	60	25 806
Левая часть	380	50	24 067
Сигмовидная и прямая кишка	380	30	14 517
Всего			64 390

* Согласно модели пищеварительного тракта МКРЗ [9] толстый кишечник разделяют на правую часть (включает слепую кишку, восходящую ободочную кишку и проксимальную часть поперечной ободочной кишки); левую часть (включает дистальную часть поперечной ободочной кишки и нисходящую ободочную кишку); ректосигмоидную часть (сигмовидная и прямая кишка). Разделение связано с различиями в параметрах, которые описывают эти отделы при моделировании, они касаются внутреннего диаметра кишечника и скорости продвижения химуса.

* According to the ICRP-100 [9], the large intestine is divided into the right part (includes the cecum, the ascending colon and the proximal part of the transverse colon); the left part (includes the distal part of the transverse colon and the descending colon); rectosigmoid part (sigmoid and rectum). The separation is caused by differences in the parameters that describe these regions in the modeling, they relate to the inner diameter of the colon and the rate of chymus movement.

ника (50×10^9 [51]), то доля, которая приходится на тонкий и толстый кишечник, может быть оценена следующим образом. Согласно [29], у взрослых количество солитарных фолликулов на единицу площади (ед./мм²) и отношение площади, занятой фолликулами, и площади *lamina propria* значимо не отличались между изученными участками тонкого и толстого кишечника. Таким образом, в качестве грубой оценки можно принять, что количество лимфоцитов в слизистой тонкого и толстого кишечника пропорционально объему (массе) слизистой, которую можно рассчитать как объем полого цилиндра. Параметры цилиндра для количественной оценки мы взяли из модели желудочно-кишечного тракта МКРЗ [9] для взрослых (табл. 1). Как следует из табл. 1, отношение масс слизистой тонкого и толстого кишечника взрослого мужчины составляет 1.1. Таким образом, опубликованные данные позволяют грубо оценить количество циркулирующих лимфоцитов для взрослых отдельно для тонкого и толстого кишечника.

В табл. 2 обобщены количественные оценки различных субпопуляций лимфоцитов в органах и тканях человека. Как следует из табл. 2, с учетом значительного количества нециркулирующих резидентных клеток памяти в лимфоидных органах, в крови одномоментно находится около 5% циркулирующих Т-клеток. Что касается тканей кишечника, суммарный вклад его лимфоидных тканей в пул циркулирующих Т-клеток составляет около 5%; на тонкий и толстый кишечник приходится 2.1 и 2.7% соответственно. Эти параметры могут быть использованы в модели облучения Т-лимфоцитов.

Влияние возраста и пола на динамику циркулирующих Т-лимфоцитов

Иммунная система и органы, ее составляющие, значительно меняются с возрастом. В период роста и развития наблюдаются резкое снижение продукции тимуса на фоне снижения его массы [56, 57], замещение активного костного мозга жировой тканью [58–60], снижение плотности лимфатических фолликулов в кишечнике в расчете на единицу площади слизистой [29], уменьшение числа Пейеровых бляшек [23, 24]. Помимо этого, меняется соотношение различных субпопуляций Т-лимфоцитов, что особенно заметно при сравнении детей первых лет жизни и взрослых (рис. 3).

Для целей моделирования принципиальное значение имеют относительные величины, представленные в табл. 2, а именно изменение вклада циркулирующих Т-клеток ЛТК в общий пул циркулирующих Т-лимфоцитов. Очевидно, что если возрастные изменения во всех лимфоидных тканях идут с одинаковой скоростью, то относительное время пребывания Т-лимфоцитов в ЛТК не изменится, но если эти процессы идут с разной скоростью в разных органах, то такой вклад должен быть переоценен. Мы не обнаружили данных, которые позволили бы сделать количественные оценки пребывания циркулирующих Т-клеток в ЛТК для детей. В этой связи, пока не будут получены новые данные, мы предполагаем, что относительное время пребывания циркулирующих Т-клеток в ЛТК не зависит от возраста.

