

УДК 616-002.2+612.017:616-092.18/.19:57.052/.053:576.382.7+577.121+612.06:612.014.482+613.648.4

Л. М. Зварич✉, О. В. Лясківська, Д. А. Бази́ка, В. В. Панченко

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Іллєнка, 53, м. Київ, 04050, Україна

ЗМІНИ ВІДНОСНИХ РІВНІВ ЦИТОКІНІВ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН АУТОФАГІЇ У ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ВІДДАЛЕНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ

Мета: оцінити відносні рівні цитокінів та функціональний стан аутофагії у лімфоцитах периферичної крові в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС.

Матеріали і методи. Обстежено 42 пацієнти чоловічої статі, віком 51–77 ($61,35 \pm 5,21$) років. Серед них: основна група – 31 учасник ліквідації наслідків аварії (УЛНА) на ЧАЕС, віком 56–63 ($60,16 \pm 1,73$) років та контрольна група – 11 осіб, віком 51–77 ($64,72 \pm 9,24$) років, які не брали участі в ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи і не мешкали на радіоактивно забруднених територіях. Визначення відносних рівнів цитокінів, NF-κB p65, показників аутофагії у лімфоцитах периферичної крові (ПК) проводили з використанням методу проточної цитометрії.

Результати. В УЛНА на ЧАЕС виявлено зниження відносних рівнів IL-1β, IL-2, та IFN-γ та підвищення IL-6, TNF-α і TGF-β у лімфоцитах ПК. Кореляційний аналіз показав наявність залежності між рівнями досліджуваних цитокінів. Відносний рівень NF-κB p65, базальний рівень ключового білка аутофагії LC3B та після додавання хлорохіну дифосфату у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС був подібним до такого в осіб контрольної групи. Відмічено зниження показників ємності та чутливості аутофагічного потоку в лімфоцитах ПК в УЛНА на ЧАЕС. Виявлено прямі кореляційні зв'язки між базальним рівнем білка LC3B та IL-4 та IL-6 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС.

Висновки. За отриманими попередніми даними, виявлені зміни в УЛНА на ЧАЕС можуть сприяти активації патологічних запальних процесів та аутоімунних реакцій внаслідок порушення функції лімфоцитів і реакції запалення у зв'язку зі зсувом балансу між цитокінами та позитивною регуляцією їхнього синтезу.

Ключові слова: аутофагія; LC3B; цитокіни; лімфоцити; запалення; іонізуюче випромінювання; Чорнобиль; аварія на ЧАЕС.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2025. Вип. 30. С. 398–413. doi: 10.33145/2304-8336-2025-30-398-413

✉ Зварич Лілія Миколаївна, e-mail: l.zvarych@ukr.net

L. M. Zvarych✉, O. V. Lyaskivska, D. A. Bazyka, V. V. Panchenko

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine, Hematology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yuriia Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

CHANGES IN RELATIVE CYTOKINE LEVELS AND FUNCTIONAL STATUS OF AUTOPHAGY IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN THE REMOTE PERIOD AFTER IRRADIATION

Objective: to assess the relative levels of cytokines and the functional state of autophagy in peripheral blood lymphocytes of clean-up workers of the Chernobyl accident.

Materials and methods. A total of 42 male patients aged 51–77 ($61,35 \pm 5,21$) years were examined. They included: the main group – 42 clean-up workers of the Chernobyl accident aged 56–63 ($60,16 \pm 1,73$) years; and the control group – 11 persons aged 51–77 ($64,72 \pm 9,24$) years, who did not participate in the liquidation of the consequences of the Chernobyl accident and did not live in radioactively contaminated areas. Analysis of relative levels of cytokines, NF- κ B p65, and autophagy parameters in peripheral blood (PB) lymphocytes was performed using flow cytometry.

Results. The decrease in the relative levels of IL-1 β , IL-2, and IFN- γ and an increase in IL-6, TNF- α , and TGF- β in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident were detected. Correlation analysis showed the presence of a relationship between the levels of the studied cytokines. The relative level of NF- κ B p65, the basal level of the key autophagy protein LC3B and after the addition of chloroquine diphosphate in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident were similar to those in the control group. The decrease in the capacity and responsiveness of the autophagic flux in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident was noted. Direct correlations were found between the basal level of the LC3B protein and IL-4 and IL-6 in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident.

Conclusions. According to preliminary data, the detected changes in the clean-up workers of the Chernobyl accident may contribute to the activation of pathological inflammatory processes and autoimmune reactions due to impaired lymphocyte function and inflammatory reactions due to a shift in the balance between cytokines and positive regulation of their synthesis.

Key words: autophagy; LC3B, cytokines; lymphocytes; inflammation; ionizing radiation; Chernobyl accident.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2025;30:398-413. doi: 10.33145/2304-8336-2025-30-398-413

ВСТУП

Цитокіни — це велика група молекул, що регулюють запалення, яка складається з хемокінів, інтерферонів, інтерлейкінів та факторів некрозу пухлини, та пов'язана зі складною сигнальною мережею з кількома рівнями активації і контролю, опосередкованими розчинними рецепторами, антагоністами рецепторів, різноманітними сироватковими медіаторами, а також поліморфізмами генів [1, 2]. Частина цитокінів діють у петлях зворотного зв'язку зі здатністю автоматично контролювати власний синтез. Крім того, локальне клітинне мікрооточення також впливає на синтез цитокінів [2]. Дисбаланс між про- та протизапальними цитокінами значною мірою сприяє порушенню регуляції імунної системи та розвитку системного запалення низького рівня, асоційованого зі старінням — інфламейджингу, що пов'язано з появою або прогресією ряду хронічних

INTRODUCTION

Cytokines are a large group of molecules that regulate inflammation, consisting of chemokines, interferons, interleukins, and tumor necrosis factors, and are associated with a complex signaling network with multiple levels of activation and control, mediated by soluble receptors, receptor antagonists, various serum mediators, and gene polymorphisms [1, 2]. Some cytokines act in feedback loops with the ability to automatically control their own synthesis. In addition, the local cellular microenvironment also affects cytokine synthesis [2]. An imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines significantly contributes to the dysregulation of the immune system and the development of low-level systemic inflammation associated with aging — inflammaging, which is associated with the onset or progression of several chronic diseases of

✉ Liliia M. Zvarych, e-mail: l.zvarych@ukr.net

захворювань серцево-судинної та нервової систем, когнітивним зниженням і загальною слабкістю організму [1]. Важливим регулятором цього процесу є транскрипційний ядерний фактор NF- κ B [3]. Він зазвичай активується прозапальними цитокінами (TNF- α та IL-1), бактеріальними або вірусними агентами та іншими стресорними факторами [4].

Гіперактивація NF- κ B пов'язана з порушенням процесу аутофагії [5]. Загалом, аутофагія є механізмом контролю якості білків та органел, який підтримує нормальний клітинний гомеостаз, але останнім часом також було показано, що вона регулює запальні та імунологічні реакції, зокрема за рахунок впливу на синтез і вивільнення цитокінів [4, 6]. Зниження активності аутофагії є важливим механізмом, який сприяє старінню імунної системи та розвитку хронічного запалення [4], що є серйозною медичною проблемою. При цьому інформації щодо впливу факторів, таких як спосіб життя, фізичні травми, наявність супутніх захворювань, прийом лікарських препаратів тощо, все ще бракує. Зважаючи на значення імунного запалення у віддаленому періоді після опромінення, розуміння клітинних і молекулярних механізмів, які ініціюють зміни в імунній системі, є актуальним.

МЕТА

Оцінити відносні рівні цитокінів та функціональний стан аутофагії у лімфоцитах периферичної крові у учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для проведення дослідження було відібрано зразки периферичної крові (ПК) 42 осіб чоловічої статі, віком 51–77 ($61,35 \pm 5,21$) років. Основну групу склали 31 учасник ліквідації наслідків аварії (УЛНА) на ЧАЕС, віком 56–63 ($60,16 \pm 1,73$) років. Контрольна група – 11 осіб, віком 51–77 ($64,72 \pm 9,24$) років, які не брали участі в ліквідації наслідків Чорнобильської катастрофи і не мешкали на радіоактивно забруднених територіях. В усіх обстежених осіб відсутня онкологічна й онкогематологічна патологія в анамнезі. Загальна характеристика груп обстеження наведена в табл. 1.

Відносні рівні IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ , TGF- β та субдиниці ядерного фактора NF- κ B – p65 (RelA) у лімфоцитах ПК визначали методом проточної цитометрії за методикою внутрішньоклітинного забарвлення клітин з використанням набору Fixation / Permeabilization Solution Kit (Becton Dickinson (BD), США) для фіксації та пермеабілізації клітинних мембран та моноклональних ан-

the cardiovascular and nervous systems, cognitive decline, and general weakness of the body [1]. An important regulator of this process is the nuclear transcription factor NF- κ B [3]. It is usually activated by pro-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-1), bacterial or viral agents, and other stressors [4].

