

<https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-3-22-29>

СУБПОПУЛЯЦИИ МОНОЦИТОВ И НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

П.О. Хоменко^{1✉}, Е.А. Козинцева¹, А.А. Аклев²¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия²Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

Введение. Повышенный риск развития злокачественных новообразований и заболеваний сердечно-сосудистой системы установлен для разных когорт облученных людей. При этом известна важная роль моноцитов и натуральных киллеров в модуляции воспаления и канцерогенеза.

Цель. Оценка абсолютного и относительного количества клеток в субпопуляциях моноцитов и натуральных киллеров в периферической крови у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Материалы и методы. Обследованы 33 человека из когорты реки Теча, средний возраст пациентов — 74,9 года. Пациенты были разделены на три подгруппы в зависимости от величины поглощенной дозы облучения в красном костном мозге (70–249 мГр, 250–699 мГр, 700–1429 мГр соответственно), средняя поглощенная доза облучения красного костного мозга — $542,1 \pm 65,3$ мГр, средняя поглощенная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов — $99,7 \pm 14,4$ мГр. Группу сравнения составили 10 человек, средний возраст — 71,8 года, без техногенного облучения в анамнезе, сопоставимых по полу и этнической принадлежности.

Результаты. Во второй дозовой подгруппе доля CD14⁺CD16⁺ моноцитов была статистически значимо выше (8,47%), чем в группе сравнения (5,52%, $p = 0,014$), а абсолютное количество CD14⁺CD16⁺ моноцитов ($0,040 \times 10^9/\text{л}$) — больше, чем в третьей подгруппе ($0,018 \times 10^9/\text{л}$, $p = 0,044$). Не обнаружено статистически значимых корреляций указанных показателей с факторами радиационной и нерадиационной природы.

Выводы. У людей из второй подгруппы относительное количество CD14⁺CD16⁺ моноцитов было статистически значимо выше, чем в группе сравнения, в то время как абсолютное число CD14⁺CD16⁺ моноцитов — больше, чем в третьей подгруппе, без статистически значимой взаимосвязи с факторами радиационной и нерадиационной природы.

Ключевые слова: хроническое радиационное воздействие; река Теча; субпопуляции; моноциты периферической крови; натуральные киллеры; отдаленные сроки; молекулярные маркеры

Для цитирования: Хоменко П.О., Козинцева Е.А., Аклев А.А. Субпопуляции моноцитов и натуральных киллеров периферической крови человека в отдаленном периоде хронического облучения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2024;26(3):22–29. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-3-22-29>

Финансирование: научно-исследовательская работа выполнена в рамках государственного задания ФМБА России по теме «Исследование функционального состояния клеток-эффекторов противоопухолевого иммунитета человека в период реализации канцерогенных эффектов хронического радиационного воздействия» (Соглашение о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) № 388-03-2024-155 от 24 января 2024 года).

Благодарности: Н.В. Старцеву, заведующему отделом базы данных «Человек» (ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» Федерального медико-биологического агентства) за помощь в формировании исследуемых групп.

Соответствие принципам этики: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» Федерального медико-биологического агентства (протокол № 8 от 19.12.2022). Все пациенты, участвовавшие в исследовании, предварительно подписывали добровольное информированное согласие в рамках Хельсинкской декларации 2013 г.

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Хоменко Полина Олеговна polinahomenko@mail.ru

Статья поступила: 31.07.2024 После доработки: 26.09.2024 Принята к публикации: 03.10.2024

SUBPOPULATIONS OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES AND NATURAL KILLER CELLS IN THE LONG-TERM PERIOD OF CHRONIC EXPOSURE

Polina O. Khomenko^{1✉}, Ekaterina A. Kodintseva¹, Andrey A. Akleyev²¹Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical and Biological Agency, Chelyabinsk, Russian Federation²South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Introduction. An increased risk of malignancy and cardiovascular diseases is revealed in exposed individuals from different cohorts. Monocyte and natural killer (NK) cells modulate inflammation and carcinogenesis.

Objective. To evaluate absolute and relative cell counts in monocyte and natural killer cell subpopulations in the peripheral blood of individuals exposed to chronic irradiation.

Materials and methods. Thirty-five persons from the Techa River cohort were examined, divided into three subgroups depending on the radiation absorbed dose calculated to the red bone marrow (RBM) (70–249 mGy; 250–699 mGy; 700–1429 mGy, respectively). The mean age of patients was 74.9 years; the mean value of the radiation absorbed dose to RBM was 542.0 ± 65.3 mGy, while that of the radiation absorbed dose to thymus and peripheral lymphoid organs was 99.7 ± 14.4 mGy. The comparison group consisted of 10 persons without a history of anthropogenic irradiation of similar gender and ethnicity, mean age — 71.8 years.

Results. In the second dose subgroup, the proportion of CD14⁺CD16⁺ monocytes was statistically significantly higher (8.47%) than in the comparison group (5.52%, $p=0.014$), and the absolute CD14⁺CD16⁺ monocytes count ($0.040 \times 10^9/\text{l}$) was also higher than in the third subgroup ($0.018 \times 10^9/\text{l}$, $p=0.044$) without correlations with radiation and non-radiation factors. No statistically significant differences of other studied parameters between the groups were revealed.

Conclusion. In persons from the second subgroup the relative number of CD14⁺CD16⁺ monocytes was statistically significantly higher than in the comparison group; the absolute CD14⁺CD16⁺ monocytes count was also higher than in the third subgroup without correlations with factors of a radiation and non-radiation nature. The findings are preliminary.