Хорошо известно, что пол влияет на ряд иммунологических показателей; у женщин, в частности, выше частота аутоиммунных заболеваний,

Таблица 2. Общее количество лимфоцитов и субпопуляции Т-клеток в органах и тканях взрослого человека на основе данных [12, 13, 31, 50, 51]**Table 2.** The total number of lymphocytes and the cellularity of T-cell subpopulations in organs and tissues of an adult (based on data [12, 13, 31, 50, 51])

Орган или ткань	Число лимфоцитов ^а × 10 ⁹	Доля Т-клеток среди лимфоцитов ^б	Доля циркулирующих Т-клеток ^в	Число циркулирующих Т-клеток ^г × 10 ⁹	% циркул. Т-клеток ^д
Кровь	10	0.90	1.0	9.0	4.8
Лимфоузлы	190	0.76	0.80	116	61
Селезенка	70	0.44	0.55	17	9.0
Кишечник	50			9.0	4.8
Тонкий кишечник ^е	26.2	0.6	0.29	4.6	2.4
Толстый кишечник ^е	23.8	0.6	0.36	5.1	2.7
Тимус	50	0.97	0.10	4.9	2.6
Костный мозг	50	0.50	0.80	20	11
Слизистая легких	30	0.50	0.43	6.5	3.4
Другие ткани	10	0.99	0.80	7.9	4.2
Всего	460			190	100

Примечание. а – по данным [50]; б – базируется на оценках [51] отношения Т:В лимфоцитов (кроме кишечника); в – по данным [12, 13, 31], оценки для кишечника описаны выше; г – рассчитано как произведение значений из первых трех столбцов; д – процент от общего числа циркулирующих Т-клеток; е – включает *lamina propria* и фолликулы, в том числе Пейеровы бляшки.

Note. A – according to [50]; в – based on [51] estimation of T:B lymphocyte ratio (except intestines); c – according [12, 13, 31], bowel scores are described above; d – calculated as the product of the values from the first three columns; e – percentage of total circulating T-cells; f – includes *lamina propria* and follicles, including Peyer's patches.

что связывают с более низким процентом T_{regs} у женщин по сравнению с мужчинами [61]. У женщин также выше количество CD4+ клеток и соотношение CD4/CD8, чем у мужчин того же возраста [62]. В работе [29] приводятся результаты оценки влияния возраста и пола на распределение субпопуляций иммунных клеток в лимфоидной ткани кишечника с использованием многофакторного анализа. Авторы отмечают, что после поправки на возраст большинство иммунологических параметров не зависели от пола, за исключением того, что частота T_{regs} и CD4 + T_{RM} в подвздошной кишке и некоторых брыжеечных лимфоузлах была выше у мужчин по сравнению с женщинами. Таким образом, в настоящее время недостаточно данных, чтобы можно было учесть влияние пола на распределение различных субпопуляций Т-лимфоцитов в различных отделах кишечника.

Биокинетическое и дозиметрическое моделирование источника облучения ЛТК

Дозовые коэффициенты, связывающие единичное поступление радионуклидов с дозой, накопленной в кишечной стенке, представлены в публикации МКРЗ [9]. Эти коэффициенты опираются на биокинетическую модель желудочно-кишечного тракта, разработанную для референт-

ных возрастов (0, 1, 5, 10, 15 и 25 лет). Модель описывает перемещение в организме источника облучения – загрязненного пищевого комка. Эти дозовые коэффициенты могут быть использованы для оценок доз дополнительного облучения Т-лимфоцитов при их рециркуляции в ЛТК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе представлены результаты анализа геометрии облучения лимфоидных тканей кишечника, показано, что клетки-мишени располагаются в *lamina propria* слизистой оболочки в виде лимфатических фолликулов или диффузно распределенных Т-лимфоцитов, так что доза их облучения соответствует дозе облучения кишечной стенки.

