

Научная статья

**РОЛЬ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
НОВООБРАЗОВАНИЙ У ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ
ХРОНИЧЕСКОМУ ОБЛУЧЕНИЮ****В.Л. Рыбкина, Д.С. Ослина, Т.В. Азизова, Е.Н. Кириллова, В.С. Макеева**

Южно-Уральский институт биофизики, Российская Федерация, 456780, г. Озерск, Озерское шоссе, 19

Некоторые отдаленные последствия облучения обусловлены изменениями в иммунной системе, возникшими в результате радиационного воздействия. Нарушения иммунитета под действием облучения могут оказывать влияние на процесс канцерогенеза.

Показатели клеточного иммунитета были исследованы в периферической крови работников, подвергавшихся профессиональному хроническому сочетанному (внешнему гамма- и внутреннему альфа-) облучению, без злокачественных новообразований (ЗНО) или с ЗНО, развившимися после взятия образца крови, и в контрольной группе.

Изучено влияние облучения на состояние клеточного иммунитета у лиц, подвергшихся хроническому облучению с развившимися после взятия образца крови ЗНО.

Определение относительного и абсолютного количества субпопуляций лимфоцитов (общие Т-клетки, Т-хелперы, Т-цитотоксические, общие В-клетки, NK-клетки, NKT-клетки и активированные Т-клетки) проведено методом проточной цитофлюориметрии.

У работников, подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, без ЗНО и с ЗНО, развившимся после взятия образца крови, по сравнению с контрольными данными, было статистически значимо снижено абсолютное содержание Т-лимфоцитов, что может способствовать развитию опухолевой прогрессии на раннем этапе ее возникновения. В то же время у работников без ЗНО было статистически значимо повышено относительное содержание Т-цитотоксических лимфоцитов, что может быть одним из факторов, препятствующих развитию опухоли. У лиц с ЗНО, развившимися после взятия образца крови, и подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, при сравнении с данными контрольной группы отмечено статистически значимое повышение относительного содержания естественных киллеров (NK-клеток), что может свидетельствовать об усиленной противоопухолевой защите, развившейся в ответ на воздействие опухолевых антигенов. Кроме того, в группе работников с ЗНО, развившимися после взятия образца крови, выявлено статистически значимое снижение абсолютного и относительного содержания Т- и В-лимфоцитов по сравнению с данными контрольной группы. Статистически значимое повышение относительного содержания Т-хелперов выявлено в обеих группах работников. Поскольку роль Т-хелперов в противоопухолевом ответе неоднозначна, для уточнения результатов исследования планируется дополнить изучением типов Т-хелперов.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, облучение, злокачественные новообразования, врожденный иммунитет, приобретенный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, Т- и В-лимфоциты, Т-хелперы.

Известно, что у лиц, подвергшихся облучению, повышен риск возникновения злокачественных новообразований (ЗНО) [1–4]. Ионизирующее излучение является мутагеном и способствует раковой трансформации клеток, повреждая их генетический

аппарат, а также вызывая эпигенетические изменения в органах и тканях [5]. Установлено, что между состоянием иммунной системы и развитием ЗНО существует тесная связь [6–8]. Иммунная система осуществляет надзор за генетическим постоянством

© Рыбкина В.Л., Ослина Д.С., Азизова Т.В., Кириллова Е.Н., Макеева В.С., 2024

Рыбкина Валентина Львовна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5096-9774>).

Ослина Дарья Сергеевна – заведующий лабораторией радиационной биологии, научный сотрудник (e-mail: oslina@subi.su; тел.: 8 (35130) 2-91-54; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4757-7969>).

Азизова Тамара Васильевна – кандидат медицинских наук, заместитель директора по науке, заведующий клиническим отделом, главный научный сотрудник (e-mail: clinic@subi.su; тел.: 8 (35130) 2-93-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6954-2674>).

Кириллова Евгения Никитовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник (e-mail: kirillova@subi.su; тел.: 8 (35130) 7-56-70; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7849-6622>).

Макеева Валерия Сергеевна – руководитель репозитория, младший научный сотрудник (e-mail: makeeva@subi.su; тел.: 8 (35130) 2-91-54; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9177-4666>).

внутренней среды организма, удаляя как чужеродные, так и свои измененные молекулы и клетки, тем самым обеспечивая устойчивость организма к развитию ЗНО.

Вызывая изменения в иммунной системе, ионизирующее излучение может модулировать процесс канцерогенеза. В настоящее время мнения об изменениях в иммунной системе под влиянием облучения противоречивы. Показано, что облучение в высоких дозах вызывает иммуносупрессию. В то же время количественный и функциональный ответ различных компонентов иммунной системы при облучении в малых и средних дозах неоднозначен [7].

Считается, что некоторые отдаленные последствия облучения обусловлены изменениями в иммунной системе, возникшими в результате радиационного воздействия [9]. Так, в группе ликвидаторов, обследованных в доклиническом периоде ЗНО, по сравнению с группой ликвидаторов с отсутствием ЗНО и предопухолевых состояний, были выявлены изменения субпопуляционного состава Т-клеток (снижение процентного содержания CD3+ и CD4+-Т-лимфоцитов, снижение индекса иммунорегуляции CD4+/CD8+, повышение относительного и абсолютного содержания цитотоксических CD8+-Т-лимфоцитов), повышение относительного и абсолютного содержания NK-клеток и повышение уровня общего IgE [10]. Также у лиц с предраковыми заболеваниями наблюдалась активация поглотительной и лизосомальной функций фагоцитарного звена иммунитета, умеренное снижение CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-киллеры) и CD5+ лимфоцитов¹.

