

ОБЩАЯ
РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК [57+61]::57.033:616.24.-004:613.648.4:539.1.047

**ЛЕЙКЕМИЯ-ИНГИБИРУЮЩИЙ ФАКТОР И СИСТЕМА КЛЕТОЧНОГО
ОБНОВЛЕНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ЛЕГОЧНОГО ФИБРОЗА
У РАБОТНИКОВ ПЛУТОНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА**

© 2021 г. Г. В. Сычугов¹, Е. Л. Казачков¹, С. В. Осовец², Е. С. Григорьева²,
А. Г. Сычугов¹, Т. В. Азизова^{2,*}

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Челябинск, Россия

² Южно-Уральский институт биофизики Федерального медико-биологического агентства России, Озёрск, Россия

*E-mail: clinic@subi.su

Поступила в редакцию 22.11.2020 г.

После доработки 27.05.2021 г.

Принята к публикации 30.06.2021 г.

Цель настоящего исследования – определение характера морфофункциональных взаимодействий между лейкоциемия-ингибирующим фактором и системой регуляторов клеточного обновления в структурах легкого при различных вариантах пневмофиброза у лиц, подвергшихся профессиональному облучению. Морфологические характеристики пневмофиброза изучены на аутопсийных биологических образцах ткани легкого (парафиновые блоки) 56 работников с установленным при жизни диагнозом плутониевого пневмофиброза, 34 работников с пневмофиброзом другого генеза (в исходе хронических воспалительных заболеваний легких) (ПФДГ) и 35 работников без клинической легочной патологии (контроль). Во всех случаях было проведено углубленное морфологическое изучение аутопсийного материала с применением метода иммуногистохимии (ИГХ). Количественную оценку результатов ИГХ-реакции проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений “Морфология 5.1”. Показана зависимость маркеров клеточной пролиферации, апоптоза и лейкоциемия-ингибирующего фактора от суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего α -излучения.

Ключевые слова: апоптоз, пролиферация, лейкоциемия-ингибирующий фактор, α -облучение, ионизирующее излучение, ПО “Маяк”

DOI: 10.31857/S086980312105009X

В настоящее время внимание различных исследователей привлечено к изучению роли фактора, ингибирующего лейкоциемию, в процессах развития фиброза и злокачественных новообразований.

Результаты исследований механизмов легочного фиброза свидетельствуют об изменениях экспрессии и функции цитокинов у животных и пациентов с легочным фиброзом. В одних случаях описана склонность различных цитокинов стимулировать и усиливать фиброзный процесс, в других – роль определенных цитокинов в ингибировании фиброза [1].

Лейкоциемия-ингибирующий фактор (LIF) представляет собой полифункциональный цитокин семейства интерлейкина 6 с разнообразным диапазоном биологической активности. Этот цитокин экспрессируется в тканях слизистой оболочки и обладает иммунорегуляторными свойствами [2]. В частности, описаны провоспалительные

свойства LIF, общие с фактором некроза опухоли (TNF- α), интерлейкинами (IL) -1 и -6, такими как индукция синтеза белка острой фазы [3].

В экспериментальных исследованиях установлено, что наличие LIF несколько увеличивало жизнеспособность эмбриональных стволовых клеток после рентгеновского облучения, что объясняли ускорением пролиферации в присутствии LIF [4].

В отдельных исследованиях показана решающая роль LIF в поддержке регенерации кишечного эпителия в ответ на облучение и защите от развития радиационно-индуцированного желудочно-кишечного синдрома. Кроме того, есть данные о том, что сверхэкспрессия LIF повышала устойчивость к химиотерапии и лучевой терапии [5, 6].

Значительное увеличение контингентов, подвергающихся профессиональному, техногенному и медицинскому облучению, повышает интерес исследователей к изучению воздействия ионизи-

рующего излучения (ИИ) на организм человека. Известно, что ИИ вызывает повреждение морфофункционального гомеостаза многих органов и систем (ICRP, 2012). Органы дыхания — одна из систем, через которую радиоактивные аэрозоли поступают в организм человека [7].

“Клетками-мишенями” при воздействии вредных физических, химических и биологических факторов является альвеолярный эпителий. Апоптоз эпителиальных клеток рассматривают как исходное событие при различных, в том числе радиационных, поражениях легких. Гибель эпителиальных клеток сопровождается процессами ремоделирования, характеризующимися активацией эпителия и фибробластов, продукцией цитокинов, активацией путей свертывания, неоангиогенезом, реэпителизацией и фиброзом [8].

В когорте работников ПО “Маяк”, подвергшихся профессиональному внешнему γ - и/или внутреннему α -облучению, доказан повышенный риск рака легкого [9] и хронического бронхита [10]. Поэтому исследования механизмов развития радиационно-индуцированных эффектов в легких у лиц, подвергшихся профессиональному пролонгированному внутреннему α -облучению от инкорпорированного плутония, являются важными и актуальными. На сегодняшний день картина морфологических и патогенетических особенностей хронической обструктивной болезни легких, бронхоэктатической болезни, фиброзирующего альвеолита, радиационного фиброза легких, предраковых и дисрегенераторных процессов в бронхиальном и альвеолярном эпителии и развития рака легкого в данных когортах лиц, подвергшихся различным сценариям облучения, недостаточно ясна [11].