Hyperactivation of NF- κ B is associated with impaired autophagy [5]. In general, autophagy is a mechanism of protein and organelle quality control that maintains normal cellular homeostasis, but it has also been recently shown to regulate inflammatory and immunological responses, in particular by influencing the synthesis and release of cytokines [4, 6]. Decreased autophagy activity is an important mechanism that contributes to the aging of the immune system and the development of chronic inflammation [4], which is a serious medical problem. However, information on the influence of factors such as lifestyle, physical injuries, the presence of concomitant diseases, medication use, etc., is still lacking. Given the importance of immune inflammation in the remote period after irradiation, understanding the cellular and molecular mechanisms that initiate changes in the immune system is relevant.

OBJECTIVE

To assess the relative levels of cytokines and functional state of autophagy in peripheral blood lymphocytes of clean-up workers of the Chernobyl accident.

MATERIALS AND METHODS

For the study, peripheral blood (PB) samples were taken from 42 male patients, aged 51–77 (61.35 ± 5.21) years. The main group included 31 clean-up workers of the Chernobyl accident, aged 56–63 (60.16 ± 1.73). The control group included 11 persons (aged 51–77 (64.72 ± 9.24) years) who did not participate in the liquidation of the consequences of the Chernobyl accident and did not live in radioactively contaminated areas. The characteristics of the study groups are given in Table 1.

The relative levels of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ , TGF- β and the nuclear factor subunit NF- κ B – p65 (RelA) in PB lymphocytes were determined by flow cytometry using the intracellular staining method with the Fixation / Permeabilization Solution Kit (Becton Dickinson (BD), USA) for fixation and permeabilization of cell membranes and monoclonal antibodies to

Таблиця 1**Характеристика груп обстеження****Table 1****Characteristics of the studied groups**

Групи обстеження / Study groups	Кількість (осіб) The number of patients, n	Вік, роки / Age, years M ± SD (min / max)	Доза, мЗв / Dose, mSv M ± SD (min / max)
Контрольна група / Control group	11	64,72 ± 9,24 (51 / 77)	–
УЛНА на ЧАЕС / Clean-up workers	31	60,16 ± 1,73 (56 / 63)	234,21 ± 241,2 (1,2 / 990,0)

титіл до цитокінів і NF-κB p65 (pS529) (BD, США), мічених PE.

Для визначення активності аутофагії цільну кров інкубували протягом 2 год у стандартних умовах в CO₂ інкубаторі при 5 % CO₂, температурі 37 °C і 95 % вологості в живильному середовищі RPMI-1640 з L-глутаміном, NaHCO₃, 10 % ембріональною телячою сироваткою та 1 % розчином антибіотику-антимікотику (Sigma-Aldrich, США) з додаванням або без 50 мкМ хлорохіну дифосфату (CAS Number: 50-63-5, Sigma-Aldrich, США) [7].

Активність аутофагії визначали за відносними рівнями ключового білка LC3B (Microtubule-associated protein 1 light chain 3B) у лімфоцитах ПК методом проточної цитометрії [7] з використанням методики непрямого імуофлуоресцентного забарвлення клітин кролячим поліклональним антитілом проти LC3B з набору LC3B Antibody Kit for Autophagy та вторинним антитілом, міченим Alexa Fluor™ 647 (Invitrogen, США). Моноклональне антитіло Anti-Active Caspase-3 FITC і флуоресцентний барвник BD Horizon™ Fixable Viability Stain 570 (BD, США) додатково використовувалися для визначення фракції живих клітин.

Аналіз зразків ПК проводили на проточному цитометрі BD FACSLyric (BD, США) за допомогою програмного забезпечення BD FACSuite (BD, США) для 15 000 подій у режимах «Dot plot» і «Dot histogram».

Медіану інтенсивності флуоресценції (MFI) використовували для визначення базального рівня LC3B, цитокінів та NF-κB p65.

Показники ємності та чутливості аутофагічного потоку характеризували функціональну активність аутофагії у лімфоцитах ПК [8]. Для їх розрахунку використовували значення MFI базального рівня LC3B та LC3B, асоційованого з аутофагосомами (MFI LC3B у лімфоцитах ПК, що інкубувалися з хлорохіну дифосфатом — інгібітором злиття аутофагосом з лізосомами).

Ємність аутофагічного потоку (ЄАП) відображає кількість аутофагосом, які утворюються і деградують

cytokines and NF-κB p65 (pS529) (BD, USA), labeled with PE.

To determine autophagy activity, whole blood was incubated for 2 hours under standard conditions in a CO₂ incubator at 5 % CO₂, 37 °C and 95 % humidity in RPMI-1640 Medium with L-glutamine, NaHCO₃, 10% fetal bovine serum and 1% antibiotic-antimycotic solution (Sigma-Aldrich, USA) with or without the addition of 50 μM chloroquine diphosphate (CAS Number: 50-63-5, Sigma-Aldrich, USA) [7].

Autophagy activity was determined by the relative levels of the key protein LC3B (Microtubule-associated protein 1 light chain 3B) in PB lymphocytes by flow cytometry [7] using the indirect immunofluorescent staining of cells with the rabbit polyclonal antibody against LC3B from the LC3B Antibody Kit for Autophagy and the secondary antibody with the fluorescent label Alexa Fluor™ 647 (Invitrogen, USA). The monoclonal antibody Anti-Active Caspase-3 FITC and BD Horizon™ Fixable Viability Stain 570 (BD, USA) were additionally used to determine the fraction of live cells.

The analysis of PB samples was performed on a BD FACSLyric flow cytometer (BD, USA) using BD FACSuite software (BD, USA) for 15,000 events in the Dot plot and Dot histogram modes.

The median fluorescence intensity (MFI) was used to determine the basal levels of LC3B, cytokines, and NF-κB p65.

Autophagic flux capacity and responsiveness [8] characterized the functional activity of autophagy in PB lymphocytes. For their calculation, the MFI values of the basal level of LC3B and LC3B associated with autophagosomes (MFI LC3B in PB lymphocytes incubated with chloroquine diphosphate, an inhibitor of autophagosome fusion with lysosomes) were used.

The autophagic flux capacity (AFC) reflects the number of autophagosomes formed and degraded over a certain period of time and is calculated as

за певний період часу, та розраховується як різниця між рівнем LC3B у лімфоцитах ПК, що інкубувалися з хлорохіну дифосфатом (MFI LC3B CQ), та базальним рівнем LC3B у лімфоцитах ПК (MFI LC3B Spont) за формулою:

$$ЕАП = MFI LC3B CQ - MFI LC3B Spont$$

Чутливість аутофагічного потоку (ЧАП) відображає кратну зміну, що відповідає чутливості клітини до індукції аутофагії для заданих умов експерименту, і розраховується як відношення інтенсивності сигналу LC3B, опосередкованого хлорохіну дифосфатом, до інтенсивності сигналу LC3B у лімфоцитах ПК, що не інкубувалися з хлорохіну дифосфатом за формулою:

$$ЧАП = \frac{MFI LC3B CQ}{MFI LC3B Spont}$$

Статистичний аналіз даних

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Statistica 8.0 (StatSoft. Inc.). Нормальність розподілу кількісних змінних визначали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова з поправкою Ліллієфорса. Для порівняння показників застосували *t*-тест Стюдента або *U*-критерій Манна-Уїтні. Зв'язок між параметрами розраховували за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона або Спірмена. Рівень статистичної значущості було встановлено на рівні $p < 0,05$, а $0,06 \leq p \leq 0,10$ було прийнято як ознаку тенденції.

РЕЗУЛЬТАТИ

Результати досліджень відносних рівнів цитокінів IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ , TGF- β у лімфоцитах ПК виявили ряд змін в УЛНА на ЧАЕС (рис. 1). Так, відносний рівень IL-2 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС був знижений ($196,63 \pm 97,98$ vs $448,42 \pm 141,13$, $p < 0,01$), а відносні рівні IL-1 β та IFN- γ мали тенденцію до зниження ($237,90 \pm 46,09$ vs $575,57 \pm 304,06$ та $143,82 \pm 65,30$ vs $215,20 \pm 71,39$) порівняно з показниками в осіб контрольної групи (рис. 1, В, С та F). Проте, відносні рівні IL-6 ($1521,30 \pm 388,84$ vs $1053,75 \pm 329,49$, $p < 0,01$), TNF- α ($725,70 \pm 356,26$ vs $367,83 \pm 155,65$, $p < 0,05$) і TGF- β ($1517,13 \pm 555,33$ vs $732,33 \pm 156,64$, $p < 0,01$) у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС були вищі, ніж в осіб контрольної групи (рис. 1, Е, G, H).

Кореляційний аналіз показав наявність залежності між рівнями досліджуваних цитокінів в УЛНА на ЧАЕС (табл. 2). Не було знайдено кореляцій між

the difference between the level of LC3B in PB lymphocytes incubated with chloroquine diphosphate (MFI LC3B CQ) and the basal level of LC3B in PB lymphocytes (MFI LC3B Spont) according to the formula:

$$AFC = MFI LC3B CQ - MFI LC3B Spont$$

The autophagic flux responsiveness (AFR) reflects the fold change corresponding to the sensitivity of the cell to autophagy induction for given experimental conditions and is calculated as the ratio of the LC3B signal intensity mediated by chloroquine diphosphate to the LC3B signal intensity in PB lymphocytes not incubated with chloroquine diphosphate according to the formula:

$$AFR = \frac{MFI LC3B CQ}{MFI LC3B Spont}$$

Statistical data analysis

Statistical analysis was performed using Statistica 8.0 software (StatSoft. Inc.). The normality of the distribution of quantitative variables was determined using the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors correction. To compare the parameters, Student's *t*-test or Mann-Whitney U-test was used. The relationship between parameters was calculated using the Pearson or Spearman correlation coefficient. The level of statistical significance was set at $p < 0,05$, and $0,06 \leq p \leq 0,10$ was accepted as a sign of a trend.