Несмотря на то, что результаты исследований по изучению роли иммунной системы в развитии ЗНО и радиогенный канцерогенез широко представлены в литературе, состояние иммунной системы у лиц с ЗНО, ранее подвергшихся воздействию иони-

зирующего излучения, особенно хронического, пока изучено недостаточно.

Цель исследования – изучение влияния облучения на состояние клеточного иммунитета у лиц, подвергшихся хроническому облучению, с ЗНО, развившимися после взятия образца крови.

Материалы и методы. Для оценки состояния клеточного иммунитета было исследовано три группы. В первую группу включены работники, подвергавшиеся профессиональному хроническому сочетанному (внешнему гамма- и внутреннему альфа-) облучению, не имевшие в анамнезе и катамнезе ЗНО (работники без ЗНО). Во вторую группу включены работники, подвергавшиеся профессиональному хроническому сочетанному облучению, у которых диагноз ЗНО был установлен через год и более после взятия образца крови (работники с ЗНО). В третью группу (контроль) включены лица, не подвергавшиеся профессиональному облучению, не имевшие в анамнезе и катамнезе ЗНО. Во всех обследованных группах исключаящими критериями были: терапевтическое облучение, проживание на загрязненных радионуклидами территориях, наличие болезней системы кровообращения (БСК), наличие на момент обследования острых и обострения хронических воспалительных заболеваний.

Основные характеристики исследованных групп представлены в табл. 1.

Субпопуляционный состав лимфоцитов определялся методом проточной цитофлюориметрии [11]. Пробы крови брали утром, между 7–9 ч, натощак из медиальной или латеральной подкожной вены руки. Использовались вакутейнеры для взятия венозной крови объемом 2 мл с литий-гепарином. После взятия пробы крови аккуратно перемешивали покачиванием не менее 8 раз.

Таблица 1

Характеристика исследованных групп

Характеристика		Работники без ЗНО; M; SD [CI 95 %] (Median; min–max)	Работники с ЗНО; M; SD [CI 95 %] (Median; min–max)	Контрольная группа; M; SD [CI 95 %] (Median; min–max)
Количество человек		72	22	72
Пол	женщины, %	37 (51,4)	4 (18,2)	38 (52,8)
	мужчины, %	35 (48,6)	18 (81,8)	34 (47,2)
Возраст, лет		72,1; 10,9 [69,6–74,7] (73,0; 49,0–89,0)	78,2; 3,2* [76,8–79,6] (79,0; 71,0–84,0)	70,7; 9,2 [68,6–72,9] (72,0; 51,0–87,0)
Суммарная поглощенная в КМ доза внешнего гамма-излучения, Гр		0,750; 0,699 [0,585–0,914] (0,630; 0,018–2,293)	1,573; 0,600 [1,307–1,839] (1,533; 0,491–3,065)	–
Суммарная поглощенная в КМ доза внутреннего альфа-излучения, Гр		0,072; 0,092 [0,050–0,094] (0,051; 0,000–0,521)	0,090; 0,074 [0,057–0,123] (0,075; 0,003–0,298)	–

Примечание: КМ – костный мозг.

¹ Аксеев А.В., Силкина Л.А., Веремеева Г.А. Радиационно-индуцированные изменения иммунитета и их возможная роль в развитии отдаленных последствий облучения человека // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 1997. – № 10. – С. 136–145.

Определение относительного и абсолютного количества субпопуляций лимфоцитов (общие Т-клетки, Т-хелперы, Т-цитотоксические, общие В-клетки, НК-клетки, НКТ-клетки и активированные Т-клетки) проводили с использованием панели моноклональных антител первого уровня с двухцветной комбинацией флюорохромов (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Анализ полученных образцов проводили на проточном цитометре «Fc 500» (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10 (StatSoft. Inc., США). Для оценки

верности нулевой гипотезы использовали непараметрический критерий Манна – Уитни, для оценки корреляционной зависимости – непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена².

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ показателей клеточного иммунитета показал, что у работников без ЗНО, подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, по сравнению с контрольными данными, было статистически значимо ниже абсолютное содержание Т-лимфоцитов, а относительное содержание Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов было статистически значимо повышено (табл. 2).

