

**П.А. Соболевская¹, А.Н. Гвоздецкий², И.В. Кудрявцев³,
В.А. Черешнев⁴, Л.П. Чурилов¹**

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ Т-ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ХЕЛПЕРОВ (Tfh) У ПАЦИЕНТОВ С ТИРЕОИДИТОМ ХАСИМОТО, ИМЕЮЩИХ ПСИХИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;

⁴ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. В работе представлен анализ субпопуляционного состава Tfh у пациентов с хроническим аутоиммунным тиреоидитом, проведена оценка взаимосвязи с различными клиническими и лабораторными параметрами. **Цель исследования:** проанализировать субпопуляционный состав Т-фолликулярных хелперов периферической крови у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом, а также у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом в сочетании с психическими расстройствами. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 80 человек (в возрасте от 18 до 75 лет), разделенных на 3 группы: группа АIT+PD (14 пациентов с аутоиммунным тиреоидитом в сочетании с различными психическими расстройствами, средний возраст – 54,3±11,4 года; группа АIT (46 пациентов с аутоиммунным тиреоидитом без психических расстройств, средний возраст – 48,6±12,5 года); группа контроля НС (20 психически и соматически здоровых лиц, средний возраст – 45,6±13,1 года). Использованы мультипараметрический флуоресцентный анализ в оценке концентрации цитокинов, иммуноферментный анализ в определении уровня гормонов и антител, проточная цитофлуориметрия в анализе субпопуляций лимфоцитов. **Результаты исследования** продемонстрировали повышенные уровни экспрессии CXCR3 на поверхности Tfh у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и психическими расстройствами, которые коррелировали с признаками поражения щитовидной железы и, возможно, патогенетически значимы для миграции лимфоцитов в центральную нервную систему и щитовидную железу. Также показано, что доля Tfh в крови в группе пациентов с психическими расстройствами была больше, чем в других группах, при этом уровень IL-21, синтезируемого Tfh, статистически значимо отличался в обеих группах больных аутоиммунным тиреоидитом в сравнении с группой контроля. **Заключение.** Исследование продемонстрировало, что у пациентов с психическими расстройствами наблюдается дисбаланс субпопуляционного состава Tfh: снижение числа Tfh2, которые, вероятно, мигрируют в лимфоузлы и щитовидную железу, приобретающую при аутоиммунном тиреоидите выраженную лимфоидную инфильтрацию, и даже в лимфоидные фолликулы, где эти лимфоциты, по-видимому, и экспрессируют IL-5 и IL-13, системные концентрации которых были повышены у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом и психическими расстройствами.

Ключевые слова: аутоиммунный тиреоидит, психические расстройства, цитокины, Т-фолликулярные хелперы

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Соболевская Полина Анатольевна

dr.polinasobolevskaia@bk.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования:

Соболевская П.А., Гвоздецкий А.Н., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А., Чурилов Л.П. Субпопуляционный анализ Т-фолликулярных хелперов (Tfh) у пациентов с тиреоидитом Хасимото, имеющих психические расстройства [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 4, с. 446–466, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-446-466

Введение

Т-лимфоциты представлены тремя основными субпопуляциями в зависимости от выполняемых функций и наличия поверхностных маркеров (cluster of differentiation, CD): Т-хелперы (помощники), Т-эффекторы (цитотоксические лимфоциты или Т-киллеры) и Т-регуляторы (супрессоры и контрсупрессоры) [1].

В патогенезе аутоиммунных заболеваний (АИЗ) особую роль играют Т-хелперы 1 (Th1) и 17 (Th17) типов, а также Т-фолликулярные хелперы (Tfh) [2].

Хронический аутоиммунный тиреоидит Хасимото (АИТ) рассматривается как Th1-опосредованное заболевание, при котором щитовидная железа (ЩЖ) инфильтрируется мононуклеарами, взаимодействие которых ведет к цитотоксическим эффектам и апоптозу тироцитов [3]. Современные исследования расширяют понимание роли и степени вовлечения других субпопуляций Т-лимфоцитов в патогенез АИТ, поскольку были описаны новые субпопуляции Т-хелперов, включая Th17-лимфоциты, и обнаружены ранее неизвестные изменения цитокинового спектра при АИТ [4,5]. Установлено, что неконтролируемая активность Th17-лимфоцитов может участвовать в патогенезе различных аутоиммунных заболеваний, которые ранее считались исключительно Th1-зависимыми [6]. В случае АИТ хроническое воспаление приводит к обильной инфильтрации ЩЖ лимфоидными клетками, тогда как в норме там обнаруживаются лишь единичные лимфоциты. Это явление было описано еще Х.Хасимото, который в своей первой статье о «лимфоматозном зобе» отметил круглоклеточную инфильтрацию, образование лимфатических фолликулов и лимфососудов в пораженной ЩЖ [7]. Известно, что такой инфильтрат содержит преимущественно тиреоидспецифические В- и Т-лимфоциты [8]. Ю.И.Строев с соавт. (2017) установили, что Т-лимфоциты (CD8⁺ и, в большей степени, CD4⁺) при доминировании популяций клеток Th1 и Th17 и ослабленной супрессорной функции Treg (Т-регуляторных лимфоцитов), оказывают прямое и опосредованное цитокинами угнетающее действие на тироциты. Фактор некроза опухоли альфа (TNF α), интерферон гамма (IFN γ) и интерлейкин-1 бета (IL-1 β) активируют макрофаги, повреждающие ЩЖ, стимулируя тироциты к аномальной экспрессии белков HLA II класса, облегчая аутопрезентацию. В-лимфоциты играют центральную роль в представлении аутоантигенов ЩЖ, производя аутоантитела к тиреоидной пероксидазе (ТПО), тиреоглобулину и другим аутоантигенам, имеющим не только патогенетическое значение, но также являющимися диагностическими маркерами заболевания. Предполагается, что при АИТ превалируют Th17, а не Th1-лимфоциты [10]. Вместе с тем, некоторые исследования показывают, что при АИТ наблюдается поляризация предшественников в сторону Th1-лимфоцитов, что может способствовать развитию гипотиреоза. Также было обнаружено снижение числа Treg в крови пациентов с АИТ, что можно объяснить их миграцией в пораженные ткани в попытке компенсаторно подавить аутоиммунное воспаление, однако прямой связи этого феномена с гипотиреозом не найдено [11]. Что касается Tfh-лимфоцитов, то данных о их роли при аутоиммунных заболеваниях ЩЖ (АИЗЩЖ) в литературе немного. Тем не менее, существуют исследования, указывающие на повышенное содержание Tfh у пациентов с болезнью фон Базедова-Грейвса и АИТ, что может свидетельствовать об их участии в развитии АИЗЩЖ [12]. Недавние исследования [13] продемонстрировали, что при АИЗЩЖ наблюдается увеличение количества Tfh и Т-периферических хелперов (Tph), при этом число Tfh было выше в ткани ЩЖ, нежели на периферии. Внутритиреоидные Tfh-клетки, по видимому, способны регулировать продукцию некоторых антитиреоидных антител, оказывая влияние на функцию ЩЖ [13].

Ранее установлено, что АИТ даже в эутиреоидном состоянии нередко сопровождается психическими расстройствами (ПР), причем эти нарушения психики часто поддаются лечению иммунодепрессантами, в связи с чем существует представление об их иммунопатологической природе, хотя до сих пор не установлены точные механизмы этой коморбидности, получившей в литературе наименование «энцефалопатия Хасимото» [14].

Цель: проанализировать субпопуляционный состав Tfh периферической крови у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом Хасимото, а также у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом в сочетании с психическими расстройствами.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 80 человек (в возрасте от 18 до 75 лет), разделенных на 3 группы (Рис. 1): Группа №1 (АИТ+PD) – 14 пациентов с АИТ в сочетании с различными ПР. Средний возраст в группе составил $54,3 \pm 11,4$ года. Среди ПР у пациентов данной группы были диагностированы: шизофрения (n=5), деменция (n=3), биполярное аффективное расстройство (БАР) (n=4), депрессия (n=1), органическое бредовое расстройство (ОБР) (n=1); Группа №2 (АИТ) – 46 пациентов с АИТ без ПР (средний возраст $48,6 \pm 12,5$ года); группа №3 (НС) – контрольная, состоящая из 20 психически и соматически здоровых лиц (средний возраст $45,6 \pm 13,1$ года).

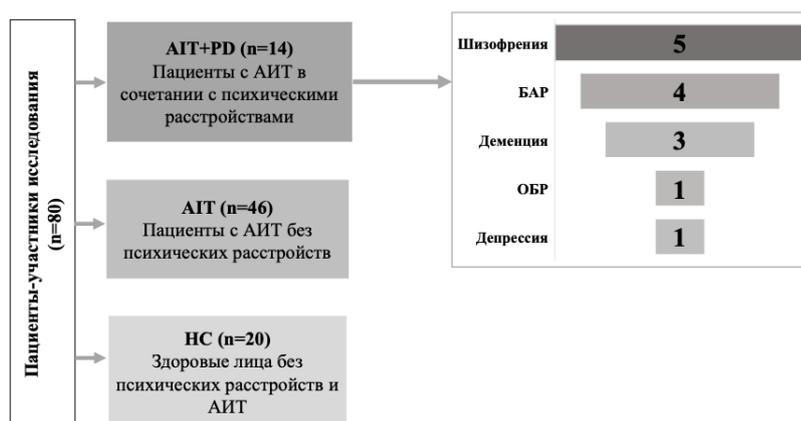


Рисунок 1. Описание групп пациентов

Figure 1. Description of patient groups

Note: Пациенты-участники исследования – the patients are participants in the study; Пациенты с АИТ в сочетании с психическими расстройствами – patients with autoimmune thyroiditis in combination with mental disorders; Пациенты с АИТ без психических расстройств – patients with autoimmune thyroiditis without mental disorders; Здоровые лица без психических расстройств и АИТ – healthy individuals without mental disorders and autoimmune thyroiditis; Шизофрения – schizophrenia; БАР – bipolar affective disorder; Деменция – dementia; ОБР – organic delusional disorder; Депрессия – depression

Исследование было одобрено этическим комитетом Санкт-Петербургского государственного университета (протоколы №76 от 30.06.2017, №84 от 20.06.2018 и №10/19 от 17.10.2019), перед началом было получено информированное согласие от всех участников исследования.

Набор пациентов в группу АИТ+PD проводился на клинической базе Санкт-Петербургского государственного университета в СПб ГБУЗ «Психиатрическая больница №1 им. П.П. Кащенко» в рамках соглашения о научном сотрудничестве, на основании психиатрического диагноза, подтвержденного врачом-психиатром, и наличия АИТ, которое было подтверждено по критериям Японской тиреоидологической ассоциации (Japanese Thyroid Association, JTA) [15]. Отбор пациентов в другие группы проводился в амбулаторных условиях в ООО «Клиника «ВолховМед» (г. Волхов) с использованием тех же критериев.

Лабораторные методы исследования

1. Мультипараметрический флуоресцентный анализ уровня цитокинов в сыворотке периферической венозной крови на приборе Luminex, модель MagPix (Luminex Inc., США), с применением коммерческого набора Human Th17 Magnetic Bead Panel (Merck, Германия).

