

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco108084>

# Влияние хронического облучения на концентрацию NF-κB в лимфоцитах периферической крови

Е.А. Козинцева<sup>1,2</sup>, А.А. Аклев<sup>3</sup><sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины, Челябинск, Российская Федерация;<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Российская Федерация;<sup>3</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Изменения NF-κB-опосредованных внутриклеточных сигнальных путей могут лежать в основе некоторых патогенетических механизмов радиационно-индуцированного канцерогенеза у людей, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию, что определяет актуальность исследования.

**Цель.** Изучить концентрации транскрипционного фактора NF-κB в лизатах лимфоцитов периферической крови людей, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию, в период реализации канцерогенных эффектов облучения.

**Материал и методы.** Исследование является прикладным аналитическим одномоментным. Обследовано 50 хронически облучённых людей, средний возраст — 73,7 года. Средняя накопленная доза облучения красного костного мозга составила 727,9±79,1 мГр; средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов — 85,9±13,6 мГр. Участников из основной группы разделили на три подгруппы ( $n=18$ ,  $n=16$ ,  $n=16$ ) в зависимости от дозы облучения (0,07–0,44 Гр; 0,45–0,84 Гр; 0,85–2,93 Гр соответственно).

Группа сравнения статистически значимо не отличалась от основной группы по возрастному, половому, этническому составу и включала 25 человек, не подвергавшихся аварийному облучению. Внутриклеточную концентрацию NF-κB определяли методом иммуноферментного анализа в нормализованных по концентрации белка (500 мкг/мл) лизатах лимфоцитов периферической крови. При статистической обработке данных использовали методы описательной статистики, критерий Колмогорова–Смирнова, t-критерий Стьюдента, U-критерий Вилкоксона–Манна–Уитни и критерий Джонкхиера–Терпстры, корреляционный анализ Спирмена.

**Результаты.** Медианная концентрация NF-κB в основной группе составила 34,5 пг/мл, в группе сравнения — 28,1 пг/мл. Не обнаружено статистически значимых различий данного показателя у людей из основной группы относительно группы сравнения ( $p=0,360$ ), между разными дозовыми подгруппами: 0,07–0,44 Гр — 31,5 пг/мл и 0,45–0,84 Гр — 32,4 пг/мл ( $p=0,431$ ); 0,45–0,84 Гр — 32,4 пг/мл и 0,85–2,93 Гр — 38,5 пг/мл ( $p=0,692$ ); 0,07–0,44 Гр и 0,85–2,93 Гр ( $p=0,534$ ). Между дозовыми подгруппами и группой сравнения различия не установлены ( $p=0,931$ ). Не выявлено зависимостей концентрации NF-κB от дозы облучения красного костного мозга, тимуса и периферических лимфоидных органов, возраста, пола, этнической принадлежности обследованных людей.

**Заключение.** Внутриклеточная концентрация фактора транскрипции NF-κB статистически значимо не различается у хронически облучённых и необлучённых людей. Результаты косвенно подтверждают участие NF-κB-опосредованных сигнальных путей в реализации адаптационно-приспособительных реакций организма человека на хроническое низкоинтенсивное радиационное воздействие.

**Ключевые слова:** река Теча; хроническое радиационное воздействие; лизаты лимфоцитов; концентрация фактора транскрипции NF-κB.

## Как цитировать:

Козинцева Е.А., Аклев А.А. Влияние хронического облучения на концентрацию NF-κB в лимфоцитах периферической крови // Экология человека. 2022. Т. 29, № 10. С. 721–730. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco108084>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco108084>

# Effect of chronic exposure on the concentration of NF- $\kappa$ B in peripheral blood lymphocytes

Ekaterina A. Kodintseva<sup>1,2</sup>, Andrey A. Akleyev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russian Federation;

<sup>2</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;

<sup>3</sup> Southern-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** The importance of this study is entrenched in the possibility that alterations in NF- $\kappa$ B-mediated intracellular signaling pathways could serve as the foundation for some pathogenetic mechanisms of radiation-induced carcinogenesis in chronically exposed individuals.

**AIM:** The objective of the study was to analyze the concentration of NF- $\kappa$ B transcription factor in lysates of peripheral blood lymphocytes of individuals exposed to chronic radiation during the implementation of carcinogenic effects of exposure.

**MATERIAL AND METHODS:** The study is applied analytically one time. 50 chronically exposed individuals were examined, whose average age was 73.7 years. The average accumulated radiation dose to the red bone marrow was  $727.9 \pm 79.1$  mGy; the average accumulated exposure dose to the thymus and peripheral lymphoid organs was  $85.9 \pm 13.6$  mGy. Participants from the main group were divided into three subgroups ( $n=18$ ,  $n=16$ ,  $n=16$ ) depending on the radiation dose (0.07–0.44 Gy; 0.45–0.84 Gy; 0.85–2.93 Gy respectively).

The difference between the comparison group and the main group in terms of age, sex, and ethnic composition was not statistically significant; also, an inclusion of 25 individuals who were not accidentally exposed was made. The intracellular concentration of NF- $\kappa$ B was ascertained by enzyme immunoassay in protein concentration-normalized (500  $\mu$ g/mL) lysates of peripheral blood lymphocytes. Statistical data processing employed descriptive statistical methods, as well as Kolmogorov–Smirnov test, Student's t-test, Wilcoxon–Mann–Whitney U-test, Jonckheere–Terpstra test, and Spearman correlation analysis.