Таблица 2

Субпопуляции лимфоцитов у лиц изучаемых групп

Показатель	Работники без ЗНО (n = 72); M; SD [CI 95 %] (Median; min-max)	Контрольная группа (n = 72); M; SD [CI 95 %] (Median; min-max)	p-value*
НК-клетки, 10 ⁶ /л (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 123–369	293,7; 207,1 [245,0–342,4] (232,2; 35,0–1054,0)	299; 237,3 [243,3–354,8] (227,2; 37–1448)	0,9300
НК-клетки, % (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 9–21	13,2; 8,1 [11,3–15,1] (10,0; 1,7–38,3)	14; 25,9 [7,9–20,1] (9,3; 2,1–224,7)	0,2806
Т-НК-клетки, 10 ⁶ /л (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 7–165	100,1; 132,4 [69,0–131,2] (64,5; 6,0–780,0)	77,3; 103,7 [52,9–101,6] (50,5; 7–838)	0,5745
Т-НК-клетки, % (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 1–6	4,4; 5,5 [3,1–5,6] (2,8; 0,2–32,5)	2,7; 1,9 [2,3–3,1] (2,2; 0,5–8,8)	0,1542
В-лимфоциты, 10 ⁶ /л (CD3-CD19+) Референсные значения: 111–376	191,1; 98,3 [168,0–214,2] (170,0; 29,0–472,5)	292,9; 536 [167–418,9] (211; 12–4610)	0,0751
В-лимфоциты, % (CD3-CD19+) Референсные значения: 7–17	8,5; 3,7 [7,6–9,4] (8,4; 1,0–18,1)	9,8; 5,2 [8,6–11] (8,9; 0,6–36,3)	0,1555
Т-лимфоциты, 10 ⁶ /л (CD3+CD19-) Референсные значения: 946–2079	1658,8; 694,3 [1495,6–1822,0] (1504,0; 756,0–4250,0)	1988,4; 1045,4 [1742,7–2234,1] (1846; 836–9398)	0,0028*
Т-лимфоциты, % (CD3+CD19-) Референсные значения: 61–85	74,7; 11,2 [72,1–77,4] (76,5; 42,9–95,2)	76; 8,6 [74–78,1] (75,8; 47,9–91,7)	0,5664
Т-х (хелперы), 10 ⁶ /л (CD3+CD4+) Референсные значения: 576–1336	931,0; 358,8 [846,7–1015,3] (895,5; 407,0–2278,7)	903,2; 402,3 [808,7–997,7] (877; 260–3378)	0,6821
Т-х (хелперы), % (CD3+CD4+) Референсные значения: 35–55	42,4; 8,8 [40,3–44,5] (44,0; 24,8–60,2)	35,3; 8,7 [33,3–37,4] (34,2; 14,8–57,5)	0,0000*
Т-с (цитотокс.), 10 ⁶ /л (CD3+CD8+) Референсные значения: 372–974	626,4; 376,9 [537,8–714,9] (558,5; 188,0–2597,0)	638,8; 467 [529,1–748,6] (560,5; 167–3874)	0,8542
Т-с (цитотокс.), % (CD3+CD8+) Референсные значения: 19–35	27,6; 9,5 [25,4–29,9] (27,0; 8,2–49,8)	23,3; 6,5 [21,7–24,8] (23,9; 8,7–41,7)	0,0046*

Примечание: * – по критерию Манна – Уитни.

² Zar J.H. Biostatistical analysis. – New Jersey: Prentice Hall, 1999. – 663 p.

При сравнении показателей клеточного иммунитета у работников, подвергшихся облучению, у которых ЗНО зарегистрировано после взятия биоматериала, с работниками без ЗНО статистически значимых различий не выявлено, отмечалась лишь тенденция к снижению относительного содержания Т- и В-лимфоцитов (табл. 3).

Относительное содержание естественных киллеров и Т-хелперов было статистически значимо выше у лиц с ЗНО, подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, при сравнении с данными контрольной группы. Кроме того, в группе работников с ЗНО выявлено статистически значимое снижение абсолютного и относительного содержания Т- и В-лимфоцитов по сравнению с контролем (табл. 4).

Таким образом, результаты настоящего исследования показали, что у лиц с ЗНО, развившимися после взятия образца крови, подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, по сравнению с контрольной группой, было статистически значимо ниже абсолютное содержание Т-лимфоцитов, что хорошо согласуется с результатами других исследователей [12–14]. Т-клетки являются компонентами адаптивной иммунной системы и могут приобретать регуляторный или эффекторный фенотип, оказывая как про-, так и противовоспалительное влияние [15]. Опухоль-ассоциированные Т-лимфоциты (ОАТ) интенсивно изучаются при различных типах опухолей [16]. В ранней стадии развития опухоли, когда продуцируется достаточное количество иммуногенных антигенов, наивные Т-клетки

Таблица 3

Субпопуляции лимфоцитов у лиц изучаемых групп

Показатель	Работники с ЗНО ($n = 22$); <i>M; SD</i> [CI 95 %] (Median; min–max)	Работники без ЗНО ($n = 72$); <i>M; SD</i> [CI 95 %] (Median; min–max)	<i>p</i> -value*
НК-клетки, 10^6 /л (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 123–369	359,6; 228,5 [258,3–460,9] (294,0; 57,0–1006,0)	293,7; 207,1 [245,0–342,4] (232,2; 35,0–1054,0)	0,1467
НК-клетки, % (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 9–21	16,4; 9,4 [12,3–20,6] (16,3; 3,7–34,9)	13,2; 8,1 [11,3–15,1] (10,0; 1,7–38,3)	0,1556
Т-НК-клетки, 10^6 /л (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 7–165	105,2; 119,8 [52,1–158,4] (50,5; 4,0–411,0)	100,1; 132,4 [69,0–131,2] (64,5; 6,0–780,0)	0,8095
Т-НК-клетки, % (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 1–6	4,7; 5,0 [2,5–7,0] (2,8; 0,2–14,8)	4,4; 5,5 [3,1–5,6] (2,8; 0,2–32,5)	0,8372
В-лимфоциты, 10^6 /л (CD3-CD19+) Референсные значения: 111–376	162,1; 100,8 [117,4–206,8] (139,5; 51,0–451,0)	191,1; 98,3 [168,0–214,2] (170,0; 29,0–472,5)	0,1312
В-лимфоциты, % (CD3-CD19+) Референсные значения: 7–17	7,6; 6,1 [4,9–10,3] (5,7; 2,0–31,5)	8,5; 3,7 [7,6–9,4] (8,4; 1,0–18,1)	0,0548
Т-лимфоциты, 10^6 /л (CD3+CD19-) Референсные значения: 946–2079	1565,2; 618,2 [1291,1–1839,3] (1370,5; 788,0–3501,0)	1658,8; 694,3 [1495,6–1822,0] (1504,0; 756,0–4250,0)	0,6552
Т-лимфоциты, % (CD3+CD19-) Референсные значения: 61–85	69,5; 11,8 [64,2–74,7] (69,8; 49,5–88,5)	74,7; 11,2 [72,1–77,4] (76,5; 42,9–95,2)	0,0699
Т- <i>h</i> (хелперы), 10^6 /л (CD3+CD4+) Референсные значения: 576–1336	888,1; 320,2 [746,1–1030,1] (847,5; 450,0–1814,0)	931,0; 358,8 [846,7–1015,3] (895,5; 407,0–2278,7)	0,6360
Т- <i>h</i> (хелперы), % (CD3+CD4+) Референсные значения: 35–55	40,1; 8,5 [36,3–43,8] (37,9; 26,4–54,3)	42,4; 8,8 [40,3–44,5] (44,0; 24,8–60,2)	0,3172
Т- <i>c</i> (цитотокс.), 10^6 /л (CD3+CD8+) Референсные значения: 372–974	598,5; 286,1 [471,6–725,3] (573,5; 166,0–1114,0)	626,4; 376,9 [537,8–714,9] (558,5; 188,0–2597,0)	0,8583
Т- <i>c</i> (цитотокс.), % (CD3+CD8+) Референсные значения: 19–35	26,8; 10,9 [22,0–31,7] (28,4; 8,1–45,1)	27,6; 9,5 [25,4–29,9] (27,0; 8,2–49,8)	0,9005