Несмотря на большое общее количество лимфоцитов в ЛТК (12% от общего содержания в теле человека), значительная их доля представлена резидентными клетками памяти, которые не покидают ЛТК, поддерживая иммунный барьер кишечника. К нециркулирующим относятся основная масса интраэпителиальных лимфоцитов, значительная доля Т-лимфоцитов в *lamina propria* и лимфатических фолликулах. Доля циркулирующих лимфоцитов максимальна у детей первых лет жизни (до 80%), затем она резко падает с возрастом (до 30–35%), поскольку происходит быстрое

формирование устойчивых “иммунологических взаимоотношений” с резидентной микрофлорой кишечника, кроме того, снижается вероятность встречи новых пищевых антигенов [12]. Таким образом, постоянное присутствие в слизистой кишечника Т-клеток разнообразных клонотипов обеспечивает эффективный иммунный ответ *in situ* [63, 64].

Полученные результаты позволяют также оценить долю времени, которое циркулирующие Т-лимфоциты проводят в разных отделах кишечника. Согласно нашим грубым оценкам, доля циркулирующих Т-лимфоцитов в отделах кишечника, важных для дозиметрического моделирования, не велика. Для тонкого кишечника эта величина составляет в среднем 2.4%, для толстого кишечника была получена близкая величина – 2.7%. Эти значения будут использованы при оценках доз на циркулирующие Т-лимфоциты при интерпретации цитогенетических данных по стабильным хромосомным aberrациям, полученным методом FISH.

