

Применение биомедицинских клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний

Е. А. Устюгова^{1,*}, М. В. Савкина¹, А. А. Горяев¹, В. П. Бондарев¹, В. А. Меркулов^{1,2}, Е. В. Мельникова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

В настоящее время онкологические заболевания продолжают оставаться одной из причин смертности населения. Существующие методы терапии, включая лучевую и химиотерапию, имеют ограниченную эффективность. В связи с этим перспективными принципами новых методов терапии онкологических заболеваний является клеточная терапия. Перспективным и многообещающим подходом считается лечение онкологии с помощью биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), к которым можно отнести допитивную клеточную терапию и терапию в комбинации на основе дендритных клеток. Цель работы — обзор современных представлений о принципах терапии, а также имеющегося клинического опыта применения клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний. В работе представлены данные клинического применения опухолеинфильтрирующих лимфоцитов (TIL-терапия), генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих специфические опухолевые антигенные рецепторы (TCR/CAR-T-терапия), а также дендритно-клеточных в комбинации. Применение *ex vivo* модифицированных клеток иммунной системы человека является новым подходом и имеет большие перспективы для лечения онкологических заболеваний. Представлены основные направления допитивной клеточной терапии, базирующиеся на использовании генетически модифицированных Т-лимфоцитов, имеют различные преимущества и недостатки. В работе рассмотрены способы получения БМКП, приведены данные по эффективности применения допитивной клеточной терапии и в комбинации на основе дендритных клеток. Отдельное внимание уделено проблемам, связанным с безопасностью каждого метода терапии, а также другим факторам, ограничивающим применение данных терапевтических подходов в клинической практике. Ожидается, что дальнейшие исследования будут направлены на повышение эффективности и снижение побочных реакций при терапии БМКП.

Ключевые слова: биомедицинские клеточные продукты; клеточная терапия; онкологические заболевания; допитивная клеточная терапия; дендритные клетки; модифицированные Т-клетки; химерный антигенный рецептор; дендритно-клеточная в комбинации

Для цитирования: Устюгов ЕА, Савкина МВ, Горяев АА, Бондарев ВП, Меркулов ВА, Мельников ЕВ. Применение биомедицинских клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2019;19(4):206–214. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-206-214>

Корresponding author: Устюгов Евгений Александрович; ustugova@expmed.ru

The Current Use of Biomedical Cell Products for Cancer Treatment

E. A. Ustyugova^{1,*}, M. V. Savkina¹, A. A. Goryaev¹, V. P. Bondarev¹, V. A. Merkulov^{1,2}, E. V. Melnikova¹

¹Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

Cancer remains one of the leading causes of death. Conventional treatment methods, including radiation and chemotherapy, have limited effectiveness. Therefore, the development of novel approaches to cancer treatment is an urgent challenge. Biomedical cell products (BMCPs) which include adoptive cell therapy (ACT) and dendritic cells vaccines (DCVs) are considered a promising area of research. The aim of the study was to review current ideas about the principles of BMCP therapy, as well as clinical experience with cell-based products used for cancer treatment. The paper summarises the results of clinical use of tumor-infiltrating lymphocytes (TIL-therapy), genetically modified T-cells that express tumour antigen-specific receptors (TCR/CAR T-therapy), as well as DCVs. The use of human immune cells genetically modified *ex vivo* is a novel and promising approach to cancer treatment. The main analysed ACT approaches which are based on the use of genetically modified T-lymphocytes have some benefits and drawbacks. The paper discusses the methods of BMCP production, provides data on

the effectiveness of ACT and DCVs. It pays special attention to safety concerns associated with each treatment method, as well as to other factors limiting their clinical use. It is expected that the main areas of further research will be aimed at increasing BMCP efficacy and reducing adverse reactions.

Key words: biomedical cell products; cell-based therapy; cancer; adoptive cell therapy; dendritic cells; genetically modified T cells; chimeric antigen receptor; dendritic cell vaccine

For citation: Ustyugova EA, Goryaev AA, Savkina MV, Bondarev VP, Merkulov VA, Melnikova EV. The current use of biomedical cell products for cancer treatment. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(4):206–214. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-206-214>