**RESULTS:** The median concentration of NF- $\kappa$ B in the main group was 34.5 pg/ml, and in the comparison group — 28.1 pg/ml. The differences in the indices in individuals from the main group relative to the comparison group were not statistically significant ( $p=0.360$ ), as well as between different dose groups: 0.07–0.44 Gy — 31.5 pg/ml and 0.45–0.84 Gy — 32.4 pg/ml ( $p=0.431$ ); 0.45–0.84 Gy — 32.4 pg/ml and 0.85–2.93 Gy — 38.5 pg/ml ( $p=0.692$ ), 0.07–0.44 Gy and 0.85–2.93 Gy ( $p=0.534$ ). No statistically significant differences were found between the dose groups and the comparison group ( $p=0.931$ ). No dependences of NF- $\kappa$ B concentration on the exposure dose to the red bone marrow, thymus, and peripheral lymphoid organs, age, sex, and ethnicity of the examined individuals were detected.

**CONCLUSION:** The intracellular concentration of the transcription factor NF- $\kappa$ B does not differ significantly in individuals exposed to chronic radiation and individuals who were not accidentally exposed. Results indirectly confirm the involvement of NF- $\kappa$ B-mediated signaling pathways in the implementation of adaptive responses of the human body to chronic low-intensity radiation exposure.

**Key words:** the Techa River; chronic radiation exposure; lymphocyte lysates; NF- $\kappa$ B.

## To cite this article:

Kodintseva EA, Akleyev AA. Effect of chronic exposure on the concentration of NF- $\kappa$ B in peripheral blood lymphocytes. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(10):721–730. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco108084>

Received: 24.05.2022

Accepted: 17.10.2022

Published online: 15.11.2022

## ВВЕДЕНИЕ

Внутриклеточные сигнальные пути с участием NF-κB наряду с другими сигнальными путями в настоящее время пристально изучаются в контексте реализации отдалённых радиационно-индуцированных эффектов, включая процессы канцерогенеза [1]. Канцерогенез — чрезвычайно сложное и до конца не изученное явление, однако участие иммунной системы в процессах опухолевой трансформации нормальных клеток считается доказанным [1, 2]. У пострадавших в результате хронического техногенного облучения жителей сёл, расположенных в береговой зоне реки Течи, в отдалённые сроки регистрируются повышенные риски развития онкологических заболеваний [3]. При этом в течение десятилетий после начала облучения у пострадавших отмечаются увеличение частоты нестабильных хромосомных aberrаций и соматических мутаций в лимфоцитах периферической крови, а также угнетение T-клеточного звена иммунной системы и провоспалительный цитокиновый профиль, наиболее выраженные у лиц с хроническим лучевым синдромом в анамнезе [4]. Провоспалительный характер иммунного ответа у облучённых жителей побережья реки Течи, регистрируемый спустя 65 и более лет после начала облучения, проявляется повышенными концентрациями ключевых провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ФНО-α и ИФН-γ) и сниженными — противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 в сыворотке крови [5]. С учётом того факта, что провоспалительный характер иммунного ответа может играть важную роль в развитии отдалённых канцерогенных эффектов облучения, исследование молекулярно-генетических механизмов регуляции продукции цитокинов, включая опосредованные NF-κB сигнальные пути, представляет особый интерес.

Считается, что изменения NF-κB-опосредованных внутриклеточных сигнальных путей могут лежать в основе некоторых патогенетических механизмов радиационно-индуцированного канцерогенеза [6]. Транскрипционный фактор NF-κB участвует в регуляции пролиферации, лимфопоэза, функционирования зрелых клеток иммунной системы, обеспечивая врождённый и адаптивный иммунные ответы, воспаление и апоптоз [7]. Аберрантная регуляция гена *NF-κB*, включая конститутивную или индуцированную активацию, наблюдается при многих видах рака [8] и может иметь решающее значение для его прогрессирования [9], а также формирования резистентности опухолевых клеток к радио- и химиотерапии [8]. *NF-κB* может способствовать онкогенезу за счёт активации транскрипции генов, связанных с пролиферацией клеток, ангиогенезом, метастазированием, прогрессией опухоли, воспалением и подавлением апоптоза [10]. Дозы облучения, представленные в обзоре [8], при которых в экспериментах наблюдается активация транскрипции *NF-κB*, зависят от биологического объекта, линейной передачи энергии ионизирующего излучения, режима облучения. Даже малые дозы

радиации могут влиять на NF-κB-зависимые процессы дифференцировки иммунокомпетентных клеток [11]. Дозы ионизирующего излучения, активирующие провоспалительные цитокиновые реакции после облучения головного мозга, по результатам некоторых исследований, находятся в диапазоне 7–10 Гр [12]. Так, активация экспрессии *NF-κB* наблюдалась в клетках красного костного мозга (ККМ) мышей после протонного облучения всего тела в дозе 1 Гр [13], в лимфобластоидных клетках — при дозе 0,25 Гр [14], в солидных опухолях — при дозах выше 5 Гр [8], однако сведений о кривых доза-эффект для активации *NF-κB* в доступной литературе нами не найдено. При воздействии высоких доз ионизирующего излучения наблюдается массовая гибель клеток с высвобождением «сигналов опасности», что способствует активации *NF-κB* и развитию противоопухолевого иммунного ответа [9]. С другой стороны, в работе [15] при терапии овальбуминовой астмы общим низкодозовым облучением в дозе 0,5 Гр в сутки в течение трёх дней в тучных клетках мышей наблюдалась супрессия транскрипционной активности *NF-κB*. Воздействие рентгеновского излучения *in vitro* в дозе 0,5–0,7 Гр подавляло активацию *NF-κB* в моноцитах [16]. Модуляция экспрессии цитокинов при хроническом воздействии малых доз ионизирующего излучения указывает на участие фактора NF-κB в качестве ключевого регулятора ответов клетки на облучение [8]. И малые (менее 0,2 Гр), и высокие дозы облучения вызывают провоспалительные реакции в тимусе облучённых мышей [17]. Предполагается, что хроническое облучение в малых дозах обуславливает воспалительную среду, опосредованную секрецией цитокинов и продукцией активных форм кислорода и азота, которые оказывают вторичные генотоксические и проонкогенные эффекты [9]. При этом некоторые авторы сообщают об активации иммунных ответов уже при хроническом радиационном воздействии в малых дозах (1,2 мГр/ч) [18]. Количество естественных киллеров и уровень ИЛ-15, экспрессия которого отчасти регулируется фактором транскрипции NF-κB [17], повышались в тимусе после облучения мышей с низкой мощностью дозы [19]. Несмотря на имеющиеся экспериментальные данные, в настоящее время крайне сложно определить, какие эффекты хронического воздействия ионизирующих излучений в малых дозах являются про- или противовоспалительными, про- или антиканцерогенными.