Keywords: chronic radiation exposure; Techa River; subpopulations; peripheral blood monocytes; natural killer cells; long-term period; molecular markers

© П.О. Хоменко, Е.А. Козинцева, А.А. Аклев, 2024

For citation: Khomenko P.O., Kodintseva E.A., Akleyev A.A. Subpopulations of monocytes and natural killer cells of human peripheral blood in the long-term period of chronic irradiation. *Extreme Medicine*. 2024;26(3):22–29. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-3-22-29>

Finding: the research work was performed within the framework of the state assignment of the Federal Medical and Biological Agency of Russia on the topic “Study of the functional state of effector cells of human antitumor immunity during the realization of carcinogenic effects of chronic radiation exposure” (Agreement on granting a subsidy from the federal budget for financial provision of the state assignment for public services (works) No. 388-03-2024-155 dated January 24, 2024).

Acknowledgements: the authors thank N.V. Startsev, Head of the Human Database Department (FGBUN UNPC RM FMBA of Russia) for assistance in the formation of the study groups.

Compliance with ethical principles: the study was approved by the Ethical Committee of FGBUN FGUBUN UNPC RM FMBA of Russia (protocol No. 8 of 19.12.2022). All patients participating in the study had previously signed voluntary informed consent within the framework of the Helsinki Declaration of 2013.

Potential conflict of interest: the authors declare that there is no conflict of interest.

✉ Polina O. Khomenko polinahomenko@mail.ru

Received: 31 July 2024 **Revised:** 26 Sept. 2024 **Accepted:** 03 Oct. 2024

ВВЕДЕНИЕ

Повышенный риск возникновения злокачественных новообразований (ЗНО) среди жителей побережья реки Течи, пострадавших от воздействия ионизирующего излучения (ИИ), — научно установленный факт, подтвержденный эпидемиологическими исследованиями [1, 2]. В работах многих авторов была выявлена корреляционная зависимость между дозой ИИ и риском развития гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, цереброваскулярных заболеваний у облученных людей в отдаленные сроки после воздействия ИИ [3]. Однако до сих пор недостаточно изучен механизм влияния ИИ на ключевые иммунные реакции, опосредующие неопластические процессы и/или развитие сердечно-сосудистой патологии у облученных людей в отдаленные сроки воздействия ИИ [4].

Рядом авторов подчеркивается, что у людей, пострадавших в результате техногенного радиоактивного загрязнения реки Течи, по сравнению с необлученными лицами отмечались более низкие показатели интенсивности внутриклеточного кислород-зависимого метаболизма моноцитов, снижение содержания интерлейкина-4 (ИЛ-4), повышение уровней фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и гамма-интерферона (ИФН- γ) в сыворотке крови [5]. В то же время для ФНО- α установлена слабая взаимосвязь с величиной поглощенной дозы облучения красного костного мозга (ККМ) [6].

При изучении патогенеза отдаленных эффектов хронического облучения моноциты/макрофаги представляют особый интерес. Роль этих клеток в регуляции гемопозеза и регенерации ККМ мало изучена и является перспективным направлением исследований [7] как в физиологических условиях, так и при поражении ККМ остеотропными радионуклидами. Моноциты и макрофаги вносят существенный вклад в развитие реакций как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа, распознавая широкий спектр антигенных субстанций, участвуя в презентации антигена Т-лимфоцитам и регуляции иммунных ответов в зависимости от типа реакции, ее интенсивности и продолжительности, а также участвуют в формировании иммунологической памяти [8].

Для многих видов онкопатологии отмечено, что развитие воспалительного процесса, обусловленного в том числе активными моноцитами/макрофагами, потенцирует превращение предмалигнантной ткани в полностью

злокачественную. Ранее отмечалось, что в патогенезе ЗНО иммунные клетки играют двойственную роль. С одной стороны, они способны эффективно и быстро распознавать, обезвреживать и элиминировать из организма стареющие, поврежденные, трансформированные и опухолевые клетки. С другой — иммунциты, в норме обеспечивающие воспаление и удаление из организма генетически чужеродных агентов, способствуют формированию проопухолевого микроокружения, продуцируя цитокины и ростовые факторы, которые стимулируют развитие опухоли. В частности, производимый макрофагами фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (MIF), подавляет в клетках экспрессию гена P53, одного из ключевых регуляторов клеточного цикла и апоптоза, что приводит к недостаточно эффективному ответу на повреждение ДНК, увеличению продолжительности жизни клеток и, как следствие, накоплению мутаций.

Моноциты/макрофаги продуцируют спектр ростовых факторов (в частности, сосудистый эндотелиальный фактор роста — VEGF), что способствует васкуляризации опухоли и ее метастазированию. В свою очередь, сигнальные молекулы опухоли обеспечивают хемотаксис моноцитов из периферической крови в очаг злокачественного роста и их дифференцировку в макрофаги. Сочетание гипоксии и медиаторов, выделяемых опухолевыми клетками, инициирует перепрограммирование *de novo* рекрутированных макрофагов микроокружения в промоутеры роста опухоли — «опухоль-ассоциированные макрофаги» [9]. Наличие в микроокружении опухоли макрофагов, тучных клеток, нейтрофилов, как правило, ассоциируется с повышенным ангиогенезом и плохим прогнозом. Однако некоторые кластеры макрофагов в микроокружении опухоли могут быть связаны с ее регрессией [10].

Цитолитическая активность натуральных киллеров (НК) определяется балансом между активирующими и подавляющими сигналами и реализуется путем перфорации мембраны клетки-мишени. НК-клетки могут экспрессировать на мембране α -цепь CD8, но в более низкой плотности, чем цитотоксические Т-клетки. Субпопуляции НК человека, экспрессирующие $\alpha\alpha$ -гомономер CD8, обладают большей цитотоксичностью, чем НК-клетки без молекулы CD8 на мембране. Сообщается, что CD38⁺CD8⁺ НК-клетки обладают высокой цитолитической активностью [11].