***Corresponding author:** Ekaterina A. Ustyugova; ustugova@expmed.ru

Н сегодняшний день уст новлено, что з болев емость и смертность от онкологических з болев ний постоянно р - стут. По оценк м Междун родного гентств по изучению р к ВОЗ, в 2018 г. в мире было з регистриров но около 18,1 млн новых случ ев и 9,6 млн смертей в результ те онкологических з болев ний [1]. В России в 2017 г. впервые выявлено около 540,9 тыс. онкобольных, смерть в результ те з болев ния н - ступил у 290,7 тыс. человек [2]. Одним из в жных н пр влений предотвр щения смертности от онкологических з болев ний является р зр ботк новых и эффективных методов лечения, в том числе иннов ционных методов иммунотер пии, т к к к тр диционные методы лечения р к (хирургия, химио- и лучев я тер пия) имеют огр ниченную эффективность, в особенности для п циентов н поздних ст диях з болев ний. Т же химио- и лучев я тер пия ч сто вызыв ют зн чительные побочные эффекты, сниж я к чество жизни п циентов. Успех тер пии, основ нной н применении моноклон льных нтител, ингибирующих контрольные точки иммунного ответ , н пример CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) и PD-1 (Programmed cell death 1; CD279), привел к тому, что иммуно- тер пия з нял ведущее н пр вление в р зр ботке новых методов лечения р к . К особому виду иммунотер пии относится применение культивиров нных жизнеспособных клеток человек , т к н зыв емых биомедицинских клеточных продуктов (БМКП). С учетом последних технологических достижений клеточной и молекулярной биологии применение БМКП является н иболее перспективным и многообещ ющим.

В д нной р боте р рассмотрены современные подходы и н - пр вления созд ния БМКП с использованием лимфоцитов и дендритных клеток для лечения онкологических з болев - ний, т же приведен ср внительн я оценк их эффективности и безопас ности. Цель р боты — обзор современных предст влений о принцип х тер пии, т же р смотрение имеющегося опыт клинического применения клеточных продуктов для лечения онкологических з болев ний.

Применение опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL-терапия)

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (Tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) предст вляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из Т-лимфоцитов и НК-клеток (Natural killer cells), которые естественным обр зом мигрируют к опухоли и р спозн ют специфические опухолевые нтигены посредством Т-клеточных рецепторов (T-cell receptor, TCR). Уст новлено, что присутствие TILs в опухолевых оч г х связ но с бл - гоприятным прогнозом при р зличных тип х онкологических з болев ний [3, 4]. Первое применение TILs было предпринято в 1988 г., когд п циент м вводили опухолеспецифические Т-лимфоциты, предв рительно выделенные из опухолевого оч г и р змноженные *ex vivo* [5]. В н стоящее время TILs выделяют из резецированных опухолевого м тери л , после чего их культивируют и вводят тому же п циенту (рис. 1), пред-

в рительно прошедшему курс химиотер пии с целью лимфо- деплеции [6].

Для успешного применения тер пии н основе TILs должны быть соблюдены следующие условия: 1) проведен немиело- бляционн я лимфодеплеция с целью под вления популяции регуляторных Т-клеток (Tregs); 2) введено дост точно большое количество TILs; 3) после инфузии TILs необходимо введение интерлейкин -2 (ИЛ-2) для более длительной персистенции введенных лимфоцитов *in vivo* [7, 8]. Помимо этого, опухоль у п циентов должн быть доступн и опер бельн .

Преимущество тер пии н основе TILs з ключ ется в их способности р спозн в ть широкий спектр опухолевых нти- генов. Несколькими исследов телями был подтвержден способность TILs р спозн в ть опухолевые нео нтигены, воз- никшие в результ те мут ций [9, 10]. Счит ется, что именно специфичные к опухолевым нео нтиген м TILs игр ют ключе- вую роль в регрессии опухоли. Кроме того, это объясняет ф кт низкой токсичности TIL-тер пии, возник ющей в результ те « т ки» здоровых тк ней, экспрессирующих опухолевые нти- гены. В связи с этим предпол г ется, что TIL-тер пия более эффективн при лечении опухолей, х р ктеризующихся вы- соким уровнем мут ций, включ я мел ному и мелкоклеточный р к легких, т же опухолей с н рушением процесс реп р - ции ошибочно сп ренных нуклеотидов, т кими к к опухоли ви- русного происхождения (р к шейки м тки, р к шеи и головы, ссоцииров нный с вирусом п пилломы).