Актуальность количественного исследования внутриклеточного содержания фактора транскрипции NF-κB в лимфоцитах периферической крови хронически облучённых людей обусловлена, с одной стороны, широким спектром функций NF-κB как эффекторной и регуляторной молекулы, обеспечивающей разнообразные клеточные реакции на воздействие ионизирующего излучения в широком диапазоне доз, включая малые дозы, с другой стороны — способностью фактора NF-κB опосредовать такие важные для нормального функционирования

иммунокомпетентных клеток реакции, как синтез цитокинов, апоптоз, пролиферацию и отчасти их дифференцировку. Фактор транскрипции NF- $\kappa$ B участвует в реализации воспалительных реакций на клеточном уровне, что особенно важно, поскольку обследование пострадавших лиц проводится в отдалённые сроки после начала облучения, когда мощности доз минимальны, а фоновое хроническое воспаление является особенностью исследуемой когорты людей.

**Цель.** Анализ зависимости концентрации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B в лизатах лимфоцитов периферической крови людей, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию, в период реализации канцерогенных эффектов облучения от факторов радиационной и нерадиационной природы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прикладное аналитическое одномоментное исследование выполнено в Уральском научно-практическом центре радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России.

Объект исследования — население прибрежных сёл реки Течи, пострадавшее в результате многолетнего техногенного загрязнения реки и ее поймы радионуклидами. В настоящее время обследуемые достигли пожилого возраста — периода реализации канцерогенных эффектов облучения. Предметом исследования являлось содержание фактора транскрипции NF- $\kappa$ B в лизатах лимфоцитов периферической крови человека.

Радиационное воздействие на жителей сёл поймы Течи характеризуется низкой интенсивностью, длительным периодом накопления дозы, широким диапазоном накопленных населением доз с преобладанием малых и средних значений, многолетним облучением ККМ, выраженными компенсаторными процессами в системе гемопоза [20].

Все участники исследования перед взятием биологического материала были опрошены и осмотрены врачами клинического отделения Уральского научно-практического центра радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, а также подписали письменное добровольное информированное согласие в соответствии с Хельсинкской декларацией (2013).

Для всех обследуемых специалистами биофизической лаборатории Уральского научно-практического центра радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России рассчитаны индивидуализированные дозы облучения (система TRDS-2016) [21].

По результатам медицинского осмотра и анкетирования в исследуемые группы включали лиц без острых или вне обострения хронических воспалительных заболеваний, почечной или печёночной недостаточности, без эпизодов острого нарушения мозгового кровообращения или черепно-мозговых травм в течение трёх месяцев,

предшествующих исследованию. Больных с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями в анамнезе; с гемобластозами; лиц, принимающих гормональные препараты, прошедших курсы антибактериальной терапии, химиотерапии или радиологические процедуры в течение шести месяцев до взятия биоматериала, исключали из исследуемых групп.

В группу облучённых лиц (основная) были включены 50 человек, средний возраст — 73,7 года. Средняя накопленная доза облучения ККМ у людей из данной группы составила 727,9 мГр; средняя накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов (ТиПЛО) — 85,9 мГр. Исследуемых разделили на три подгруппы в зависимости от дозы облучения: подгруппа 1 ( $n=18$ ) — 0,07–0,44 Гр; подгруппа 2 ( $n=16$ ) — 0,45–0,84 Гр; подгруппа 3 ( $n=16$ ) — 0,85–2,93 Гр. Возраст людей из подгрупп с разной дозой облучения ККМ статистически значимо не различался. В табл. 1 представлены средний возраст и средние дозы облучения, рассчитанные на ККМ и ТиПЛО, у людей из трёх дозовых подгрупп.

Группу сравнения составили 25 человек, не подвергавшихся аварийному техногенному радиационному воздействию и проживающих в аналогичных социально-экономических условиях (сельская местность). Накопление дозы облучения у этих людей происходило в течение жизни преимущественно за счёт естественного радиоактивного фона, а также медицинских диагностических процедур. Средний возраст их — 69,9 года. Средняя накопленная доза облучения ККМ у данных людей составила 23,3 мГр; средняя накопленная доза облучения ТиПЛО — 5,3 мГр. В обеих группах преобладали женщины: 37 человек (74,0%) — в основной группе и 18 человек (72,0%) — в группе сравнения. Кроме того, в основную группу входили 36 человек (72,0%) из тюркской этнической группы, а в группу сравнения — 14 человек (56,0%). Обе группы статистически значимо не различались по возрастному, половому, этническому составу.