Цель настоящего исследования — определение характера морфофункциональных взаимодействий между лейкоциемия-ингибирующим фактором и системой регуляторов клеточного обновления в структурах легкого при различных вариантах пневмофиброза у лиц, подвергшихся профессионально-облучению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Изучены морфологические характеристики пневмофиброза (ПФ) на материале аутопсий 125 работников предприятия атомной промышленности. При этом учитывались суммарная поглощенная доза в печени внутреннего α -облучения от инкорпорированного ^{239}Pu и доза внешнего γ -облучения. Исследованы три группы биологических образцов ткани легкого (парафиновые блоки). 1-ю группу составили биологические образцы 56 работников с диагнозом плутониевого пневмофиброза (ППФ), 2-ю группу — 34 биологических образца работников с пневмофиброзом

другого генеза (в исходе хронических воспалительных заболеваний легких) (ПФДГ); контрольную группу — 35 биологических образцов работников без легочной патологии.

Характеристика изучаемых групп работников представлена в табл. 1.

С целью проведения обзорной микроскопии образцы ткани легкого окрашивали гематоксилином и эозином. Для определения соединительнотканного каркаса легочной стромы и очагов пневмофиброза парафиновые срезы окрашивали по методу ван Гизона (выявление общего объема фиброза), по Гомори (на ретикулиновый каркас легочной стромы), по Вейгерту (на эластические волокна).

Во всех случаях было проведено углубленное морфологическое изучение аутопсийного материала с применением метода иммуногистохимии (ИГХ). Для иммунного окрашивания использовали пероксидазный метод с полимерной системой детекции (Histofine® Simple Stain MAX PO MULTI, Япония). Срезы инкубировали с моноклональными антителами к каспазе 3, антигену ядер пролиферирующих клеток Ki-67, рецепторам онкопротеина bcl-2, лейкоциемия-ингибирующему фактору LIF во влажной камере 60 мин при температуре 37°C (табл. 2).

Для количественной оценки результатов ИГХ-реакции получали микрофотографии образцов ткани с помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа “Carl Zeiss Axioskop 40”, цифровой камеры “Jenoptik ProgRes CT3”, персонального компьютера на базе Intel® Core™ i7, программного обеспечения “ProgRes CapturePro 2.5”. Из фотосъемки исключали поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты.

Количественное исследование проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений “Морфология 5.1” (ВидеоТест, Россия). При этом рассчитывали относительную плотность изучаемых структур по отношению к общей площади исследуемого образца по методике, описанной нами ранее [12].

Статистическую обработку полученных данных производили с использованием пакета прикладных программ “STATISTICA”. В расчетах использовали метод наименьших квадратов для определения параметров нелинейных моделей [13]. Для аппроксимации эмпирических данных использовали модель Вейбулла [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В образцах легочной ткани 1-й группы очаги ПФ обнаруживались преимущественно в периферических и срединных отделах легочной паренхимы. В большинстве случаев ПФ был пред-

Таблица 1. Основные характеристики изучаемых групп работников
Table 1. Main characteristics of the study groups of workers

| Характеристика | Группы | | |
|---|------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| | Группа 1 (ППФ, $n = 56$) | Группа 2 (ПФДГ, $n = 34$) | Группа 3 (Контроль, $n = 35$) |
| Поглощенная в легком доза внешнего γ -излучения, Гр | | | |
| Mean \pm St, Dev | 1.27 \pm 0.62 | 1.49 \pm 0.72 | 1.46 \pm 0.70 |
| Med (min–max) | 1.21 (0.03–3.02) | 1.71 (0.01–2.70) | 1.53 (0.05–3.14) |
| [LQ – UQ] | [0.83–1.57] | [0.99–2.00] | [0.97–1.92] |
| Поглощенная в легком доза внутреннего α -излучения, Гр | | | |
| Mean \pm St, Dev | 5.13 \pm 4.77 | 0.16 \pm 0.18 | 0.14 \pm 0.21 |
| Med (min–max) | 2.92 (0.66–26.32) | 0.08 (0.00–0.63) | 0.08 (0.00–1.12) |
| [LQ – UQ] | [2.34–7.81] | [0.02–0.23] | [0.04–0.15] |
| Продолжительность работы с источниками γ -излучения, лет | | | |
| Mean \pm St, Dev | 13.96 \pm 8.53 | 20.71 \pm 9.06 | 23.06 \pm 8.94 |
| Med (min–max) | 12.00 (4.00–40.00) | 22.50 (2.00–37.00) | 25.00 (2.00–39.00) |
| [LQ – UQ] | [8.00–18.00] | [12.00–26.00] | [17.00–28.00] |
| Продолжительность контакта с α -облучением, лет | | | |
| Mean \pm St, Dev | 32.88 \pm 7.46 | 34.42 \pm 7.80 | 28.34 \pm 12.44 |
| Med (min–max) | 32.00 (12.00–55.00) | 33.00 (22.00–56.00) | 31.00 (0.00–50.00) |
| [LQ – UQ] | [28.00–38.00] | [30.00–38.00] | [27.00–35.00] |
| Доля работников, нанятых до 1960 г., абс. (%) | 56 (100.00%) | 34 (100.00%) | 35 (100.00%) |

Примечание. Mean \pm St, Dev обозначает среднее значение \pm стандартное отклонение; Med (min – max) обозначает медиану (минимум – максимум); [LQ – UQ] обозначает нижний и верхний квантили.

ставлен крупными очагами разрастания соединительной ткани, местами сливающимися в обширные поля. Между фиброзными очагами определялись прослойки относительно сохраненной легочной альвеолярной ткани (рис. 1). Во всех случаях в препаратах образцов определялся воспалительный клеточный инфильтрат разной степени выраженности, полиморфный по составу. В частности, инфильтрат был представлен лимфоцитами, плазматическими клетками, сегментоядерными нейтрофилами, макрофагами.