Полноценная активация иммуноцитов в ответ на опухолевые антигены может приводить к элиминации опухолевых клеток, тогда как неэффективные иммунные

ответы на фоне хронического, ассоциированного с возрастом воспаления [12] способны привести к опухолевой прогрессии. Хронически активированные клетки врожденного иммунитета (моноциты/макрофаги, натуральные киллеры, нейтрофилы и другие) могут способствовать развитию ЗНО посредством подавления иммунных реакций, гиперпродукции активных форм кислорода, повреждающих биологические мембраны и ДНК клеток, секреции ростовых факторов и иными способами. На основании вышеизложенного изучение особенностей количественного состава субпопуляций моноцитов у облученных людей, жителей побережья реки Течи, которые в настоящее время достигли возраста реализации онкогенных эффектов, сопряженных с воздействием ИИ, является актуальным и приоритетным.

Цель работы — оценка абсолютного и относительно количества клеток в субпопуляциях моноцитов и натуральных киллеров в периферической крови у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на базе Уральского научно-практического центра радиационной медицины ФМБА России. Обследовано 45 хронически облученных сельских жителей, постоянно проживающих в прибрежных районах реки Течи, техногенно загрязненных в 1950-е годы вследствие деятельности производственного объединения «Маяк». Для каждого пациента предварительно были рассчитаны индивидуализированные дозы при помощи системы Techa River Dosimetry System-2016 (TRDS-2016) [13].

33 человека, у которых поглощенная доза, рассчитанная на ККМ, на момент обследования составляла 70 мГр и более, были включены в основную группу. Минимальная доза облучения, рассчитанная на ККМ, у людей из этой группы была равна 88,5 мГр, максимальная — 1429 мГр, диапазон доз, рассчитанных на тимус и периферические лимфоидные органы (ТиПЛО), составил от 12 до 460 мГр. Для детального исследования зависимости «доза–эффект» основная группа была разделена на три подгруппы в зависимости от величины накопленной дозы облучения, рассчитанной на ККМ: 1-я подгруппа — 11 человек с дозами от 70 до 249 мГр; 2-я подгруппа — 10 человек с дозами от 250 до 699 мГр; 3-я подгруппа — 12 человек с дозами от 700 до 1429 мГр.

Группу сравнения составили 10 человек, не имеющих факта техногенного воздействия ИИ в анамнезе,

с поглощенной дозой облучения, рассчитанной на ККМ, менее 70 мГр. Доза облучения, рассчитанная на ККМ, у включенных в группу сравнения лиц находилась в диапазоне от 4 до 55 мГр, а доза на ТиПЛО — от 1 до 20 мГр.

Средний возраст обследованных лиц в группе сравнения был равен $71,8 \pm 1,2$ года, в основной группе — $74,9 \pm 0,6$ года. Исследуемые группы людей статистически значимо не различались по этническому и половому составу, но отличались по возрасту ($p = 0,026$). Данные о величине средней дозы облучения на ККМ, ТиПЛО, полом и этническом составе в обследованных группах лиц представлены в таблице 1.

Критериями исключения испытуемых из исследования являлись: признаки острых воспалительных заболеваний, хронических заболеваний в стадии обострения, почечной или печеночной недостаточности, симптомы острого нарушения мозгового кровообращения или черепно-мозговых травм в течение трех месяцев до исследования; подтвержденные онкологические и аутоиммунные заболевания; курсы гормоно-, антибиотико-, химио- и (или) радиотерапии; медицинские процедуры с применением ионизирующих излучений в течение шести месяцев перед исследованием.

Материалом для иммунологического исследования служила периферическая кровь человека. Образцы периферической крови (3 мл) получали из локтевой вены утром натощак в вакуумную пробирку с наполнителем K3-EDTA. Оценку субпопуляционного состава моноцитов и натуральных киллеров в периферической крови проводили на проточном цитометре «LongCyte C3111» (Chenglang Biotechnology, КНР) после предварительной окраски моноклональными антителами, меченными флюорохромами: CD14-PE, CD16-PerCP, CD45-APC (Elabscience, КНР) — панель для анализа моноцитов, CD3-FITC, CD56-PE, CD16-PerCP, CD8-PC7, CD45-APC (Elabscience, КНР), CD38-PO (Exbio, Чешская Республика) — панель для анализа НК, с последующим лизированием эритроцитов раствором «VersaLyse» (Beckman Coulter Inc., США) согласно инструкции производителей реагентов по стандартизованной методике [14]. В день взятия крови для исследования иммунологических показателей в клинико-диагностической лаборатории ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России пациентам выполнялся в установленном порядке общий анализ крови с подсчетом лейкоформулы [15].

Статистическую обработку данных проводили в программном пакете «Statistica 12» (демонстрационная версия). Проверка данных на нормальность распределения проводилась при помощи критерия согласия типа Колмогорова — Смирнова. Для описания нормально распределенных данных использовалось среднее арифметическое (M), минимальные и максимальные значения. Для данных, которые статистически значимо отличались от нормального распределения, приводились значения медианы, а также 25- и 75-перцентильные значения.

При сравнении массивов параметрических данных применялся t -критерий Стьюдента, а для непараметрических данных использовался U -критерий Манна — Уитни. Качественные данные сравнивались с помощью критерия χ^2 . Статистически значимыми различия считались при уровне доверительной вероятности (p) менее 0,05. Для корреляционного анализа аномально распределенных данных был рассчитан коэффициент ранговой корреляции Спирмена с уровнем доверительной вероятности 5%.