Фракцию клеток, обогащённую лимфоцитами, выделяли из венозной крови с гепарином натрия (18 МЕ/мл) на градиенте плотности 1,077 г/л («Биолот», Россия). Дважды отмывали фосфатно-солевым буферным раствором Дульбекко («Биолот», Россия). Остатки эритроцитов в клеточной суспензии лизировали раствором хлорида аммония (pH=7,2–7,4) [22] в соотношении 1:9 в течение 10 мин с последующей нейтрализацией 10 мл фосфатно-солевого буферного раствора (pH=7,4) (Sigma-Aldrich, США) и отмывкой тем же раствором. Концентрацию отмытых клеток оценивали на счётчике клеток Countess II FL (Thermo Fisher Scientific, США). Клетки лизировали буфером для лизиса клеток млекопитающих, совместимым с иммуноферментным анализом (Abscam, США), с добавлением ингибиторов протеаз (Merck, США). Вышеперечисленные этапы выполняли на льду или при 2–8 °С. Концентрацию белка в лизатах клеток определяли методом спектрофотометрии при длине волны 280 нм на спектрофотометре

**Таблица 1.** Средний возраст и средние дозы облучения людей в исследуемых группах,  $M \pm m$  (min–max)**Table 1.** Average age and average exposure doses of people in the study groups,  $M \pm m$  (min–max)

Показатель Indicator	Группа сравнения, доза облучения ККМ — менее 0,07 Гр Comparison group, dose of irradiation of the RBM — less than 0.07 Gy (n=25)	Основная группа, доза облучения ККМ — 0,07–2,93 Гр Main group, dose of irradiation of the RBM — 0.07–2.93 Gy (n=50)	Подгруппы основной группы Subgroups of the main group		
			Подгруппа 1 Subgroup 1 (n=18)	Подгруппа 2 Subgroup 2 (n=16)	Подгруппа 2 Subgroup 2 (n=16)
Возраст, лет Age, years	69,9±1,5 (61,0–87,0)	73,7±0,6 (67,0–84,0)	73,4±1,2 (67,0–84,0)	73,9±1,0 (69,0–82,0)	73,8±0,8 (70,0–84,0)
Доза облучения ККМ, мГр Dose of irradiation of the RBM, mGy	23,3±3,8 (1,2–67,5)	727,9±79,1 (86,7–2929,7)	265,0±25,4 (86,7–420,5)	638,5±33,6 (477,3–838,1)	1338,1±142,9 (853,8–2929,7)
Доза облучения ТиПЛО, мГр Dose of irradiation of the thymus and peripheral lymphoid organs, mGy	5,3±1,8 (0–33,6)	85,9±13,6 (0–434,7)	40,2±11,6 (0–150,4)	90,2±22,9 (0–354,6)	133,2±29,5 (0–434,7)

Примечание: ККМ — красный костный мозг.

Note: RBM — red bone marrow.

Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Клеточные лизаты нормализовали по концентрации белка 500 мкг/мл. Концентрацию транскрипционного фактора NF-κB в пробах определяли методом твёрдофазного количественного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов производства Abcam (США) на анализаторе Lazurite (Dy nex Technologies Inc., США).

**Статистическая обработка результатов.** Нормальность распределения величин по частоте встречаемости в выборке оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова. При описании выборок значений, подчиняющихся законам нормального распределения, использовали среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего ( $m$ ), диапазон минимального (min) и максимального (max) значений. При сравнении подобных выборок применяли  $t$ -критерий Стьюдента. Для выборок с распределением, отличным от нормального, рассчитывали медиану ( $Me$ ), нижнюю (LL) и верхнюю (UL) границы доверительного интервала для медианы. Выборки сравнивали с помощью  $U$ -критерия Вилкоксона–Манна–Уитни и критерия

Джонкхиера–Терпстры. При описании зависимостей использовали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Статистически значимыми считали различия и корреляции при доверительной вероятности 95 % [23].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования концентрации транскрипционного фактора NF-κB у обследованных из разных дозовых подгрупп представлены в табл. 2.

Статистически значимых различий концентрации фактора транскрипции NF-κB у людей из основной группы и группы сравнения не выявлено ( $p=0,360$ ).

По мере увеличения средней дозы облучения ККМ у обследованных полученные значения статистически значимо не различались между собой и относительно группы сравнения ( $p=0,931$ ).

Не выявлено корреляционных связей между концентрациями (от 25,0 до 43,64 пг/мл) транскрипционного фактора NF-κB в лизатах лимфоцитов участников

**Таблица 2.** Медианная концентрация фактора транскрипции NF-κB в исследуемых группах,  $Me$  (LL–UL)**Table 2.** Median concentration of transcription factor NF-κB in the studied groups,  $Me$  (LL–UL)

Показатель Indicator	Группа сравнения, доза облучения ККМ — менее 0,07 Гр Comparison group, dose of irradiation of the RBM — <0.07 Gy (n=25)	Основная группа, доза облучения ККМ: 0,07–2,93 Гр Main group, dose of irradiation of the RBM: 0.07–2.93 Gy (n=50)	Подгруппы основной группы, доза облучения ККМ, Гр Subgroups of the main group, dose of irradiation of RBM, Gy		
			0,07–0,44 (n=18)	0,45–0,84 (n=16)	0,85–2,93 (n=16)
Концентрация NF-κB, пг/мл NF-κB concentration, pg/ml	28,1 (24,9–39,3)	34,5 (29,8–39,1)	31,5 (28,9–41,7)	32,4 (23,2–44,9)	38,5 (24,7–44,9)

Примечание: ККМ — красный костный мозг.

Note: RBM — red bone marrow.

**Таблица 3.** Коэффициенты корреляции Спирмена между возрастом, полом, этнической принадлежностью обследованных и концентрацией фактора транскрипции NF-κB,  $r_s$  ( $p$ )

**Table 3.** Spearman's correlation coefficients between age, gender, ethnicity of the examined people and the concentration of the transcription factor NF-κB,  $r_s$  ( $p$ )

Пары показателей, пг/мл Pairs of indicators, pg/ml	Группа сравнения, доза облучения ККМ — менее 0,07 Гр Comparison group, dose of irradiation of the RBM — <0.07 Gy ( $n=25$ )	Основная группа, доза облучения ККМ — 0,07–2,93 Гр Main group, dose of irradiation of the RBM — 0.07–2.93 Gy ( $n=50$ )	Подгруппы основной группы, доза облучения ККМ, Гр Subgroups of the main group, dose of irradiation of RBM, Gy		
			0.07–0.44 ( $n=18$ )	0.45–0.84 ( $n=16$ )	0.85–2.93 ( $n=16$ )
Возраст, лет — концентрация NF-κB Age, years — NF-κB concentration	–0,27 (0,19)	–0,04 (0,77)	0,03 (0,89)	–0,03 (0,91)	–0,24 (0,37)
Пол — концентрация NF-κB Gender — NF-κB concentration	–0,16 (0,44)	0,01 (0,94)	–0,24 (0,34)	0,06 (0,84)	0,10 (0,71)
Этническая принадлежность — концентрация NF-κB Ethnicity — NF-κB concentration	–0,09 (0,67)	–0,01 (0,97)	–0,41 (0,09)	0,46 (0,07)	–0,02 (0,95)

Примечание: ККМ — красный костный мозг.