RESULTS

Relative levels of cytokines IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ , TGF- β in PB lymphocytes indicated several changes in the clean-up workers of the Chernobyl accident (see Fig. 1). Thus, the relative level of IL-2 in PB lymphocytes of the clean-up workers was reduced (196.63 ± 97.98 vs 448.42 ± 141.13 , $p < 0.01$), and the relative levels of IL-1 β and IFN- γ tended to decrease 237.90 ± 46.09 vs 575.57 ± 304.06 and 143.82 ± 65.30 vs 215.20 ± 71.39) vs. control group (Fig. 1, B, C and F). However, the relative levels of IL-6 (1521.30 ± 388.84 vs 1053.75 ± 329.49 , $p < 0.01$), TNF- α (725.70 ± 356.26 vs 367.83 ± 155.65 , $p < 0.05$) and TGF- β (1517.13 ± 555.33 vs 732.33 ± 156.64 , $p < 0.01$) in PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident were higher than in the control group (Fig. 1, E, G, H).

Correlation analysis showed a relationship between the levels of the studied cytokines in the clean-up workers of the Chernobyl accident (Table 2). No cor-

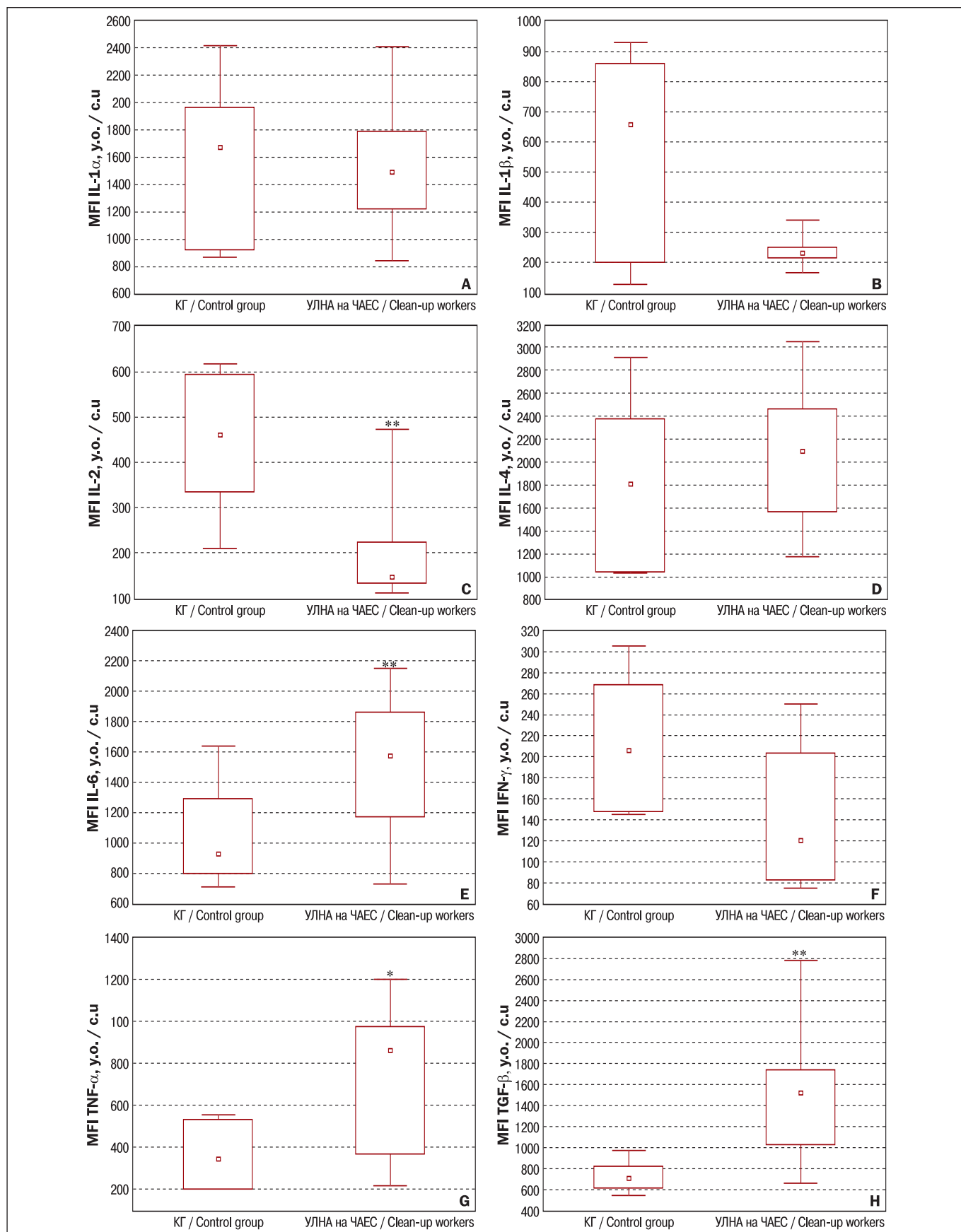


Рисунок 1. Рівні цитокінів у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження: А – IL-1α; В – IL-1β; С – IL-2; D – IL-4; Е – IL-6; F – IFN-γ; G – TNF-α; H – TGF-β, Me [Q1; Q2] (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою)

Figure 1. The levels of cytokines of PB lymphocytes of individuals of the study groups: A – IL-1α; B – IL-1β; C – IL-2; D – IL-4; E – IL-6; F – IFN-γ; G – TNF-α; H – TGF-β, Me [Q1; Q2] (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ compared to Control group)

Таблиця 2

Кореляційна залежність між рівнями цитокінів у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС

Table 2

Correlation analysis between the levels of cytokines of PB lymphocytes of Clean-up workers

Показник / Parameters, y.o. / c.u.	Показник / Parameters, y.o. / c.u.	R_s^*	p
IL-1 α	IL-4	0,74	< 0,001
	IL-6	0,72	< 0,001
	IFN- γ	-0,53	0,038
IL-6	IL-1 β	0,84	0,002
	IL-4	0,65	< 0,001
	IFN- γ	-0,59	0,011
TNF- α	IL-1 β	0,80	0,004
	IL-2	0,69	0,005
	IFN- γ	0,69	0,004
TGF- β	IFN- γ	0,61	0,008
	TNF- α	0,63	0,006

віком або дозою опромінення та рівнями цитокінів у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС.

Оскільки транскрипційний фактор NF- κ B є ключовим медіатором сигналізації цитокінів і взаємопов'язаний з аутофагією, проведено визначення відносного рівня субодиниці p65 NF- κ B у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження, проте змін показника не було виявлено (рис. 2). Кореляції між відносними рівнями NF- κ B p65 та цитокінами у лімфоцитах ПК, віком або дозою опромінення в УЛНА на ЧАЕС не визначено.

За результатами дослідження в УЛНА на ЧАЕС не спостерігалось статистично значущих змін базального рівня білка LC3B ($3660,61 \pm 2068,33$ vs $3260,72 \pm 1410,54$) або після додавання хлорохіну дифосфату ($4731,91 \pm 2023,02$ vs $5976,18 \pm 2776,02$) у лімфоцитах ПК, порівняно з показниками осіб контрольної групи. Натомість показник ЄАП лімфоцитів ПК був знижений ($p < 0,05$) в УЛНА на ЧАЕС, а показник ЧАП мав тенденцію до зниження (рис. 3).

relations were found between age or radiation dose and cytokine levels in PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident.

Since the transcription factor NF- κ B is a key mediator of cytokine signaling and is interconnected with autophagy, the relative level of NF- κ B p65 in PB lymphocytes of the study groups was determined, but no changes in the parameters were detected (Fig. 2). No correlations were found between the relative levels of NF- κ B p65 and cytokines in PB lymphocytes, age or radiation dose in the clean-up workers of the Chernobyl accident.

According to the results of the study, no statistically significant changes in the basal level of LC3B protein (3660.61 ± 2068.33 vs 3260.72 ± 1410.54) or after the addition of chloroquine diphosphate (4731.91 ± 2023.02 vs 5976.18 ± 2776.02) in PB lymphocytes were observed in the clean-up workers of the Chernobyl accident, compared to the parameters of the control group. Instead, the AFC of PB lymphocytes was reduced ($p < 0.05$) and the AFR tended to decrease in the clean-up workers of the Chernobyl accident (Fig. 3).