К к и в случ е с другими вид ми доптивной клеточной те- р пии (АКТ), получение клеточного продукт для TIL-тер пии ост ется трудоемким и дорогостоящим процессом. Иссечен- ный обр зец опухоли р зделяют н фр гменты, к ждый из ко- торых отдельно обр б тыв ют фермент ми с целью получения суспензии индивиду льных клеток (клетки опухоли и лимфо- циты). В присутствии ИЛ-2 происходит эксп нсия лимфоцитов и уничтожение опухолевых клеток в течение 3–5 недель. Д лее проводят селекцию TILs н основ нии их способности к опу- холеспецифичной секреции интерферон - γ и цитотоксичности [11]. После чего отобр нные изоляты TILs используют для по- лучения конечного продукт для инфузии, что з ним ет еще две недели. В результ те проведенных м нипуляций получ ют суспензию клеток с концентр цией до $2 \cdot 10^{11}$ Т-лимфоцитов [12]. Огд ко существуют способы ускоренного получения TILs, при которых сокр щ ют н ч льяную ф зу эксп нсии до двух недель и минуют ст дию селекции, используя «неотобр нные TILs» для получения конечного продукт . При использов - нии д ного метод получения TILs общий ответ н лечение в клинических исследов ниях (КИ) с уч стием п циентов с мел номой был ср вним с ответом, полученным при использо- в нии TILs, приготовленных с включением ст дии селекции [13, 14]. Уст новлено, что т кие п р метры, к к количество Т-лимфоцитов в суспензии, количество и процентное содерж - ние CD8⁺ клеток, коррелиров ли с клиническим ответом [15].

Применение TIL-тер пии, гл вным обр зом, было изучено в КИ с уч стием п циентов с поздними ст диями мел номы при

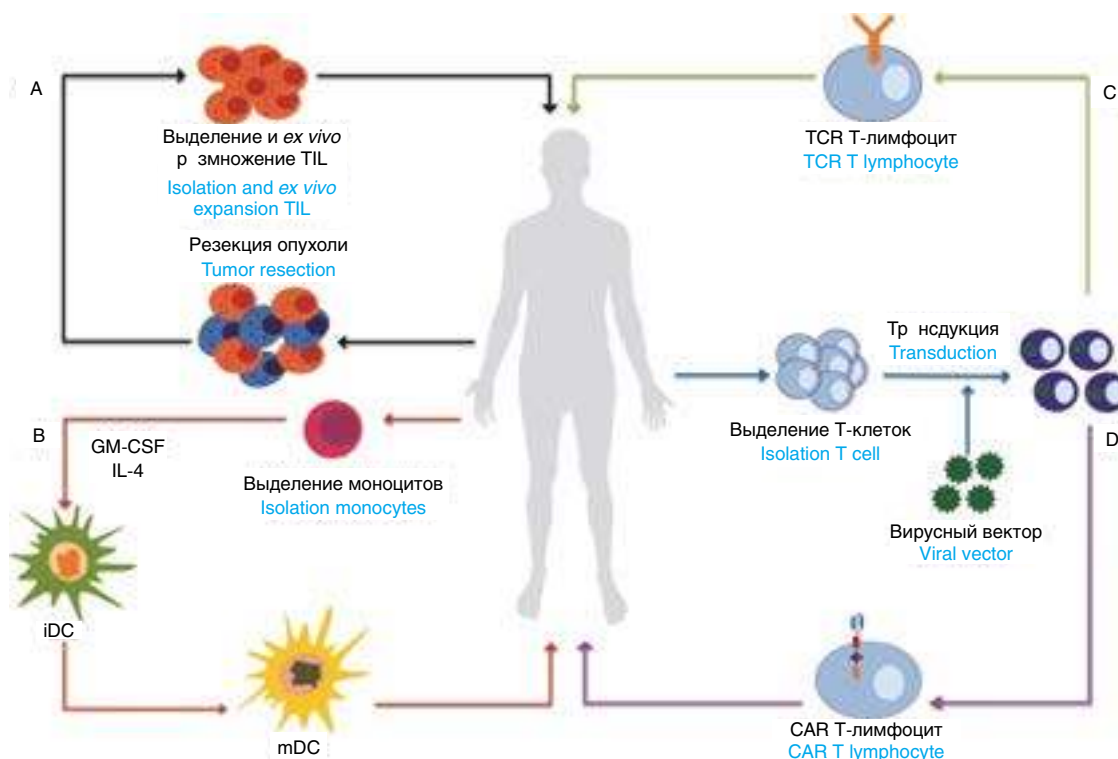


Рис. 1. Схематическое изображение разработки препаратов допитивной клеточной терапии и дендритно-клеточных вакцин (по M.W. Rohaan [6] с изменениями). А — TIL-терапия; выделенные из опухоли после ее резекции TILs культивируют *ex vivo*, после чего их вводят тому же пациенту; В — дендритно-клеточные вакцины; моноциты или CD34⁺-клетки, полученные из периферической крови, инкубируют в присутствии GM-CSF и ИЛ-4. Затем полученные незрелые дендритные клетки (iDC) культивируют комбинацией цитокинов и нагружают опухолевыми антигенами, и уже «зрелые» дендритные клетки (mDC) вводят в организм пациента; С и D — TCR- и CAR T-терапия; выделенные Т-клетки из периферической крови путем лейкофереза трансдуцируют вирусными векторами для экспрессии TCR (С) или CAR (D) специфичных к опухолевым антигенам.