Note: RBM — red bone marrow.

исследования ( $n=75$ ) и дозами облучения ККМ в диапазоне от 1,2 до 2929,7 мГр ( $r_s=-0,09$ ,  $p=0,455$ ) и ТиПЛО в диапазоне от 0 до 434,7 мГр ( $r_s=-0,01$ ;  $p=0,923$ ).

Результаты оценки влияния факторов нерадиационной природы (достигнутого возраста, пола, этнической принадлежности обследованных) на концентрацию фактора транскрипции NF-κB в лизатах лимфоцитов периферической крови лиц из разных дозовых подгрупп представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, не выявлено статистически значимых корреляционных зависимостей между концентрацией транскрипционного фактора NF-κB в лизатах лимфоцитов периферической крови и возрастом на момент обследования, полом, этнической принадлежностью обследованных в отдалённые сроки после начала радиационного воздействия. Взаимосвязей между показателем и перечисленными факторами не обнаружено как у людей из основной группы и группы сравнения, так и у обследованных лиц из разных дозовых подгрупп.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В доступной литературе крайне мало сведений об особенностях функционирования внутриклеточных сигнальных путей с участием фактора транскрипции NF-κB в иммунитах человека в условиях хронического радиационного воздействия. Вместе с тем наблюдаемые в отдалённые сроки изменения в иммунной системе хронически облучённых людей могут быть прямо или косвенно связаны с изменениями во внутриклеточных сигнальных

путях, опосредованных фактором транскрипции NF-κB. К таким изменениям, в частности, относятся выявленные в отдалённые сроки у перенёсших хронический лучевой синдром людей угнетение Т-клеточного звена иммунитета и дисбаланс цитокинов без клинических проявлений иммунодефицитных состояний по сравнению с людьми аналогичного возраста и пола, облучёнными в сопоставимых дозах [24]; провоспалительный профиль сывороточных цитокинов у хронически облучённых людей: снижение концентраций ИЛ-4, ИЛ-10 при повышении концентраций ИЛ-8, ФНО-α и ИФН-γ в сыворотке крови, в случае ФНО-α — слабо зависимом от дозы облучения ККМ [5]; увеличение относительной частоты лимфоцитов CD95<sup>+</sup> у облучённых людей с повышенной интенсивностью спонтанного апоптоза [25]. У жителей сёл, расположенных в верховье реки Течи, облучённых в дозах от 0,20 до 2,05 Гр, через 48–52 года после начала радиационного воздействия отмечены снижение числа лимфоцитов в периферической крови и индукция адаптивного ответа [26]. Помимо этого, у хронически облучённых людей, живущих на реке Тече, с дозой на ККМ менее 0,5 Гр регистрировали снижение концентрации антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы при отсутствии изменений концентрации малонового диальдегида, а у всех обследованных облучённых людей — снижение содержания в крови оксида азота и нитрата [27].

В настоящее время описана роль ФНО-α в воспалительных реакциях и клеточных ответах с участием свободных радикалов [9]. Эти процессы опосредуют радиационно-индуцированную нестабильность генома, а хроническое воспаление служит необходимым условием для длительной

персистенции радиационно-индуцированной нестабильности генома в клетках ККМ [28]. Нестабильность генома при облучении в малых дозах реализуется посредством гена *P53*, активных форм кислорода и ФНО- $\alpha$  [6].

При воздействии ионизирующих излучений ген *NF- $\kappa$ B* может быть активирован за счёт ФНО- $\alpha$  и протеинкиназы АТМ [29]. Активация пути *NF- $\kappa$ B* может защищать клетки от апоптоза после обработки различными генотоксичными агентами посредством экспрессии антиапоптотических белков [6]. Антиоксидантная функция *NF- $\kappa$ B* также обусловлена его способностью после индукции посредством ФНО- $\alpha$  активировать синтез ферментов, обеспечивающих в свою очередь синтез глутатиона [11].

Высокие уровни свободных радикалов приводят к гибели клеток и в дальнейшем — к закреплению поврежденных ДНК. Более низкие уровни радикалов могут активировать редокс-чувствительные пути передачи сигналов: *NF- $\kappa$ B*, MAPK, EGR1, JUN, AP-1. Это стимулирует дополнительную продукцию провоспалительных хемокинов (ИЛ-8, MIP2) и цитокинов (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 *in vitro* и *in vivo*) [11]. Фактор транскрипции *NF- $\kappa$ B* регулирует гены цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора), хемокинов (ИЛ-8, MIP1, RANTES и эотоксина), белков острой фазы, молекул адгезии [11]. С одной стороны, провоспалительные цитокины поддерживают радиационно-индуцированный окислительный стресс в клетке (за счёт активных форм кислорода и азота), что в свою очередь оказывает влияние на ряд внутриклеточных регуляторных факторов [11]. С другой стороны, активация *NF- $\kappa$ B* обеспечивает радиорезистентность клетки за счёт активации большого количества генов, кодирующих помимо цитокинов (гены провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  являются в таком случае критическими) металлопротеины и другие белки, вовлечённые в стресс-ответ, воспаление и апоптоз [26]. При этом чувствительность клеток к ионизирующим излучениям может повышаться при истощении системы факторов, лимитирующих активность *NF- $\kappa$ B* [11]. Сдвиг баланса регуляторных внутриклеточных систем может служить тем критическим фактором, который в отдалённом периоде после хронического радиационного воздействия *NF- $\kappa$ B* может опосредованно влиять, в частности, на корректность функционирования иммунокомпетентных клеток или пул их потомков.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование не выявило статистически значимых различий между концентрациями фактора транскрипции *NF- $\kappa$ B* в лизатах лимфоцитов периферической крови у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в период реализации канцерогенных эффектов, и у лиц из группы сравнения.