В образцах 2-й группы очаги ПФ наиболее часто определялись в прикорневых областях, перибронхиально и периваскулярно. Очаги сохранившейся легочной паренхимы в основном занимали менее распространенную площадь, чем в 1-й группе, при этом легочная гистоархитектоника подвергалась меньшей трансформации. Также, во всех случаях в препаратах определялся полиморфноклеточный воспалительный инфильтрат разной степени выраженности. Состав инфильтрата в целом не отличался от 1-й группы и был представлен лимфоцитами, плазматическими

клетками, полиморфноядерными нейтрофилами, макрофагами.

В образцах 3-й группы ПФ был выражен незначительно или отсутствовал. В отличие от 1-й и 2-й группы в легочном каркасе преобладали ретикулярные, а не коллагеновые волокна. Клеточный инфильтрат в легочной ткани определялся в единичных случаях и был представлен в основ-

Таблица 2. Панель антител, использованная в иммуногистохимическом исследовании

Table 2. Antibodies used for immunohistochemistry examination

| Антитела | Клон | Рабочее разведение | Фирма-изготовитель |
|-----------|-----------|--------------------|--------------------------|
| Caspase 3 | 3SCP01 | 1 : 75 | GeneTex, США |
| Ki-67 | MIB-1 | 1 : 100 | DakoCytomation, Германия |
| bcl-2 | 100/D5 | 1 : 100 | Cell Marque, США |
| LIF | polyclone | 1 : 100 | GeneTex, США |

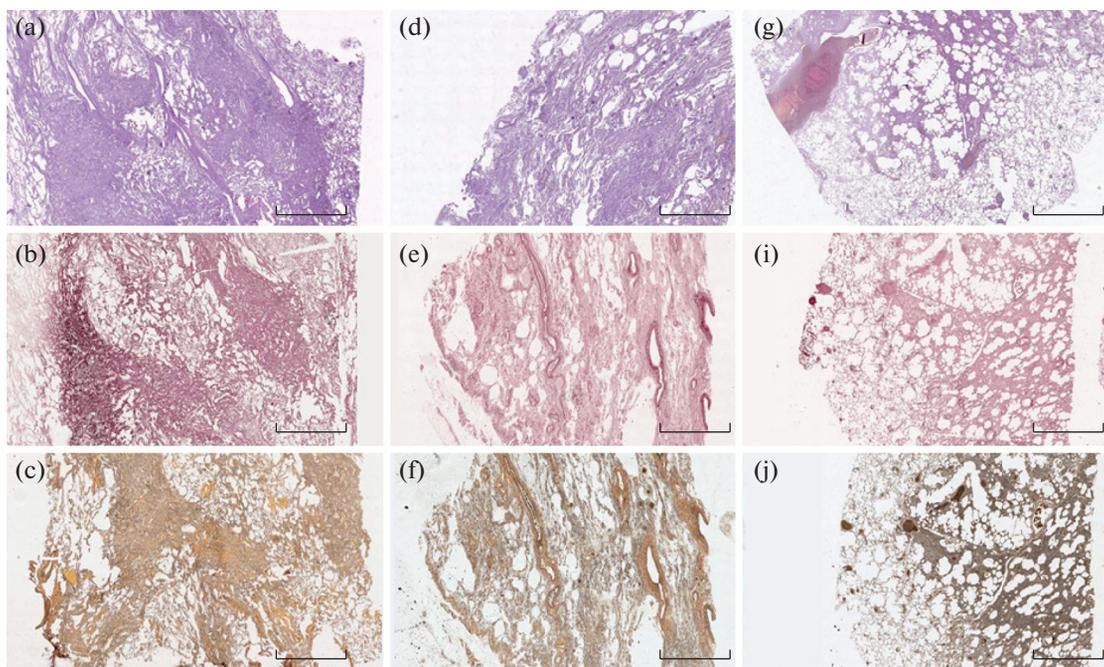


Рис. 1. Очаги фиброза при плутониевом (а–с) и неплутониевом пневмофиброзе (d–f), в сравнении с легочной стромой в контрольной группе (g–j). Окраска гематоксилином и эозином (a, d, g); по Вейгерту на выявление эластических волокон (b, e, i); по Гомори на выявление ретикулярных волокон (c, f, j). Увеличение $\times 12.5$. Маркер 2.5 мм.

Fig. 1. Foci of plutonium-induced (a–c) and non-plutonium-induced (d–f) lung fibrosis compared to lung stroma in specimens of the control group (g–j). Hematoxylin and eosin staining (a, d, g); Wiegert's staining to identify elastic fibers (b, e, i); Gomori's staining to identify reticular fibers (c, f, j). Magnification $\times 12.5$ (scale bar 2.5 mm).

ном интрамукозальными лимфоцитами и альвеолярными макрофагами.

Наибольшая площадь фиброза отмечалась в препаратах первой группы наблюдений. По сравнению с группой ПФДГ фиброз был более выражен на 11%, а с группой контроля – на 40%. При анализе состава соединительной ткани во всех исследованных группах, за исключением третьей, отмечено снижение плотности ретикулярной стромы. В то же время в группах ППФ и ПФДГ отмечено повышение содержания эластических волокон, выраженное их огрубение и повышение содержания при плутониевом и поствоспалительном ПФ. При этом строение эластических волокон в образцах этих групп было резко нарушено. Эластические волокна отличались нарушенной архитектоникой, были деформированы, резко утолщены, неоднородной толщины. Таким образом, при пневмофиброзе, обусловленном внутренним α -облучением от инкорпорированного плутония, изменения легочного соединительно-тканного каркаса имели отличия от таковых при пневмофиброзе, развивающемся при хронических воспалительных заболеваниях легких и только в объеме и локализации процесса.