Fig. 1. Schematic overview of the development of adoptive cell therapy products and dendritic cell vaccines (modified from M.W. Rohaan [6]). A — TIL-therapy; TILs are isolated and expanded *ex vivo* after surgical resection of the tumour. Thereafter, the TILs are injected intravenously to the patient; B — Dendritic cell vaccines; monocytes or CD34⁺ cells, obtained from the peripheral blood, are incubated with GM-CSF and IL-4. The resulting immature dendritic cells (iDCs) are activated by a combination of cytokines and loaded with relevant tumor antigens. Subsequently, mature DCs are injected to the patient; C, D — TCR and CAR T-therapy; T cells are isolated from the peripheral blood via leukapheresis. These T cells are then transduced by viral vectors to either express tumour antigen-specific TCRs (C) or CARs (D).

отсутствии у них клинического ответа и проведение стандартной терапии. Объективный ответ на лечение, подтвержденный в нескольких независимых КИ, был достигнут у 40–50% пациентов, включая случаи полной регрессии опухоли, но достигшей у 10–25% пациентов [8]. Более того, среди пациентов, достигших полной регрессии опухоли, наиболее длительным клинический ответ на проведение TIL-терапии был длительным [5, 16, 17]. Для сравнения, при лечении меланомы моноклональными ингибиторами, нацеленными на рецепторы CTLA-4 или PD-1, в качестве монотерапии или в комбинации, полную регрессию опухоли наблюдали у 2,2 до 11,5% пациентов [18].

Применение TILs связано с проявлением токсичности 3 и 4 степени, что объясняется введением высоких доз ИЛ-2 после введения клеток [5]. Наиболее частыми возникающими токсическими явлениями были синдром повышенной проницаемости капилляров, гипотензия и тахикардия. Кроме того, предвзвешенная лимфодепрессия зачастую является причиной развития гематологической токсичности. Наиболее тяжелые реакции были своевременно легко устранимы.

В связи с риском проявления токсичности и высокой стоимостью терапии необходим поиск надежных биомаркеров и установление прогностических критериев клинического ответа для применения TIL-терапии у ограниченного числа паци-

ентов, у которых возможно получение значимого клинического ответа.

Данные по эффективности применения TIL-терапии при лечении меланомы послужили основанием для продолжения исследований при других типах онкологических заболеваний внутренних органов, в том числе к рк к р к яичников, рк груди, рк шейки матки, с рком и рк почки [8, 12]. Однако в данном случае эффективность применения TILs оказалась невысокой. Имеется сообщение об успешном применении TILs у пациентов с метастатическим рком шейки матки, не поддающимся лечению химиотерапией и бевацизумабом. В данном случае TILs были отобраны на основании их реактивности в отношении опухолевых антигенов вируса папилломы человека (E6 и E7), после чего однократно введены пациенту. Средний возраст пациентов составил 37 лет (от 18 до 66). Это привело к полной ремиссии заболевания в течение 22 и 15 месяцев у двух пациентов [19].

Использование TIL-терапии ограничено, во-первых, тем, что не всегда имеется возможность сделать резекцию опухоли у пациента. Во-вторых, среди тех пациентов, у которых опухоль была операбельна, не всегда удается получить из нее лимфоциты. В-третьих, если лимфоциты все-таки были получены, то они могут не обладать противоопухолевой активностью.

В связи с этим, несмотря на эффективность и перспективность данного подхода, он не нашел широкого применения в клинической практике.

TCR Т-лимфоциты

TCR (T-cell receptor) — представляют собой мембранные рецепторы Т-клеток, распознающие пептидные антигены, презентруемые клетками организма, в составе главного комплекса гистосовместимости (Major histocompatibility complex, MHC). TCR-терапия подразумевает введение пациенту генетически модифицированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих TCR, специфичные к определенным опухолевым антигенам пациента. Это достигается за счет трансдукции Т-лимфоцитов, выделенных из периферической крови, генетически модифицированных TCR в составе лентивирусных или ретровирусных генетических конструкций (рис. 1). Критическим моментом, определяющим эффективность и безопасность данной терапии, является эффективность выбранного TCR в отношении выбранного антигена. Другим важным моментом является встречаемость данного антигена в различных органах и тканях человека. В идеальном случае целевой для TCR антиген должен экспрессироваться только клетками опухоли [8].