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Показатель, единица измерения	Группа сравнения $n = 10$	Основная группа $n = 33$
Доза на ККМ, мГр	$22,5 \pm 5,9$	$542,1 \pm 65,3$
Доза на ТиПЛО, мГр	$8,7 \pm 2,4$	$99,7 \pm 14,4$
Половой состав, %	мужчины	20,0
	женщины	80,0
Этнический состав, %	славяне	50,0
	тюрки	50,0

Таблица подготовлена авторами по собственным данным

Примечание: данные представлены в формате среднего значения и ошибки среднего значения ($M \pm SE$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При сравнении значений исследуемых показателей у хронически облученных людей с разной дозой нагрузки у пациентов из второй подгруппы было обнаружено в периферической крови статистически значимое повышение абсолютного количества моноцитов с фенотипом CD14⁺CD16⁺ относительно лиц из третьей подгруппы ($p^* = 0,044$), и техногенно не облученных пациентов ($p = 0,014$) (табл. 2).

Однако в процессе анализа результатов количественной оценки субпопуляций моноцитов у обследованных лиц с различной дозой нагрузки не было выявлено

статистически значимых различий между медианными значениями исследуемых показателей в основной группе и группе сравнения.

Результаты количественного анализа субпопуляций натуральных киллеров, экспрессирующих молекулы активации CD8 и CD38 на клеточных мембранах, у обследованных лиц с разной поглощенной дозой облучения представлены в таблице 3.

Несмотря на то что у хронически облученных людей из основной группы относительно группы сравнения наблюдалось снижение медианного содержания натуральных киллеров, не экспрессирующих молекулы CD38 и CD8, и абсолютного количества CD38⁺ НК, статистической

Таблица 2. Результаты количественного анализа субпопуляций моноцитов у обследованных лиц

Показатель, единица измерения	Группа сравнения, n = 10	Основная группа, n = 33			Медианные значения в группе
		Подгруппы, дозы облучения			
		70–249 мГр, n = 11	250–699 мГр, n = 10	700–1429 мГр, n = 12	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	6,14 (5,25–6,60)	5,96 (5,30–6,51)	5,74 (4,70–6,41)	6,23 (5,45–7,05)	5,96 (5,30–6,51)
Моноциты, %	8,2 (7,00–9,90)	8,20 (6,40–11,00)	7,95 (5,00–8,10)	6,00 (3,50–9,15)	8,00 (5,00–9,00)
Моноциты, ×10 ⁹ /л	0,452 (0,364–0,630)	0,467 (0,376–0,679)	0,417 (0,350–0,464)	0,381 (0,185–0,588)	0,420 (0,330–0,567)
CD14 ⁺ CD16 ⁻ моноциты, %	67,86 (62,45–74,00)	65,58 (54,96–75,66)	69,48 (62,73–73,63)	66,96 (57,50–75,57)	67,68 (58,36–74,80)
CD14 ⁺ CD16 ⁻ моноциты, ×10 ⁹ /л	0,336 (0,263–0,376)	0,281 (0,218–0,415)	0,305 (0,187–0,314)	0,267 (0,128–0,328)	0,287 (0,187–0,341)
CD14 ⁺ CD16 ⁺ моноциты, %	4,77 (2,92–6,13)	4,04 (2,85–8,66)	4,25 (2,26–7,30)	3,92 (2,57–5,81)	4,04 (2,48–7,05)
CD14 ⁺ CD16 ⁺ моноциты, ×10 ⁹ /л	0,024 (0,007–0,031)	0,032 (0,006–0,034)	0,015 (0,004–0,030)	0,095 (0,007–0,019)	0,014 (0,006–0,023)
CD14 ⁺ CD16 ⁺ моноциты, %	5,52 (3,30–7,50)	6,56 (3,64–8,93)	8,47 (7,98–11,27) $p = 0,014$	6,25 (2,76–9,01)	7,94 (4,67–9,47)
CD14 ⁺ CD16 ⁺ моноциты, ×10 ⁹ /л	0,018 (0,012–0,034)	0,036 (0,023–0,042)	0,040 (0,033–0,051) $p^* = 0,044$	0,011 (0,007–0,029)	0,033 (0,009–0,042)

Таблица подготовлена авторами по собственным данным

Примечание: 1 — данные представлены в формате: медиана (25–75 процентиля). 2 — p — доверительная вероятность различий относительно группы сравнения (U -критерий Манна — Уитни). 3 — $p^* = 0,044$ — доверительная вероятность различий относительно подгруппы людей с максимальными дозами (U -критерий Манна — Уитни).

Таблица 3. Результаты количественного анализа субпопуляций НК у обследованных лиц