Не установлено статистически значимых различий при сравнении концентраций транскрипционного фактора

*NF- $\kappa$ B* в лизатах лимфоцитов периферической крови у хронически облучённых людей из разных дозовых подгрупп между собой и лиц группы сравнения.

В отдалённый период после начала хронического радиационного воздействия не обнаружены статистически значимые корреляционные зависимости между дозой облучения красного костного мозга, тимуса и периферических лимфоидных органов, а также возрастом, полом, этнической принадлежностью обследованных и концентрацией фактора транскрипции *NF- $\kappa$ B* в лизатах лимфоцитов периферической крови у хронически облучённых людей и лиц из группы сравнения.

Следует отметить, что хронически облучённые участники исследования зрелого и пожилого возраста являются наиболее радиорезистентными представителями когорты подвергшихся хроническому радиационному воздействию на реке Теча. Полученные результаты не позволяют судить о том, задействованы ли *NF- $\kappa$ B*-опосредованные сигнальные пути непосредственно в реализации канцерогенных эффектов хронического облучения, поскольку обследованы практически здоровые люди. Однако отсутствие статистически значимых различий внутриклеточной концентрации фактора транскрипции *NF- $\kappa$ B* у хронически облучённых и необлучённых лиц косвенно подтверждает участие *NF- $\kappa$ B*-опосредованных сигнальных путей в реализации адаптационно-приспособительных реакций организма человека на хроническое низкоинтенсивное радиационное воздействие.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

**Вклад авторов:** Е.А. Кодинцева — концепция и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных, подготовка первого варианта статьи, вычитка и утверждение последнего варианта рукописи; А.В. Аклеев — концепция исследования, анализ и интерпретация данных, вычитка и утверждение последнего варианта рукописи. Оба автора подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