Несколько исследований с помощью TCR-модифицированных лимфоцитов было проведено с участием пациентов с меланомой [20, 21], колоректальным раком [22], раком пищевода [23], множественной миеломой [24]. Наибольший успех данного типа АКТ-терапии был достигнут в исследованиях с введением лимфоцитов, экспрессирующих TCR, специфичных к антигенам зрелых клеток опухоли, таким как ассоциированный с меланомой антиген MAGE-A3 и антиген NY-ESO-1 плоскоклеточного рака пищевода [23, 25]. В исследованиях с лимфоцитами, трансфицированными TCR, специфичным к NY-ESO-1 антигену, объективный клинический ответ наблюдался у 4 из 6 пациентов с раком и 5 из 11 пациентов с меланомой, что продемонстрировало высокую эффективность данного способа лечения [25].

Также как и в случае TIL-терапии, пациентам предвзительно проводится лимфодеплеция, после инфузии Т-лимфоцитов вводится высокая доза ИЛ-2. Аналогично TIL-терапии, токсичность при терапии TCR-модифицированными лимфоцитами обусловлена лимфодеплецией и применением высоких доз ИЛ-2. Кроме того, в результате данной терапии может развиться оппортунистический синдром высвобождения цитокинов и возникнуть аутоиммунные реакции [26]. Аутоиммунные реакции возникают в том случае, когда мишени модифицированных TCR-лимфоцитов расположены не только в тканях опухоли, но и присутствуют в здоровых тканях. К примеру, применение лимфоцитов с TCR, специфичными к риноэмбриональному антигену (Carcinoembryonic antigen, CEA), присутствующему как в тканях опухоли желудочно-кишечного тракта, так и в незначительной степени в здоровых тканях кишечника, приводило к развитию колитов тяжелой степени [22].

Значительным недостатком терапии с помощью TCR Т-лимфоцитов является их токсичность, возникающая вследствие кроссреактивности введенных TCR-рецепторов к схожим мишеням, расположенным вне опухолевых тканей. В частности, было установлено, что TCR, сконструированные к MAGE-A3 (Melanoma-associated antigen 3), были способны распознавать пептидный эпитоп, расположенный в тканях сердца, что в ре-

зультате привело к кардиогенному шоку и смерти пациентов в течение нескольких дней после инфузии [27]. В связи с этим выбор мишени для TCR-терапии должен проводиться с большой осторожностью. К настоящему времени относительно безопасным признан антиген NY-ESO-1, так как терапия анти-NY-ESO-1 TCR Т-клетками продемонстрировала клиническую эффективность, не сопровождающуюся серьезной токсичностью [25].

CAR Т-лимфоциты

Одним из важных недостатков зрения и применения TCR Т-лимфоцитов является распознавание только процессированных протеасомой антигенов, презентруемых в комплексе с MHC классом I. Этого недостатка лишен подход, основанный на генетической модификации Т-клеток генетически кодирующими химерный антигенный рецептор (Chimeric antigen receptor, CAR).

CAR состоит из внеклеточного антиген-распознающего домена (scFv), специфичного к определенному опухолевому антигену, трансмембранного домена и одного или нескольких внутриклеточных доменов (костимулирующего и/или сигнального, рис. 2). В зависимости от строения внутриклеточного домена CAR делят на 4 поколения: первое поколение содержит только один сигнальный домен CD3ζ, во втором или третьем поколении помимо CD3ζ содержат костимулирующие домены CD28 и/или 4-1BB (один домен — 2 поколение, два — 3 поколение), улучшающие пролиферацию, секрецию цитокинов, устойчивость к апоптозу и персистенцию *in vivo*. CAR четвертого поколения, или TRUCKs (T cells redirected for universal cytokine-mediated killing), обладают активностью CAR 2 поколения и способностью к секреции цитокинов (например, ИЛ-12), которые не проявляют действие иммунных клеток на уничтожение клеток опухоли [28].

К настоящему времени в мире проведено или проводится около 600 исследований, большинство которых не являются исследованиями I и II фазы исследований. По данным F. Arabi и соавт. [29], 57% всех исследований с использованием CAR Т-лимфоцитов (CAR-терапия) приходится на лечение гематологических злокачественных заболеваний, при этом из 17 мишеней основной является CD19 антиген. Выбор в качестве мишени CD19 обусловлен его высокой экспрессией в опухолевых В-клетках, что обусловило успех анти-CD19 CAR Т-терапии при лечении В-клеточных лимфом и лейкозов [30–32].