Показатель, единица измерения	Группа сравнения, n = 10	Основная группа, n = 33			Медианные значения в группе
		Подгруппы, дозы облучения			
		70–249 мГр, n = 11	250–699 мГр, n = 10	700–1429 мГр, n = 12	
Лимфоциты, %	37,00 (32,40–45,00)	35,00 (30,00–40,90)	39,15 (29,60–46,00)	36,35 (33,55–38,50)	35,70 (30,20–41,00)
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	2,211 (1,701–2,619)	1,979 (1,700–2,600)	1,903 (1,680–2,381)	2,145 (1,863–2,946)	1,979 (1,739–2,600)
НК (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺), %	11,75 (9,00–15,63)	10,87 (6,65–13,93)	10,70 (9,56–14,72)	13,80 (12,00–16,37)	12,00 (7,49–15,63)
НК (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺), ×10 ⁹ /л	0,266 (0,163–0,350)	0,237 (0,117–0,353)	0,195 (0,161–0,349)	0,302 (0,223–0,417)	0,269 (0,160–0,353)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , % от НК	52,39 (17,65–65,45)	42,95 (14,98–66,46)	12,36 (7,83–64,86)	22,11 (4,94–53,73)	26,44 (10,13–64,94)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , ×10 ⁹ /л	0,111 (0,040–0,224)	0,045 (0,031–0,102)	0,020 (0,014–0,046)	0,061 (0,015–0,166)	0,043 (0,015–0,114)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , % от НК	7,13 (2,75–20,00)	2,99 (0–18,92)	10,84 (2,60–30,50)	12,15 (2,03–32,86)	7,10 (1,16–21,90)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , ×10 ⁹ /л	0,011 (0,005–0,036)	0,006 (0–0,045)	0,021 (0,001–0,049)	0,036 (0,009–0,049)	0,021 (0,001–0,049)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , % от НК	22,00 (9,27–44,51)	18,07 (4,83–50,64)	8,44 (0,78–29,03)	21,28 (2,85–47,14)	18,82 (4,83–47,14)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , ×10 ⁹ /л	0,077 (0,015–0,085)	0,046 (0,014–0,154)	0,010 (0,002–0,085)	0,066 (0,011–0,099)	0,063 (0,008–0,101)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , % от НК	9,14 (4,58–18,15)	4,19 (2,48–34,05)	18,94 (2,41–38,74)	5,21 (1,23–22,67)	5,44 (2,41–34,05)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁺ CD38 ⁺ , ×10 ⁹ /л	0,015 (0,008–0,042)	0,010 (0,006–0,024)	0,010 (0,005–0,056)	0,012 (0,003–0,070)	0,010 (0,005–0,056)

Таблица подготовлена авторами по собственным данным

Примечания: 1 — данные представлены в формате: медиана (25–75 процентиля).

значимости различий не установлено по причине существенного разброса индивидуальных значений у людей из основной группы при относительно небольших размерах выборок, доверительные интервалы медианных величин перекрываются.

Вместе с тем не установлено статистически значимых различий между относительным и абсолютным количеством натуральных киллеров, экспрессирующих в различных комбинациях молекулы CD8 и CD38 на клеточной мембране, у хронически облученных людей из разных дозовых подгрупп и у лиц из группы сравнения.

При исследовании зависимости «доза–эффект» были обнаружены слабые обратные корреляционные связи между дозой, рассчитанной на ККМ, и относительным, абсолютным количеством моноцитов, абсолютным количеством моноцитов CD14⁺CD16⁻ и CD14⁺CD16⁺ и относительным количеством CD3⁻CD16⁺CD56⁺CD8⁻CD38⁻ клеток. Прямая слабая корреляционная связь была выявлена между относительным количеством НК и дозой, рассчитанной на ККМ. Корреляционные связи между исследуемыми показателями врожденного иммунитета и дозами облучения ККМ и ТиПЛО не были статистически значимыми. С целью уточнения результатов анализа зависимости исследуемых показателей врожденного иммунитета от доз облучения выборка обследуемых лиц будет расширена. У хронически облученных людей в отдаленные сроки после начала радиационного воздействия не было установлено статистически значимых корреляционных зависимостей по критерию Спирмена между количественными характеристиками лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов, а также проанализированных субпопуляций моноцитов и натуральных киллеров и такими факторами нерадиационной природы, как возраст, пол и этническая принадлежность, за исключением показателей, приведенных в таблице 4.

Данные, представленные в таблице 4, показывают наличие у людей из основной группы статистически значимой положительной связи возраста на момент обследования и доли неактивированных НК, а также отрицательной связи между этнической принадлежностью испытуемых и долей CD14⁺CD16⁺ моноцитов в периферической крови. Вместе с тем установлена достоверная связь между полом испытуемых и относительным, абсолютным количеством клеток в субпопуляции неактивированных НК и долей НК, одновременно экспрессирующих молекулы CD8 и CD38 на клеточной мембране. У людей из группы сравнения подобные корреляции не выявлены.

Результаты являются предварительными. В процессе работы исследуемые группы будут увеличены.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования согласуются с ранее полученными результатами иммунологических обследований хронически облученных людей из когорты реки Течи и дополняют их. При этом основным дозообразующим радионуклидом был остеотропный стронций-90 (⁹⁰Sr), характерной особенностью которого является длительный период полураспада (около 30 лет), кумуляция в костной ткани и длительное воздействие ИИ на центральный орган иммунной системы и гемопоэза — ККМ. Уникальный характер радиационного воздействия, а именно сочетание внешнего γ -излучения и внутреннего, преимущественно β -излучения за счет ⁹⁰Sr, по всей видимости, и лежит в основе долговременных изменений со стороны иммунной системы у жителей когорты реки Течи. Не выявлено изменений абсолютного количества лейкоцитов, относительного и абсолютного содержания моноцитов в крови между облученными и необлученными участниками исследования.

Субпопуляционный состав моноцитов и экспрессия молекул активации на натуральных киллерах в периферической крови людей из когорты реки Течи в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия исследуется впервые.

Моноциты/макрофаги — гетерогенный кластер клеток, обладающих большой пластичностью и множеством функций, обусловленных типом активирующего сигнала. Это радиорезистентные клетки, функции которых могут модулироваться воздействием (ИИ): в зависимости от дозы облучения и фракционирования эти клетки выполняют про- или противовоспалительную, про- или противоопухолевую активность. В настоящее время не представляется возможным систематизировать информацию о конкретных радиационно-индуцированных модуляциях моноцитов/макрофагов [16].