2. Иммуноферментный анализ концентрации аутоантител и гормонов в сыворотке периферической венозной крови производился на планшетном спектрофотометре BioMark xMark (Bio-Rad, США). Количественную оценку уровня антител к тиреопероксидазе (анти-ТПО), к тиреоглобулину (анти-ТГ), свободного тироксина (FT4), свободного трийодтиронина (FT3), тиреотропного гормона (ТТГ), пролактина

выполняли с использованием коммерческих наборов реагентов компании «Хема-Медика» (Россия).

3. Проточная цитофлуориметрия использована для определения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов. Использованы панели моноклональных антител, конъюгированных со следующими флуорохромами: anti-CD183 Alexa Fluor 488 (CXCR3), anti-CD185 PE/Dazzle™ 594 (CXCR5), anti-CD194 PerCP/Cy5.5 (CCR4), anti-CD196 PE/Cy7 (CCR6), anti-CD4 APC, anti-CD8 APC-AF700, anti-CD3 APC/Cy7, anti-CD197 Brilliant Violet 421 (CCR7) и anti-CD45RA Brilliant Violet 510 (BioLegend, Inc., США); anti-CD25 PE (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводился при помощи проточного цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, Inc., США), оснащенного тремя лазерами с длинами волн излучения 405, 488 and 638 нм. В каждом образце изучалось не менее 40000 CD3⁺CD4⁺ Т-хелперов. Полученные данные анализировались с использованием программного обеспечения Kaluza Software (Beckman Coulter, Inc., США).

Статистический анализ

Выполнялся с использованием общепринятых методов вариационной статистики. Для описания категориальных переменных применены абсолютные значения и доли от общего числа (n, %). Непрерывные, дискретные и ранговые переменные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Md [q1; q3]). Межгрупповой анализ выполнялся с помощью критерия Манна-Уитни (U-статистика). Для выполнения корреляционного анализа между количественными, счетными и порядковыми характеристиками использовался критерий Спирмена (r-статистика) [16]. Для оценки связи категориальных переменных с количественными применялась логистическая модель с упорядоченным выбором, где коэффициент модели (логарифм отношения шансов – log (odds)) [17] служил мерой ассоциации. Коррекция на множественное тестирование гипотез осуществлялась с использованием поправки Беньямини-Хохберга [18]. Результаты считались статистически значимыми, если вероятность ошибки первого рода (p) была меньше 0,05 [16]. Все расчеты выполнялись на языке программирования R v.4.1.0.

Результаты исследования

В ходе проведения исследования популяции Т-лимфоцитов, включая Т-хелперы и цитотоксические Т-клетки, идентифицировали на основе экспрессии CD3 и коэкспрессии CD4 или CD8 маркеров. В дальнейшем был проведен детальный анализ субпопуляционного состава Т-хелперов (Th) в периферической крови.

Доля CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов среди общего пула CD3⁺ Т-клеток не показала значительных различий между исследуемыми группами. В контрольной группе (HC) этот показатель составил 61,01% (55,59; 66,95), у психически здоровых пациентов с АИТ (AIT) – 63,88% (57,84; 70,09), а у пациентов с АИТ и психическими расстройствами (AIT+PD) – 65,01% (58,20; 68,77). Далее оценивали коэкспрессию двух поверхностных антигенов CD45RA и CD62L, репертуар которых изменяется по мере созревания Th-клеток и приобретения ими эффекторных функций. Эти маркеры позволяют выявить субпопуляции «наивных» Th-клеток (CD45RA⁺CD62L⁺), а также оценить уровень зрелых или «поляризованных» субпопуляций Th-клеток: клетки центральной памяти (CD45RA⁻CD62L⁺), которые патрулируют периферические лимфоидные органы, и клетки эффекторной памяти (CD45RA⁻CD62L⁻), способные покидать кровотоки и мигрировать в очаги воспаления, где они проявляют свои эффекторные функции, в частности синтезируют цитокины [19]. Также были выделены терминально дифференцированные CD45RA⁺ эффекторные клетки (TEMRA, CD45RA⁺CD62L⁻). Доли этих популяций Т-лимфоцитов среди исследуемых групп статистически значимо не различались (Рис. 2).

В ходе исследования нами была проведена оценка особенностей экспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 Th клетками в исследуемых группах пациентов. Были выявлены четыре основные субпопуляции «поляризованных» Т-хелперов периферической крови: Th1 (фенотип CXCR5⁻CXCR3⁺CCR6⁻CCR4⁻), Th2 (фенотип CXCR5⁻CXCR3⁻CCR6⁻CCR4⁺), общий пул Th17 с фенотипом CXCR5⁻CCR6⁺, общий пул Tfh, имеющих на поверхности CXCR5 (Рис. 3, А-Г). Выбор хемокиновых рецепторов для типирования основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов основывался на сведениях из мировой практики [20, 21]. При анализе общей субпопуляции Tfh выявлено статистически значимое различие между пациентами с АИТ в сочетании с ПР и пациентами с АИТ без ПР (Рис. 3, Г). При этом уровень IL-21, экспрессируемого Tfh, достоверно значимо отличался в обеих группах с АИТ (Рис. 3, Д). Выявлена статистически значимая обратная корреляция между долей общих CM Tfh и концентрацией FT4 в группе АИТ+PD (Рис. 3, Е), а также объемом ЩЖ в группе АИТ (Рис. 3, Ж).

Анализируя субпопуляционный состав Tfh, мы использовали методику, основанную на оценке наличия или отсутствия хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR6 на мембране клетки [22]. Таким образом, циркулирующие Tfh человека были разделены на четыре популяции: CXCR3⁺CCR6⁻ Tfh1, CXCR3⁻CCR6⁻ Tfh2, CXCR3⁻CCR6⁺ Tfh17 и CXCR3⁺CCR6⁺ DP Tfh. Доля субпопуляций Tfh1 и Tfh17 не имела достоверных отличий от контроля. Относительное количество Tfh2 было статистически значимо ниже у пациентов с ПР в сравнении с остальными группами пациентов, а у психически здоровых пациентов с АИТ отличий от данных в контрольной группе выявлено не было (Рис. 4, Б). Доля DP Tfh была достоверно больше у больных группы АИТ+PD в сравнении с двумя другими группами исследования, тогда как данные группы АИТ не имели существенных отличий от контроля (Рис. 4, Г). При этом, концентрация IL-13 в сыворотке крови обеих групп больных с АИТ была статистически значимо выше, чем в контрольной группе (Рис. 4, Д). Более того, в сыворотке крови обследованных пациентов с АИТ и концентрация IL-5 была достоверно выше контрольных значений (Рис. 4, Е).

Анализ взаимосвязи между относительным содержанием субпопуляций Tfh и различными иммуно-эндокринными параметрами в группе АИТ+PD обнаружил статистически значимые корреляции между уровнем АТ к ТГ и количеством Tfh17 (обратная), а также этими аутоантителами и долей Tfh1 (прямая, рис. 4, Ж). У пациентов из группы АИТ количество Tfh2 и DP Tfh клеток имело достоверные корреляции с концентрацией гормонов ЩЖ, хотя эти отношения были разнонаправленными: с Tfh2 – прямая корреляция, а с DP Tfh – обратная (Рис. 4, З).

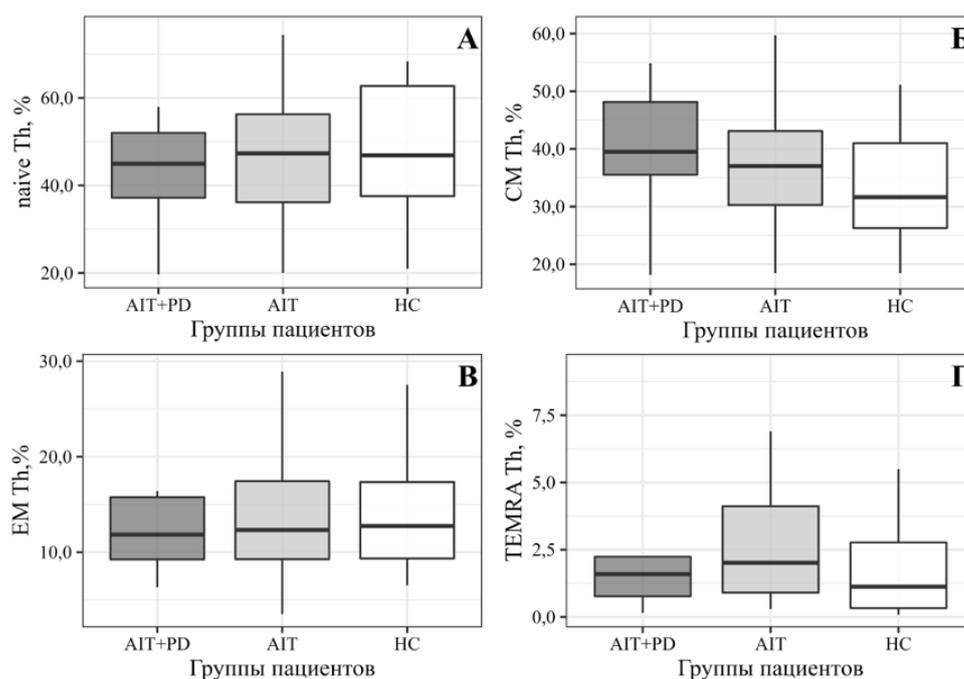


Рисунок 2. Относительное содержание основных субпопуляций Т-хелперов различной стадии дифференцировки в периферической крови пациентов исследованных групп: АИТ+PD (n=14), АИТ (n=46) и НС (n=20)

Примечание: гистограмма А – содержание «наивных» Th с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁺ (Naive); гистограмма Б – содержание Th центральной памяти с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁺ (CM); гистограмма В – содержание Th эффекторной памяти с фенотипом CD45RA⁻CD62L⁻ (EM); гистограмма Г – содержание «терминально-дифференцированных» CD45RA⁻ позитивных эффекторных Th с фенотипом CD45RA⁺CD62L⁻ (TEMRA); результаты представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75), а также минимального и максимального значения доли клеток от пула CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов

Figure 2. The relative content of the main subpopulations of T-helpers of various stages of differentiation in the peripheral blood of patients of the studied groups: АИТ+PD (n=14), АИТ (n=46) and НС (n=20)

Note: histogram A is the content of «naive» Th with the CD45RA⁺CD62L⁺ (Naive) phenotype; histogram B is the content of central memory Th with the CD45RA⁻CD62L⁺ phenotype (CM); histogram C is the content of effector memory Th with the CD45RA⁻CD62L⁻ (EM) phenotype; histogram D is the content of «terminal-differentiated» CD45RA⁻ positive effector Th with the CD45RA⁺CD62L⁻ (TEMRA) phenotype; группы пациентов – patient groups; the results are presented in the form of median, interquartile range (Med (Q25; Q75), as well as the minimum and maximum values of the proportion of cells from the pool of CD3⁺CD4⁺lymphocytes