В 2017 г. на основании проведенного исследования ELIANA, в котором из 63 пациентов 52 (83%) достигли полной или частичной ремиссии, Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило первую CD19 специфическую CAR Т-терапию для лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) — Kymriah (Novartis Pharmaceuticals Corporation). По результатам исследования JULIET, в котором у 52% пациентов наблюдался полный или частичный ответ, было одобрено применение Kymriah для лечения рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДБКЛ)². Также для лечения ДБКЛ в 2017 г. был одобрен препарат — Yescarta (Kite Pharma, Inc.). При исследовании Yescarta в исследовании у 51% пациентов наблюдался полный и у 21% — частичный ответ³. Несмотря на достигнутые успехи анти-CD19 CAR Т-терапии, основной проблемой при ее применении является высокий риск развития серьезных нежелательных реакций (например, синдром высвобождения цитокинов и нейротоксичность), которые

¹ <https://clinicaltrials.gov/>

² Summary of product characteristics. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_en.pdf

³ Summary of product characteristics. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yescarta-epar-product-information_en.pdf

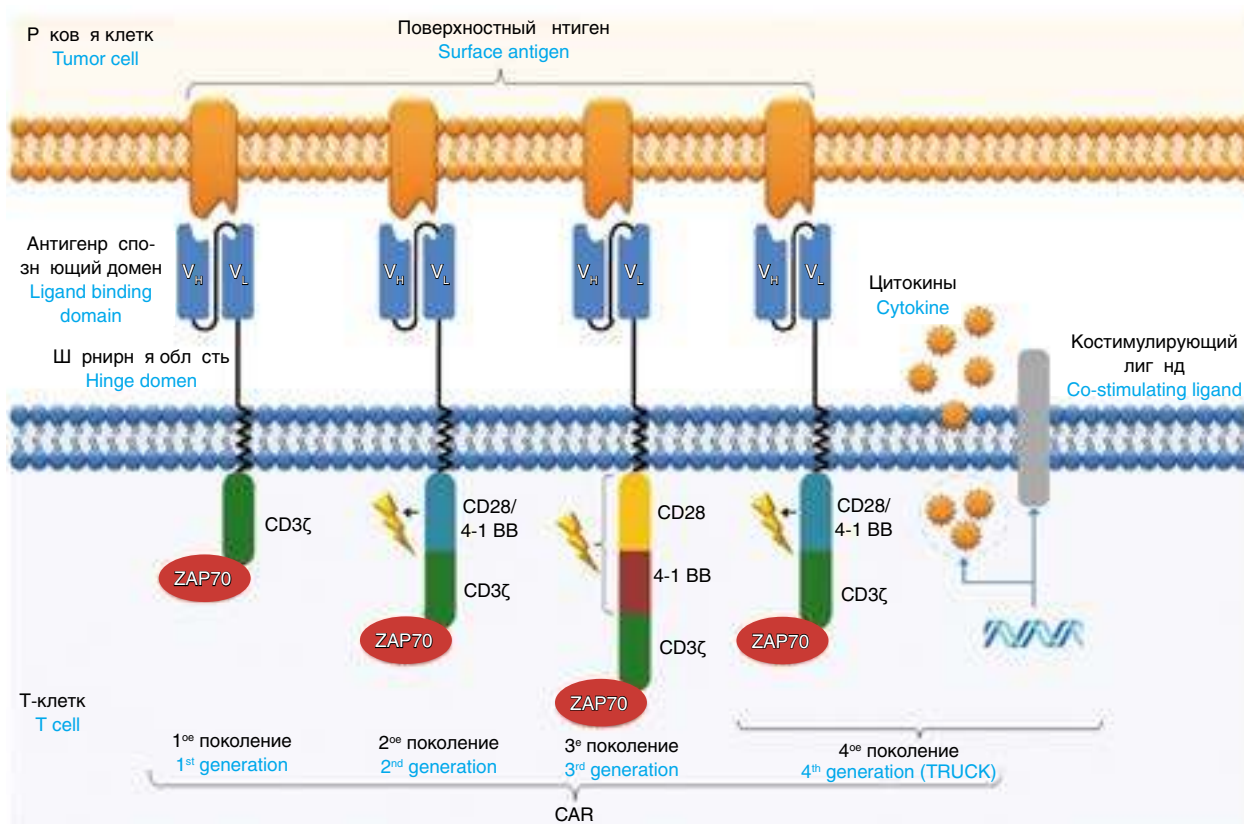


Рис. 2. Структура химерных антигенных рецепторов (CARs) (по J. Hartmann [28] с изменениями). Голубым цветом обозначен связывающийся с лигандом одноцепочечный вариант белкового фрагмента (scFv), опосредующий распознавание клеток опухоли. V_H и V_L домены scFv связаны посредством трансмембранного домена с внутриклеточным сигнальным доменом. Провоспалительные цитокины или костимулирующие лиганды, экспрессируемые CAR T-клетками, указаны для CAR четвертого поколения.