Примечание: * – по критерию Манна – Уитни.

Субпопуляции лимфоцитов группы облученных лиц, у которых установлен диагноз ЗНО после взятия образца крови, и необлученных без ЗНО

Показатель	Работники с ЗНО ($n = 22$); M ; SD [CI 95 %] (Median; min-max)	Контрольная группа ($n = 72$); M ; SD [CI 95 %] (Median; min-max)	p -value*
NK-клетки, 10^6 /л (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 123–369	359,6; 228,5 [258,3–460,9] (294,0; 57,0–1006,0)	299; 237,3 [243,3–354,8] (227,2; 37–1448)	0,1129
NK-клетки, % (CD3-CD16+CD56+) Референсные значения: 9–21	16,4; 9,4 [12,3–20,6] (16,3; 3,7–34,9)	14; 25,9 [7,9–20,1] (9,3; 2,1–224,7)	0,0241*
T-NK-клетки, 10^6 /л (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 7–165	105,2; 119,8 [52,1–158,4] (50,5; 4,0–411,0)	77,3; 103,7 [52,9–101,6] (50,5; 7–838)	0,8582
T-NK-клетки, % (CD3+CD16+CD56+) Референсные значения: 1–6	4,7; 5,0 [2,5–7,0] (2,8; 0,2–14,8)	2,7; 1,9 [2,3–3,1] (2,2; 0,5–8,8)	0,6423
B-лимфоциты, 10^6 /л (CD3-CD19+) Референсные значения: 111–376	162,1; 100,8 [117,4–206,8] (139,5; 51,0–451,0)	292,9; 536 [167–418,9] (211; 12–4610)	0,0265*
B-лимфоциты, % (CD3-CD19+) Референсные значения: 7–17	7,6; 6,1 [4,9–10,3] (5,7; 2,0–31,5)	9,8; 5,2 [8,6–11] (8,9; 0,6–36,3)	0,0061*
T-лимфоциты, 10^6 /л (CD3+CD19-) Референсные значения: 946–2079	1565,2; 618,2 [1291,1–1839,3] (1370,5; 788,0–3501,0)	1988,4; 1045,4 [1742,7–2234,1] (1846; 836–9398)	0,0075*
T-лимфоциты, % (CD3+CD19-) Референсные значения: 61–85	69,5; 11,8 [64,2–74,7] (69,8; 49,5–88,5)	76; 8,6 [74–78,1] (75,8; 47,9–91,7)	0,0199*
T-h (хелперы), 10^6 /л (CD3+CD4+) Референсные значения: 576–1336	888,1; 320,2 [746,1–1030,1] (847,5; 450,0–1814,0)	903,2; 402,3 [808,7–997,7] (877; 260–3378)	0,6045
T-h (хелперы), % (CD3+CD4+) Референсные значения: 35–55	40,1; 8,5 [36,3–43,8] (37,9; 26,4–54,3)	35,3; 8,7 [33,3–37,4] (34,2; 14,8–57,5)	0,0290*
T-c (цитотокс.), 10^6 /л (CD3+CD8+) Референсные значения: 372–974	598,5; 286,1 [471,6–725,3] (573,5; 166,0–1114,0)	638,8; 467 [529,1–748,6] (560,5; 167–3874)	0,9644
T-c (цитотокс.), % (CD3+CD8+) Референсные значения: 19–35	26,8; 10,9 [22,0–31,7] (28,4; 8,1–45,1)	23,3; 6,5 [21,7–24,8] (23,9; 8,7–41,7)	0,1181

Примечание: * – по критерию Манна – Уитни.

примируются в дренирующих лимфоузлах, затем активируются и мигрируют в опухоль, где осуществляют защитный эффекторный иммунный ответ, удаляя иммуногенные раковые клетки. Следовательно, наблюдаемое снижение содержания Т-лимфоцитов у работников, у которых ЗНО развились после взятия биологических образцов, могло, вероятно, способствовать развитию опухолевой прогрессии на раннем этапе ее возникновения.

У лиц с ЗНО и без ЗНО, подвергшихся профессиональному хроническому облучению, по сравнению с контрольной группой, было повышено относительное содержание Т-хелперов, что согласуется с данными литературы [17]. CD4+ Т-хелперы 1 (Тх-1), обуславливающие противоопухолевый ответ посредством секреции больших коли-

честв провоспалительных цитокинов, таких как IL-2, TNF- α и IFN- γ , способствуют не только примиранию и активации цитотоксических Т-лимфоцитов, но также противоопухолевой активности макрофагов и естественных киллеров (NK) и в целом усилению презентации опухолевых антигенов [18]. Однако активация Т-хелперов по Тх2-типу оказывает отрицательный эффект, поскольку Тх2-цитокнины (в частности, IL-4) способны как активировать миелоидные клетки, так и вызывать активацию макрофагов по альтернативному типу, не способствующему отторжению опухоли [19]. Описано прямое цитотоксическое влияние CD4+ Т-лимфоцитов на опухоль [20]. Как следует из приведенных выше данных, роль Т-хелперов в противоопухолевом ответе неоднозначна, поэтому для уточнения

результатов исследования необходимо дополнить изучением типов Т-хелперов.