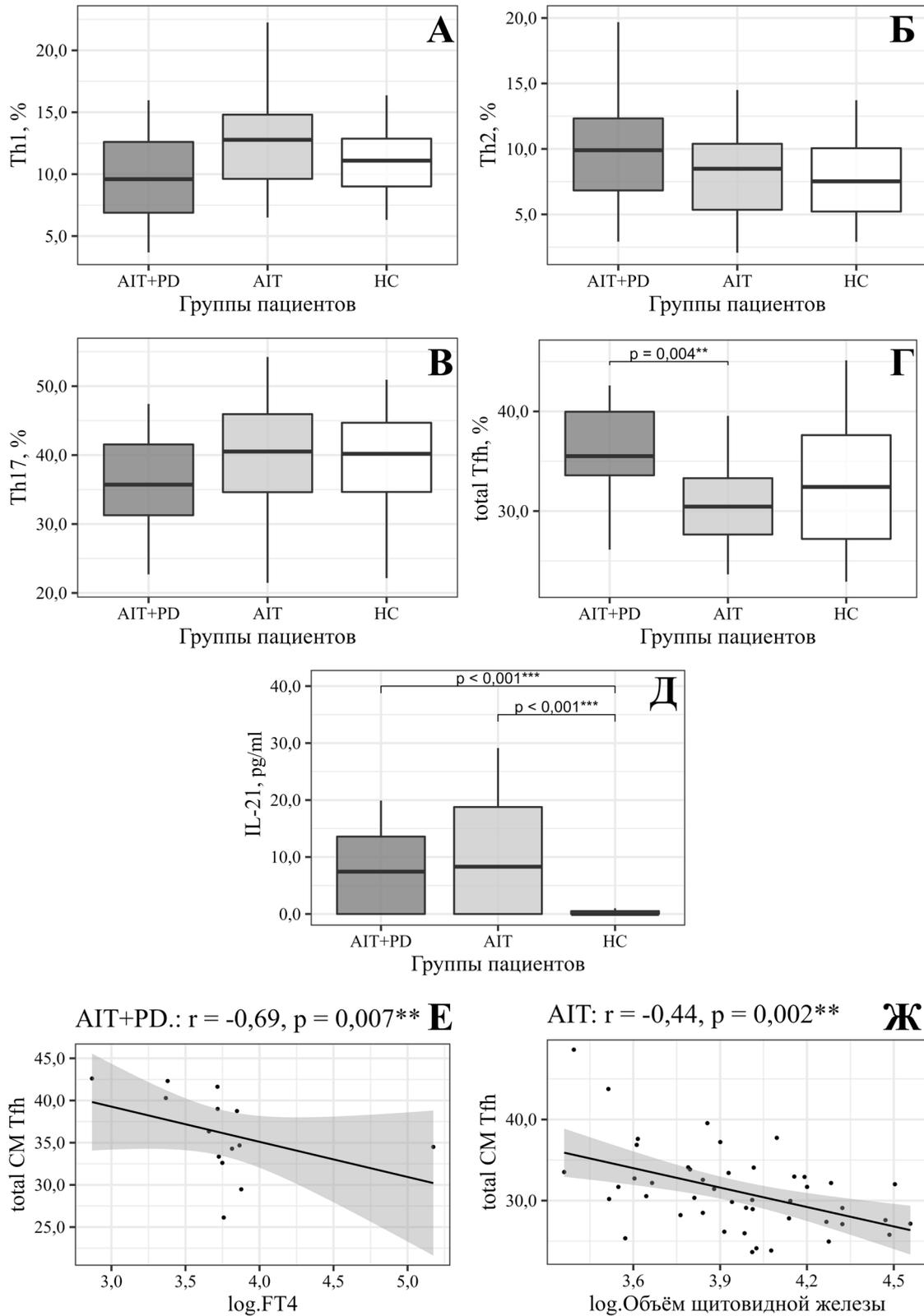


Рисунок 3. Изменения субпопуляционного состава «поляризованных» Th периферической крови пациентов исследованных групп: AIT+PD (n=14), AIT (n=46) и HC (n=20)

Примечание: гистограмма А – относительное содержание Th1 с фенотипом $CXCR5^{-}CXCR3^{+}CCR6^{-}CCR4^{-}$; гистограмма Б – относительное содержание Th2 с фенотипом $CXCR5^{-}CXCR3^{-}CCR6^{-}CCR4^{+}$; гистограмма В – относительное содержание Th17 с фенотипом $CXCR5^{-}CCR6^{+}$; гистограмма Г – относительное количество Tfh, несущих на своей поверхности CXCR5; результаты приведены в виде доли от общего пула Th центральной памяти с фенотипом $CD3^{+}CD4^{+}CD45RA^{-}CD62L^{+}$; гистограмма Д – уровень IL-21, экспрессируемого Tfh; результаты представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (Med (Q25; Q75), а также минимального и максимального значения доли клеток; достоверность различий

указана согласно U-критерия Манна-Уитни; гистограмма Е – взаимосвязь между общим количеством Tfh клеток центральной памяти и уровнем свободного тироксина (FT4) в группе АIT+PD; гистограмма Ж – взаимосвязь между общим количеством Tfh клеток центральной памяти и объемом щитовидной железы в группе АIT

Figure 3. Changes in the subpopulation composition of «polarized» Th of patients of the studied groups: АIT+PD (n=14), АIT (n=46) and НС (n=20)

Note: histogram А is the relative content of Th1 with the CXCR5⁻CXCR3⁺CCR6⁻CCR4⁻ phenotype; histogram Б is the relative content of Th2 with the CXCR5⁻CXCR3⁻CCR6⁻CCR4⁺ phenotype; histogram В is the relative content of Th17 with the CXCR5⁻CCR6⁺ phenotype; histogram Г is the relative content of Tfh with the CXCR5 phenotype; the results are presented as a fraction of the total pool of central memory Th with the CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CD62L⁺ phenotype; гистограмма Д is the level of IL-21, expressed by Tfh; группы пациентов – patient groups; the results are presented in the form of median, interquartile range (Me (Q25; Q75), as well as the minimum and maximum values of the proportion of cells; the reliability of the differences is indicated according to the Mann-Whitney U-test; гистограмма Е is the relationship between the total number of Tfh central memory cells and the level of free thyroxine (FT4) in the АIT+PD group; гистограмма Ж is the relationship between the total number of Tfh central memory cells and thyroid volume in the АIT group

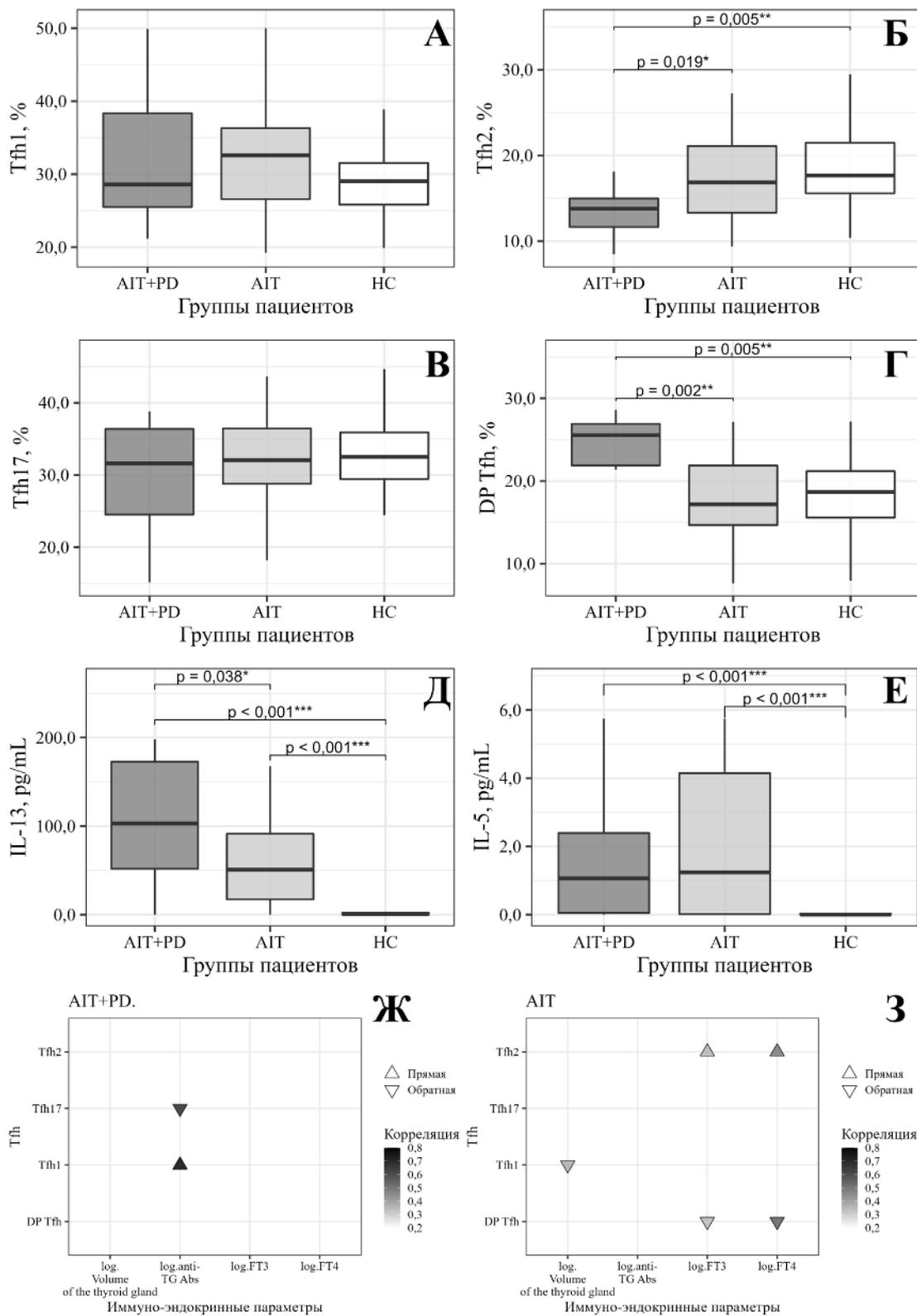


Рисунок 4. Изменения субпопуляционного состава Tfh периферической крови в различных группах
 Figure 4. Changes in the subpopulation composition of peripheral blood Tfh in different groups

Примечание: гистограмма А – относительное содержание Tfh1 с фенотипом CXCR3⁺CCR6⁻; гистограмма Б – Tfh2 с фенотипом CXCR3⁻CCR6⁻; гистограмма В – Tfh17 с фенотипом CXCR3⁻CCR6⁺; гистограмма Г – DP Tfh с фенотипом CXCR3⁺CCR6⁺. Результаты приведены в виде процента от общего пула фолликулярных Т-хелперов центральной памяти с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CD62L⁺CXCR5⁺; гистограмма Д – концентрация IL-13 (пг/мл) в сыворотке крови пациентов разных групп; гистограмма Е – концентрация IL-5 (пг/мл) в сыворотке крови пациентов разных групп; гистограммы Ж и З – результаты корреляционного анализа между долей разных субпопуляций Tfh показателями, отражающими иммуно-эндокринную регуляцию в группах AIT+PD и AIT, соответственно; на корреляционных гистограммах

приведены результаты корреляционного анализа по Спирмену ($p < 0,05$)

Note: histogram A is the relative content of Tfh1 with the CXCR3⁺CCR6⁻ phenotype; histogram Б is the relative content of Tfh2 with the CXCR3⁻CCR6⁻ phenotype; histogram B is the relative content of Tfh17 with the CXCR3⁻CCR6⁺ phenotype; histogram Г is the relative content of DP Tfh with the CXCR3⁺CCR6⁺ phenotype. The results are presented as a percentage of the total pool of central memory follicular T helper cells with the CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CD62L⁺CXCR5⁺ phenotype; histogram Д is the concentration of IL-13 (pg/ml) in the blood serum of patients of different groups; histogram E is the concentration of IL-5 (pg/ml) in the blood serum of patients of different groups; histograms Ж and З are the results of a correlation analysis between the relative number of various Tfh subpopulations and indicators reflecting immuno-endocrine regulation in the AIT+PD and AIT groups, respectively; the correlation histograms show the results of Spearman correlation analysis ($p < 0,05$); группы пациентов – patient groups; прямая – direct; обратная – inverse, корреляция – correlation, иммуно-эндокринные параметры – immuno-endocrine parameters

Следующим этапом исследования выполняли оценку экспрессии ключевых хемокиновых рецепторов – CCR4, CCR6 и CXCR3 – на поверхности общего пула Tfh центральной памяти (Рис. 5). Установлено, что количество CCR4⁺ позитивных клеток имело достоверные отличия между больными из групп АIT+PD и АIT, а также из группы АIT и контрольной (Рис. 5, К). Количество CXCR3⁺ клеток статистически значимо отличалось в группе АIT+PD от этого типа клеток остальных групп (Рис. 5, М).