Fig. 2. Structure of chimeric antigen receptors (CARs) (modified from J. Hartmann [28]). The single-chain variable fragment (scFv) mediating tumor cell recognition is shown in light blue. V_H and V_L domains are connected via a long flexible linker and transmembrane domain to intracellular signaling domains. Pro-inflammatory cytokines or co-stimulatory ligands expressed by the CAR T cells are depicted for the 4th generation.

могут привести к гибели пациента. Другой проблемой, требующей решения, является развитие рецидивов заболевания, связанных с избыточным ростом опухолевых клеток, неэкспрессирующих целевой опухолевой антиген [33].

Несмотря на активные исследования применения CAR T-терапии для лечения солидных опухолей, убедительных данных об эффективности пока нет, возможно, это связано с несколькими причинами: труднодоступность клеток-мишеней солидных опухолей; цитотоксическое и иммуносупрессивное действие микроокружения опухоли; сложность при выборе универсальной и специфичной антигенной мишени [34, 35].

Дендритно-клеточные вакцины

Дендритные клетки (ДК) представляют собой гетерогенную группу антигенпрезентирующих клеток, происходящих из CD34⁺ стволовых клеток костного мозга. Главная функция ДК в организме заключается в поглощении антигенов посредством фаго- и пиноцитоза, процессинге и последующей презентации антигенов посредством молекул главного комплекса гистосовместимости Т-лимфоцитам. Значимые антигены процессируются либо по эндогенному пути и презентуются посредством МНС I класса CD8⁺ Т-лимфоцитам, либо процессируются через экзогенный путь и презентуются посредством МНС II класса CD4⁺ Т-лимфоцитам [36]. Антлогичным

образом ДК могут захватывать и представлять Т-лимфоцитам опухолевые антигены.

Зрелые ДК мигрируют во вторичные лимфоидные ткани: лимфоузлы, селезенку, Пейеровы бляшки, где происходит их контакт с Т- и В-клетками. Т-лимфоциты посредством TCR-рецепторов узнают специфические антигены, связанные с МНС молекулами на поверхности ДК. Активация Т-лимфоцитов зависит от интенсивности и продолжительности взаимодействия их с ДК. Данные свойства ДК лежат в основе разработки вакцин на их основе для противораковой иммунотерапии [37, 38].

Терапия на основе дендритных клеток включает в себя получение ДК из аутологичных предшественников, «нагрузку» их опухолевыми антигенами и последующее введение в организм пациента с целью индукции высокоспецифичного противоопухолевого иммунного ответа [39, 40]. Стандартный протокол производства вакцин на основе ДК включает в себя следующие стадии.

1) Моноциты, полученные из периферической крови, инкубируют в присутствии грамулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и ИЛ-4 в течение 5–6 суток.

2) Полученные незрелые ДК подвергаются процессу созревания посредством инкубирования в присутствии нескольких провоспалительных цитокинов.

3) Н следующей ст дии происходит н грузк ДК опухолевыми нтиген ми с последующим введением в орг низм п циент .

Н иболее в жными ст диями получения ДК-в кцин являються ст дии созрев ния и н грузки нтиген ми. От ст дии созрев ния з висит иммуногенность получ емой ДК-в кцины. В свою очередь, способ н грузки нтиген ми дендритных клеток н прямую влияет н способность к презент ции нтигенов. ДК могут быть подвергнуты экспозиции нтиген ми в виде пептидов, белков, цельных лиз тов убитых опухолевых клеток или стволовых клеток опухоли; либо тр нсфецированы нРНК или кДНК, кодирующими опухолевые нтигены. Н грузк нтиген ми т кже возможн з счет комбин ции нескольких методов (обр ботки лиз т ми опухолевых клеток и тр нсфецированы нРНК), что позволяет нтиген м з действов ть об кл сс МНС I и II [41]. Уст новлено, что для более эффективной дост вки ДК в периферические лимфоузлы н иболее подходящим способом введения является внутрикожный/подкожный или непосредственное введение в лимф тический узел [42].