При исследовании пролиферативной активности клеток легочной паренхимы было выявлено превышение экспрессии белка Ki-67 в образ-

цах первой группы по сравнению с образцами группы контроля на 33% (рис. 2). При этом уровень пролиферативной активности в очагах ПФДГ (2-я группа) снижался по сравнению с третьей группой на 17%, что хорошо согласуется с литературными данными [15].

В развитии пневмофиброза наряду с изменениями клеточной пролиферации важнейшая роль отводится системе клеточного обновления. В нашем исследовании было изучено содержание регуляторов апоптоза каспазы 3 и bcl-2, а также маркера пролиферативной активности Ki-67 в очагах ППФ и ПФДГ.

Данные исследования экспрессии биомолекулярных маркеров клеточной пролиферации, апоптоза и лейкемия-ингибирующего фактора в легочной ткани образцов исследуемых групп представлены в табл. 3–4.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что при ППФ в легочной ткани отмечено снижение экспрессии онкопротеина bcl-2, в отличие от 2-й группы наблюдений, в которой отмечена выраженная сверхэкспрессия данного маркера. Аналогично более высокий уровень экспрессии маркера апоптоза каспазы 3 обнаруживался во 2-й группе наблюдений, при этом незначительно отличаясь от уровня кон-

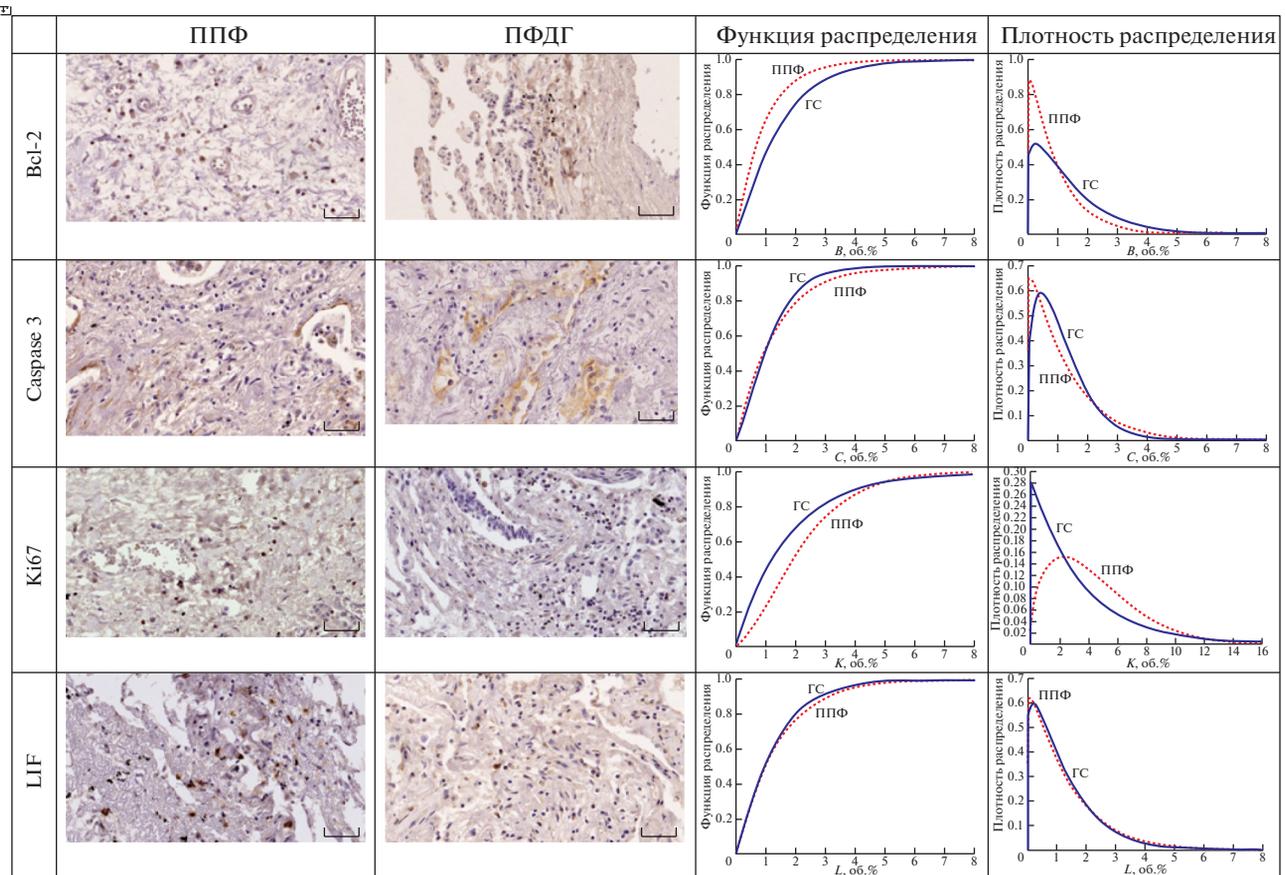


Рис. 2. Экспрессия в очагах пневмофиброза маркеров системы клеточного обновления и лейкемия-ингибирующего фактора при ППФ и ПФДГ. Иммуногистохимический метод с антителами против bcl-2, caspase 3, Ki67, LIF, полимерная тест-система. Увеличение $\times 400$. Маркер 50 мкм.