Молекула CD14 — разновидность толл-подобных рецепторов (Toll-like receptor, TLR), появляется на ранних стадиях созревания моноцитов и является их специфическим маркером [16]. Дифференцировка классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов происходит из костномозгового миелоидного предшественника. За пределами ККМ они созревают в промежуточные CD14⁺⁺CD16⁺ моноциты, дифференцируются в неклассические CD14⁺CD16⁺⁺ моноциты и далее в виде тканевых макрофагов и дендроцитов осуществляют ремоделирование и репарацию поврежденных тканей [17, 18]. Позднее созревание периферических моноцитов сопровождается экспрессией Fc γ RIII (CD16) на мембране клеток при одновременном снижении количества молекул CD14. При этом экспрессия

Таблица 4. Результаты анализа корреляционных связей между отдельными факторами нерадиационной природы и исследуемыми показателями иммунитета

Пары показателей, единицы измерения	Группа сравнения, $n = 10$		Основная группа, $n = 33$	
	<i>SR</i>	<i>p</i>	<i>SR</i>	<i>p</i>
CD14 ⁺ CD16 ⁺ моноциты, $\times 10^9/\text{л}$ & Этническая принадлежность	-0,59	0,072	-0,41	0,019
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁻ CD38 ⁻ , % от НК & Возраст на момент обследования	0,42	0,228	0,39	0,036
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁻ CD38 ⁻ , % от НК & Пол	0,09	0,811	0,50	0,005
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁻ CD38 ⁻ , $\times 10^9/\text{л}$ & Пол	-0,17	0,631	0,46	0,010
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD8 ⁻ CD38 ⁻ , % от НК & Пол	0,17	0,631	0,36	0,050

Таблица подготовлена авторами по собственным данным

Примечания: *SR* — коэффициент корреляции Спирмена; *p* — доверительная вероятность.

CD16 сопряжена с повышенной способностью моноцитов к презентации антигена, которая увеличивается с утратой экспрессии CD14 на мембране клеток [7]. Относительно низкая фагоцитарная активность, более высокая способность к выработке цитокинов и презентации антигена у таких клеток обусловлена более высокой экспрессией молекул главного комплекса гистосовместимости второго класса (MHC II) [19].

Субпопуляции моноцитов выполняют разные функции, которые определяются либо состоянием их микроокружения, представляющим сложнейшую цитокино-клеточную систему, либо их линейной дифференцировкой [18]. Функционально все моноциты/макрофаги условно классифицируются на два типа: провоспалительные (M1), которые преимущественно продуцируют ИЛ-18, ИЛ-12, ИЛ-26 и тем самым стимулируют ответы Th1 и Th17, и противовоспалительные (M2), которые в основном продуцируют ИЛ-10 и трансформирующий фактор роста бета (transforming growth factor beta, TGF- β), участвуют в иммунорегуляции и восстановлении тканей. Между этими двумя кластерами клеток существуют множество промежуточных и переходных форм, поддерживается динамический баланс цитокинов в зависимости от текущих потребностей макроорганизма [7].

Способность макрофагов отвечать на различные эндогенные и экзогенные про- и противовоспалительные стимулы обеспечивает высокую гетерогенность их фенотипа. ИФН- γ активирует провоспалительные макрофаги (M1), которые участвуют в Th1-зависимом иммунном ответе на онкотрансформированные клетки-мишени. Противовоспалительные макрофаги (M2) задействованы в иммунных реакциях с участием Th2, процессах репарации и патогенезе некоторых опухолей. В спектр продуцируемых M2-клетками цитокинов входят ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) и TGF- β , которые при определенных условиях обеспечивают пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток. Субпопуляция моноцитов с фенотипом CD14^{low}CD16^{bright} «неклассические моноциты» соответствует противовоспалительным клеткам [7].

Нормальные моноциты/макрофаги играют важную роль в реализации противоопухолевого иммунного надзора, антиген-опосредованно активируя Т-цитотоксические клетки или осуществляя непосредственный лизис опухолевых клеток в активированном состоянии. Активированные макрофаги за счет лизирующих ферментов, синтеза ФНО- α и продукции свободных радикалов проявляют противоопухолевую активность. Промежуточные моноциты в сравнении с моноцитами других субпопуляций являются основными продуцентами ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , обладают наибольшей способностью к трансэндотелиальной миграции и образованию активных форм кислорода [20, 21].

Известно, что для онкотрансформированных клеток характерна сниженная экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости I класса, что модифицирует ингибирующие сигналы от других рецепторов НК. Активирующие рецепторы НК взаимодействуют со стресс-индуцируемыми протеинами, которые экспрессируются опухолевыми клетками. В НК-клетках происходит запуск секреторного процесса — везикулы цитоплазмы, содержащие сериновые эстеразы (гранзимы A и B), высвобождаются локальным экзоцитозом в пространство между клеткой-эффектором и мишенью. У НК специализированный механизм киллинга трансформированных

клеток связан с перфорином, содержащимся внутри гранул, который обладает литической активностью в отношении клеток-мишеней. Сразу после связывания лимфоцита с клеткой-мишенью в ее мембране формируются поры, происходит экзоцитоз гранул НК и выход их содержимого — гранзимов и перфорина. Далее в клетке-мишени запускается каскад литических процессов, что приводит к деградации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и последующей клеточной смерти. Способность НК к синтезу цитокинов, в первую очередь ИФН- γ и других, обуславливает их участие в регуляции других звеньев противоопухолевого иммунитета [11].