У лиц, подвергшихся профессиональному хроническому сочетанному облучению, без ЗНО в анамнезе и катанезе, по сравнению с данными контрольной группы, было повышено относительное содержание Т-цитотоксических лимфоцитов, что также хорошо согласуется с результатами других исследований³ [10, 21]. Цитотоксические CD8+ Т-клетки являются основными противоопухолевыми клетками. В процессе примирования и активации антигенпрезентирующими клетками CD8+ Т-клетки дифференцируются в цитотоксические Т-лимфоциты и посредством экзоцитоза перфорин- и гранзим-содержащих гранул осуществляют эффективную атаку на опухоль, заканчивающуюся прямым разрушением опухолевых клеток [22]. Присутствие в опухоли инфильтрирующих CD8+ Т-клеток и Тх-1 цитокинов коррелирует с благоприятным прогнозом при многих опухолях [23]. Повышенное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов у лиц, подвергшихся облучению, без ЗНО в анамнезе может, таким образом, быть одним из факторов, препятствующих развитию опухоли.

Роль В-лимфоцитов в раковой прогрессии понятна меньше, чем Т-клеток. Данные литературы указывают, что В-лимфоциты способствуют опухолевому росту [24]. Были описаны различные механизмы для объяснения туморогенной роли В-лимфоцитов, от иммуносупрессии через секрецию IL-10 [25] и TGFβ [26] до прямой стимуляции пролиферации опухолевых клеток продуцируемыми В-клетками IL-35 при опухоли поджелудочной железы человека [27]. Также посредством отложения имму-

ноглобулинов в опухоли В-клетки стимулируют ангиогенез и хроническое воспаление [28]. Снижение относительного содержания В-лимфоцитов у лиц, подвергшихся хроническому облучению, с развившейся впоследствии опухолью можно считать явлением благоприятным, так как эти клетки способствуют опухолевому росту.

В результате сравнения показателей клеточного иммунитета у лиц с ЗНО, подвергшихся профессиональному хроническому облучению, с контрольной группой установлено более высокое относительное содержание естественных киллеров, что может свидетельствовать об усиленной противоопухолевой защите, развившейся в ответ на воздействие опухолевых антигенов.

Выводы. Таким образом, результаты исследования показали, что облучение модифицирует различные звенья клеточного иммунитета. Влияние ионизирующего излучения на субпопуляции лимфоцитов неоднозначно: измененное их количество и соотношение оказывает как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на ЗНО. Однако, учитывая тот факт, что главным противоопухолевым эффектором большинство исследователей считают Т-лимфоциты, количество которых снижается при воздействии ионизирующего излучения, можно заключить, что хроническое облучение оказывает негативное влияние на клеточный иммунитет у работников, подвергшихся хроническому облучению.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке ФМБА России.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Is cancer risk of radiation workers larger than expected? / P. Jacob, W. Ruhm, L. Walsh, M. Blettner, G. Hammer, H. Zeeb // *Occup. Environ. Med.* – 2009. – Vol. 66, № 12. – P. 789–796. DOI: 10.1136/oem.2008.043265
2. Is Ionizing Radiation Harmful at any Exposure? An Echo that Continues to Vibrate / E.I. Azzam, N. Colangelo, J.D. Domogauer, N. Sharma, S.M. de Toledo // *Health Phys.* – 2016. – Vol. 110, № 3. – P. 249–251. DOI: 10.1097/HP.0000000000000450
3. Tang F.R., Loganovsky K. Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human // *J. Environ. Radioact.* – 2018. – Vol. 192. – P. 32–47. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.05.018
4. Wakeford R. Radiation in the workplace – a review of studies of the risks of occupational exposure to ionising radiation // *J. Radiol. Prot.* – 2009. – Vol. 29, № 2A. – P. A61–A79. DOI: 10.1088/0952-4746/29/2A/S05
5. Peters J.M., Gonzalez F.J. The Evolution of Carcinogenesis // *Toxicol. Sci.* – 2018. – Vol. 165, № 2. – P. 272–276. DOI: 10.1093/toxsci/kfy184
6. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs – threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context / F.A. Stewart, A.V. Akleyev, M. Hauer-Jensen, J.H. Hendry, N.J. Kleiman, T.J. Macvittie, B.M. Aleman, A.B. Edgar [et al.] // *Ann. ICRP.* – 2012. – Vol. 41, № 1–2. – P. 1–322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001
7. Effects of Ionizing Radiation – UNSCEAR Report, Volume II: Scientific Annexes. – Annex C. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation, Annex D. Effects of ionizing radiation on the immune system. – New York: United Nations Publ., 2009. – 338 p.
8. Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle // *Immunity.* – 2013. – Vol. 39, № 1. – P. 1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012

³ Характер изменений иммунитета у женщин-ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС и эвакуированных с радиоактивно загрязненной территории / Ю.В. Цвелёв, Е.Ф. Кира, В.Ф. Беженарь, А.Н. Гребенюк // *Военно-медицинский журнал.* – 1997. – Т. 318, № 1. – С. 38–42.