Fig. 2. Expression of markers of cellular turnover and leukemia inhibitor factor in fibrotic foci in PuPF and non-PuPF specimens. Immunohistochemistry with antibodies for bcl-2, caspase 3, Ki67, LIF, polymer test-system. Magnification $\times 400$ (scale bar 50 μm). PuLF denotes plutonium-induced pulmonary fibrosis; nonPuPF denotes pulmonary fibrosis of a different origin; GC denotes group of comparison (nonPuPF).

трольной группы. Наименее выраженная экспрессия каспазы 3 определялась в группе ППФ.

Также результаты исследования показали разницу в экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67. Наиболее высокий индекс пролиферации (экспрессия Ki-67) был отмечен в образцах с ППФ, особенно в сравнении с группой ПФДГ. Экспрессия LIF определялась в цитоплазме пневмоцитов в альвеолах и очагах пневмофиброза. Уровень экспрессии LIF в 1-й и 2-й группах был значительно ниже, чем в контрольной группе.

Проведен корреляционный анализ полученных данных.

В первой группе (ППФ) статистически значимых корреляционных взаимосвязей между суммарной поглощенной в легких дозой внешнего γ -излучения, суммарной поглощенной в легких дозой внутреннего α -излучения и экспрессией

маркеров клеточной пролиферации и апоптоза в очагах пневмофиброза не выявлено. В то же время в группе ППФ обнаружена значимая положительная корреляционная зависимость умеренной степени выраженности между экспрессией каспазы 3 и антиапоптотического белка bcl-2 ($r = 0.55$). В группе ПФДГ эта взаимосвязь также определялась, но была значительно слабее ($r = 0.34$). Но в группе ПФДГ выявлены положительные корреляционные связи между суммарной поглощенной в легких дозой внутреннего α -излучения с экспрессией каспазы 3 ($r = 0.47$) и LIF ($r = 0.39$).

В результате регрессионного анализа выявлены статистически значимые линейные зависимости указанных выше показателей от суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего α -излучения. Результаты регрессионного анализа показали, что в группе ПФДГ показатели экспрессии

Таблица 3. Deskriptivnye kharakteristiki ekspressii biomolekulyarnykh markerov kletchnoy proliferatsii, apoptoza i LIF v legochnoy tkani obrazcov (ob. %) gruppy 1 ($n = 56$), gruppy 2 ($n = 34$) i kontrol'noy gruppy ($n = 35$)
Table 3. Descriptive characteristics of the expression of biomolecular markers of cell proliferation, apoptosis and LIF in lung tissue specimens (vol %) of group 1 ($n = 56$), group 2 ($n = 34$) and controls ($n = 35$)

| Показатель | Статистические характеристики | | | | | | | | |
|------------|-------------------------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|---------|
| | n | Mean | Med | Min | Max | LQ | UQ | Var | St, dev |
| Cp32 | 56 | 1.456 | 0.944 | 0.087 | 7.180 | 0.431 | 1.867 | 2.419 | 1.555 |
| | 34 | 1.269 | 1.033 | 0.070 | 4.126 | 0.541 | 1.509 | 1.056 | 1.027 |
| | 35 | 1.144 | 0.995 | 0.052 | 3.867 | 0.495 | 1.577 | 0.791 | 0.889 |
| Bcl-2 | 56 | 1.176 | 0.764 | 0.028 | 7.483 | 0.322 | 1.434 | 1.864 | 1.365 |
| | 34 | 1.407 | 1.245 | 0.072 | 4.829 | 0.468 | 2.136 | 1.252 | 1.119 |
| | 35 | 1.276 | 0.903 | 0.088 | 3.953 | 0.433 | 1.839 | 1.167 | 1.080 |
| LIF | 56 | 1.303* | 1.037 | 0.033 | 4.675 | 0.364 | 1.974 | 1.176 | 1.084 |
| | 34 | 1.315* | 1.026 | 0.028 | 4.883 | 0.434 | 1.888 | 1.301 | 1.140 |
| | 35 | 1.974 | 1.901 | 0.138 | 4.419 | 0.766 | 3.062 | 1.645 | 1.282 |
| Ki-67 | 56 | 4.645 | 3.922 | 0.110 | 17.871 | 2.108 | 5.810 | 13.222 | 3.636 |
| | 34 | 3.418 | 2.441 | 0.250 | 9.581 | 1.136 | 5.778 | 8.244 | 2.871 |
| | 35 | 4.135 | 2.940 | 0.181 | 24.137 | 1.250 | 5.814 | 22.856 | 4.721 |

* Значимое различие средних ($p < 0.05$) с контрольной группой; статистически значимых различий между 1-й и 2-й группами не обнаружено.