В научной литературе обсуждается гипотеза о том, что в отдаленные сроки после воздействия ИИ на организм стареющие клетки (в первую очередь лейкоциты и макрофаги, а также фибробласты и другие) являются одним из основных и постоянных источников активных форм кислорода и активных форм азота в тканях, что способствует поддержанию в них высокого уровня свободных радикалов и может привести к повреждению клеток и субклеточных структур вплоть до фиброза и неопластической трансформации [22, 23].

Следует особо подчеркнуть, что выявленные особенности иммунного статуса более выражены у хронически облученных людей с максимальными поглощенными дозами, рассчитанными на ККМ, они были зарегистрированы в период реализации канцерогенных эффектов облучения и могут играть определенную роль в их развитии. Результаты корреляционного анализа влияния факторов нерадиационной природы у людей из исследуемых групп требуют значительной осторожности в интерпретации в связи с относительно небольшим размером выборок — фактором, который вносит значительную неопределенность при оценке парных корреляций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования были выявлены статистически значимые изменения в субпопуляциях моноцитов у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. В частности, у лиц, облученных в диапазоне доз на ККМ от 250 и до 699 мГр, относительное количество моноцитов с фенотипом CD14⁺CD16⁺ было значимо выше, чем в группе сравнения, а их абсолютное количество превышало аналогичный показатель у лиц из третьей подгруппы с максимальной дозовой нагрузкой. Полученные у практически здоровых облученных людей из когорты реки Течи предварительные результаты могут свидетельствовать о некотором латентном напряжении регуляторных механизмов в иммунной системе, в частности системах моноцитов/макрофагов и НК, которые действуют по принципу обратной связи и направлены на компенсацию провоспалительных иммунных сдвигов [23], в меньшей степени выраженных у необлученных лиц.

Абсолютное количество лейкоцитов, относительное и абсолютное количество моноцитов, относительное и абсолютное количество моноцитов с фенотипами CD14⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺, CD14⁻CD16⁺ у всех обследованных людей из основной группы и группы сравнения статистически значимо не различались. Относительные и абсолютные количества натуральных киллеров, экспрессирующих в различных комбинациях молекулы CD8 и CD38 на клеточной мембране, статистически значимо не различались у хронически облученных людей и лиц из группы сравнения.

Не выявлено статистически значимых корреляций Спирмена между исследуемыми показателями врожденного иммунитета и факторами радиационной природы у хронически облученных людей.

Литература / References

1. Крестинина ЛЮ, Силкин СС, Дегтева МО, Аклевев АВ. Риск смерти от болезней системы кровообращения в Уральской когорте аварийно-облученного населения за 1950–2015 годы. *Радиационная гигиена*. 2019;12(1):52–61. Krestinina LY, Silkin SS, Degteva MO, Akleyev AV. Risk of death from circulatory system diseases in the Urals cohort of emergency-exposed population from 1950 to 2015. *Radiatsionnaya Gigiena*. 2019;12(1):52–61 (In Russ.). <https://doi.org/10.21514/1998-426X-2019-12-1-52-61>
2. Крестинина ЛЮ, Силкин СС, Микрюкова ЛД, Епифанова СБ, Аклевев АВ. Риск заболеваемости солидными злокачественными новообразованиями в Уральской когорте аварийно-облученного населения: 1956–2017. *Радиационная гигиена*. 2020;13(3):6–17. Krestinina LY, Silkin SS, Mikryukova LD, Epifanova SB, Akleyev AV. Risk of solid malignant neoplasms incidence in the Urals cohort of emergency-exposed population: 1956–2017. *Radiatsionnaya Gigiena*. 2020;13(3):6–17 (In Russ.). <https://doi.org/10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17>
3. Azizova TV, Haylock RGE, Moseeva MB, Bannikova MV, Grigoryeva ES. Cerebrovascular diseases incidence and mortality in an extended Mayak worker cohort 1948–1982. *Radiat Research*. 2014;182(5):29–44. <https://doi.org/10.1667/RR13680.1>
4. Sources, effects and risks of ionizing radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation UNSCEAR 2020/2021. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. New York: United Nations; 2021. <https://doi.org/10.18356/9789210010030>
5. Аклевев АА. Иммунный статус человека в отдаленном периоде хронического радиационного воздействия. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2020;4(65):29–35. Akleyev AA. Human immune status in the late period of chronic radiation exposure. *Meditinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*. 2020;65(4):29–35 (In Russ.). <https://doi.org/10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35>
6. Козинцева ЕА, Аклевев АА, Блинова ЕА. Цитокиновый профиль лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки после облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2021;5(61):506–14. Kodintseva EA, Akleyev AA, Blinova EA. Cytokine profile of people exposed to chronic radiation exposure in the long-term post-exposure period. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2021;61(5):506–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0869803121050076>
7. Lambert C, Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. *Cytometry Part B*. 2017;92(3):180–8. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21530>
8. Грачев АН, Самойлова ДВ, Рашидова МА, Петренко АА, Ковалева ОВ. Макрофаги, ассоциированные с опухолью: современное состояние исследований и перспективы клинического использования. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018;5(4):20–8. Gratchev AN, Samoilova DV, Rashidova MA, Petrenko AA, Kovaleva OV. Tumor-associated macrophages: current research status and prospects for clinical use. *Uspekhi Molekulyarnoy Onkologii*. 2018;5(4):20–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-4-20-28>
9. Балпанова ГТ, Бижигитова ББ. Хроническое воспаление и рак. *Вестник КазНМУ*. 2017;4:424–6. Balpanova GT, Bizhigitova BB. Chronic inflammation and cancer. *Vestnik KazNMU*. 2017;4:424–6 (In Russ.). EDN: YOSNUQ
10. Conriot J, Silva JM, Fernandes JG. Cancer immunotherapy: nanodelivery approaches for immune cell targeting and tracking. *Frontiers in Chemistry*. 2014;2:1–27. <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00105>
11. Абакушина ЕВ. Метод проточной цитометрии для оценки NK-клеток и их активности. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015;60(11):37–44. Abakushina EV. Flow cytometry method for evaluating NK cells and their activity. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015;60(11):37–44 (In Russ.). EDN: VEARRP
12. Khatami M. Chronic inflammation: synergistic interactions of recruiting macrophages (TAMs) and eosinophils (Eos) with host mast cells (MCs) and tumorigenesis in CALTs. M-CSF, suitable biomarker for cancer diagnosis. *Cancers*. 2014;6(1):297–322. <https://doi.org/2072-6694/6/1/297>
13. Дегтева МО., Напье БА, Толстых ЕИ, Шишкина ЕА, Бугров НГ, Крестинина ЛЮ и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019;64(3):46–53. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Bugrov NG, Krestinina LY, et al. Distribution of individual doses in the cohort of people exposed due to radioactive contamination of the Techa River. *Meditinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*. 2019;64(3):46–53 (In Russ.). https://doi.org/10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475
14. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов. *Российский иммунологический журнал*. 2014;8(17):974–992. Khaydakov SV, Baydun LV, Zurochka AV, Totolyan AA. Standardized technology research of subpopulational structure of lymphocytes in peripheral blood with flowing cytofluorimeters — analyzers. *Russ Immunol Zh*. 2014;8(17):974–992 (In Russ.). EDN: PFIUVZ
15. Кишкун АА., Беганская ЛА. *Клиническая лабораторная диагностика: учебник: в 2 т. 2-е изд., перераб. и доп.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021. Kishkun AA, Beganskaya LA. *Clinical laboratory diagnostics: textbook: in 2 vol. 2nd ed., revised and supplemented.* Moscow: GEOTAR-Media; 2021 (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/9704-6084-9-CLD1-2021-1-784>
16. Deloch L, Rückert M, Weissmann T, Lettmaier S, Titova E, Wolff T et al. The various functions and phenotypes of macrophages are also reflected in their responses to irradiation: A current overview. *International review of cell and molecular biology*. 2023;(376):99–120. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2023.01.002>
17. Повещенко А.Ф., Шкурят Г.А., Колесников А.П., Коненков В.И. Функциональная и фенотипическая характеристика макрофагов при остром и хроническом воспалении. Макрофаги сторожевых лимфатических узлов. *Успехи физиологических наук*. 2015;46(1):105–12. Poveshchenko AF, Shkurat GA, Kolesnikov AP, Konenkov VI. Functional and phenotypic characteristics of macrophages in acute and chronic inflammation. Sentinels of lymph nodes. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*. 2015;46(1):105–12 (In Russ.). EDN: PQOEMX
18. Земсков ВМ, Ревешвили АШ, Козлова МН, Шишкина НС, Куликова АН, Балбуцкий АВ. и др. Анализ субпопуляций