9. Editorial: Radiation and the Immune System: Current Knowledge and Future Perspectives / K. Lumniczky, S.M. Candias, U.S. Gaipf, B. Frey // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 8. – P. 1933. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01933
10. Аксеев А.В., Овчарова Е.А. Иммунный статус людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки // *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* – 2007. – Т. 52, № 3. – С. 5–9.
11. Проточная цитометрия в медицине и биологии: монография / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2013. – 552 с.
12. Immunological markers of chronic occupational radiational exposure / V.L. Rybkina, M.V. Bannikova, G.V. Adamova, H. Dörr, H. Scherthan, T.V. Azizova // *Health Phys.* – 2018. – Vol. 115, № 1. – P. 108–113. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855
13. Иммунный статус персонала ПО «Маяк» в поздние сроки после профессионального облучения / Е.Н. Кириллова, Е.Д. Другова, К.Н. Муксинова, В.Л. Рыбкина, М.Л. Захарова, А.В. Ежова, Т.И. Урядницкая, О.Е. Харитонов // *Иммунология.* – 2007. – Т. 28, № 1. – С. 37–42.
14. Decreased proportion of CD4 T Cells in the blood of atomic bomb survivors with myocardial infarction / Y. Kusunoki, S. Kyoizumi, M. Yamaoka, F. Kasagi, K. Kodama, T. Seyama // *Radiat. Res.* – 1999. – Vol. 152, № 5. – P. 539–543.
15. Speiser D.E., Ho P.-C., Verdeil G. Regulatory circuits of T-cell function in cancer // *Nat. Rev. Immunol.* – 2016. – Vol. 16, № 10. – P. 599–611. DOI: 10.1038/nri.2016.80
16. Increased infiltration of natural killer and T-cells in colorectal liver metastases improves patient overall survival / M. Donadon, K. Hudspeth, M. Simino, L. Di Tomasso, M. Preti, P. Tentorio, M. Roncalli, D. Mavilio, G. Torzilli // *J. Gastrointest. Surg.* – 2017. – Vol. 21, № 8. – P. 1226–1236. DOI: 10.1007/s11605-017-3446-6
17. Иммунный статус персонала объекта уничтожения ядерного оружия (УЯО). Итоги четырехлетнего наблюдения / И.В. Орадовская, М.А. Оприщенко, И.А. Лейко, В.В. Иванов, В.М. Забелов, Л.В. Лусс, М.Ф. Никонова, Л.Ф. Чернецова [и др.] // *IV Съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиозология, радиационная безопасность): тезисы докладов.* – М., 2001. – 163 с.
18. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumor development and shape tumor immunogenicity / V. Shankaran, H. Ikeda, A.T. Bruce, J.M. White, P.E. Swanson, L.J. Old, R.D. Schreiber // *Nature.* – 2001. – Vol. 410, № 6832. – P. 1107–1111. DOI: 10.1038/35074122
19. Gabilovich D.I., Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system // *Nat. Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 9, № 3. – P. 162–174. DOI: 10.1038/nri2506
20. Spiotto M.T., Rowley D.A., Schreiber H. Bystander elimination of antigen loss variants in established tumors // *Nat. Med.* – 2004. – Vol. 10, № 3. – P. 294–298. DOI: 10.1038/nm999
21. Орадовская И.В. Иммунологический мониторинг катастрофы в Чернобыле. Отдаленный период (2001–2006 гг.): итоги многолетних наблюдений. – М.: Медицинская книга, 2007. – 608 с.
22. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting / H. Matsushita, M.D. Vesely, D.C. Koboldt, C.G. Rickert, R. Uppaluri, V.J. Magrini, C.D. Arthur, J.M. White [et al.] // *Nature.* – 2012. – Vol. 482, № 7385. – P. 400–404. DOI: 10.1038/nature10755
23. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome / W.H. Fridman, F. Pages, C. Sautes-Fridman, J. Galon // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 298–306. DOI: 10.1038/nrc3245
24. De Visser K.E., Korets L.V., Coussens L.M. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B-lymphocyte dependent // *Cancer Cell.* – 2005. – Vol. 7, № 5. – P. 411–423. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.04.014
25. B regulatory cells and the tumor-promoting actions of TNF- α during squamous carcinogenesis / T. Schioppa, R. Moore, R.G. Thompson, E.C. Rosse, H. Kulbe, S. Nedospasov, C. Mauri, L.M. Coussens, F.R. Balkwill // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2011. – Vol. 108, № 26. – P. 10662–10667. DOI: 10.1073/pnas.1100994108
26. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells / P.B. Olkhanud, B. Damdinsuren, M. Bodogai, L.E. Gress, R. Sen, K. Wejksza, E. Malchinkhuu, R.P. Wersto, A. Biragyn // *Cancer Res.* – 2011. – Vol. 71, № 10. – P. 3505–3515. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4316
27. IL-35 producing B-cells promote the development of pancreatic neoplasia / Y. Pylayeva-Gupta, S. Das, J.S. Handler, C.H. Hajdu, M. Coffre, S.B. Koralov, D. Bar-Sagi // *Cancer Discov.* – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 247–255. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0843
28. Fc γ activation regulates inflammation-associated squamous carcinogenesis / P. Andreu, M. Johansson, N.I. Affara, F. Pucci, T. Tan, S. Junankar, L. Korets, J. Lam [et al.] // *Cancer Cell.* – 2010. – Vol. 17, № 2. – P. 121–134. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.019

Роль клеточного иммунитета в развитии злокачественных новообразований у лиц, подвергшихся хроническому облучению / В.Л. Рыбкина, Д.С. Ослина, Т.В. Азизова, Е.Н. Кириллова, В.С. Макеева // Анализ риска здоровья. – 2024. – № 1. – С. 169–177. DOI: 10.21668/health.risk/2024.1.17



Research article

ROLE OF CELLULAR IMMUNITY IN MALIGNANT TUMORS DEVELOPMENT IN INDIVIDUALS CHRONICALLY EXPOSED TO IONISING RADIATION

V.L. Rybkina, D.S. Oslina, T.V. Azizova, E.N. Kirillova, V.S. Makeeva

Southern Urals Biophysics Institute, 19 Ozerskoe shosse, Ozersk, 456780, Russian Federation

Some long-term effects of radiation could be related to changes in the immune system resulting from radiation exposure. Immunity disorders caused by radiation can influence carcinogenesis.