Таблица 4. Parametricheskie kharakteristiki raspredeleniy pri аппроксимации моделью Вейбулла показателей в группе 1 и группе 2 и значимость различий параметров распределений показателей в группе 1 и группе 2
Table 4. Parametric characteristics of the distributions demonstrated using the Weibull approximation of the observations for groups 1 and 2 and the significance of differences in the distribution parameters between groups 1 and 2

| Показатель | Характеристики W-model | | | | | | Значимость различий | | | |
|------------|------------------------|--------------------|-------|-----------------------|--------------------|-------|---------------------|--------------------|----------|--------------------|
| | группа 1 ($n = 56$) | | | группа 2 ($n = 34$) | | | модуль Me | уровень значимости | модуль V | уровень значимости |
| | Me \pm Δ Me | V \pm Δ V | R^2 | Me \pm Δ Me | V \pm Δ V | R^2 | Me1–Me2 | p | V1–V2 | p |
| Cp32 | 0.926 \pm 0.010 | 1.059 \pm 0.019 | 0.993 | 0.948 \pm 0.018 | 1.337 \pm 0.054 | 0.984 | 0.022 | 0.249 | 0.278 | $<10^{-4}$ |
| Bcl-2 | 0.680 \pm 0.006 | 1.056 \pm 0.016 | 0.996 | 1.089 \pm 0.022 | 1.153 \pm 0.041 | 0.986 | 0.409 | $<10^{-4}$ | 0.097 | 0.0122 |
| LIF | 0.975 \pm 0.011 | 1.059 \pm 0.018 | 0.994 | 0.952 \pm 0.009 | 1.137 \pm 0.018 | 0.997 | 0.023 | 0.148 | 0.078 | 0.005 |
| Ki-67 | 3.814 \pm 0.039 | 1.476 \pm 0.035 | 0.99 | 2.407 \pm 0.048 | 1.005 \pm 0.029 | 0.989 | 1.407 | $<10^{-4}$ | 0.471 | $<10^{-4}$ |

каспазы 3 и LIF значительно возрастали с увеличением дозы облучения в диапазоне суммарных поглощенных в легких доз внутреннего α -излучения от 0 до 0.7 Гр (рис. 3–4). Дополнительные расчеты с помощью моделей нелинейного регрессионного анализа не дали положительных результатов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Легочный фиброз — это хроническое заболевание легких, морфологически характеризующееся чрезмерным накоплением внеклеточного матрикса (ВКМ) и ремоделированием архитектуры

легких. Патологические изменения при легочном фиброзе (чрезмерное накопление ВКМ и ремоделирование архитектуры легких) являются следствием нарушений двух физиологически сбалансированных процессов: пролиферации и апоптоза фибробластов, а также накопления и разрушения ВКМ. Когда нормальный баланс между отложением и удалением ВКМ смещается в сторону отложения, излишек ВКМ накапливается. Когда баланс между пролиферацией фибробластов и апоптозом смещается в сторону ускоренной пролиферации или замедления апоптоза, фибробласты (первичные продуценты ВКМ) накапливаются. Большое количество исследовате-

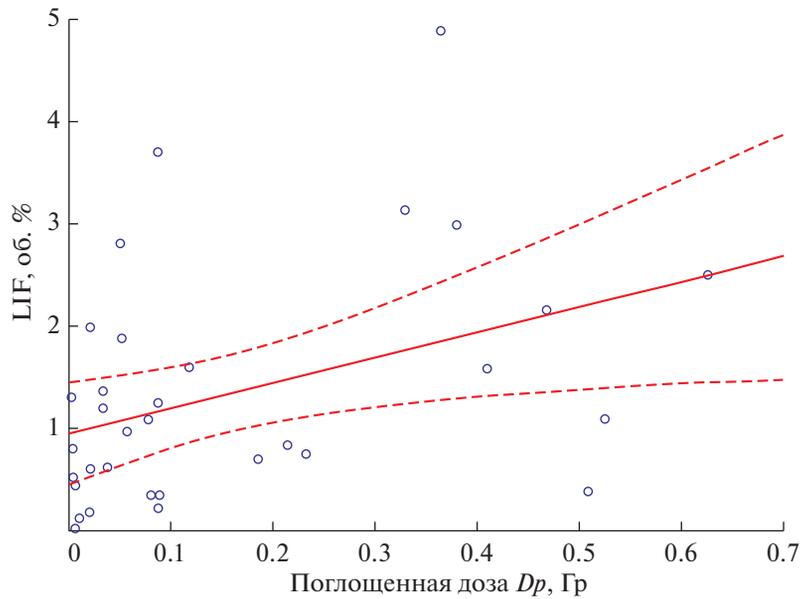


Рис. 3. Зависимость LIF от суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего α -излучения (D_p): группа 2, линейная регрессия ($r = 0.395$), $LIF = (0.53 \pm 0.247) + (2.467 \pm 1.031) D_p$.

Fig. 3. LIF association with cumulative lung absorbed dose of internal α radiation (D_p): group 2, Linear regression ($r = 0.395$), $LIF = (0.953 \pm 0.247) + (2.467 \pm 1.031) D_p$.

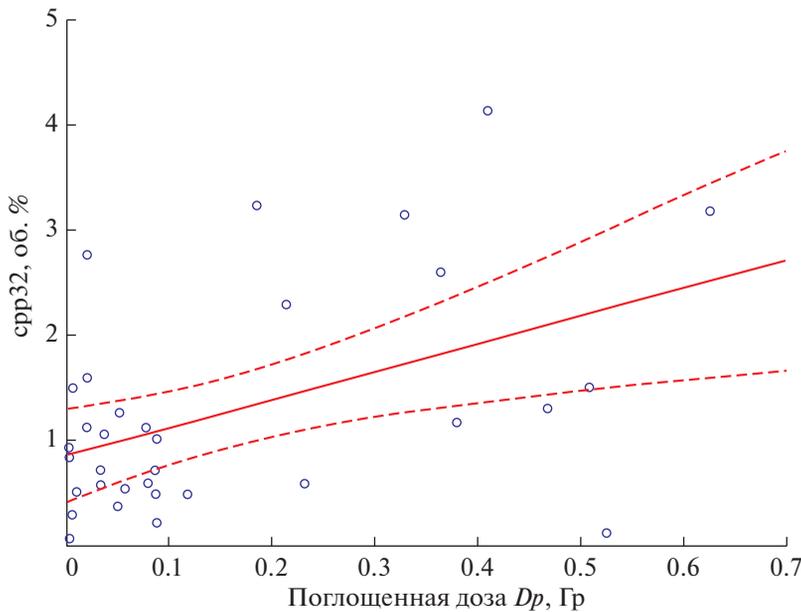


Рис. 4. Зависимость cpr32 от суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего α -излучения (D_p): группа 2, линейная регрессия ($r = 0.466$), $cpr32 = (0.853 \pm 0.217) + (2.654 \pm 0.904) D_p$.