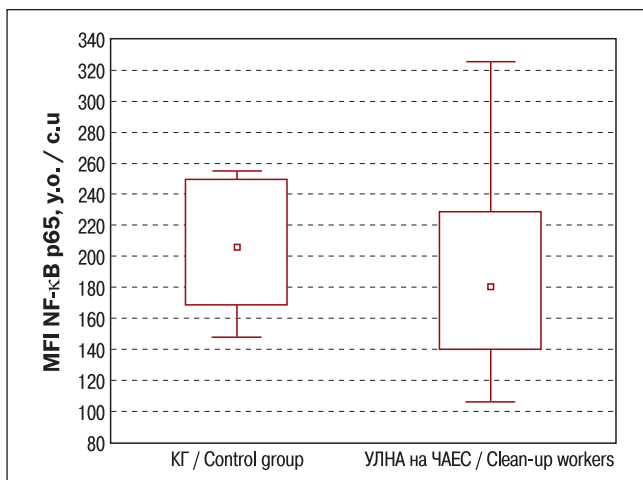


Рисунок 2. Рівень NF- κ B p65 у лімфоцитах ПК осіб груп обстеження, Me [Q1; Q2]

Figure 2. The level of NF- κ B p65 of PB lymphocytes of individuals of the study groups, Me [Q1; Q2]

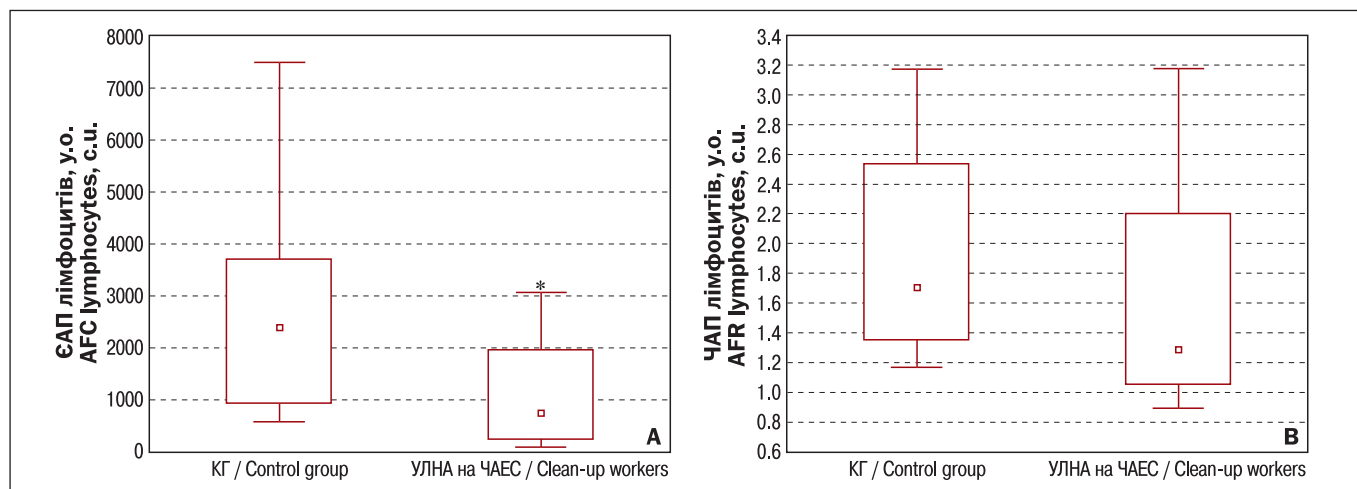


Рисунок 3. Показники ЄАП та ЧАП лімфоцитів ПК осіб груп обстеження: А – показник ЄАП; В – показник ЧАП, Ме [Q1; Q2] (* $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою)

Figure 3. The AFC and AFR of PB lymphocytes of individuals of the study groups: А – AFC; В – AFR, Me [Q1; Q2] (* $p < 0,05$ compared to Control group)

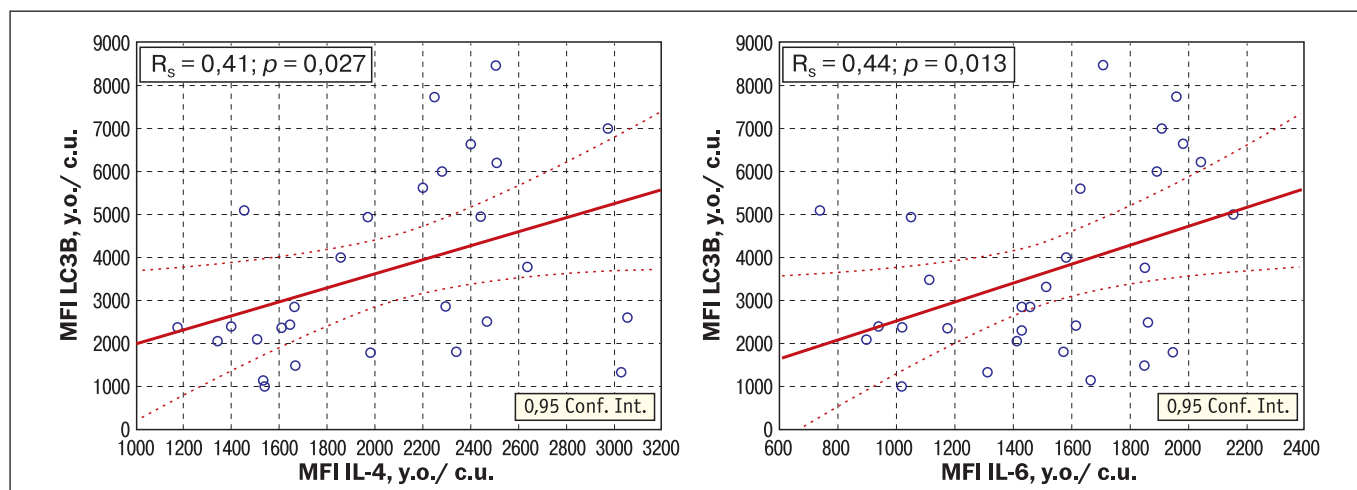


Рисунок 4. Кореляційний аналіз між рівнями IL-4, IL-6 та білка LC3B у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС

Figure 4. Correlation analysis between the levels of IL-4, IL-6 and LC3B protein in PB lymphocytes of Clean-up workers

Виявлено прямі кореляційні залежності між базальним рівнем білка LC3B та IL-4 і IL-6 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС (рис. 4). Кореляції між базальним рівнем білка LC3B, показниками ЄАП, ЧАП та віком або дозою опромінення були відсутні.

Direct correlations were found between the basal level of LC3B and IL-4 / IL-6 in PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident (Fig. 4). There were no correlations between the basal level of LC3B, AFC or AFR and age or radiation dose.

ОБГОВОРЕННЯ

Цитокіни регулюють розвиток, диференціацію та функціонування клітин імунної системи, і є основним фактором взаємодії як між самими імунними клітинами, так і з клітинами інших типів тканин. Показано, що серед прозапальних цитокінів IL-1 α та β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, TNF- α , CCL2, CXCL10, MIP-1 α , MIP-1 β та CCL5 беруть участь у патогенезі віксоасоційованих захворювань, тоді як цитокіни з

DISCUSSION

Cytokines regulate the development, differentiation, and function of immune cells and are a major factor in the interaction between immune cells and cells of other tissue types. Among the proinflammatory cytokines, IL-1 α and β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, TNF- α , CCL2, CXCL10, MIP-1 α , MIP-1 β , and CCL5 are involved in the pathogenesis of age-related diseases, while anti-inflammatory cytokines (IL-10, TGF- β , and IL-37) suppress inflammation in aging [1].

протизапальною дією (IL-10, TGF- β та IL-37) пригнічують запалення при старінні [1].

Аутофагія чинить модулюючий вплив на процеси запалення. Взаємодія між аутофагією та запаленням дуже складна, і можна спостерігати як позитивні, так і негативні зв'язки. Найважливішими цитокінами в цій взаємодії є IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ та TNF- α [4]. Так, аутофагія сприяє дозріванню IL-1, доставляючи попередники цитокінів до інфламасом [4], а порушення аутофагії може призвести до їх гіперсекреції [6]. Водночас IL-1 α та IL-1 β сприяють NF- κ B-залежній індукції ряду прозапальних генів, зокрема тих, що кодують IL-6 та IL-8. Тому аутофагія опосередковано регулює IL-6, IL-8 та інші цитокіни, хоча можуть бути задіяні й інші IL-1-незалежні шляхи [6]. Аутофагія ймовірно відіграє важливу роль у кліренсі TGF- β , а сам TGF- β може регулювати активність аутофагії [9]. IFN- γ посилює аутофагію, яка потім сприяє презентації антигену, клітинній проліферації та кліренсу вірусів і бактерій. Ця активація аутофагії потім стимулює вивільнення IFN- γ у петлі позитивного зворотного зв'язку [10]. У той час, як IFN- γ та TNF- α , індують аутофагію, IL-4 та IL-13 пригнічують її [11].

Отже, окрім сприяння ефективній імунній відповіді, аутофагія пригнічує реакції запалення за допомогою елімінації клітинного дебрису, що може активувати запальні сигнальні шляхи, та впливу на прозапальні цитокіни і компоненти інфламасом [4].