Проведенный нами анализ также выявил еще один важный радиобиологический аспект, связанный с облучением резидентных Т-клеток в кишечнике. Доза на резидентные Т-клетки, осуществляющие противоопухолевый надзор и составляющие микроокружение стволовых клеток, практически совпадает с дозой облучения самих стволовых эпителиальных клеток, трансформация которых приводит к возникновению рака. Связь резидентных цитотоксических и регуляторных Т-клеток с канцерогенезом сейчас активно изучается. В ряде исследований [65, 66] указывается, что резидентные Т-клетки памяти CD8⁺ усиливают противоопухолевый иммунитет, запуская распространение антигена через дендритные клетки, т.е. являются жизненно важным компонентом иммунного ответа хозяина на рак. В работе [67] авторы указывают на важную роль необычных (“unconventional”) Т-лимфоцитов в иммунном ответе хозяина на рак. Ряд авторов [68, 69] на модели меланомы кожи показали, что резидентные Т-клетки памяти регулируют опухоле-иммунное равновесие. Все эти недавно полученные данные позволяют по-новому взглянуть на результаты эпидемиологических исследований, в частности по Уральским когортам, где был обнаружен избыточный радиогенный риск развития солидных опухолей [70]. Этот избыточный риск может быть связан не только с облучением стволовых эпителиальных клеток, но также с облучением резидентных (тканевых) регуляторных клеток и CD8⁺ клеток, осуществляющих контроль за развитием опухоли. Однако эта гипотеза требует дальнейших исследований, как и учет того факта, что радиочувствительность лимфоидных клеток зависит от степени их дифференцировки и функционального состояния.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tawn E.J., Curwen G.B., Jonas P. et al. Chromosome Aberrations Determined by FISH in Radiation Workers from the Sellafield Nuclear Facility // *Radiat. Res.* 2015. V. 184. № 3. P. 296–303. <https://doi.org/10.1667/RR14125.1>
2. Sotnik N.V., Osovets S.V., Scherthan H. et al. mFISH analysis of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to mixed radiation // *Radiat. Environ. Biophys.* 2014. V. 53. № 2. P. 347–354. <https://doi.org/10.1007/s00411-014-0536-7>
3. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O. et al. FISH analysis of translocations induced by chronic exposure to Sr radioisotopes: second set of analysis of the Techa River Cohort // *Radiat. Prot. Dosim.* 2014. V. 159. № 1–4. P. 34–37. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncu131>
4. Дегтева М.О., Шишкина Е.А., Толстых Е.И. и др. Использование методов ЭПР и FISH для реконструкции доз у людей, облучившихся на реке Теча // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2017. Т. 57. № 1. С. 34–45. [Degteva M.O., Shishkina E.A., Tolstykh E.I. et al. Application of the EPR and FISH Methods to Dose Reconstruction for People Exposed in the Techa River Area // *Radiation biology. Radioecology.* 2017. V. 57. № 1. P. 34–45 (In Russian)]. <https://doi.org/10.7868/S0869803117010052>
5. Giussani A., Lopez M.A., Romm H. et al. Eurados review of retrospective dosimetry techniques for internal exposures to ionising radiation and their applications // *Radiat. Environ. Biophys.* 2020. V. 59. № 3. P. 357–387. <https://doi.org/10.1007/s00411-020-00845-y>
6. Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V. et al. Local bone-marrow exposure: how to interpret the data on stable chromosome aberrations in circulating lymphocytes? (some comments on the use of FISH method for dose reconstruction for Techa riverside Residents) // *Radiat. Environ. Biophys.* 2017. V. 56. № 4. P. 389–403. <https://doi.org/10.1007/s00411-017-0712-7>
7. Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V. et al. Interpretation of FISH results in the case of nonuniform internal radiation exposure of human body with the use of model approach // *Rus. J. Genet.* 2019. V. 55. № 10. P. 1227–1233.
8. Толстых Е.И., Возилова А.В., Дегтева М.О., Аклейев А.В. Концепция Т-клеточного рода как основа для анализа результатов цитогенетических исследований при локальном облучении костного мозга // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2020. Т. 60. № 1. С. 12–25. [Tolstykh E.I., Vozilova A.V., Degteva M.O., Akleyev A.V. Concept of T-Cell Genus as the Basis for the Analysis of Fish Results after Local Bone Marrow Exposure // *Radiation biology. Radioecology.* 2020. V. 60. № 1. P. 12–25. (In Russian)] <https://doi.org/10.31857/S0869803120010142>
9. ICRP. Human Alimentary Tract Model for Radiological protection, Publication 100. Elsevier, 2007.
10. Ma H., Tao W. and Zhu S. T lymphocytes in the intestinal mucosa: defense and tolerance // *Cell Mol. Immunol.* 2019. V. 16. № 3. P. 216–224. <https://doi.org/10.1038/s41423-019-0208-2>