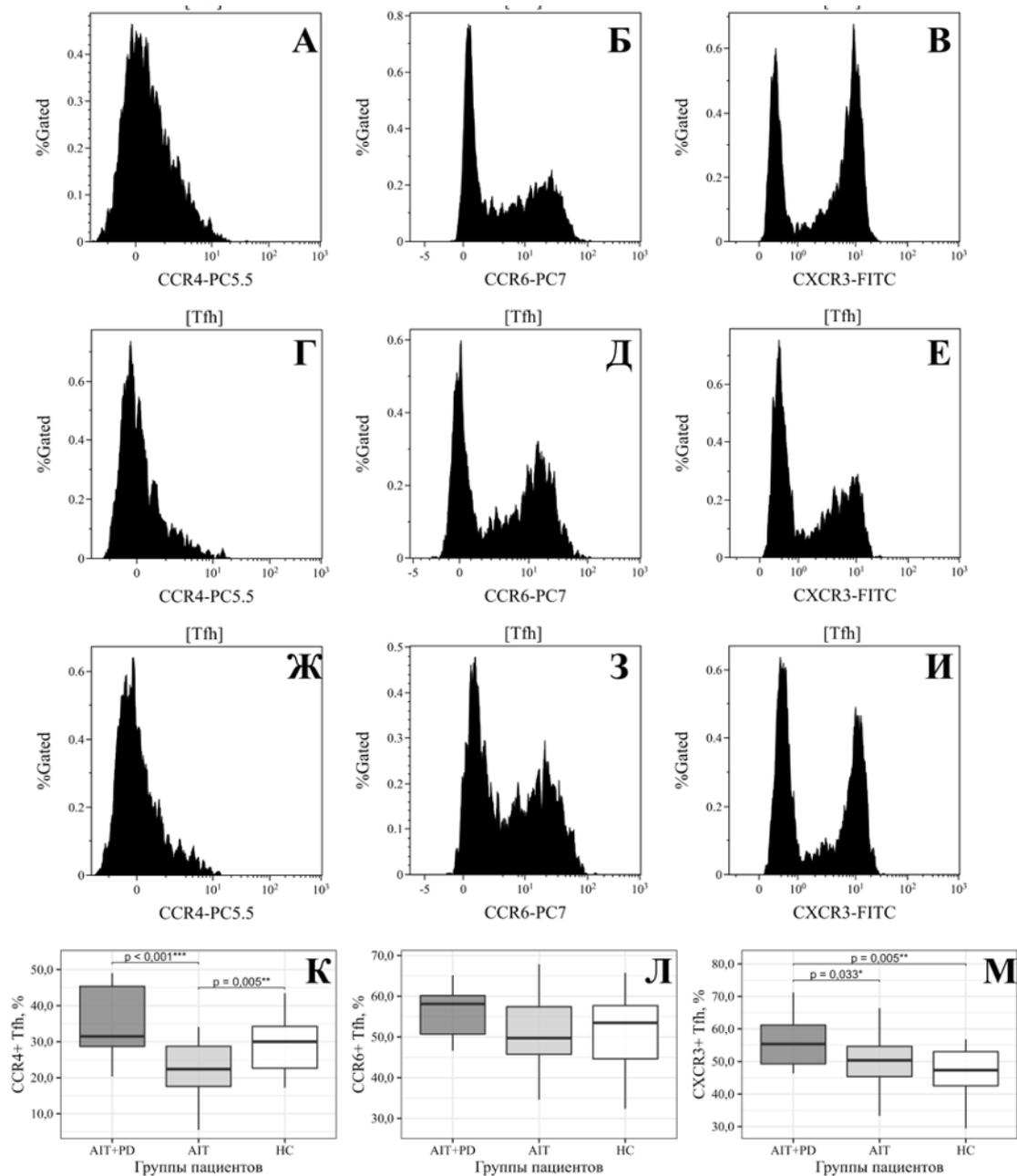


Рисунок 5. Особенности экспрессии хемокиновых рецепторов Tfh периферической крови пациентов разных групп

Figure 5. Features of the expression of chemokine receptors of peripheral blood Tfh in patients of different groups

Примечание: репрезентативные гистограммы пациентов АIT+PD (гистограммы А - В), АIT (гистограммы Г - Е) и контрольной группы (гистограммы Ж - И), показывающие изменения в экспрессии CCR4 (гистограммы А, Г и Ж), CCR6 (гистограммы Б, Д и З) и CXCR3 (гистограммы В, Е и И); гистограммы К - М – относительное содержание CCR4⁺, CCR6⁺ и CXCR3⁺ клеток в рамках общего пула клеток центральной памяти Tfh, соответственно

Note: representative histograms of patients АIT+PD (histograms А - В), АIT (histograms Г - Е) and the control group (histograms Ж - И) demonstrate changes in the expression of CCR4 (histograms А, Г and Ж), CCR6 (histograms Б, Д and З) and CXCR3 (histograms В, Е and И); histograms К - М are the relative content of CCR4⁺, CCR6⁺ and CXCR3⁺ cells within the total pool of central memory Tfh, respectively; группы пациентов – patient groups

Согласно данным оценки корреляции количества клеток с иммуно-эндокринными показателями было установлено, что группа АИТ+PD характеризовалась наличием статистически значимых корреляций между концентрацией АТ к ТГ и количеством CXCR3⁺ Tfh (прямая), а также числом CCR6⁺ Tfh (обратная) (Рис. 6, А). Доля клеток CCR4⁺ Tfh была статистически значимо обратно пропорциональна уровню АТ к альфа-1-енолазе и прямо пропорциональна объему ЩЖ (Рис. 6, А). Также обнаружено, что в группе больных АИТ имелись достоверно значимые обратные корреляции между числом CXCR3⁺ Tfh и концентрацией АТ к рецептору ТТГ, а также между долей CCR6⁺-клеток и уровнем тиреоидных гормонов (Рис. 6, Б).

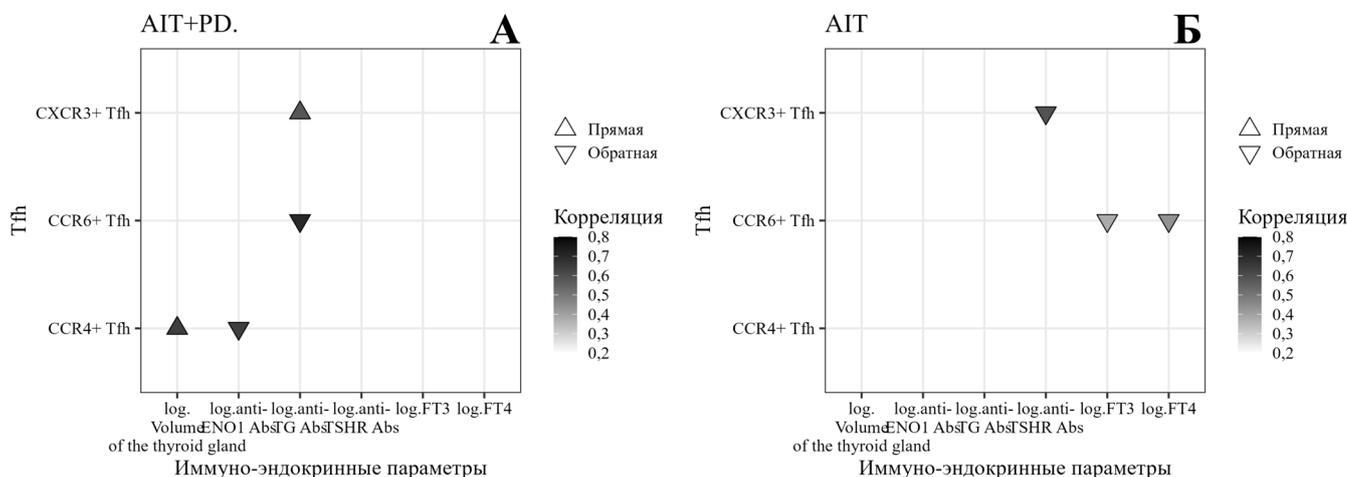


Рисунок 6. Результаты корреляционного анализа между относительным содержанием CCR4⁺, CCR6⁺ и CXCR3⁺ Tfh и некоторыми иммуно-эндокринными параметрами в группах АИТ+PD и АИТ (гистограммы А и Б, соответственно)

Figure 6. Results of correlation analysis between the relative content of CCR4⁺, CCR6⁺ and CXCR3⁺ Tfh and some immuno-endocrine parameters in the AIT+PD and AIT groups (histograms A and B, respectively)

Примечание: на корреляционных гистограммах количественных и качественных показателей приведены результаты анализа с использованием модели логистической регрессии (p<0,05)

Note: the correlation histograms of quantitative and qualitative indicators show the results of the analysis using the odd logistic model (p<0,05); прямая – direct; обратная – inverse, корреляция – correlation, иммуно-эндокринные параметры – immuno-endocrine parameters

В группе пациентов с ПР установлена статистически значимая прямая зависимость между количеством CCR4⁺ Tfh-клеток и симптомами нарушения психического состояния: наличием генерализованной тревоги и попытками суицида, а также обратная зависимость между числом CCR4⁺ Tfh-клеток, бредовыми состояниями, наличием галлюцинаций. Доли DP Tfh и Tfh2 клеток разнонаправленно коррелировали с наличием панических атак и раздражительностью пациентов, а общее число CM Tfh находилось в обратной зависимости от присутствия дефицита внимания (Рис. 7, А). Также выявлена статистически значимая корреляционная связь между относительным количеством субпопуляций Tfh и различными симптомами гипотиреоза. В частности, обнаружена обратная зависимость между числом CXCR3⁺ Tfh-клеток и снижением частоты коленных рефлексов, периферическими судорогами и положительным симптомом Хвостека (сокращение мышц лица на стороне пробы при перкуссии в месте выхода лицевого нерва, кпереди от наружного слухового прохода). Помимо этого, была выявлена прямая зависимость между количеством CCR6⁺ Tfh-клеток и наличием положительного симптома Строева (постоянное или эпизодическое прикусывание слизистых щек или губ при гипотиреозе вследствие их микседематозной отечности), снижения коленных рефлексов, ломкостью ногтей и выпадением волос, сухостью локтей, положительным симптомом Хвостека. Также прямая взаимосвязь обнаружена между относительным количеством Tfh17-клеток и положительным симптомом Строева, снижением коленных рефлексов, присутствием периферических судорог, симптомом Хвостека. Обратная зависимость выявлена между числом Tfh1-клеток, положительным симптомом Строева, снижением коленных рефлексов, ломкостью ногтей и выпадением волос, сухостью локтей, а также присутствием периферических судорог. Прямая зависимость также была установлена между относительным количеством CM Tfh-клеток и положительным симптомом Строева (Рис. 7, Б).