Fig. 4. cpr32 association with cumulative lung absorbed dose of internal α radiation (D_p): group 2, Linear regression ($r = 0.466$), $cpr32 = (0.853 \pm 0.217) + (2.654 \pm 0.904) D_p$.

лей описывают склонность различных цитокинов стимулировать и усиливать фиброзный процесс. В то же время в некоторых случаях показана роль определенных цитокинов в ингибировании фиброза [1].

Одним из цитокинов, играющим важную роль в фиброгенезе, является LIF, который способствует активации стромальных фибробластов [6]. Одновременно цитокины группы интерлейкина-6 участвуют в регуляции апоптоза за счет индукции

bcl-2 [8]. Активация каспаз является ключевым моментом в промежуточных и терминальных стадиях апоптоза [16]. Механизм действия каспаз реализуется через инактивацию белков, которые защищают клетку от апоптоза, в частности белка bcl-2. Уменьшение количества этого белка индуцирует развитие апоптоза [17].

В нашем исследовании отмечено, что при внутреннем облучении от инкорпорированных α -активных радионуклидов у лиц с пневмофиброзом, возникающим в исходе хронической обструктивной болезни легких и застойной сердечной недостаточности (ПФДГ), обнаруживается содружественное возрастание экспрессии LIF и проапоптотической каспазы 3 при увеличении дозы облучения в диапазоне суммарных поглощенных в легких доз внутреннего α -излучения от 0 до 0.7 Гр. В то же время в группе ППФ подобные связи не обнаружены. Однако в предыдущих работах были установлены значимые корреляционные связи выраженности фиброза в легочной ткани и накопления в очагах фиброза коллагенов III и V типов с суммарной поглощенной в легких дозой внутреннего α -излучения при ППФ [12]. Полученный результат можно объяснить тем, что высокие (>1.0 Гр) суммарные поглощенные в легких дозы внутреннего α -излучения, при которых развивается ППФ, вызывают детерминированный эффект в легочной ткани с развитием фатального повреждения эпителиальных клеток, лучевого пневмонита и лучевого пневмофиброза в исходе события. Поэтому взаимосвязи между дозой внутреннего α -облучения и нарушением системы клеточного обновления при ППФ методами, которые применяются в настоящем исследовании, достоверно установить не удастся.

При обоих изучаемых видах пневмофиброза у лиц, подвергшихся радиационному воздействию, отмечена положительная корреляция между экспрессией проапоптотических и антиапоптотических маркеров, что подтверждает данные о повреждающем действии ИИ на элементы системы клеточного обновления в легочной ткани.

В развитии плутониевого и поствоспалительного пневмофиброза структурные изменения соединительной ткани были статистически значимо взаимосвязаны с суммарной дозой и продолжительностью внутреннего α -излучения от инкорпорированных радионуклидов.

Обнаружена значимая связь между внутренним α -облучением от инкорпорированного плутония и особым типом пневмофиброза, отличающегося от пневмофиброза, возникающего в исходе хронической обструктивной болезни легких и застойной сердечной недостаточности [12, 18].

Содержание белков-регуляторов системы апоптоза в очагах плутониевого пневмофиброза значительно отличалось от очагов поствоспалитель-

ного фиброза, что хорошо согласуется с литературными данными [19].

Таким образом, выявлена зависимость нарушений процессов клеточного обновления и пролиферации от суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего α -излучения в очагах легочного пневмофиброза, что хорошо согласуется с литературными данными [15]. Кроме того, при суммарной поглощенной в легких дозе внутреннего α -излучения до 0.7 Гр выявлена значимая линейная зависимость между экспрессией цитокина LIF и проапоптотической каспазой 3, что, вероятно, имеет значение в развитии и прогрессировании плутониевого пневмосклероза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Todd N.W., Luzina I.G., Atamas S.P. Molecular and cellular mechanisms of pulmonary fibrosis // *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012. V. 5. № 1. P. 11.
2. Yamada K., Huang Z., Raska M. et al. Leukemia Inhibitory Factor Signaling Enhances Production of Galactose-Deficient IgA1 in IgA Nephropathy // *Kidney Disease*. 2020. V. 6. P. 168–180.
3. Guimbaud R., Abitbol V., Bertrand V. et al. Leukemia inhibitory factor involvement in human ulcerative colitis and its potential role in malignant course // *Eur. Cytokine Network*. 1998. V. 9. № 4. P. 607–612.
4. Hellweg C.E., Shinde V., Srinivasan S.P. et al. Radiation Response of Murine Embryonic Stem Cells // *Cells*. 2020. V. 9. № 7. P. 1650.
5. Wang H., Wang J., Zhao Y. et al. LIF is essential for ISC function and protects against radiation-induced gastrointestinal syndrome // *Cell Death & Disease*. 2020. V. 11. № 7. P. 588.
6. Yue X., Zhao Y., Zhang C. et al. Leukemia inhibitory factor promotes EMT through STAT3-dependent miR-21 induction // *Oncotarget*. 2016. V. 7. № 4. P. 3777–3790.
7. Бисалиев Р.В. Состояние респираторного тракта человека и экспериментальных животных при радиационном воздействии // *Совр. наукоемкие технологии*. 2007. № 5. С. 62–63. [Bisaliyev R.V. Sostojanie respiratornogo trakta cheloveka i jeksperimental'nyh zhivotnyh pri radiacionnom vozdejstvii // *Sovremennye naukoemkie tehnologii*. 2007. № 5. P. 62–63. (In Russian)]
8. Kuwano K. Epithelial Cell Apoptosis and Lung Remodeling // *Cell. Molec. Immunol*. 2007. V. 4. № 6. P. 419–429.
9. Gilbert E.S., Sokolnikov M.E., Preston D.L. et al. Lung Cancer Risks from Plutonium: An Updated Analysis of Data from the Mayak Worker Cohort // *Radiat. Res*. 2013. V. 179. P. 332–342. <https://doi.org/10.1667/RR3054.1>
10. Azizova T.V., Zhuntova G.V., Haylock R.G.E. et al. Chronic bronchitis incidence in the extended cohort of Mayak workers first employed during 1948–1982 // *Occup. Environ. Med*. 2017. V. 74. P. 105–113. <https://doi.org/10.1136/oemed-2015-103283>