11. *Agace W.* T-cell recruitment to the intestinal mucosa // *Trends Immunol.* 2008. V. 29. № 11. P. 514–522. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.08.003>
12. *Farber D.L., Yudanin N.A., Restifo N.P.* Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis // *Nat. Rev. Immunol.* 2014. V. 14. № 1. P. 24–35. <https://doi.org/10.1038/nri3567>
13. *Kumar B.V., Connors T.J., Farber D.L.* Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life // *Immunity.* 2018. V. 48. № 2. P. 202–213. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>
14. *Гартнер Л.П.* Цветной атлас гистологии / Л.П. Гартнер, Дж. Л. Хайатт: Пер. с англ. М.: ООО “Логосфера”, 2008. [Gartner L.P. Color Atlas and Text of Histology. M.: LLC “Logosfera”, 2008 (In Russian)]. ISBN 978-5-98657-012-9
15. *Sorenson R.L. and Brelje T.K.* Atlas of Human Histology A Guide to Microscopic Structure of Cells, Tissues and Organs / Robert L. Sorenson, T. Clark Brelje. 3rd Ed. Copyright © 2004, 2008, 2014. Доступно по <http://www.histologyguide.com/slideview/MH-118-small-intestine/14-slide-1.html?x=62827&y=17731&z=1.6&page=1> ссылка активна на 02.11.2020.
16. *Cesta M.F.* Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue // *Toxicol. Pathol.* 2006. V. 34. № 5. P. 599–608. <https://doi.org/10.1080/01926230600865531>
17. *Hoytema van Konijnenburg D.P., Reis B.S., Pedicord V.A.* et al. Intestinal Epithelial and Intraepithelial T Cell Crosstalk Mediates a Dynamic Response to Infection // *Cell.* 2017. V. 171. № 4. P. 783–794. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.046>
18. *Van Kaer L., Olivares-Villagómez D.* Development, Homeostasis, and Functions of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes // *J. Immunol.* 2018. V. 200. № 7. P. 2235–2244. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701704>
19. *Yamada T., Alpers D.H., Owyang C. et al.* Textbook of Gastro-enterology. 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1995. 2. P. 2497.
20. *Lock J.Y., Carlson T.L., Carrier R.L.* Mucus models to evaluate the diffusion of drugs and particles // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2018. V. 124. P. 34–49. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.11.001>
21. *Piersol G.* (red.) Human Anatomy: Including Structure and Development and Practical Considerations. V. 2. Philadelphia: Lippincott, 1907.
22. *Van Kruiningen H.J., West A.B., Freda B.J., Holmes K.A.* Distribution of Peyer’s patches in the distal ileum // *Inflamm. Bowel. Dis.* 2002. May. V. 8. № 3. P. 180–185. PMID: 11979138. <https://doi.org/10.1097/00054725-200205000-00004>
23. *Cornes J.S.* Number, size, and distribution of Peyer’s patches in the human small intestine: Part I. The development of Peyer’s patches // *Gut.* 1965. V. 6. № 3. P. 225–229. <https://doi.org/10.1136/gut.6.3.225>
24. *Cornes J.S.* Number, size, and distribution of Peyer’s patches in the human small intestine: Part II. The effect of age on Peyer’s patches // *Gut.* 1965. V. 6. № 3. P. 230–233. <https://doi.org/10.1136/gut.6.3.230>
25. *Jung C., Hugot J.P., Barreau F.* Peyer’s Patches: The Immune Sensors of the Intestine // *Int. J. Inflamm.* 2010. V. 19. № 2010. P. 823710. <https://doi.org/10.4061/2010/823710>
26. *Kobayashi N., Takahashi D., Takano S. et al.* The Roles of Peyer’s Patches and Microfold Cells in the Gut Immune System: Relevance to Autoimmune Diseases // *Front. Immunol.* 2019. V. 9. № 10. P. 2345. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02345>
27. *Hunter M.C., Teijeira A., Halin C.* T Cell Trafficking through Lymphatic Vessels // *Front. Immunol.* 2016. V. 7. P. 613. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00613>
28. *Junker Y., Bode H., Wahnschaffe U. et al.* Comparative analysis of mononuclear cells isolated from mucosal lymphoid follicles of the human ileum and colon // *Clin. Exp. Immunol.* 2009. V. 156. № 2. P. 232–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03883.x>
29. *Senda T., Dogr P., Granot T. et al.* Microanatomical dissection of human intestinal T-cell immunity reveals site-specific changes in gut-associated lymphoid tissues over life // *Mucosal. Immunol.* 2019. V. 12. № 2. P. 378–389. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0110-8>
30. *Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N. et al.* Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets // *Immunity.* 2013. V. 38. № 1. P. 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.09.020>
31. *Thome J.J., Bickham K.L., Ohmura Y. et al.* Early-life compartmentalization of human T cell differentiation and regulatory function in mucosal and lymphoid tissues // *Nat. Med.* 2016. V. 22. № 1. P. 72–77. <https://doi.org/10.1038/nm.4008>
32. *Mac Donald T.T., Spencer J., Viney J.L. et al.* Selective biopsy of human Peyer’s patches during ileal endoscopy // *Gastroenterology.* 1987. V. 93. № 6. P. 1356–1362. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(87\)90266-6](https://doi.org/10.1016/0016-5085(87)90266-6)
33. *Salmi M., Sirpa Jalkanen.* Lymphocyte homing to the gut: attraction, adhesion, and commitment // *Immunol. Rev.* 2005. V. 206. P. 100–113. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00285.x>
34. *Carpenter D.J., Granot T., Matsuoka N. et al.* Human immunology studies using organ donors: Impact of clinical variations on immune parameters in tissues and circulation // *Am. J. Transplant.* 2018. V. 18. № 1. P. 74–88. <https://doi.org/10.1111/ajt.14434>
35. *Thome J.C., Yudanin N., Ohmura Y. et al.* Spatial map of human T cell compartmentalization and maintenance over decades of life // *Cell.* 2014. V. 159. № 4. P. 814–828. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.026>
36. *Thome J.J., Grinshpun B., Kumar B.V. et al.* Longterm maintenance of human naive T cells through in situ homeostasis in lymphoid tissue sites // *Sci. Immunol.* 2016. V. 1. № 6. P. eaah6506. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aah6506>
37. *Konjar Š., Ferreira C., Blankenhaus B., Veldhoen M.* Intestinal Barrier Interactions with Specialized CD8 T