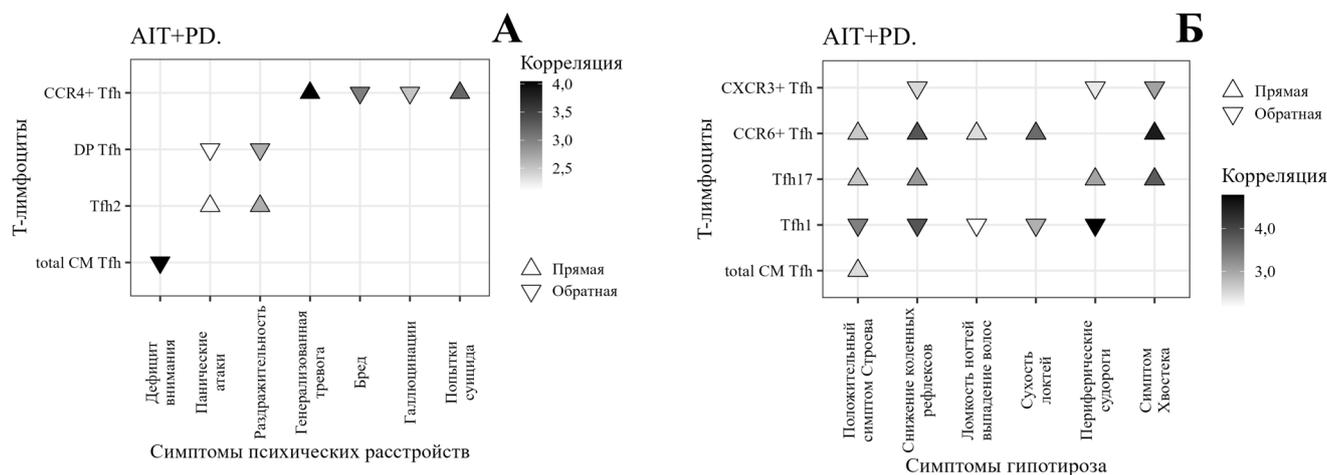


Рисунок 7. Результаты корреляционного анализа между относительным содержанием различных субпопуляций Tfh пациентов группы АИТ+PD и некоторыми симптомами психических расстройств и гипотиреоза (гистограммы А и Б)

Примечание: на корреляционных гистограммах количественных и качественных показателей приведены результаты анализа с использованием модели логистической регрессии ($p < 0,05$)

Figure 7. Results of correlation analysis between the relative content of various Tfh subpopulations of АИТ+PD patients and some symptoms of psychiatric disorders and hypothyroidism (histograms A and Б)

Note: the correlation histograms of quantitative and qualitative indicators show the results of the analysis using the odd logistic model ($p < 0,05$)

Прямая – direct; обратная – inverse, корреляция – correlation; Т-лимфоциты – T-lymphocytes; симптомы психических расстройств – symptoms of mental disorders; дефицит внимания – attention deficit; панические атаки – panic attacks; раздражительность – irritability; генерализованная тревога – generalized anxiety; бред – delirium; галлюцинации – hallucinations; попытка суицида – suicide attempt; симптомы гипотиреоза – symptoms of hypothyroidism; положительный симптом Строева – positive symptom of Stroeve; снижение коленных рефлексов – decreased knee reflexes; ломкость ногтей – brittle nails, выпадение волос – hair loss; сухость локтей – dry elbows; периферические судороги – peripheral seizures; симптом Хвостека – Khvostek's symptom

Обсуждение

Результаты исследования продемонстрировали, что Tfh пациентов с АИТ, сопровождающимся ПР, экспрессировали CXCR3, что коррелирует с признаками поражения ЩЖ и, возможно, является патогенетически значимым для процессов миграции лимфоцитов в ЦНС и ЩЖ, поскольку известно, что хемокиновый рецептор CXCR3 способствует миграции Th1 клеток в очаги воспаления по градиентам CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [23], а Tfh, за счет наличия CXCR5, способны проникать из Т-зависимых зон периферических лимфоидных органов в их В-зависимые зоны по градиенту CXCL13 [24]. Также наше исследование показало, что общая субпопуляция Tfh у больных АИТ с ПР, была выше, чем в других группах, при этом уровень IL-21, экспрессируемого именно Tfh, статистически значимо отличался в обеих группах пациентов с АИТ в сравнении с группой контроля.

Поскольку один из важных стимуляторов аутоиммунитета и антителообразования, ключевой цитокин Tfh-зависимых реакций – IL-21, участвует и в иммунопатогенезе шизофрении [25], поэтому полученные данные могут быть расценены как патогенетически значимые для лиц с АИТ и ПР. Вероятно, у пациентов с АИТ и ПР Tfh играют важную роль в подавлении функции ЩЖ, на что указывает повышенный уровень CM Tfh у данных пациентов, характер взаимосвязи с FT4, а также высокий уровень IL-21 (их главного эффекторного цитокина) [13].

Ранее отмечалось, что повышение содержания циркулирующих Tfh в крови больных АИТ совпадает с увеличением их доли среди инфильтрирующих ЩЖ интраатиреоидных лимфоцитов [26]. Более того, на примере спровоцированного ингибиторами контрольных точек Т-лимфоцитов тиреоидита было показано, что именно продукция IL-21 интраатиреоидными Tfh способствует цитотоксическому повреждению ЩЖ и ее мононуклеарной инфильтрации [27]. Повышенный уровень этого интерлейки-

на продемонстрирован и в других исследованиях. Так, R.Sánchez-Gutiérrez et al. (2024) обнаружили у пациентов с АИЗЩЖ повышенное абсолютное и относительное число Tfh и Tph (Т-периферических хелперов), а также повышенную продукцию IL-21 этими клетками. В этом же исследовании установлено, что как Tfh, так и Tph-клетки пациентов с АИЗЩЖ обладают способностью к повышенной продукции IL-21, что ассоциировано с ростом числа плазмобластов в периферической крови. Эти данные могут свидетельствовать об участии Tfh и Tph в индукции выработки аутоантител, играющих важную роль в патогенезе АИЗ [13]. Также ранее был отмечен дисбаланс клеток с ростом количества циркулирующих Tfh, особенно характерный для АИТ в сравнении с другими аутоиммунными заболеваниями [26].

Согласно полученным данным, доля субпопуляции Tfh2 у больных АИТ с ПР была статистически значимо меньше, чем в других группах, а субпопуляция DP Tfh, наоборот, достоверно больше. При этом концентрация IL-13 и IL-5 были значимо выше у больных с ПР. В связи с тем, что оба упомянутых цитокина являются Th2-зависимыми, и их продукция тесно связана, этим объясняется, вероятно, конкордантность их изменений при АИТ. Увеличение их концентрации при АИТ демонстрировали и другие исследователи [28]. Также известно, что IL-13 ассоциирован с развитием болезни фон Базедова-Грейвса, он экспрессируется не только в лимфоцитах, но и в тироцитах, а его продукция зависит от ТТГ и его рецептора [29,30].

В проведенном исследовании было установлено, что доли Tfh2 и DP Tfh-клеток в группе пациентов с АИТ и в группе пациентов с АИТ и ПР коррелируют с одними и теми же клинико-лабораторными параметрами, однако эти корреляции противоположно направлены, поэтому вполне вероятно, что гормоны ЩЖ способствуют разнонаправленной дифференцировке Tfh. Характерно, что ранее J. Zhao et al. (2018) также обнаружили тесную взаимосвязь между количеством в крови Tfh17-клеток и концентрацией АТ к ТГ и к ТПО при АИТ. Таким образом, у пациентов с АИТ в коморбидности с психическими расстройствами наблюдается дисбаланс субпопуляционного состава Tfh, в частности, снижение субпопуляции Tfh2, которые, вероятно, мигрируют в лимфоузлы и ЩЖ, приобретая при АИТ выраженную лимфоидную инфильтрацию, и даже в лимфоидные фолликулы, где эти лимфоциты, по-видимому, и экспрессируют IL-5 и IL-13, о чем свидетельствует повышенная концентрация обоих цитокинов в периферической крови.

Заключение

Дисбаланс состава Tfh и разнонаправленные связи субпопуляций этих клеток с клиническими и лабораторными данными позволяют полагать наличие антагонистических отношений субпопуляций Tfh2 и DPTfh в патогенезе АИТ, ассоциированных с ПР.

Благодарности

Работа выполнена за счет средств гранта РНФ № 22-15-00113

ЛИТЕРАТУРА

1. Хайтов М.Р. Иммунология: Структура и функции иммунной системы. 2nd ed. Москва: ГЭО-ТАР-Медиа, 2019.
2. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and Molecular Immunology E-Book: Cellular and Molecular Immunology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2021.
3. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimotos' thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2019; 33(6):101367. doi:10.1016/j.beem.2019.101367.
4. Nanba T., Watanabe M., Inoue N., Iwatani Y. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease. Thyroid 2009; 19(5):495-501. doi:10.1210/jc.2011-1900.
5. Li Q., Wang B., Mu K., Zhang J.A. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T-lymphocytes - Cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm. J Cell Physiol 2019; 234(3):2204-16. doi:10.1002/eji.201970107.
6. Bedoya S.K., Lam B., Lau K., Larkin J. Th17 cells in immunity and autoimmunity. Clin Dev Immunol. 2013; 2013:986789. doi:10.1016/j.jaut.2019.01.012.