- моноцитов при сердечно-сосудистой, ожоговой и иной патологии (классификация 2010 г.). *Медицинский совет*. 2023;17(4):54–63.
 Zemskov VM, Revishvili AS, Kozlova MN, Shishkina NS, Kulikova AN, Balbutsky AV et al. Analysis of monocyte subpopulations with cardiovascular, burn and other pathologies (2010 classification). *Meditsinsky Sovet*. 2023;17(4):154–63 (In Russ.).
<https://doi.org/10.21518/ms2023-002>
19. Gu BJ, Sun C, Fuller S, Skarratt KK, Petrou S, Wiley JS. A quantitative method for measuring innate phagocytosis by human monocytes using real-time flow cytometry. *Cytometry*. Part A. 2014;85(4):313–21.
<https://doi.org/10.1002/cyto.a.22400>
 20. Aw NH, Canetti E, Suzuki K, Goh J. Monocyte subsets in atherosclerosis and modification with exercise in humans. *Antioxidants*. 2018;7(12):1–12.
<https://doi.org/2076-3921/7/12/196>
 21. Williams H, Mack CD, Li SCH, Fletcher JP, Medbury HJ. Nature versus number: monocytes in cardiovascular disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(17):1–21.
<https://doi.org/1422-0067/22/17/9119>
 22. Citrin DE, Mitchell JB. Mechanisms of normal tissue injury from irradiation. *Seminars in radiation oncology*. *Seminars in Radiation Oncology*. 2017;27(4):316–24.
<https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2017.04.001>
 23. Kim JH, Brown SL, Gordon MN. Radiation-induced senescence: therapeutic opportunities. *Radiation Oncology*. 2023;1(1):1–11.
<https://doi.org/10.1186/s13014-022-02184-2>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: П.О. Хоменко — сбор информации, обработка данных, написание текста; Е.А. Кодинцева — концепция и дизайн исследования, сбор информации, обработка данных, написание текста; А.А. Аклеев — концепция и дизайн исследования, общее руководство, редактирование.

ОБ АВТОРАХ

Хоменко Полина Олеговна

<https://orcid.org/0009-0009-1984-715X>
polinahomenko@mail.ru

Кодинцева Екатерина Александровна, канд. биол. наук

<https://orcid.org/0000-0003-1156-1922>
ovcharova.cat@mail.ru

Аклеев Андрей Александрович, д-р мед. наук,

<https://orcid.org/0000-0001-9781-071X>
andrey.akleev@yandex.ru