У контексті аутофагії NF- κ B зазвичай діє як інгібітор [4]. При активації NF- κ B може пригнічувати експресію кількох генів, пов'язаних з аутофагією, тим самим пригнічуючи процес аутофагії. Крім того, NF- κ B активує інгібітори аутофагії – mTORC1, Bcl-2 та Bcl-xL. Тому гіперактивація NF- κ B і пригнічення аутофагії можуть бути ознаками хронічного запалення або аутоімунного стану [4].

Іонізуюче випромінювання спричиняє широкий спектр змін у ДНК, ліпідах і білках, що призводить до глибокого пошкодження опромінених клітин і тканин. У разі порушення або неефективності комплексу механізмів відповіді на пошкодження ДНК, радіаційно-індуковані пошкодження або викликають загибель клітин, або зберігаються та передаються клітинам-нащадкам. Однак, порівняно з ранніми наслідками опромінювання, довгострокові зміни, спричинені дією іонізуючого випромінювання, менш вивчені [12].

Аутокринна та паракринна комунікація між клітинами безпосередньо впливає на клітинну відпо-

Аутофагія має модулюючий ефект на запальні процеси. Взаємодія між аутофагією та запаленням є дуже складною, і можна спостерігати як позитивні, так і негативні зв'язки. Найважливішими цитокінами в цій взаємодії є IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ та TNF- α [4]. Таким чином, аутофагія сприяє дозріванню IL-1, доставляючи попередники цитокінів до інфламасом [4], а порушення аутофагії може призвести до їх гіперсекреції [6]. Водночас IL-1 α та IL-1 β сприяють NF- κ B-залежній індукції ряду прозапальних генів, зокрема тих, що кодують IL-6 та IL-8. Тому аутофагія опосередковано регулює IL-6, IL-8 та інші цитокіни, хоча можуть бути задіяні й інші IL-1-незалежні шляхи [6]. Аутофагія ймовірно відіграє важливу роль у кліренсі TGF- β , а сам TGF- β може регулювати активність аутофагії [9]. IFN- γ посилює аутофагію, яка потім сприяє презентації антигену, клітинній проліферації та кліренсу вірусів і бактерій. Ця активація аутофагії потім стимулює вивільнення IFN- γ у петлі позитивного зворотного зв'язку [10]. В той час, як IFN- γ та TNF- α індують аутофагію, IL-4 та IL-13 пригнічують її [11].

Отже, окрім сприяння ефективній імунній відповіді, аутофагія пригнічує реакції запалення за допомогою елімінації клітинного дебрису, що може активувати запальні сигнальні шляхи, та впливу на прозапальні цитокіни і компоненти інфламасом [4].

У контексті аутофагії NF- κ B зазвичай діє як інгібітор [4]. При активації NF- κ B може пригнічувати експресію кількох генів, пов'язаних з аутофагією, тим самим пригнічуючи процес аутофагії. Крім того, NF- κ B активує інгібітори аутофагії – mTORC1, Bcl-2 та Bcl-xL. Тому гіперактивація NF- κ B і пригнічення аутофагії можуть бути ознаками хронічного запалення або аутоімунного стану [4].

Іонізуюче випромінювання спричиняє широкий спектр змін у ДНК, ліпідах і білках, що призводить до глибокого пошкодження опромінених клітин і тканин. У разі порушення або неефективності комплексу механізмів відповіді на пошкодження ДНК, радіаційно-індуковані пошкодження або викликають загибель клітин, або зберігаються та передаються клітинам-нащадкам. Однак, порівняно з ранніми наслідками опромінювання, довгострокові зміни, спричинені дією іонізуючого випромінювання, менш вивчені [12].

Аутокринна та паракринна комунікація між клітинами безпосередньо впливає на клітинну відпо-

відь на опромінення. Така комунікація може включати секрецію факторів, таких як цитокіни, хемокини, протеази, ліпіди, ДНК та мікроРНК, які можуть прямо вивільнятися у позаклітинне середовище або транспортуватися через екзосоми. Найкраще вивченими цитокінами є IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , GM-CSF, FAS-L, VEGF, які зв'язуються з рецепторами або мембранними білками, що запускає передачу сигналів клітинам-мішеням, що може вплинути на їхню відповідь на опромінення [13]. Ще однією функцією NF- κ B, яка не пов'язана з запаленням, є його активація разом з репарацією ДНК і активацією контрольних точок клітинного циклу як відповідь на пошкодження ДНК, що дозволяє зберегти нормальну функцію клітин у разі пошкодження [14]. Тому взаємодія сигнального шляху NF- κ B та аутофагії може впливати на успішність підтримки клітинного гомеостазу після опромінення.

Так, в УЛНА на ЧАЕС відносні рівні IL-1 β , IL-2, та IFN- γ у лімфоцитах ПК були знижені, а відносні рівні IL-6, TNF- α і TGF- β навпаки підвищені. У дослідженні [15] також виявили підвищення рівня сироваткового IL-6 у працівників, які працюють з джерелами радіації в діагностичних і терапевтичних відділеннях лікарні. Інше дослідження показало, що окрім підвищення рівня IL-6 виявлено зростання рівнів IL-1 α та MIP-1 α у працівників сфери охорони здоров'я, які зазнають професійного опромінення [16]. Натомість Hrycek A. та ін. [17] виявили значно вищі рівні IL-2 у сироватці крові та нижчі рівні IL-4 у працівників, які працювали з джерелами рентгенівського випромінювання. Zakeri F. та ін. [18] також виявили значне підвищення рівня IL-2 у сироватці крові та зниження рівня IL-10 у групі інтервенційних кардіологів. Натомість концентрація IL-4, IL-6, IL-8 та IFN- γ була без змін. В осіб, які пережили атомне бомбардування, рівні IL-6 збільшувалися з дозою опромінення [19]. Крім того, зростали рівні TNF- α з дозою опромінення та з віком, а IL-10 та IFN- γ зростали лише з дозою опромінення [20]. В осіб, що проживають у районі з високим радіаційним фоном (Янцзян) також спостерігалось значне підвищення рівнів запальних цитокінів, таких як IFN- γ , IL- α , MCP-1, sIL-6R, EGFR та СРБ [21].

За результатами нашого дослідження було виявлено прямі кореляційні зв'язки між відносними рівнями IL-1 α та IL-4 й IL-6 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС. Натомість у IL-1 α , а також у IL-6 визначено зворотній кореляційний зв'язок з IFN- γ .

radiation. Such communication may involve the secretion of factors such as cytokines, chemokines, proteases, lipids, DNA, and microRNAs, which may be directly released into the extracellular environment or transported via exosomes. The best-studied cytokines are IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , GM-CSF, FAS-L, and VEGF, which bind to receptors or membrane proteins, triggering signaling to target cells, which may influence their response to radiation [13]. Another function of NF- κ B, not related to inflammation, is its activation together with DNA repair and activation of cell cycle checkpoints in response to DNA damage, which allows for the preservation of normal cell function in the event of damage [14]. Therefore, the interaction of the NF- κ B signaling pathway and autophagy may affect the success of maintaining cellular homeostasis after radiation.

Thus, in the clean-up workers of the Chornobyl accident, the relative levels of IL-1 β , IL-2, and IFN- γ in PB lymphocytes were reduced, while the relative levels of IL-6, TNF- α and TGF- β , on the contrary, were increased. The study [15] also found an increase in serum levels of IL-6 in workers working with radiation sources in the diagnostic and therapeutic departments of the hospital. Another study showed that in addition to the increase in levels of IL-6, an increase in levels of IL-1 α and MIP-1 α was found in healthcare workers exposed to occupational radiation [16]. In contrast, Hrycek A. et al. [17] found significantly higher serum levels of IL-2 and lower levels of IL-4 in workers working with X-ray sources. Zakeri F. et al. [18] also found a significant increase in serum levels of IL-2 and a decrease in levels of IL-10 in a group of interventional cardiologists. In contrast, the concentrations of IL-4, IL-6, IL-8, and IFN- γ were unchanged. In survivors of the atomic bombing, levels of IL-6 increased with radiation dose [19]. In addition, levels of TNF- α increased with radiation dose and age, while IL-10 and IFN- γ increased only with radiation dose [20]. In individuals living in an area with a high radiation background (Yangjiang), a significant increase in the levels of inflammatory cytokines, such as IFN- γ , IL- α , MCP-1, sIL-6R, EGFR, and CRP [21], was also observed.

Our study revealed direct correlations between the relative levels of IL-1 α and IL-4 and IL-6 in lymphocytes of the clean-up workers of the Chornobyl accident. However, an inverse correlation was found for IL-1 α and IL-6. Also, the relative levels of IL-6

Також відносні рівні IL-6 та IL-1 β прямо корелювали між собою. Спостерігалися прямі кореляційні зв'язки між відносними рівнями TNF- α та IL-1 β й IL-2, а також IFN- γ . Прямі кореляційні зв'язки виявлені між відносними рівнями TGF- β та TNF- α й IFN- γ . При цьому зв'язку між віком або дозою опромінення та відносними рівнями цитокінів не було виявлено.

В УЛНА на ЧАЕС не було виявлено змін відносного рівня субодиниці p65 NF- κ B у лімфоцитах ПК та кореляцій з відносними рівнями цитокінів у лімфоцитах ПК, віком або дозою опромінення.