7. Hashimoto H. Zur kenntniss der lymphomatosen veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). Arch Klin Chir; 97:219-48.
8. Pearce J.M. Sir William Withey Gull (1816-1890). Eur Neurol. 2006; 55(1):53-6. doi:10.1159/000091430.
9. Строев Ю.И., Утехин В.И., Чурилов Л.П. Аутоиммунный тиреоидит Хасимото, его последствия и коморбидность. В кн.: Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики. Под ред. И.Шенфельда, П.Л.Мерони, Л.П.Чурилова Санкт-Петербург: ЭЛБИ-Медкнига, 2017; 298-325.
10. Shi Y., Wang H., Su Z., Chen J., Xue Y., Wang S., Xue Y., He Z., Yang H., Zhou C., Kong F., Liu Y., Yang P., Lu L., Shao Q., Huang X., Xu H. Differentiation imbalance of Th1/Th17 in peripheral blood mononuclear cells might contribute to pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. Scand J Immunol. 2010; 72(3):250-5. doi:10.1111/j.1365-3083.2010.02425.x.
11. Guo Y., Zynat J., Xing S., Xin L., Li S., Mammatt N., Chen Y., Zhao L., Zhao H., Wang X. Immunological changes of T helper cells in flow cytometer-sorted CD4⁺ T cells from patients with Hashimoto's thyroiditis. Exp Ther Med. 2018; 15(4):3596-3602. doi:10.3892/etm.2018.5825.
12. Zhu C., Ma J., Liu Y., Tong J., Tian J., Chen J., Tang X., Xu H., Lu L., Wang S. Increased frequency of follicular helper T cells in patients with autoimmune thyroid disease. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97(3):943-50. doi:10.1210/jc.2011-2003.
13. Sánchez-Gutiérrez R., Martínez-Hernández R., Serrano-Somavilla A., Sampedro-Nuñez M., Mendoza-Pérez A., de Nova J.L.M., Vitales-Noyola M., González-Amaro R., Marazuela M. Analysis of T follicular and T peripheral helper lymphocytes in autoimmune thyroid disease. Endocrine. 2024; 15. doi:10.1007/s12020-024-03686-7.
14. Churilov L.P., Sobolevskaia P.A., Stroeve Y.I. Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2019; 33(6):101364. doi:10.1016/j.beem.2019.101364.
15. Akamizu T., Amino N. Hashimoto's Thyroiditis. In: Feingold K.R., Anawalt B., Blackman M.R., Boyce A., Chrousos G., Corpas E., de Herder W.W., Dhatariya K., Dungan K., Hofland J., Kalra S., Kaltsas G., Kapoor N., Koch C., Kopp P., Korbonits M., Kovacs C.S., Kuohung W., Laferrère B., Levy M., McGee E.A., McLachlan R., New M., Purnell J., Sahay R., Shah A.S., Singer F., Sperling M.A., Stratakis C.A., Trencle D.L., Wilson D.P., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. PMID: 25905412.
16. Ramakrishna H.K. Medical Statistics. Singapore: Springer Singapore, 2017; 188.
17. Buri M., Curt A., Steeves J., Hothorn T. Baseline-adjusted proportional odds models for the quantification of treatment effects in trials with ordinal sum score outcomes. BMC Med Res Methodol. 2020; 20(1):104. doi:10.1186/s12874-020-00984-2.
18. Benjamini Y., Drai D., Elmer G., Kafkafi N., Golani I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. Behav Brain Res. 2001; 125(1-2):279-84. doi:10.1016/s0166-4328(01)00297-2.
19. Кудрявцев И.В. Т-клетки памяти: Основные популяции и стадии дифференцировки. Российский иммунологический журнал. 2014; 8(4):947-64.
20. Brodie T., Brenna E., Sallusto F. OMIP-018: chemokine receptor expression on human T-helper cells. Cytometry A. 2013; 83(6):530-2. doi:10.1002/cyto.a.22278.
21. Cossarizza A., Chang H.D., Radbruch A., Acs A., Adam D., Adam-Klages S., Agace W.W., Aghaepour N., Akdis M., Allez M., Almeida L.N., Alvisi G., Anderson G., Andrä I., Annunziato F., Anselmo A., Bacher P., Baldari C.T., Bari S., Barnaba V., Barros-Martins J., Battistini L., Bauer W., Baumgart S., Baumgarth N., Baumjohann D., Baving B., Bebawy M., Becher B., Beisker W., Benes V., Beyaert R., Blanco A., Boardman D.A., Bogdan C., Borger J.G., Borsellino G., Boulais P.E., Bradford J.A., Brenner D., Brinkman R.R., Brooks A.E.S., Busch D.H., Büscher M., Bushnell T.P., Calzetti F., Cameron G., Cammarata I., Cao X., Cardell S.L., Casola S., Cassatella M.A., Cavani A., Celada A., Chatenoud L., Chattopadhyay P.K., Chow S., Christakou E., Čičin-Šain L., Clerici M., Colombo F.S., Cook L., Cooke A., Cooper A.M., Corbett A.J., Cosma A., Cosmi L., Coulie P.G., Cumano A., Cvetkovic L., Dang V.D., Dang-Heine C., Davey M.S., Davies D., De Biasi S., Del Zotto G., Dela Cruz G.V., Delacher M., Della Bell S., Dellabona P., Deniz G., Dessing M., Di Santo J.P., Diefenbach A., Dieli F., Dolf A., Dörner T., Dress R.J., Dudziak D., Dustin M., Dutertre C.A., Ebner F., Eckle S.B.G., Edinger M., Eede P., Ehrhardt G.R.A.,

Eich M., Engel P., Engelhardt B., Erdei A., Esser C., Everts B., Evrard M., Falk C.S., Fehniger T.A., Felipo-Benavent M., Ferry H., Feuerer M., Filby A., Filkor K., Fillatreau S., Follo M., Förster I., Foster J., Foulds G.A., Frehse B., Frenette P.S., Frischbutter S., Fritzsche W., Galbraith D.W., Gangaev A., Garbi N., Gaudilliere B., Gazzinelli R.T., Geginat J., Gerner W., Gherardin N.A., Ghoreschi K., Gibellini L., Ginhoux F., Goda K., Godfrey D.I., Goettlinger C., González-Navajas J.M., Goodyear C.S., Gori A., Grogan J.L., Grummitt D., Grützkau A., Haftmann C., Hahn J., Hammad H., Hämmerling G., Hansmann L., Hansson G., Harpur C.M., Hartmann S., Hauser A., Hauser A.E., Haviland D.L., Hedley D., Hernández D.C., Herrera G., Herrmann M., Hess C., Höfer T., Hoffmann P., Hogquist K., Holland T., Höllt T., Holmdahl R., Hombrink P., Houston J.P., Hoyer B.F., Huang B., Huang F.P., Huber J.E., Huehn J., Hundemer M., Hunter C.A., Hwang W.Y.K., Iannone A., Ingelfinger F., Ivison S.M., Jäck H.M., Jani P.K., Jávega B., Jonjic S., Kaiser T., Kalina T., Kamradt T., Kaufmann S.H.E., Keller B., Ketelaars S.L.C., Khalilnezhad A., Khan S., Kisielow J., Klenerman P., Knopf J., Koay H.F., Kobow K., Kolls J.K., Kong W.T., Kopf M., Korn T., Kriegsmann K., Kristyanto H., Kroneis T., Krueger A., Kühne J., Kukat C., Kunkel D., Kunze-Schumacher H., Kurosaki T., Kurts C., Kvistborg P., Kwok I., Landry J., Lantz O., Lanuti P., LaRosa F., Lehuen A., LeibundGut-Landmann S., Leipold M.D., Leung L.Y.T., Levings M.K., Lino A.C., Liotta F., Litwin V., Liu Y., Ljunggren H.G., Lohoff M., Lombardi G., Lopez L., López-Botet M., Lovett-Racke A.E., Lubberts E., Luche H., Ludewig B., Lugli E., Lunemann S., Maecker H.T., Maggi L., Maguire O., Mair F., Mair K.H., Mantovani A., Manz R.A., Marshall A.J., Martínez-Romero A., Martrus G., Marventano I., Maslinski W., Matarese G., Mattioli A.V., Maueröder C., Mazzoni A., McCluskey J., McGrath M., McGuir H.M., McInnes I.B., Mei H.E., Melchers F., Melzer S., Mielenz D., Miller S.D., Mills K.H.G., Minderman H., Mjösberg J., Moore J., Moran B., Moretta L., Mosmann T.R., Müller S., Multhoff G., Muñoz L.E., Münz C., Nakayama T., Nasi M., Neumann K., Ng L.G., Niedobitek A., Nourshargh S., Núñez G., O'Connor J.E., Ochel A., Oja A., Ordonez D., Orfao A., Orłowski-Oliver E., Ouyang W., Oxenius A., Palankar R., Panse I., Pattanapanyasat K., Paulsen M., Pavlinic D., Penter L., Peterson P., Peth C., Petriz J., Piancone F., Pickl W.F., Piconese S., Pinti M., Pockley A.G., Podolska M.J., Poon Z., Pracht K., Prinz I., Pucillo C.E.M., Quataert S.A., Quatrini L., Quinn K.M., Radbruch H., Radstake T.R.D.J., Rahmig S., Rahn H.P., Rajwa B., Ravichandran G., Raz Y., Rebhahn J.A., Recktenwald D., Reimer D., Reis e Sousa C., Remmerswaal E.B.M., Richter L., Rico L.G., Riddell A., Rieger A.M., Robinson J.P., Romagnani C., Rubartelli A., Ruland J., Saalmüller A., Saeys Y., Saito T., Sakaguchi S., Sala-de-Oyanguren F., Samstag Y., Sanderson S., Sandrock I., Santoni A., SanzMR.B., Saresella M., Sautes-Fridman C., Sawitzki B., Schadt L., Scheffold A., Scherer H.U., Schiemann M., Schildberg F.A., Schimisky E., Schlitzer A., Schlosser J., Schmid S., Schmitt S., Schober K., Schraivogel D., Schuh W., Schüler T., Schulte R., Schulz A.R., Schulz S.R., Scottá C., Scott-Algara D., Sester D.P., Shankey T.V., Silva-Santos B., Simon A.K., Sitnik K.M., Sozzani S., Speiser D.E., Spidlen J., Stahlberg A., Stall A.M., Stanley N., Stark R., Stehle C., Steinmetz T., Stockinger H., Takahama Y., Takeda K., Tan L., Tárnok A., Tiegs G., Toldi G., Tornack J., Traggiai E., Trebak M., Tree T.I.M., Trotter J., Trowsdale J., Tsoumakidou M., Ulrich H., Urbanczyk S., van de Veen W., van den Broek M., van der Pol E., Van Gassen S., Van Isterdael G., van Lier R.A.W., Veldhoen M., Vento-Asturias S., Vieira P., Voehringer D., Volk H.D., von Borstel A., von Volkman K., Waisman A., Walker R.V., Wallace P.K., Wang S.A., Wang X.M., Ward M.D., Ward-Hartstonge K.A., Warnatz K., Warnes G., Warth S., Waskow C., Watson J.V., Watzl C., Wegener L., Weisenburger T., Wiedemann A., Wienands J., Wilharm A., Wilkinson R.J., Willimsky G., Wing J.B., Winkelmann R., Winkler T.H., Wirz O.F., Wong A., Wurst P., Yang J.H.M., Yang J., Yazdanbakhsh M., Yu L., Yue A., Zhang H., Zhao Y., Ziegler S.M., Zielinski C., Zimmermann J., Zychlinsky A. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *Eur J Immunol.* 2019; 49(10):1457-1973. doi:10.1002/eji.201970107.

22. Morita R., Schmitt N., Bentebibel S.E., Ranganathan R., Bourdery L., Zurawski G., Foucat E., Dullaers M., Oh S., Sabzghabaei N., Lavecchio E.M., Punaro M., Pascual V., Banchereau J., Ueno H. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity.* 2011; 34(1):108-21. doi:10.1016/j.immuni.2010.12.012.

23. Lord G.M., Rao R.M., Choe H., Sullivan B.M., Lichtman A.H., Luscinskas F.W., Glimcher L.H. T-bet is required for optimal proinflammatory CD4⁺ T-cell trafficking. *Blood.* 2005; 106(10):3432-9. doi:10.1182/blood-2005-04-1393.

24. Breitfeld D., Ohl L., Kremmer E., Ellwart J., Sallusto F., Lipp M., Förster R. Follicular B-helper

T-cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med.* 2000; 192(11):1545-52. doi:10.1084/jem.192.11.1545.

25. Long D., Chen Y., Wu H., Zhao M., Lu Q. Clinical significance and immunobiology of IL-21 in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2019; 99:1-14. doi:10.1016/j.jaut.2019.01.013.

26. Ribeiro F., Romão V.C., Rosa S., Jesus K., Água-Doce A., Barreira S.C., Martins P., da Silva S.L., Nobre E., Bugalho M.J., Fonseca V.R., Eurico Fonseca J., Graca L. Different antibody-associated autoimmune diseases have distinct patterns of T follicular cell dysregulation. *Sci Rep.* 2022; 12(1):17638. doi:10.1038/s41598-022-21576-8.