11. *Сагиндикова Г.Е.* Морфологические и молекулярно-биологические особенности патологии легких, развившейся в условиях повышенной радиации: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007. 240 с. [*Sagindikova G.E.* Morfologicheskie i molekularno-biologicheskie osobennosti patologii legkih, razvivshejsja v usloviyah povyshennoj radiacii. [dissertation]. Moskva, 2007. 240 p. (In Russian)]
12. *Sychugov G., Azizova T., Osovets S. et al.* Morphological features of pulmonary fibrosis in workers occupationally exposed to alpha radiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 2020. V. 96. № 4. P. 448–460. <https://doi.org/10.1080/09553002.2020.1721601>
13. *Lawson C.L., Hanson R.J.* Solving least squares problems. Revised republication. Philadelphia (PA): Society for Industrial and Applied Mathematics, 1996. 352 p.
14. *Padgett W.J.* Weibull distribution // *International encyclopedia of statistical science* / Ed. M. Lovric. Berlin (Heidelberg): Springer, 2011. 1673 p.
15. *Kogan E.A., Cherniaev A.L., Chuchalin A.G. et al.* Morphologic and molecular-genetic characterization of lung cancer developing in people who have worked at nuclear facilities and who have lived in Russian territories polluted after the accident at the Chernobyl power plant // *Arkh. Patol.* 1999. V. 61. № 1. P. 22–26.
16. *Earnshaw W.C., Martins L.M., Kaufmann S.H.* Mammalian caspases: structure, activation, substrates and function during apoptosis // *Annu. Rev. Biochem.* 1999. V. 68. P. 383–424. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.68.1.383>
17. *Robbins basic pathology* / Ed. V. Kumar, A.K. Abbas, J.C. Aster, J.A. Perkins. Tenth ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, 2018. 908 p.
18. *Azizova T., Moseeva M., Grigoryeva E. et al.* Registry of Plutonium-induced Lung Fibrosis in a Russian Nuclear Worker Cohort // *Health Phys.* 2020. V. 118. № 2. P. 185–192. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001131>
19. *Nielsen C.E., Wang X., Robinson R.J. et al.* Carcinogenic and inflammatory effects of plutonium-nitrate retention in an exposed nuclear worker and beagle dogs // *Int. J. Radiat. Biol.* 2014. V. 90. № 1. P. 60–70.

Leukemia Inhibitory Factor and Cellular Turnover in Various Types of Pulmonary Fibrosis in Plutonium Production Workers

**G. V. Sychugov^a, E. L. Kazachkov^b, S. V. Osovets^b, E. S. Grigoryeva^b,
A. G. Sychugov^a, and T. V. Azizova^{b, #}**

^a *South Ural State Medical University affiliated to the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia*

^b *Southern Urals Biophysics Institute affiliated to the Russian Federal Medical Biological Agency, Ozyorsk, Russia*

[#] *E-mail: clinic@subi.su*

The present study was aimed to identify types of morphological and functional interactions between the leukemia inhibiting factor and the complex of cellular turnover regulators in pulmonary structures altered due to various types of fibrosis in individuals occupationally exposed to ionizing radiation. Morphological features of pulmonary fibrosis were examined in biological specimens of lung tissues collected during autopsies (paraffin-embedded tissue sections) from 56 workers who had been diagnosed with plutonium-induced pulmonary fibrosis (PuPF) when they had been alive, 34 workers who had been diagnosed with pulmonary fibrosis of a different origin (as an outcome of chronic inflammatory pulmonary diseases) (non-PuPF) and 35 workers without any lung disease (controls). A thorough morphological examination of lung tissue specimens for all cases was performed using immunohistochemistry (IHC). Quantification of the IHC observations was carried out using “Morphology 5.1” computer image analysis. Markers of cell proliferation, apoptosis and leukemia inhibitor factor were demonstrated to be associated with the cumulative lung absorbed dose of internal α -radiation.

Keywords: apoptosis, proliferation, leukemia inhibitory factor, α -radiation, ionizing radiation, Mayak PA