Натомість результати досліджень гострого опромінення виявили, що іонізуюче випромінювання активує NF- κ B у лімфоцитах [22], а в осіб, які проживають у зоні підвищеного радіаційного фону у Рамсарі, експресія гену NF κ B була підвищена [23].

Базальний рівень білка LC3B у лімфоцитах ПК в УЛНА на ЧАЕС був без змін, проте показники ЄАП і ЧАП були знижені. Аналіз аутофагічного потоку в опромінених фібробластах людини, що зазнали дії летальних доз радіації, показав поступове зниження протягом 30 днів. Після швидкого зниження аутофагії експресія p16 збільшилася, і запустився механізм старіння, але аутофагічна активність так і залишилася зниженою. Отже, взаємодія між аутофагією і старінням, ймовірно, має вирішальне значення для успішної реалізації клітинної відповіді на радіаційний вплив [24]. Радіаційно-індукований оксидативний стрес відіграє ключову роль в індукції аутофагії в клітинах, що були опромінені рентгенівським випромінюванням, хоча механізми, які лежать в основі цього процесу, недостатньо охарактеризовані [25].

Виявлені прямі кореляційні залежності між спонтанним рівнем білка LC3B та IL-4 і IL-6 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС можуть вказувати на регуляцію продукції даних цитокінів.

IL-1 α та IL-1 β є важливими ініціаторами стрес-індукованого запального каскаду [2]. IL-1 β є ключовим медіатором запальної реакції та бере участь у проліферації, диференціації та апоптозі клітин [26]. IL-2 відіграє ключову роль в імунній відповіді, що сприяє активності природних кілерів та диференціації наївних Т-лімфоцитів у Т-хелпери 1 та 2 ттпу, негативно регулює синтез IL-17. З віком лімфоцити синтезують значно менше IL-2 [2]. IL-4 відіграє ключову роль у запальній реакції, індукованій інвазією паразита або алергеном [27]. IL-6 відіграє ключову роль у гострофазовій відповіді в метаболічному контролі та в патогенезі багатьох

and IL-1 β were directly correlated with each other. Direct correlations were observed between the relative levels of TNF- α and IL-1 β and IL-2, as well as IFN- γ . Direct correlations were found between the relative levels of TGF- β and TNF- α , and IFN- γ . At the same time, no relationship was found between age or radiation dose and relative levels of cytokines.

No changes were found in the relative level of the p65 subunit of NF- κ B in PB lymphocytes and no correlations with the relative levels of cytokines in PB lymphocytes, age or radiation dose in the clean-up workers of the Chornobyl accident.

In contrast, acute exposure studies have shown that ionizing radiation activates NF- κ B in lymphocytes [22], and NF κ B gene expression was increased in individuals living in the area of elevated background radiation in Ramsar [23].

Basal levels of LC3B protein in PB lymphocytes from the clean-up workers of the Chornobyl accident were unchanged, but AFC and AFR were reduced. Analysis of autophagic flux in irradiated human fibroblasts exposed to lethal doses of radiation showed a gradual decrease over 30 days. After a rapid decrease in autophagy, p16 expression increased, and the senescence mechanism was triggered, but autophagic activity remained reduced. Therefore, the interaction between autophagy and senescence is likely to be crucial for the successful implementation of the cellular response to radiation exposure [24]. Radiation-induced oxidative stress plays a key role in the induction of autophagy in cells irradiated with X-rays, although the mechanisms underlying this process are not well characterized [25].

The revealed direct correlations between the spontaneous level of LC3B protein and IL-4 and IL-6 in lymphocytes of the clean-up workers of the Chornobyl accident may indicate the regulation of the production of these cytokines.

IL-1 α and IL-1 β are important initiators of the stress-induced inflammatory cascade [2]. IL-1 β is a key mediator of the inflammatory response and is involved in cell proliferation, differentiation and apoptosis [26]. IL-2 plays a key role in the immune response, promoting the activity of natural killers and the differentiation of naive T-lymphocytes into T-helper 1 and 2, negatively regulating the synthesis of IL-17. With age, lymphocytes synthesize significantly less IL-2 [2]. IL-4 plays a key role in the inflammatory response induced by parasite invasion or allergen [27]. IL-6 plays a key role in the acute phase response in metabolic control and in the pathogenesis of many

хронічних захворювань. Він чинить плеiotропний ефект і впливає на активність TNF- α та IL-1 [2, 26]. IFN- γ – це центральний прозапальний цитокін, що відіграє вирішальну роль у вродженому та адаптивному імунитеті, активуючи численні імуномодуючі молекули, і бере участь у різних запальних та аутоімунних захворюваннях [10]. TNF- α є прозапальним медіатором, який чинить позитивну дію при локальній активації в тканинах, але може бути дуже шкідливим при системному вивільненні. Як правило, TNF- α вивільняється разом з інтерлейкінами, зазвичай IL-1 [26]. TGF- β – важливий протизапальний цитокін, обмежує як гострофазову відповідь, так і бере участь у відновленні тканин після пошкодження або інфекції [2].

Отже, зниження відносних рівнів IL-1 β , IL-2, та IFN- γ у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС може порушувати функції лімфоцитів та негативно впливати на розвиток реакцій запалення. Підвищені рівні IL-6, TNF- α і TGF- β , навпаки, можуть слугувати маркерами хронічного запалення в УЛНА на ЧАЕС. Наявні кореляційні зв'язки між цитокінами вказують на синергетичну взаємодію між цитокінами, а також каскадний характер їхнього синтезу, а також зсув у бік хронізації запальних процесів. Незважаючи на відсутність змін у базальному рівні білка LC3B, пряма кореляція з відносними рівнями IL-4 і IL-6 та зниження показників ЄАП і ЧАП можливо вказують на позитивну регуляцію синтезу даних цитокінів лімфоцитами ПК. Крім того, відсутність змін спонтанного рівня NF- κ B p65 ймовірно вказує на наявність NF- κ B-незалежних механізмів, що сприяють виявленим змінам відносних рівнів цитокінів.

Обмеженнями нашого дослідження є мала вибірка осіб груп обстеження. Також проводилося визначення лише базального рівня цитокінів у лімфоцитах ПК, без дослідження змін під впливом активаційних факторів *in vitro*. Відносні рівні як цитокінів, так і білка LC3B, розрахунок показників ЄАП та ЧАП визначали у загальній популяції лімфоцитів ПК без відокремлення окремих субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, природних кілерів. Отримані результати вказують на необхідність збільшення вибірки пацієнтів та використання додаткових маркерів лімфоцитів, дослідження стимульованих лімфоцитів тощо для їх підтвердження або спростування.

Отримані результати демонструють необхідність продовження й розширення досліджень балансу цитокінів і ролі аутофагії у його підтримці, впливу іонізуючого випромінювання та інших стресорних

chronic diseases. It exerts pleiotropic effects and influences the activity of TNF- α and IL-1 [2, 26]. IFN- γ is a central proinflammatory cytokine that plays a crucial role in innate and adaptive immunity, activating numerous immunomodulatory molecules, and is involved in various inflammatory and autoimmune diseases [10]. TNF- α is a proinflammatory mediator that has a positive effect when activated locally in tissues, but can be very harmful when released systemically. TNF- α is usually released together with interleukins, usually IL-1 [26]. TGF- β is an important anti-inflammatory cytokine that limits both the acute phase response and is involved in tissue repair after injury or infection [2].

Therefore, a decrease in the relative levels of IL-1 β , IL-2, and IFN- γ in PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chornobyl accident may disrupt lymphocyte functions and negatively affect the development of inflammatory reactions. Elevated levels of IL-6, TNF- α , and TGF- β , on the contrary, may serve as markers of chronic inflammation. The existing correlations between cytokines indicate a synergistic interaction between cytokines, as well as the cascade nature of their synthesis, as well as a shift towards the chronicity of inflammatory processes. Despite the absence of changes in the basal level of the LC3B protein, a direct correlation with the relative levels of IL-4 and IL-6 and a decrease in the AFC and AFR may indicate a positive regulation of the synthesis of these cytokines by lymphocytes. In addition, the absence of changes in the spontaneous level of NF- κ B p65 probably indicates the presence of NF- κ B-independent mechanisms that contribute to the detected changes in the relative levels of cytokines.

The limitations of our study are the small sample size of individuals in the study groups. Also, only the basal level of cytokines in PB lymphocytes was determined, without studying changes under the influence of activating factors *in vitro*. The relative levels of both cytokines and LC3B protein, calculation of AFC and AFR indices were determined in the general population of PB lymphocytes without separating individual subpopulations of T- and B-lymphocytes, natural killers. The results obtained indicate the need to increase the sample of patients and use additional lymphocyte markers, study of stimulated lymphocytes, etc., to confirm or refute them.

The results demonstrate the need to continue and expand studies of cytokine balance and the role of autophagy in its maintenance, the influence of ionizing

чинників на хронізацію запальних процесів і поліморбідність патології в осіб, постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС.