27. Lechner M.G., Zhou Z., Hoang A.T., Huang N., Ortega J., Scott L.N., Chen H.C., Patel A.Y., Yakhshitafti R., Kim K., Hugo W., Famini P., Drakaki A., Ribas A., Angell T.E., Su M.A. Clonally expanded, thyrotoxic effector CD8⁺ T cells driven by IL-21 contribute to checkpoint inhibitor thyroiditis. *Sci Transl Med.* 2023; 15(696):eadg0675. doi:10.1126/scitranslmed.adg0675.

28. Zivancevic-Simonovic S., Mihaljevic O., Majstorovic I., Popovic S., Markovic S., Milosevic-Djordjevic O., Jovanovic Z., Mijatovic-Teodorovic L., Mihajlovic D., Colic M. Cytokine production in patients with papillary thyroid cancer and associated autoimmune Hashimoto thyroiditis. *Cancer Immunol Immunother.* 2015; 64(8):1011-9. doi:10.1007/s00262-015-1705-5.

29. Bednarczuk T., Placha G., Jazdzewski K., Kurylowicz A., Kloza M., Makowska U., Hiromatsu Y., Nauman J. Interleukin-13 gene polymorphisms in patients with Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003; 59(4):519-25. doi:10.1046/j.1365-2265.2003.01880.x.

30. Ajjan R.A., Watson P.F., Weetman A.P. Detection of IL-12, IL-13, and IL-15 messenger ribonucleic acid in the thyroid of patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(2):666-9. doi:10.1210/jcem.82.2.3760.

31. Zhao J., Chen Y., Zhao Q., Shi J., Yang W., Zhu Z., Yu W., Guan J., Song Y., Wu H., Jin W., Zhou Y., Liu J. Increased circulating Tfh17 and PD-1⁺Tfh cells are associated with autoantibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Autoimmunity.* 2018; 51(7):352-359. doi:10.1080/08916934.2018.1516761.

Авторы

Соболевская Полина Анатольевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (Санкт-Петербургский государственный университет)

Научный сотрудник

Санкт-Петербург, Российская Федерация

dr.polinasobolevskaia@bk.ru

Гвоздецкий Антон Николаевич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)

К. м. н., ассистент кафедры психиатрии и наркологии

Санкт-Петербург, Российская Федерация

comisora@yandex.ru

Кудрявцев Игорь Владимирович

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»)

К. б. н., заведующий лабораторией клеточной иммунологии

Санкт-Петербург, Российская Федерация

igorek1981@yandex.ru

Черешнев Валерий Александрович
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии
Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН)
Д. м. н., профессор, академик РАН, научный руководитель
Екатеринбург, Российская Федерация
v.chereshnev@mail.ru

Чурилов Леонид Павлович
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет» (Санкт-Петербургский государственный университет)
К. м. н., доцент, академик АМН Республики Молдова, заведующий кафедрой патологии
Санкт-Петербург, Российская Федерация
elpach@mail.ru

*P.A. Sobolevskaiia¹, A.N. Gvozdeckii², I.V. Kudryavtsev³,
V.A. Chereshnev⁴, L.P. Churilov¹*

ANALYSIS OF FOLLICULAR TH-SUBSETS IN PATIENTS WITH HASHIMOTO THYROIDITIS ASSOCIATED WITH MENTAL DISORDERS

¹FSBEI HPE «Saint-Petersburg State University», Saint-Petersburg, Russian Federation;

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
Saint-Petersburg, Russian Federation;

³Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine»,
Saint-Petersburg, Russian Federation;

⁴Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract: This study presents an analysis of T-follicular helpers (Tfh) subsets in patients with Hashimoto's chronic autoimmune thyroiditis (AIT) and examines their relationships with various clinical and laboratory parameters. **Objective.** To analyze Tfh-subsets in peripheral blood in patients with AIT, as well as in patients with AIT combined with mental disorders (MD). **Materials and Methods.** The study involved 80 participants aged 18 to 75 years, divided into three groups: the AIT+MD group (14 patients with AIT combined with various MD, mean age 54.3±11.4 years); the AIT group (46 patients with AIT without MD, mean age 48.6±12.5 years); and the control group HC (20 mentally and physically healthy individuals, mean age 45.6±13.1 years). Methods included multiparametric fluorescent analysis of cytokine concentrations, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for hormone and antibody concentrations, and flow cytometry for lymphocyte subpopulation analysis. **Results.** The study demonstrated elevated levels of CXCR3 expression on the surface of Tfh in patients with AIT and MD, which correlated with signs of thyroid gland involvement and may be pathogenetically significant for lymphocyte migration to the central nervous system (CNS) and thyroid gland. It was also shown that the proportion of Tfh in the blood was higher in the group of patients with MD than in other groups, and the level of IL-21 synthesized by Tfh was statistically significantly different in both groups of AIT patients compared to the control group. **Conclusions.** The study indicated that patients with MD exhibit an imbalance in the subpopulation composition of Tfh: a decrease in the Tfh2 subpopulation, which likely migrates to the lymph nodes and thyroid gland, which in AIT undergoes pronounced lymphoid infiltration and even forms lymphoid follicles, where these lymphocytes likely express IL-5 and IL-13, the systemic concentrations of which were elevated in patients with AIT and MD.

Keywords: autoimmune thyroiditis, mental disorders, cytokines, follicular T-helpers

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Polina A. Sobolevskaia

dr.polin Sobolevskaia@bk.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Sobolevskaia P.A., Gvozdeckii A.N., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A., Churilov L.P. Analysis of follicular Th-subsets in patients with Hashimoto thyroiditis associated with mental disorders. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 4, pp. 446–466. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-446-466 (In Russ)

REFERENCES

1. Khaitov M.R. Immunology: Structure and functions of the immune system [Immunologija: Struktura i funkcii immunnnoj sistemy]. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media=Moskva: GJeOTAR-Media, 2019. (In Russ).
2. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and Molecular Immunology E-Book: Cellular and Molecular Immunology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2021.
3. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019; 33(6):101367. doi:10.1016/j.beem.2019.101367.
4. Nanba T., Watanabe M., Inoue N., Iwatani Y. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease. *Thyroid* 2009; 19(5):495-501. doi:10.1210/jc.2011-1900.
5. Li Q., Wang B., Mu K., Zhang J.A. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T-lymphocytes - Cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm. *J Cell Physiol* 2019; 234(3):2204-16. doi:10.1002/eji.201970107.
6. Bedoya S.K., Lam B., Lau K., Larkin J. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013:986789. doi:10.1016/j.jaut.2019.01.012.
7. Hashimoto H. Zur kenntniss der lymphomatosen veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir*; 97:219-48.
8. Pearce J.M. Sir William Withey Gull (1816-1890). *Eur Neurol.* 2006; 55(1):53-6. doi:10.1159/000091430.
9. Stroev Yu.I., Utekhin V.I., Churilov L.P. Hashimoto's autoimmune thyroiditis, its consequences and comorbidity [Autoimmunnyj tiroidit Hasimoto, ego posledstvija i komorbidnost']. In: A Guide to autoimmune diseases for general practitioners [Rukovodstvo po autoimmunnym zabolevanijam dlja vrachej obshhej praktiki]. Edited by I.Schoenfeld, P.L.Meroni, L.P.Churilov. St. Petersburg: ALBI-Medkniga=Sankt-Peterburg: JeLBI-Medkniga, 2017; 298-325. (In Russ).
10. Shi Y., Wang H., Su Z., Chen J., Xue Y., Wang S., Xue Y., He Z., Yang H., Zhou C., Kong F., Liu Y., Yang P., Lu L., Shao Q., Huang X., Xu H. Differentiation imbalance of Th1/Th17 in peripheral blood mononuclear cells might contribute to pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Scand J Immunol.* 2010; 72(3):250-5. doi:10.1111/j.1365-3083.2010.02425.x.
11. Guo Y., Zynat J., Xing S., Xin L., Li S., Mammatt N., Chen Y., Zhao L., Zhao H., Wang X. Immunological changes of T helper cells in flow cytometer-sorted CD4⁺ T cells from patients with Hashimoto's thyroiditis. *Exp Ther Med.* 2018; 15(4):3596-3602. doi:10.3892/etm.2018.5825.
12. Zhu C., Ma J., Liu Y., Tong J., Tian J., Chen J., Tang X., Xu H., Lu L., Wang S. Increased frequency of follicular helper T cells in patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(3):943-50. doi:10.1210/jc.2011-2003.
13. Sánchez-Gutiérrez R., Martínez-Hernández R., Serrano-Somavilla A., Sampredo-Nuñez M., Mendoza-Pérez A., de Nova J.L.M., Vitales-Noyola M., González-Amaro R., Marazuela M. Analysis of T follicular and T peripheral helper lymphocytes in autoimmune thyroid disease. *Endocrine.* 2024; 15. doi:10.1007/s12020-024-03686-7.
14. Churilov L.P., Sobolevskaia P.A., Stroev Y.I. Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019; 33(6):101364. doi:10.1016/j.beem.2019.101364.
15. Akamizu T., Amino N. Hashimoto's Thyroiditis. In: Feingold K.R., Anawalt B., Blackman M.R.,

Boyce A., Chrousos G., Corpas E., de Herder W.W., Dhatariya K., Dungan K., Hofland J., Kalra S., Kaltsas G., Kapoor N., Koch C., Kopp P., Korbonits M., Kovacs C.S., Kuohung W., Laferrère B., Levy M., McGee E.A., McLachlan R., New M., Purnell J., Sahay R., Shah A.S., Singer F., Sperling M.A., Stratakis C.A., Trence D.L., Wilson D.P., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. PMID: 25905412.

16. Ramakrishna H.K. Medical Statistics. Singapore: Springer Singapore, 2017; 188.

17. Buri M., Curt A., Steeves J., Hothorn T. Baseline-adjusted proportional odds models for the quantification of treatment effects in trials with ordinal sum score outcomes. *BMC Med Res Methodol.* 2020; 20(1):104. doi:10.1186/s12874-020-00984-2.

18. Benjamini Y., Drai D., Elmer G., Kafkafi N., Golani I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behav Brain Res.* 2001; 125(1-2):279-84. doi:10.1016/s0166-4328(01)00297-2.

19. Kudryavtsev I.V. Memory T-cells: The main populations and stages of differentiation [T-kletki pamjati: Osnovnye populjicii i stadii differencirovki]. *Russian Immunological Journal=Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2014; 8(4):947-64. (In Russ).

20. Brodie T., Brenna E., Sallusto F. OMIP-018: chemokine receptor expression on human T helper cells. *Cytometry A.* 2013; 83(6):530-2. doi:10.1002/cyto.a.22278.