**Author contribution:** E.A. Kodintseva — participation in the development of the concept and design of the study, research, data analysis and interpretation, preparation of the article, read and approved the final version, read and approved the final version before publication; A.A. Akleyev — participation in the development of the concept and design of the study, data analysis and interpretation, read and approved the final version before publication. Both authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Palucka A.K., Coussens L.M. The basis of oncoimmunology // *Cell*. 2016. Vol. 164, N 6. P. 1233–1247. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.049
2. Pio R., Ajona D., Ortiz-Espinosa S., et al. Complementing the cancer-immunity cycle // *Front Immunol*. 2019. Vol. 10. C. 774. doi: 10.3389/fimmu.2019.00774
3. Крестинина Л.Ю., Силкин С. С., Микрюкова Л.Д., и др. Сравнительный анализ риска смерти от солидных злокачественных новообразований у населения, облучившегося на реке Теча и Восточно-Уральском радиоактивном следе // *Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2017. Том 26, № 1. С. 100–114. doi: 10.21870/0131-3878-2017-26-1-100-114
4. Аклеев А.В., Аклеев А.А., Дегтева М.О. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи. Челябинск : Челябинское полиграфическое объединение Книга, 2016. 400 с.
5. Кодинцева Е.А., Аклеев А.А., Блинова Е.А. Цитокиновый профиль лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдалённые сроки после облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2021. Том 61, № 5. С. 506–514. doi: 10.31857/S0869803121050076
6. Schaeue D., Ratican J.A., Iwamoto K.S., McBride W.H. Maximizing tumor immunity with fractionated radiation // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012. Vol. 83, N 4. P. 1306–1310. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.09.049
7. Colombo F., Zambrano S., Agresti A. NF-kappaB, the importance of being dynamic: role and insights in cancer // *Biomedicines*. 2018. Vol. 6, N 2. P. 45. doi: 10.3390/biomedicines6020045
8. Hellweg C.E. The nuclear factor kappaB pathway: a link to the immune system in the radiation response // *Cancer Lett*. 2015. Vol. 368, N 2. P. 275–289. doi: 10.1016/j.canlet.2015.02.019
9. Sologuren I., Rodriguez-Gallego C., Lara P.C. Immune effects of high dose radiation treatment: implications of ionizing radiation on the development of bystander and abscopal effects // *Transl Cancer Res*. 2014. Vol. 3, N 1. P. 18–31. doi: 10.3978/j.issn.2218-676X.2014.02.05
10. Hou D.L., Chen L., Liu B., et al. Identification of common gene networks responsive to radiotherapy in human cancer cells // *Cancer Gene Ther*. 2014. Vol. 21, N 12. P. 542–548. doi: 10.1038/cgt.2014.62
11. Schaeue D., Kachikwu E.L., McBride W.H. Cytokines in radiobiological responses: a review // *Radiat Res*. Vol. 178, N 6. P. 505–523. doi: 10.1667/RR3031.1
12. Hong J.H., Chiang C.S., Campbell I.L., et al. Induction of acute phase gene expression by brain irradiation // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995. Vol. 33, N 3. P. 619–626. doi: 10.1016/0360-3016(95)00279-8
13. Rithidech K.N., Reungpatthanaphong P., Honikel L., et al. Dose-rate effects of protons on in vivo activation of nuclear factor-kappa B and cytokines in mouse bone marrow cells // *Radiat Environ Biophys*. 2010. Vol. 49, N 3. P. 405–419. doi: 10.1007/s00411-010-0295-z
14. Prasad A.V., Mohan N., Chandrasekar B., Meltz M.L. Activation of nuclear factor kappa B in human lymphoblastoid cells by low-dose ionizing radiation // *Radiat Res*. 1994. Vol. 138, N 3. P. 367–372.
15. Hong G.U., Kim N.G., Ro J.Y. Expression of airway remodeling proteins in mast cell activated by TGF-beta released in OVA-induced allergic responses and their inhibition by low-dose irradiation or 8-oxo-dG // *Radiat Res*. 2014. Vol. 181, N 4. P. 425–438. doi: 10.1667/RR13547.1
16. Lodermann B., Wunderlich R., Frey S., et al. Low dose ionising radiation leads to a NF-kappaB dependent decreased secretion of active IL-1beta by activated macrophages with a discontinuous dose-dependency // *Int J Radiat Biol*. 2012. Vol. 88, N 10. P. 727–734. doi: 10.3109/09553002.2012.689464
17. Nishimura H., Fujimoto A., Tamura N., et al. A novel autoregulatory mechanism for transcriptional activation of the IL-15 gene by a nonsecretable isoform of IL-15 generated by alternative splicing // *FASEB J*. 2005. Vol. 19, N 1. P. 19–28. doi: 10.1096/fj.04-2633com
18. Ina Y., Sakai K. Activation of immunological network by chronic low-dose-rate irradiation in wild-type mouse strains: analysis of immune cell populations and surface molecules // *Int J Radiat Biol*. 2005. Vol. 81, N 10. P. 721–729. doi: 10.1080/09553000500519808
19. Shin S.C., Lee K.M., Kang Y.M., et al. Differential expression of immune-associated cancer regulatory genes in low-versus high-dose-rate irradiated AKR/J mice // *Genomics*. 2011. Vol. 97, N 6. P. 358–363. doi: 10.1016/j.ygeno.2011.01.005
20. Akleyev A.V. Chronic radiation syndrome. Berlin-Heidelberg : Springer, 2014. 410 p. doi: 10.1007/978-3-642-45117-1
21. Дегтева М.О., Напье Б.А., Толстых Е.И., и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019. Т. 64, № 3. С. 46–53. doi: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475
22. Лимфоциты. Методы: перевод с англ. / под ред. Дж. Клауса. Москва : Мир, 1990. 395 с.
23. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Корреляционный анализ данных с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS // *Наука и Здравоохранение*. 2017. № 1. С. 7–36.
24. Аклеев А.А., Долгушин И.И. Особенности иммунного статуса у людей, перенесших хронический лучевой синдром, в отдалённые сроки // *Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2018. Т. 27, № 2. С. 76–85. doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85
25. Аклеев А.А., Блинова Е.А., Долгушин И.И. Влияет ли апоптоз лимфоцитов в отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия на иммунный статус человека? // *Российский иммунологический журнал*. 2018. Т. 12, № 3. С. 205–210. doi: 10.31857/S102872210002382-5
26. Хаитов Р.М., Аклеев А.В., Кофиади И.А. Индивидуальная радиочувствительность и иммунитет. Челябинск : Книга, 2018. 216 с.
27. Варфоломеева Т.А., Мандрыкина А.С. Показатели оксидативного стресса у лиц, подвергшихся хроническому облучению на реке Теча // *Вестник Челябинского государственного университета*. 2015. № 21. С. 65–69.
28. Lorimore S.A., Mukherjee D., Robinson J.I., et al. G. Long-lived inflammatory signaling in irradiated bone marrow is genome



dependent // *Cancer Res.* 2011. Vol. 71, N 20. P. 6485–6491. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1926

29. Tang F.R., Loke W.K. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation induced hormesis, adaptive responses, radioresistance,

bystander effects, and genomic instability // *Int J Radiat Biol.* 2015. Vol. 91, N 1. P. 13–27.