ВИСНОВКИ

1. За результатами дослідження в УЛНА на ЧАЕС виявлено зниження внутрішньоклітинних рівнів IL-1 β , IL-2 та IFN- γ і підвищення IL-6, TNF- α і TGF- β у лімфоцитах ПК. Кореляційний аналіз показав наявність залежності між рівнями IL-1 та IL-4, IL-6, IFN- γ ; TGF- β , IFN- γ та TNF- α в УЛНА на ЧАЕС. Змін відносного рівня NF- κ B p65 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС не виявлено.
2. Базальний рівень білка LC3B та після додавання хлорохіну дифосфату у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС був подібним до такого в осіб контрольної групи. Натомість показники ЄАП та ЧАП лімфоцитів ПК були знижені в УЛНА на ЧАЕС. Виявлено прямі кореляційні зв'язки між базальним рівнем білка LC3B та IL-4 і IL-6 у лімфоцитах ПК УЛНА на ЧАЕС.
3. Отримані результати в УЛНА на ЧАЕС можуть вказувати на зсув балансу між цитокинами, зміну їх регуляції, хронізацію запального процесу. Зниження відносних рівнів IL-1 β , IL-2 та IFN- γ на фоні підвищених рівнів IL-6, TNF- α і TGF- β у лімфоцитах ПК може сприяти порушенням функціональної активності лімфоцитів та реакціям запалення. Відсутність змін у базальному рівні білка LC3B в комбінації з кореляцією з відносними рівнями IL-4 і IL-6 та зниженням показників аутофагії можливо вказують на позитивну регуляцію синтезу даних цитокінів лімфоцитами ПК, а відсутність змін спонтанного рівня NF- κ B p65 вказує на наявність NF- κ B-незалежних механізмів.

Джерела фінансування

Робота виконана у рамках планової НДР «Дослідження ролі систем клітинного гомеостазу у регуляції імунного запалення, як фактору розвитку хронічної соматичної патології в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС та військовослужбовців сил оборони України» (2025–2027 рр. № держреєстрації 0125U001224) за фінансування НАМН України.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

radiation and other stress factors on the chronicity of inflammatory processes and polymorbidity of pathology in persons affected by the Chernobyl accident.

CONCLUSIONS

1. The decrease in intracellular levels of IL-1 β , IL-2 and IFN- γ and an increase in IL-6, TNF- α and TGF- β in PB lymphocytes was detected in the clean-up workers of the Chernobyl accident. Correlation analysis showed a relationship between the levels of IL-1 and IL-4, IL-6, IFN- γ ; TGF- β , IFN- γ and TNF- α in the clean-up workers. No change in the relative level of NF- κ B p65 in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident was detected.
2. The basal level of LC3B protein and after the addition of chloroquine diphosphate in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident was similar to that in the control group. In contrast, the AFC and AFR of PB lymphocytes were reduced. Direct correlations were found between the basal level of LC3B protein and IL-4 and IL-6 in the PB lymphocytes of the clean-up workers of the Chernobyl accident.
3. The results obtained in the clean-up workers of the Chernobyl accident may indicate the shift in cytokine balance, change in their regulation, and chronicity of inflammatory process. A decrease in the relative levels of IL-1 β , IL-2, and IFN- γ against the increased levels of IL-6, TNF- α and TGF- β in PB lymphocytes may contribute to impaired functional activity of lymphocytes and inflammatory reactions. The absence of changes in the basal level of LC3B along with a correlation with the relative levels of IL-4 and IL-6 and a decrease in autophagy parameters may indicate a positive regulation of the synthesis of these cytokines by PB lymphocytes, and the absence of changes in the spontaneous level of NF- κ B p65 indicates the presence of NF- κ B-independent mechanisms.

Sources of financing

The work was carried out within the research project «Study of the role of cellular homeostasis systems in the regulation of immune inflammation as a factor in the development of chronic somatic pathology in Chernobyl clean-up workers and servicemen of the Defense Forces of Ukraine (2025–2027)» State registration #0125U001224 funded by the NAMS of Ukraine.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Inflamm-aging: How cytokines and nutrition shape the trajectory of ageing / F. Coperchini, A. Greco, M. Teliti et al. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2024. Vol. 82. P. 31-42. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2024.08.004.
2. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines / I. M. Rea D. S. Gibson, V. McGilligan et al. *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. DOI: 10.3389/fimmu.2018.
3. NF- κ B signaling in inflammation / T. Liu, L. Zhang, D. Joo, S.-C. Sun. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2017. Vol. 2, no. 1. DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23
4. Michalak K. P., Michalak A. Z. Understanding chronic inflammation: couplings between cytokines, ROS, NO, Cai2+, HIF-1 α , Nrf2 and autophagy. *Front. Immunol.* 2025. Vol. 16. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1558263.
5. Cellular senescence: the good, the bad and the unknown / W. Huang, L. J. Hickson, A. Eirin et al. *Nat. Rev. Nephrol.* 2022. Vol. 18, no. 10. P. 611-627. DOI: 10.1038/s41581-022-00601-z.
6. Mitophagy and the release of inflammatory cytokines / J. Harris, N. Deen, S. Zamani et al. *Mitochondrion.* 2018. Vol. 41. P. 2-8. DOI: 10.1016/j.mito.2017.10.009.
7. Popat A., Patel A., Warnes G. A Flow cytometric study of ER stress and autophagy. *Cytometry Part A.* 2018. Vol. 95, no. 6. P. 672-682. DOI: 10.1002/cyto.a.23665.
8. Dengue virus inhibition of autophagic flux and dependency of viral replication on proteasomal degradation of the autophagy receptor p62 / P. Metz, A. Chiramel, L. Chatel-Chaix et al. *J. Virol.* 2015. Vol. 89, no. 15. P. 8026-8041. DOI: 10.1128/jvi.00787-15.
9. Wu T.-t., Li W.-M., Yao Y.-M. Interactions between Autophagy and Inhibitory Cytokines. *Int. J. Biol. Sci.* 2016. Vol. 12, no. 7. P. 884-897. DOI: 10.7150/ijbs.15194.
10. Ge Y., Huang M., Yao Y.-m. Autophagy and proinflammatory cytokines: Interactions and clinical implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018. Vol. 43. P. 38-46. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2018.07.001.
11. Harris J. Autophagy and cytokines. *Cytokine.* 2011. Vol. 56, no. 2. P. 140-144. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.08.022.
12. Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors / A. Lustig, I. Shterev, S. Geyer et al. *Oncotarget.* 2016. Vol. 7, no. 26. P. 38988-38998. DOI: 10.18632/oncotarget.8801.
13. Establishing mechanisms affecting the individual response to ionizing radiation / D. Averbeck, S. Candeias, S. Chandna et al. *Int. J. Radiat. Biol.* 2020. Vol. 96, no. 3. P. 297-323. DOI: 10.1080/09553002.2019.1704908.
14. Role of low-dose radiation in senescence and aging: A beneficial perspective / J. Xu, D. Liu, D. Zhao et al. *Life Sci.* 2022. Vol. 302. P. 120644. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120644.
15. Exposure to ionizing radiations and changes in blood cells and interleukin-6 in radiation workers / F. Bahrami Asl, M. Islami-Seginsara, M. Ebrahimi Kalan et al. *Environ Sci Pollut Res Int.*

REFERENCES

1. Coperchini F, Greco A, Teliti M, Croce L, Chytiris S, Magri F, et al. Inflamm-aging: How cytokines and nutrition shape the trajectory of ageing. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2025;82:31-42. doi: 10.1016/j.cytogfr.2024.08.004.
2. Rea IM, Gibson DS, McGilligan V, McNerlan SE, Alexander HD, Ross OA. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. *Front Immunol.* 2018;9. doi: 10.3389/fimmu.2018.
3. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2. doi: 10.1038/sigtrans.2017.23.
4. Michalak KP, Michalak AZ. Understanding chronic inflammation: couplings between cytokines, ROS, NO, Cai 2+, HIF-1 α , Nrf2 and autophagy. *Front Immunol.* 2025;16:1558263. doi: 10.3389/fimmu.2025.1558263.
5. Huang W, Hickson LJ, Eirin A, Kirkland JL, Lerman LO. Cellular senescence: the good, the bad and the unknown. *Nat Rev Nephrol.* 2022;18(10):611-627. doi: 10.1038/s41581-022-00601-z.
6. Harris J, Deen N, Zamani S, Hasnat MA. Mitophagy and the release of inflammatory cytokines. *Mitochondrion.* 2018;41:2-8. doi: 10.1016/j.mito.2017.10.009
7. Popat A, Patel AA, Warnes G. A Flow Cytometric Study of ER Stress and Autophagy. *Cytometry A.* 2019;95(6):672-682. doi: 10.1002/cyto.a.23665.
8. Metz P, Chiramel A, Chatel-Chaix L, Alvisi G, Bankhead P, Mora-Rodriguez R, et al. Dengue virus inhibition of autophagic flux and dependency of viral replication on proteasomal degradation of the autophagy receptor p62. *J Virol.* 2015;89(15):8026-8041. doi: 10.1128/jvi.00787-15.
9. Wu T-T, Li W-M, Yao Y-M. Interactions between autophagy and inhibitory cytokines. *Int J Biol Sci.* 2016;12(7):884-897. doi: 10.7150/ijbs.15194.
10. Ge Y, Huang M, Yao Y-M. Autophagy and proinflammatory cytokines: Interactions and clinical implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018;43:38-46. doi: 10.1016/j.cytogfr.2018.07.001.
11. Harris J. Autophagy and cytokines. *Cytokine.* 2011;56(2):140-144. doi: 10.1016/j.cyto.2011.08.022.
12. Lustig A, Shterev I, Geyer S, Shi A, Hu Y, Morishita Y, et al. Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors. *Oncotarget.* 2016;7(26):38988-38998. doi: 10.18632/oncotarget.8801.
13. Averbeck D, Candeias S, Chandna S, Foray N, Friedl AA, Haghdoust S, et al. Establishing mechanisms affecting the individual response to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 2020;96(3):297-323. doi: 10.1080/09553002.2019.1704908.
14. Xu J, Liu D, Zhao D, Jiang X, Meng X, Jiang L, et al. Role of low-dose radiation in senescence and aging: A beneficial perspective. *Life Sci.* 2022;302(120644):120644. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120644.
15. Bahrami Asl F, Islami-Seginsara M, Ebrahimi Kalan M, Hemmatjo R, Hesam M, Shafiei-Irannejad V. Exposure to ionizing radiations and changes in blood cells and interleukin-6 in radiation workers.