- Cells // *Front Immunol.* 2017. V. 8. P. 1281.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01281>
38. *Thome J.J., Farber D.L.* Emerging concepts in tissue-resident T cells: lessons from humans // *Trends Immunol.* 2015. V. 36. № 7. P. 428–435.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2015.05.003>
 39. *Kumar B.V., Ma W., Miron M. et al.* Human Tissue-Resident Memory T Cells Are Defined by Core Transcriptional and Functional Signatures in Lymphoid and Mucosal Sites // *Cell Rep.* 2017. V. 20. № 12. P. 2921–2934.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.078>
 40. *Jameson S.C., Masopust D.* Understanding Subset Diversity in T Cell Memory // *Immunity.* 2018. V. 8. № 2. P. 214–226.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.02.010>
 41. *Farber D.L., Yudanin N.A., Restifo N.P.* Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis // *Nat. Rev. Immunol.* 2014. V. 14. № 1. P. 24–35.
<https://doi.org/10.1038/nri3567>
 42. *Mold J.E., McCune J.M.* Immunological tolerance during fetal development: from mouse to man // *Adv. Immunol.* 2012. V. 115. P. 73–111.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394299-9.00003-5>
 43. *Agace W.W., McCoy K.D.* Regionalized Development and Maintenance of the Intestinal Adaptive Immune Landscape // *Immunity.* 2017. V. 46. № 4. P. 532–548.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.04.004>
 44. *Takamura S.* Niches for the Long-Term Maintenance of Tissue-Resident Memory T Cells // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. P. 1214.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01214>
 45. *Zijneh L.S., Katzenstein D.A., Nathoo K.J. et al.* T lymphocytes among HIV-infected and -uninfected infants: CD4/CD8 ratio as a potential tool in diagnosis of infection in infants under the age of 2 years // *J. Transl. Med.* 2005. V. 3. № 1. P. 6.
<https://doi.org/10.1186/1479-5876-3-6>
 46. *Dock J., Ramirez C.M., Hultin L. et al.* Distinct aging profiles of CD8+ T cells in blood versus gastrointestinal mucosal compartments // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 8. P. e0182498.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182498>
 47. *Di Rosa F., Pabst R.* The bone marrow: a nest for migratory memory T cells // *Trends Immunol.* 2005. V. 26. № 7. P. 360–366.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2005.04.011>
 48. *Di Rosa F.* T-lymphocyte interaction with stromal, bone and hematopoietic cells in the bone marrow // *Immunol. Cell Biol.* 2009. V. 87. № 1. P. 20–29.
<https://doi.org/10.1038/icb.2008.84>
 49. *Di Rosa F., Gebhardt T.* Bone Marrow T Cells and the Integrated Functions of Recirculating and Tissue-Resident Memory T Cells // *Front. Immunol.* 2016. V. 16. № 7. P. 51.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00051>
 50. *Trepel F.* Number and distribution of lymphocytes in man. A critical analysis // *Klin. Wochenschr.* 1974. V. 52. № 11. P. 511–515.
<https://doi.org/10.1007/BF01468720>
 51. *Westermann J. and Pabst R.* Distribution of lymphocyte subsets and natural killer cells in the human body // *Clin. Investig.* 1992. V. 70. № 7. P. 539–544.
<https://doi.org/10.1007/BF00184787>
 52. *Ganusov V. and De Boer R.G.* Do most lymphocytes in humans really reside in the gut? // *Trends Immunol.* 2007. V. 28. № 12. P. 514–518.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2007.08.009>
 53. *Blum K.S., Pabst R.* Lymphocyte numbers and subsets in the human blood. Do they mirror the situation in all organs? // *Immunol. Lett.* 2007. V. 108. № 1. P. 45–51.
<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.10.009>
 54. *Preza G.C., Yang O.O., Elliott J. et al.* T lymphocyte density and distribution in human colorectal mucosa, and inefficiency of current cell isolation protocols // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 4. P. e0122723.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122723>
 55. *Nylund K., Hausken T., Odegaard S. et al.* Gastrointestinal wall thickness measured with transabdominal ultrasonography and its relationship to demographic factors in healthy subjects // *Ultraschall. Med.* 2012. V. 33. № 7. P. E225–E232.
<https://doi.org/10.1055/s-0031-1299329>
 56. *Steinmann G.G., Klaus B., Muller-Hermelink H.K.* The involution of the ageing human thymic epithelium is independent of puberty. A morphometric study // *Scand. J. Immunol.* 1985. V. 22. № 5. P. 563–575.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1985.tb01916.x>
 57. *Flores K., Li J., Sempowski G.D. et al.* Analysis of the human thymic perivascular space during aging // *J. Clin. Invest.* 1999. V. 104. № 8. P. 1031–1039.
<https://doi.org/10.1172/JCI7558>
 58. *Taccone A., Oddone M., Occhi M. et al.* MRI “road-map” of normal age-related bone marrow. I. Cranial bone and spine // *Pediatr. Radiol.* 1995. V. 25. № 8. P. 588–595.
<https://doi.org/10.1007/BF02011825>
 59. *Taccone A., Oddone M., Dell’Acqua A.D. et al.* MRI “road-map” of normal age-related bone marrow. II. Thorax, pelvis and extremities // *Pediatr. Radiol.* 1995. V. 25. № 8. P. 596–606.
<https://doi.org/10.1007/BF02011826>
 60. *Zawin J.K., Jaramillo D.* Conversion of bone marrow in the humerus, sternum, and clavicle: changes with age on MR images // *Radiology.* 1993. V. 188. № 1. P. 159–164.
<https://doi.org/10.1148/radiology.188.1.8511291>
 61. *Afshan G., Afzal N., Qureshi S.* CD4+CD25(hi) regulatory T cells in healthy males and females mediate gender difference in the prevalence of autoimmune diseases // *Clin. Lab.* 2012. V. 58. № 5–6. P. 567–571. PMID: .22783590
 62. *Klein S., Flanagan K.* Sex differences in immune responses // *Nat. Rev. Immunol.* 2016. V. 16. P. 626–638.
<https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>
 63. *Hegazy A.N., West N.R., Stubbington M.J. et al.* Circulating and Tissue-Resident CD4+ T Cells With Reactivity to Intestinal Microbiota Are Abundant in Healthy Individuals and Function Is Altered During Inflammation // *Gastroenterology.* 2017. V. 153. № 5. P. 1320–