Cellular immunity factors were investigated in peripheral blood of workers chronically exposed to occupational combined radiation (external gamma-rays and internal alpha-particles), with malignant neoplasms diagnosed after blood samples were taken or without them, and in the control group.

The aim of this study was to examine effects of radiation on the cellular immunity status in individuals chronically exposed to ionizing radiation who had malignant neoplasms developed after blood sampling.

The relative and absolute number of lymphocyte subpopulations (total T-cells, T-helpers, T-cytotoxic, total B-cells, NK-cells, NKT-cells and activated T-cells) was detected by flow cytometry.

The absolute number of T-cells was significantly reduced in workers chronically exposed to occupational combined irradiation, with or without malignancies, compared to the control, which may contribute to tumor progression at an early stage of its onset. At the same time, workers without malignancies had a significant increase in the relative number of T-cytotoxic lymphocytes, which may be a factor preventing tumor development. A significant increase in the relative number of natural killer cells (NK cells) was detected in individuals with malignant neoplasms chronically exposed to occupational combined irradiation, compared with the control, which may indicate enhanced antitumor defense that developed in response to exposure to tumor antigens. In addition, a significant decrease in the absolute and relative number of T- and B-lymphocytes was found in the group of workers with malignant neoplasm, compared with the control. A significant increase in the relative number of T-helpers was found in both groups of workers. Since the role of T-helpers in the antitumor response is ambiguous, additional research on types of T-helpers is planned to clarify the results of the present study.

Keywords: occupational exposure, ionizing radiation, malignant neoplasms, innate immunity, adaptive immunity, anti-tumor immunity, T- and B-lymphocytes, T-helpers.

References

1. Jacob P., Ruhm W., Walsh L., Blettner M., Hammer G., Zeeb H. Is cancer risk of radiation workers larger than expected? *Occup. Environ. Med.*, 2009, vol. 66, no. 12, pp. 789–796. DOI: 10.1136/oem.2008.043265
2. Azzam E.L., Colangelo N., Domogauer J. D., Sharma N., de Toledo S.M. Is Ionizing Radiation Harmful at any Exposure? An Echo that Continues to Vibrate. *Health Phys.*, 2016, vol. 110, no. 3, pp. 249–251. DOI: 10.1097/HP.0000000000000450
3. Tang F.R., Loganovsky K. Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human. *J. Environ. Radioact.*, 2018, vol. 192, pp. 32–47. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.05.018
4. Wakeford R. Radiation in the workplace – a review of studies of the risks of occupational exposure to ionising radiation. *J. Radiol. Prot.*, 2009, vol. 29, no. 2A, pp. A61–A79. DOI: 10.1088/0952-4746/29/2A/S05
5. Peters J.M., Gonzalez F.J. The Evolution of Carcinogenesis. *Toxicol. Sci.*, 2018, vol. 165, no. 2, pp. 272–276. DOI: 10.1093/toxsci/kfy184
6. Stewart F.A., Akleyev A.V., Hauer-Jensen M., Hendry J.H., Kleiman N.J., Macvittie T.J., Aleman B.M., Edgar A.B. [et al.]. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs – threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann. ICRP*, 2012, vol. 41, no. 1–2, pp. 1–322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001

© Rybkina V.L., Oslina D.S., Azizova T.V., Kirillova E.N., Makeeva V.S., 2024

Valentina L. Rybkina – Doctor of Medical Sciences, Leading Researcher (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5096-9774>).

Darya S. Oslina – Head of Laboratory of Radiobiology, Researcher (e-mail: oslina@subi.su; tel.: +7 (35130) 2-91-54; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4757-7969>).

Tamara V. Azizova – Candidate of Medical Sciences, Deputy Director for Science, Head of Clinical Department, Chief Researcher (e-mail: clinic@subi.su; tel.: +7 (35130) 2-93-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6954-2674>).

Evgenia N. Kirillova – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher (e-mail: kirillova@subi.su; tel.: +7 (35130) 7-56-70; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7849-6622>).

Valeria S. Makeeva – repository manager, Junior Researcher (e-mail: makeeva@subi.su; tel.: +7 (35130) 2-91-54; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9177-4666>).