2022. Vol. 30, no. 13. P. 35757-35768. DOI: 10.1007/s11356-022-24652-8.
16. Healthcare workers occupationally exposed to ionizing radiation exhibit altered levels of inflammatory cytokines and redox parameters / I. M. Ahmad, M. Y. Abdalla, T. A. Moore et al. *Antioxidants (Basel)*. 2019. Vol. 8, no. 1. P. 12. DOI: 10.3390/antiox8010012.
17. Peripheral blood lymphocytes and selected serum interleukins in workers operating X-ray equipment / A. Hrycek, A. Czernecka-Micinska, P. Klucinski et al. *Toxicol. Lett.* 2002. Vol. 132, no. 2. P. 101-107. DOI: 10.1016/s0378-4274(02)00030-9.
18. Zakeri F., Hirobe T., Akbari Noghabi K. Biological effects of low-dose ionizing radiation exposure on interventional cardiologists. *Occup Med (Lond)*. 2010. Vol. 60, no. 6. P. 464-469. Doi: 10.1093/occmed/kqq062.
19. Radiation dose-dependent increases in inflammatory response markers in A-bomb survivors / T. Hayashi, Y. Kusunoki, M. Hakoda et al. *Int. J. Radiat. Biol.* 2003. Vol. 79, no. 2. P. 129-136. DOI: 10.1080/713865035.
20. Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors / T. Hayashi, Y. Morishita, Y. Kubo et al. *Am. J. Med.* 2005. Vol. 118, no. 1. P. 83-86. DOI: 10.1016/j.amjmed.2004.06.045.
21. Long-term immune effects of high-level natural radiation on Yangjiang inhabitants in China / K. Li, W. Li, Y. Jia et al. *Int. J. Radiat. Biol.* 2019. Vol. 95, no. 6. P. 764-770. DOI: 10.1080/09553002.2019.1572250.
22. Cellular origin of ionizing radiation-induced NF-kappaB activation *in vivo* and role of NF-kappaB in ionizing radiation-induced lymphocyte apoptosis / A. Meng, T. Yu, G. Chen та ін. *Int. J. Radiat. Biol.* 2003. Vol. 79, no. 11. P. 849-861. DOI: 10.1080/09553000310001622814.
23. Investigating the expression level of NF-KB and HIF1A genes among the inhabitants of two different background radiation areas in Ramsar, Iran / H. Talebian, A. S. Monfared, H. A. Niaki et al. *J. Environ. Radioactivity*. 2020. Vol. 220-221. P. 106292. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2020.106292.
24. Temporal dynamic regulation of autophagy and senescence induction in response to radiation exposure / M. Noguchi, T. Ihara, K. Suzuki, A. Yokoya. *Radiat. Res.* 2023. Vol. 200, no. 6. P. 538-547. DOI: 10.1667/RADE-23-00173.1.
25. The role of radiation induced oxidative stress as a regulator of radio-adaptive responses / M. Sisakht, M. Darabian, A. Mahmoodzadeh et al. *Int. J. Radiat. Biol.* 2020. Vol. 96, no. 5. P. 561-576. DOI: 10.1080/09553002.2020.1721597.
26. Tylutka A., Walas L., Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front. Immunol.* 2024. Vol. 15. P. 1330386. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1330386.
27. Junttila I. S. Tuning the cytokine responses: an update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes. *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00888.
- Environ Sci Pollut Res Int.* 2023;30(13):35757-35768. doi: 10.1007/s11356-022-24652-8.
16. Ahmad IM, Abdalla MY, Moore TA, Bartenhagen L, Case AJ, Zimmerman MC. Healthcare workers occupationally exposed to ionizing radiation exhibit altered levels of inflammatory cytokines and redox parameters. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(1):12. doi: 10.3390/antiox8010012.
17. Hrycek A, Czernecka-Micinska A, Klucinski P, Badowski R. Peripheral blood lymphocytes and selected serum interleukins in workers operating X-ray equipment. *Toxicol Lett.* 2002;132(2):101-107. doi: 10.1016/s0378-4274(02)00030-9.
18. Zakeri F, Hirobe T, Akbari Noghabi K. Biological effects of low-dose ionizing radiation exposure on interventional cardiologists. *Occup Med (Lond)*. 2010;60(6):464-469. doi: 10.1093/occmed/kqq062.
19. Hayashi T, Kusunoki Y, Hakoda M, Morishita Y, Kubo Y, Maki M, et al. Radiation dose-dependent increases in inflammatory response markers in A-bomb survivors. *Int J Radiat Biol.* 2003;79(2):129-136. doi: 10.1080/713865035.
20. Hayashi T, Morishita Y, Kubo Y, Kusunoki Y, Hayashi I, Kasagi F, et al. Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors. *Am J Med.* 2005;118(1):83-86. doi: 10.1016/j.amjmed.2004.06.045.
21. Li K, Li W, Jia Y, Liu J, Tan G, Zou J, et al. Long-term immune effects of high-level natural radiation on Yangjiang inhabitants in China. *Int J Radiat Biol.* 2019;95(6):764-770. doi: 10.1080/09553002.2019.1572250.
22. Meng A, Yu T, Chen G, Brown SA, Wang Y, Thompson JS, et al. Cellular origin of ionizing radiation-induced NF-kappaB activation *in vivo* and role of NF-kappaB in ionizing radiation-induced lymphocyte apoptosis. *Int J Radiat Biol.* 2003;79(11):849-861. doi: 10.1080/09553000310001622814.
23. Talebian H, Monfared AS, Niaki HA, Fattahi S, Bakhtiari E, Changizi V. Investigating the expression level of NF-KB and HIF1A genes among the inhabitants of two different background radiation areas in Ramsar, Iran. *J Environ Radioact.* 2020;220-221(106292):106292. doi: 10.1016/j.jenvrad.2020.106292.
24. Noguchi M, Ihara T, Suzuki K, Yokoya A. Temporal dynamic regulation of autophagy and senescence induction in response to radiation exposure. *Radiat Res.* 2023;200(6):538-547. doi: 10.1667/RADE-23-00173.1.
25. Sisakht M, Darabian M, Mahmoodzadeh A, Bazi A, Shafiee SM, Mokarram P, et al. The role of radiation induced oxidative stress as a regulator of radio-adaptive responses. *Int J Radiat Biol.* 2020;96(5):561-576. doi: 10.1080/09553002.2020.1721597.
26. Tylutka A, Walas L, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol.* 2024;15:1330386. doi: 10.3389/fimmu.2024.1330386.
27. Junttila IS. Tuning the cytokine responses: An update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes. *Front Immunol.* 2018;9:888. doi: 10.3389/fimmu.2018.00888.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Зварич Лілія Миколаївна, молодший науковий співробітник лабораторії імуноцитології відділу клінічної імунології Інституту клінічної радіології, ННЦРМГО, м. Київ, Україна

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1805-1319>

Лясківська Олена Вікторівна, молодший науковий співробітник лабораторії імуноцитології відділу клінічної імунології Інституту клінічної радіології, ННЦРМГО, м. Київ, Україна

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0244-568X>

Бази́ка Димитрій Анатолійович, доктор медичних наук, професор, академік НАМНУ, завідувач відділу клінічної імунології Інституту клінічної радіології, ННЦРМГО, м. Київ, Україна

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9982-5990>

Панченко Вікторія Віталіївна, молодший науковий співробітник лабораторії імуноцитології відділу клінічної імунології Інституту клінічної радіології, ННЦРМГО, м. Київ, Україна

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6790-0909>

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Liliia M. Zvarych, Junior researcher, the Immunocytology Laboratory of Clinical Immunology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1805-1319>

Olena V. Liaskivska, Junior researcher, the Immunocytology Laboratory of Clinical Immunology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0244-568X>

Dimitry A. Bazyka, Doctor of Medical Sciences, Professor, the Immunocytology Laboratory of Clinical Immunology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9982-5990>

Viktoriia V. Panchenko, Junior researcher, the Immunocytology Laboratory of Clinical Immunology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6790-0909>

Стаття надійшла до редакції 22.09.2025

Received: 22.09.2025