21. Cossarizza A., Chang H.D., Radbruch A., Acs A., Adam D., Adam-Klages S., Agace W.W., Aghaeepour N., Akdis M., Allez M., Almeida L.N., Alvisi G., Anderson G., Andrä I., Annunziato F., Anselmo A., Bacher P., Baldari C.T., Bari S., Barnaba V., Barros-Martins J., Battistini L., Bauer W., Baumgart S., Baumgarth N., Baumjohann D., Baving B., Bebawy M., Becher B., Beisker W., Benes V., Beyaert R., Blanco A., Boardman D.A., Bogdan C., Borger J.G., Borsellino G., Boulais P.E., Bradford J.A., Brenner D., Brinkman R.R., Brooks A.E.S., Busch D.H., Büscher M., Bushnell T.P., Calzetti F., Cameron G., Cammarata I., Cao X., Cardell S.L., Casola S., Cassatella M.A., Cavani A., Celada A., Chatenoud L., Chattopadhyay P.K., Chow S., Christakou E., Čičin-Šain L., Clerici M., Colombo F.S., Cook L., Cooke A., Cooper A.M., Corbett A.J., Cosma A., Cosmi L., Coulie P.G., Cumano A., Cvetkovic L., Dang V.D., Dang-Heine C., Davey M.S., Davies D., De Biasi S., Del Zotto G., Dela Cruz G.V., Delacher M., Della Bell S., Dellabona P., Deniz G., Dessing M., Di Santo J.P., Diefenbach A., Dieli F., Dolf A., Dörner T., Dress R.J., Dudziak D., Dustin M., Dutertre C.A., Ebner F., Eckle S.B.G., Edinger M., Eede P., Ehrhardt G.R.A., Eich M., Engel P., Engelhardt B., Erdei A., Esser C., Everts B., Evrard M., Falk C.S., Fehniger T.A., Felipo-Benavent M., Ferry H., Feuerer M., Filby A., Filkor K., Fillatreau S., Follo M., Förster I., Foster J., Foulds G.A., Frehse B., Frenette P.S., Frischbutter S., Fritzsche W., Galbraith D.W., Gangaev A., Garbi N., Gaudilliere B., Gazzinelli R.T., Geginat J., Gerner W., Gherardin N.A., Ghoreschi K., Gibellini L., Ginhoux F., Goda K., Godfrey D.I., Goettlinger C., González-Navajas J.M., Goodyear C.S., Gori A., Grogan J.L., Grummitt D., Grützkau A., Haftmann C., Hahn J., Hammad H., Hämmerling G., Hansmann L., Hansson G., Harpur C.M., Hartmann S., Hauser A., Hauser A.E., Haviland D.L., Hedley D., Hernández D.C., Herrera G., Herrmann M., Hess C., Höfer T., Hoffmann P., Hogquist K., Holland T., Höllt T., Holmdahl R., Hombrink P., Houston J.P., Hoyer B.F., Huang B., Huang F.P., Huber J.E., Huehn J., Hundemer M., Hunter C.A., Hwang W.Y.K., Iannone A., Ingelfinger F., Ivison S.M., Jäck H.M., Jani P.K., Jávega B., Jonjic S., Kaiser T., Kalina T., Kamradt T., Kaufmann S.H.E., Keller B., Ketelaars S.L.C., Khalilnezhad A., Khan S., Kisielow J., Klenerman P., Knopf J., Koay H.F., Kobow K., Kolls J.K., Kong W.T., Kopf M., Korn T., Kriegsmann K., Kristyanto H., Kroneis T., Krueger A., Kühne J., Kukat C., Kunkel D., Kunze-Schumacher H., Kurosaki T., Kurts C., Kvistborg P., Kwok I., Landry J., Lantz O., Lanuti P., LaRosa F., Lehuen A., LeibundGut-Landmann S., Leipold M.D., Leung L.Y.T., Levings M.K., Lino A.C., Liotta F., Litwin V., Liu Y., Ljunggren H.G., Lohoff M., Lombardi G., Lopez L., López-Botet M., Lovett-Racke A.E., Lubberts E., Luche H., Ludewig B., Lugli E., Lunemann S., Maecker H.T., Maggi L., Maguire O., Mair F., Mair K.H., Mantovani A., Manz R.A., Marshall A.J., Martínez-Romero A., Martrus G., Marventano I., Maslinski W., Matarese G., Mattioli A.V., Maueröder C., Mazzoni A., McCluskey J., McGrath M., McGuir H.M., McInnes I.B., Mei H.E., Melchers F., Melzer S., Mielenz D., Miller S.D., Mills K.H.G., Minderman H., Mjösberg J., Moore J., Moran B., Moretta L., Mosmann T.R., Müller S., Multhoff G., Muñoz L.E., Münz C., Nakayama T., Nasi M., Neumann K., Ng L.G., Niedobitek A., Nourshargh S., Núñez G., O'Connor J.E., Ochel A., Oja A., Ordonez D., Orfao A., Orłowski-Oliver E., Ouyang W., Oxenius A., Palankar R., Panse I., Pattanapanyasat K., Paulsen M., Pavlinic D., Penter L., Peterson P., Peth C., Petriz J., Piancone F., Pickl W.F., Piconese S., Pinti M., Pockley A.G., Podolska M.J., Poon Z., Pracht K., Prinz I.,

Pucillo C.E.M., Quataert S.A., Quatrini L., Quinn K.M., Radbruch H., Radstake T.R.D.J., Rahmig S., Rahn H.P., Rajwa B., Ravichandran G., Raz Y., Rebhahn J.A., Recktenwald D., Reimer D., Reis e Sousa C., Remmerswaal E.B.M., Richter L., Rico L.G., Riddell A., Rieger A.M., Robinson J.P., Romagnani C., Rubartelli A., Ruland J., Saalmüller A., Saeys Y., Saito T., Sakaguchi S., Sala-de-Oyanguren F., Samstag Y., Sanderson S., Sandrock I., Santoni A., SanzMR.B., Saresella M., Sautes-Fridman C., Sawitzki B., Schadt L., Scheffold A., Scherer H.U., Schiemann M., Schildberg F.A., Schimisky E., Schlitzer A., Schlosser J., Schmid S., Schmitt S., Schober K., Schraivogel D., Schuh W., Schüler T., Schulte R., Schulz A.R., Schulz S.R., Scottá C., Scott-Algara D., Sester D.P., Shankey T.V., Silva-Santos B., Simon A.K., Sitnik K.M., Sozzani S., Speiser D.E., Spidlen J., Stahlberg A., Stall A.M., Stanley N., Stark R., Stehle C., Steinmetz T., Stockinger H., Takahama Y., Takeda K., Tan L., Tárnok A., Tiegs G., Toldi G., Tornack J., Traggiai E., Trebak M., Tree T.I.M., Trotter J., Trowsdale J., Tsoumakidou M., Ulrich H., Urbanczyk S., van de Veen W., van den Broek M., van der Pol E., Van Gassen S., Van Isterdael G., van Lier R.A.W., Veldhoen M., Vento-Asturias S., Vieira P., Voehringer D., Volk H.D., von Borstel A., von Volkman K., Waisman A., Walker R.V., Wallace P.K., Wang S.A., Wang X.M., Ward M.D., Ward-Hartstonge K.A., Warnatz K., Warnes G., Warth S., Waskow C., Watson J.V., Watzl C., Wegener L., Weisenburger T., Wiedemann A., Wienands J., Wilharm A., Wilkinson R.J., Willmsky G., Wing J.B., Winkelmann R., Winkler T.H., Wirz O.F., Wong A., Wurst P., Yang J.H.M., Yang J., Yazdanbakhsh M., Yu L., Yue A., Zhang H., Zhao Y., Ziegler S.M., Zielinski C., Zimmermann J., Zychlinsky A. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *Eur J Immunol.* 2019; 49(10):1457-1973. doi:10.1002/eji.201970107.

22. Morita R., Schmitt N., Bentebibel S.E., Ranganathan R., Bourdery L., Zurawski G., Foucat E., Dullaers M., Oh S., Sabzghabaei N., Lavecchio E.M., Punaro M., Pascual V., Banchereau J., Ueno H. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity.* 2011; 34(1):108-21. doi:10.1016/j.immuni.2010.12.012.

23. Lord G.M., Rao R.M., Choe H., Sullivan B.M., Lichtman A.H., Luscinskas F.W., Glimcher L.H. T-bet is required for optimal proinflammatory CD4⁺ T-cell trafficking. *Blood.* 2005; 106(10):3432-9. doi:10.1182/blood-2005-04-1393.

24. Breitfeld D., Ohl L., Kremmer E., Ellwart J., Sallusto F., Lipp M., Förster R. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med.* 2000; 192(11):1545-52. doi:10.1084/jem.192.11.1545.

25. Long D., Chen Y., Wu H., Zhao M., Lu Q. Clinical significance and immunobiology of IL-21 in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2019; 99:1-14. doi:10.1016/j.jaut.2019.01.013.

26. Ribeiro F., Romão V.C., Rosa S., Jesus K., Água-Doce A., Barreira S.C., Martins P., da Silva S.L., Nobre E., Bugalho M.J., Fonseca V.R., Eurico Fonseca J., Graca L. Different antibody-associated autoimmune diseases have distinct patterns of T follicular cell dysregulation. *Sci Rep.* 2022; 12(1):17638. doi:10.1038/s41598-022-21576-8.

27. Lechner M.G., Zhou Z., Hoang A.T., Huang N., Ortega J., Scott L.N., Chen H.C., Patel A.Y., Yakhshitafti R., Kim K., Hugo W., Famini P., Drakaki A., Ribas A., Angell T.E., Su M.A. Clonally expanded, thyrotoxic effector CD8⁺ T cells driven by IL-21 contribute to checkpoint inhibitor thyroiditis. *Sci Transl Med.* 2023; 15(696):eadg0675. doi:10.1126/scitranslmed.adg0675.

28. Zivancevic-Simonovic S., Mihaljevic O., Majstorovic I., Popovic S., Markovic S., Milosevic-Djordjevic O., Jovanovic Z., Mijatovic-Teodorovic L., Mihajlovic D., Colic M. Cytokine production in patients with papillary thyroid cancer and associated autoimmune Hashimoto thyroiditis. *Cancer Immunol Immunother.* 2015; 64(8):1011-9. doi:10.1007/s00262-015-1705-5.

29. Bednarczuk T., Placha G., Jazdzewski K., Kurylowicz A., Kloza M., Makowska U., Hiromatsu Y., Nauman J. Interleukin-13 gene polymorphisms in patients with Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003; 59(4):519-25. doi:10.1046/j.1365-2265.2003.01880.x.

30. Ajjan R.A., Watson P.F., Weetman A.P. Detection of IL-12, IL-13, and IL-15 messenger ribonucleic acid in the thyroid of patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(2):666-9. doi:10.1210/jcem.82.2.3760.

31. Zhao J., Chen Y., Zhao Q., Shi J., Yang W., Zhu Z., Yu W., Guan J., Song Y., Wu H., Jin W., Zhou Y., Liu J. Increased circulating Tfh17 and PD-1⁺Tfh cells are associated with autoantibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Autoimmunity.* 2018; 51(7):352-359. doi:10.1080/08916934.2018.1516761.

Auhtors

Sobolevskaia Polina Anatolievna

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Saint-Petersburg State University» (Saint-Petersburg State University)

Researcher of the Laboratory of the Microangiopathic Mechanisms of Atherogenesis

St.Petersburg, Russian Federation

dr.polinasobolevskaia@bk.ru

Gvozdeckii Anton Nikolaevich

North-Western State Medical University named after I.I.Mechnikov

Ph.D. (Medicine), Assistant of the Department of Psychiatry and Narcology

St.Petersburg, Russian Federation

comisora@yandex.ru

Kudryavtsev Igor Vladimirovich

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine» (FSBSI «IEM»)

Ph.D. (Biology), Head of the Laboratory of Cellular Immunology

St.Petersburg, Russian Federation

igorek1981@yandex.ru

Chereshnev Valerii Alexandrovich

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)

MD, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Scientific Director

Yekaterinburg, Russian Federation

v.chereshnev@mail.ru

Churilov Leonid Pavlovich

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Saint-Petersburg State University» (Saint-Petersburg State University)

Ph.D. (Medicine), Academician of the Moldovan Academy of Medical Sciences, Associate Professor, Chairman of the of the Pathology Department

St.Petersburg, Russian Federation

elpach@mail.ru