- 1337.e16.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.07.047>
64. Wang L., Zhu L., Qin S. Gut Microbiota Modulation on Intestinal Mucosal Adaptive Immunity // *J. Immunol. Res.* 2019. V. 2019. P. 4735040.
<https://doi.org/10.1155/2019/4735040>
65. Molodtsov A., Turk M.J. Tissue Resident CD8 Memory T Cell Responses in Cancer and Autoimmunity // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. P. 2810.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02810>
66. Menares E., Gálvez-Cancino F., Cáceres-Morgado P. et al. Tissue-resident memory CD8+ T cells amplify anti-tumor immunity by triggering antigen spreading through dendritic cells // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 4401.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12319-x>
67. Berzins S.P., Wallace M.E., Kannourakis G. et al. A Role for MAIT Cells in Colorectal Cancer // *Front. Immunol.* 2020. № 11. P. 949.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00949>
68. Park S.L., Buzzai A., Rautela J. et al. Tissue-resident memory CD8+ T cells promote melanoma-immune equilibrium in skin // *Nature.* 2019. V. 565. № 7739. P. 366–371.
<https://doi.org/10.1038/s41586-018-0812-9>
69. Park S.L., Mackay L.K., Waithman J. et al. Tissue-resident memory T cells orchestrate tumour-immune equilibrium // *Cell Stress.* 2019. V. 3. № 5. P. 162–164.
<https://doi.org/10.15698/cst2019.05.187>
70. Крестинина Л.Ю., Силкин С.С., Микрюкова Л.Д. и др. Риск заболеваемости солидными злокачественными новообразованиями в Уральской когорте аварийно-облученного населения: 1956–2017 // *Радиационная гигиена.* 2020. Т. 13. № 3. С. 6–17. [*Krestinina L. Yu., Silkin S.S., Mikryukova L.D. et al. Solid cancer incidence risk in in the Ural cohort of the accidentally exposed population: 1956–2017 // Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene.* 2020. V. 13. № 3. P. 6–17. (In Russian)]
<https://doi.org/10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17>