7. Effects of Ionizing Radiation – UNSCEAR Report, Volume II: Scientific Annexes, Annex C. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation, Annex D. Effects of ionizing radiation on the immune system. New York, United Nations Publ., 2009, 338 p.
8. Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 2013, vol. 39, no. 1, pp. 1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
9. Lumniczky K., Canduias S.M., Gaipul U.S., Frey B. Editorial: Radiation and the Immune System: Current Knowledge and Future Perspectives. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 8, pp. 1933. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01933
10. Akleev A.V., Ovcharova E.A. The immune status of chronic exposed people in later periods. *Meditinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*, 2007, vol. 52, no. 3, pp. 5–9 (in Russian).
11. Zurochka A.V., Haidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Protochnaya tsitometriya v meditsine i biologii [Flow cytometry in medicine and biology]. Ekaterinburg, RIO UrO RAN Publ., 2013, 552 p. (in Russian).
12. Rybkina V.L., Bannikova M.V., Adamova G.V., Dörr H., Scherthan H., Azizova T.V. Immunological markers of chronic occupational radiational exposure. *Health Phys.*, 2018, vol. 115, no. 1, pp. 108–113. DOI: 10.1097/hp.0000000000000855
13. Kirillova E.N., Drugova E.D., Muksinova K.N., Rybkina V.L., Zaharova M.L., Ezhova A.V., Uryadnitskaya T.I., Haritonov O.E. Mayak staff immune status after the late period of professional exposure. *Immunologiya*, 2007, vol. 28, no. 1, pp. 37–42 (in Russian).
14. Kusunoki Y., Kyoizumi S., Yamaoka M., Kasagi F., Kodama K., Seyama T. Decreased proportion of CD4 T Cells in the blood of atomic bomb survivors with myocardial infarction. *Radiat. Res.*, 1999, vol. 152, no. 5, pp. 539–543.
15. Speiser D.E., Ho P.-C., Verdeil G. Regulatory circuits of T-cell function in cancer. *Nat. Rev. Immunol.*, 2016, vol. 16, no. 10, pp. 599–611. DOI: 10.1038/nri.2016.80
16. Donadon M., Hudspeth K., Simino M., Di Tomasso L., Preti M., Tentorio P., Roncalli M., Mavilio D., Torzilli G. Increased infiltration of natural killer and T-cells in colorectal liver metastases improves patient overall survival. *J. Gastrointest. Surg.*, 2017, vol. 21, no. 8, pp. 1226–1236. DOI: 10.1007/s11605-017-3446-6
17. Oradovskaya I.V., Oprishchenko M.A., Leiko I.A., Ivanov V.V., Zabelov V.M., Luss L.V., Nikonova M.F., Chernetsova L.F. [et al.]. Immunnyi status personala ob"ekta unichtozheniya yadernogo oruzhiya (UYaO). Itogi chetyrekhletnego nablyudeniya [Immune status of personnel at a nuclear dismantlement facility (NDF). Results of four-year observation]. *IV s"ezd po radiatsionnym issledovaniyam (radiobiologiya, radioekologiya, radiatsionnaya bezopasnost'): tezis dokladov [IV Congress on Radiation Research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts of reports]*. Moscow, 2001, 163 p. (in Russian).
18. Shankaran V., Ikeda H., Bruce A.T., White J.M., Swanson P.E., Old L.J., Schreiber R.D. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumor development and shape tumor immunogenicity. *Nature*, 2001, vol. 410, no. 6832, pp. 1107–1111. DOI: 10.1038/35074122
19. Gabrilovich D.I., Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, vol. 9, no. 3, pp. 162–174. DOI: 10.1038/nri2506
20. Spiotto M.T., Rowley D.A., Schreiber H. Bystander elimination of antigen loss variants in established tumors. *Nat. Med.*, 2004, vol. 10, no. 3, pp. 294–298. DOI: 10.1038/nm999
21. Oradovskaya I.V. Immunologicheskii monitoring katastrofy v Chernobyle. Otdalennyi period (2001–2006 gg.): itogi mnogoletnikh nablyudeniya [Immunological monitoring of the Chernobyl disaster. Long-term period (2001–2006): results of long-term observations]. Moscow, Meditsinskaya kniga Publ., 2007, 608 p. (in Russian).
22. Matsushita H., Vesely M.D., Koboldt D.C., Rickert C.G., Uppaluri R., Magrini V.J., Arthur C.D., White J.M. [et al.]. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature*, 2012, vol. 482, no. 7385, pp. 400–404. DOI: 10.1038/nature10755
23. Fridman W.H., Pages F., Sautes-Fridman C., Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat. Rev. Cancer*, 2012, vol. 12, no. 4, pp. 298–306. DOI: 10.1038/nrc3245
24. De Visser K.E., Korets L.V., Coussens L.M. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B-lymphocyte dependent. *Cancer Cell*, 2005, vol. 7, no. 5, pp. 411–423. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.04.014
25. Schioppa T., Moore R., Thompson R.G., Rosse E.C., Kulbe H., Nedespasov S., Mauri C., Coussens L.M., Balkwill F.R. B regulatory cells and the tumor-promoting actions of TNF- α during squamous carcinogenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2011, vol. 108, no. 26, pp. 10662–10667. DOI: 10.1073/pnas.1100994108
26. Olkhanud P.B., Damdinsuren B., Bodogai M., Gress L.E., Sen R., Wejksza K., Malchinkhuu E., Wersto R.P., Biragyn A. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells. *Cancer Res.*, 2011, vol. 71, no. 10, pp. 3505–3515. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4316
27. Pylayeva-Gupta Y., Das S., Handler J.S., Hajdu C.H., Coffre M., Koralov S.B., Bar-Sagi D. IL-35 producing B-cells promote the development of pancreatic neoplasia. *Cancer Discov.*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 247–255. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0843
28. Andreu P., Johansson M., Affara N.I., Pucci F., Tan T., Junankar S., Korets L., Lam J. [et al.]. Fc γ R activation regulates inflammation-associated squamous carcinogenesis. *Cancer Cell*, 2010, vol. 17, no. 2, pp. 121–134. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.019

Rybkina V.L., Oslina D.S., Azizova T.V., Kirillova E.N., Makeeva V.S. Role of cellular immunity in malignant tumors development in individuals chronically exposed to ionising radiation. *Health Risk Analysis*, 2024, no. 1, pp. 169–177. DOI: 10.21668/health.risk/2024.1.17.eng

Получена: 05.11.2023

Одобрена: 13.03.2024

Принята к публикации: 20.03.2024