doi: 10.3109/09553002.2014.937510

## REFERENCES

- Palucka AK, Coussens LM. The basis of oncoimmunology. *Cell.* 2016;164(6):1233–1247. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.049
- Pio R, Ajona D, Ortiz-Espinosa S, et al. Complementing the cancer-immunity cycle. *Front Immunol.* 2019;10:774. doi: 10.3389/fimmu.2019.00774
- Krestinina LYu, Silkin SS, Mikryukova LD, et al. Risk of death from solid cancer among residents of the Techa Riverside and the East Urals Radioactive Trace areas exposed to radiation: comparative analysis. *Radiation and Risk.* 2017;26(1):100–114. (In Russ). doi: 10.21870/0131-3878-2017-26-1-100-114
- Akleev AV, Akleev AA, Degteva MO, et al. Consequences of radioactive contamination of the Techa river / Chelyabinsk: Cheljabinskoe poligraficheskoe ob#edinenie Kniga; 2016. 400 p. (In Russ).
- Kodintseva EA, Akleyev AA, Blinova EA. The cytokine profile of chronically irradiated people in long terms after the beginning of irradiation. *Radiacionnaja biologija. Radioekologija.* 2021;61(5):506–514. (In Russ). doi: 10.31857/S0869803121050076
- Schaue D, Ratikan JA, Iwamoto KS, McBride WH. Maximizing tumor immunity with fractionated radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;83(4):1306–1310. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.09.049
- Colombo F, Zambrano S, Agresti A. NF-kappaB, the importance of being dynamic: role and insights in cancer. *Biomedicines.* 2018; 6(2):45. doi: 10.3390/biomedicines6020045
- Hellweg CE. The nuclear factor kappaB pathway: a link to the immune system in the radiation response. *Cancer Lett.* 2015; 368(2):275–289. doi: 10.1016/j.canlet.2015.02.019
- Sologuren I, Rodriguez-Gallego C, Lara PC. Immune effects of high dose radiation treatment: implications of ionizing radiation on the development of bystander and abscopal effects. 2014;3(1):18–31. doi: 10.3978/j.issn.2218-676X.2014.02.05
- Hou DL, Chen L, Liu B, et al. Identification of common gene networks responsive to radiotherapy in human cancer cells. *Cancer Gene Ther.* 2014;21(12):542–548. doi: 10.1038/cgt.2014.62
- Schaue D, Kachikwu EL, McBride WH. Cytokines in radiobiological responses: a review. *Radiat Res.* 2012; 178(6):505–523. doi: 10.1667/RR3031.1
- Hong JH, Chiang CS, Campbell IL, et al. Induction of acute phase gene expression by brain irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;33(3):619–626. doi: 10.1016/0360-3016(95)00279-8
- Rithidech KN, Reungpatthanaphong P, Honikel L, et al. Dose-rate effects of protons on in vivo activation of nuclear factor-kappa B and cytokines in mouse bone marrow cells. *Radiat Environ Biophys.* 2010;49(3):405–419. doi: 10.1007/s00411-010-0295-z
- Prasad AV, Mohan N, Chandrasekar B, Meltz ML. Activation of nuclear factor kappa B in human lymphoblastoid cells by low-dose ionizing radiation. *Radiat Res.* 1994;138(3):367–372.
- Hong GU, Kim NG, Ro JY. Expression of airway remodeling proteins in mast cell activated by TGF-beta released in OVA-induced allergic responses and their inhibition by low-dose irradiation or 8-oxo-dG. *Radiat Res.* 2014;181(4):425–438. doi: 10.1667/RR13547.1
- Lodermann B, Wunderlich R, Frey S, et al. Low dose ionising radiation leads to a NF-kappaB dependent decreased secretion of active IL-1beta by activated macrophages with a discontinuous dose-dependency. *Int J Radiat Biol.* 2012;88(10):727–734. doi: 10.3109/09553002.2012.689464
- Nishimura H, Fujimoto A, Tamura N, et al. A novel autoregulatory mechanism for transcriptional activation of the IL-15 gene by a nonsecretable isoform of IL-15 generated by alternative splicing. *FASEB J.* 2005;19(1):19–28. doi: 10.1096/fj.04-2633com
- Ina Y, Sakai K. Activation of immunological network by chronic low-dose-rate irradiation in wild-type mouse strains: analysis of immune cell populations and surface molecules. *Int J Radiat Biol.* 2005;81(10):721–729. doi: 10.1080/09553000500519808
- Shin SC, Lee KM, Kang YM, et al. Differential expression of immune-associated cancer regulatory genes in low-versus high-dose-rate irradiated AKR/J mice. *Genomics.* 2011;97(6):358–363. doi: 10.1016/j.ygeno.2011.01.005
- Akleyev AV. *Chronic radiation syndrome.* Berlin-Heidelberg: Springer; 2014. 410 p. doi: 10.1007/978-3-642-45117-1
- Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Individual dose distribution in cohort of people exposed as a result of radioactive contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2019;64(3):46–53. (In Russ). doi: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475
- Klaus GGB, editor. *Lymphocytes: a practical approach.* Moscow: MIR; 1990. 395 p. (In Russ).
- Grijbovski AM, Ivanov SV, Gorbatova MA. Correlation analysis of data using Statistica and SPSS software. *Science & Healthcare.* 2017;(1):7–36. doi: 10.34689/SH.2017.19.1.001
- Akleyev AA, Dolgushin II. Immune status of persons with CRS at later time points. *Radiation and Risk.* 2018;27(2):76–85. (In Russ). doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85
- Akleyev AA, Blinova EA, Dolgushin II. Does the apoptosis of lymphocytes affects on the immune status of the persons in the remote terms after chronic radiation exposure? *Russian Journal of Immunology.* 2018;12(3):205–210. (In Russ). doi: 10.31857/S102872210002382-5
- Haitov RM, Akleev AV, Kofiadi IA. *Individual'naja radiochuvstvitel'nost' i immunitet.* Cheljabinsk: Kniga; 2018. 216 p. (In Russ).
- Varfolomeyeva TA, Mandrykina AS. Indicators of oxidative stress in persons exposed to chronic irradiation on the Techa river. *Bulletin of Chelyabinsk State University.* 2015;21:65–69. (In Russ).
- Lorimore SA, Mukherjee D, Robinson JI, et al. Long-lived inflammatory signaling in irradiated bone marrow is genome dependent. *Cancer Res.* 2011;71(20):6485–6491. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1926
- Tang FR, Loke WK. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability. *Int J Radiat Biol.* 2015;91(1):1–68. doi: 10.3109/09553002.2014.937510

## ОБ АВТОРАХ

**\*Кодинцева Екатерина Александровна**, к.б.н.,  
научный сотрудник;  
адрес: Россия, 454141, Челябинск, ул. Воровского, 68а;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1156-1922>;  
eLibrary SPIN: 6748-0174; e-mail: [ovcharova.cat@mail.ru](mailto:ovcharova.cat@mail.ru)

**Аклеев Андрей Александрович**, д.м.н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9781-071X>;  
eLibrary SPIN: 5618-4439;  
e-mail: [andrey.akleev@yandex.ru](mailto:andrey.akleev@yandex.ru)

## AUTHORS INFO

**\*Ekaterina A. Kodintseva**, Cand. Sci. (Biol.), research associate;  
address: 68a Vorovskogo street, 454141, Cheljabinsk, Russia;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1156-1922>;  
eLibrary SPIN: 6748-0174;  
e-mail: [ovcharova.cat@mail.ru](mailto:ovcharova.cat@mail.ru)

**Andrey A. Akleyev**, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9781-071X>;  
eLibrary SPIN: 5618-4439;  
e-mail: [andrey.akleev@yandex.ru](mailto:andrey.akleev@yandex.ru)

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author