Approaches to the Cytogenetic Assessment of the Dose due to Radiation Exposure of the Gut Associated Lymphoid Tissue

E. I. Tolstykh^{a, #}, M. O. Degteva^a, A. V. Vozilova^a, and A. V. Akleyev^{a, b}

^a *Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia*

^b *Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia*

[#] *E-mail: evgenia.tolstykh@yandex.ru*

FISH analysis of chromosomal aberrations in peripheral blood T-lymphocytes is used to assess radiation doses in professionals and the general public. In case of a non-uniform distribution of β -emitting radionuclides in the body, as well as in case of combined internal and external exposure, the interpretation of the results of cytogenetic studies requires special model approaches. The model of exposure of T cells and their precursors in the red bone marrow was described by us earlier. Current review is devoted to the approaches to the assessment of doses to T-lymphocytes in gut associated lymphoid tissues (GALT). Based on the published data, the following items were analyzed: the exposure geometry of GALT from a chyme; the distribution of circulating T-lymphocytes in the GALT; the approaches to the modeling of T-lymphocytes exposure in the GALT. As a result, the age-related characteristics of the residence of various subpopulations of T-cells in the *lamina propria*, gut epithelium, and lymphatic follicles were estimated. The proportion of circulating T cells in the total number of T-lymphocytes in small intestine and colon (30–35%) was evaluated. The relative amount of time that circulating T-lymphocytes spend in the small and large intestine was estimated (2.4% and 2.7%). The obtained values will be used in the assessment of doses to circulating T-lymphocytes when interpreting cytogenetic data on stable chromosomal aberrations obtained by the FISH method.

Keywords: circulating T-lymphocytes, resident memory T-cells, gut associated lymphoid tissues, biodosimetry, β -emitting radionuclides