К н стоящему времени проведено около 200 КИ с уч стием п циентов с мел номой (применено у >1250 п циентов), р ком предст тельной железы (применено у >750 п циентов), глиомой (применено у >500 п циентов) и почечно-клеточным р ком (применено у >250 п циентов) [43]. Большинство этих исследований являются небольшими исследованиями с целью оптимиз ции иммунологических п р метров в кцин и измерения иммунного ответ . Безоп сность иммунотер пии н основе ДК-в кцин был подтвержден в многочисленных исследованиях I и II ф зы. Н блюд емые побочные эффекты были относительно умеренные и преходящие. Н иболее с тыми проявлениями были ре кции в месте введения (боль, покраснение, зуд). Системные ре кции включ ли лихор дку и другие гриппоподобные симптомы. Применение в кцин н основе ДК не вызыв ло серьезных осложнений со стороны иммунной системы. Т ким обр зом, применение в кцин н основе ДК не приводит к ухудшению к честв жизни п циентов с онкологическими з -болев ниями.

Несмотря н бл гоприятный профиль безоп сности, применение ДК-в кцин в клинической пр ктике выглядит не очень успешным в связи с их относительно низкой тер пивтической эффективностью. В р боте S. Anguille [43] проведен систем тический н лиз опубликов нных результатов КИ. В случ е мел номы объективный ответ н блюд лся у 8,5% п циентов, что пок зыв ло схожую эффективность с д к рб зином. Среди п циентов с р ком прост ты объективный ответ после применения иммунотер пии н основе ДК н блюд ли у 7,1% п циентов, тогд к к при применении тр диционной тер пии ответ н -блюд ется у 10% п циентов. При проведении иммунотер пии у п циентов со злок чественной глиомой ответ н блюд лся в 15,6% случ ев, у п циентов с р ком почки — 11,5% [43].

Н иболее убедительным исследованием, демонстрирующим увеличение меди ны общей выжив емости, является КИ III ф зы IMPACT, в котором был продемонстриров н эффективность преп р т Sipuleucel-T для лечения гормонустойчивого р к прост ты. В д нном исследов нии меди н общей выжив емости сост вил 25,8 мес. в экспериментальной группе и 21,7 мес. в контрольной группе. Н основ нии д нного исследования Sipuleucel-T был одобрен FDA, несмотря н то что объективный ответ н блюд лся только у <5% п циентов. В д нном исследов нии т кже был подтвержден корреляция между нтиген-специфичным иммунным ответом вследствие

введения Sipuleucel-T и увеличением общей выжив емости [44]. В течение трехлетнего н блюдения з п циент ми численность выживших п циентов в группе, получ вших Sipuleucel-T, был н 50% больше по ср внению с контрольной группой. В н стоящее время Sipuleucel-T, з регистрив ный под торговой м ркой Provenge, является единственным преп р том н основе ДК, одобренным FDA.

Клиническ я эффективность ДК-в кцин счит ется неоптимальной [45]. Ч стично это объясняется тяжелой опухолевой иммуносупрессией и включением в КИ п циентов с прогрессирующим ст тусом з болев ния. Основными способ ми увеличения эффективности иммунотер пии н основе дендритных клеток являются: 1) усиление иммуностимулирующих свойств преп р тов н основе ДК; 2) усиление их эффективности посредством применения в комбин ции с другими противоопухолевыми лекарственными преп р тми. В н стоящее время проводятся КИ с целью увеличения эффективности преп р т Sipuleucel-T при применении в комплексной тер пии с другими химио- или иммунотер пивтическими лекарственными средствами: с ипилимум бом (NCT01804465), тезолизум бом (NCT03024216), индоксимодом (з вершено, NCT01560923), бустерной ДНК-в кциной rTVG-HP (з вершено, NCT01706458), р дием (NCT02463799), р знообр зными способ ми р диции (NCT02232230, NCT01833208, NCT01818986) и ИЛ-7 (NCT01881867) при лечении р к прост ты⁴.

Другим перспективным продуктом, р зр б тыв емым н основе ДК, является в кцин DCVax-L[®], предст вляющ я собой утологичные ДК, «н груженные» опухолевым лиз том, полученным из резецированной глиобл стомы [46]. Глиобл стом является и более агрессивной опухолью у взрослых. Ст ндр тное лечение включ ет в себя хирургическое уд ление с последующей р диотер пией и н зн чением темозоломид [47]. При этом меди н общей выжив емости сост вляет 15–17 мес., ≤5% п циентов пережив ют пятилетний период. В р боте L. M. Liao с со вт. [46] приводятся промежуточные д нные, полученные в КИ III ф зы с уч стием 331 п циент , из которых 232 получили в кцину DCVax-L[®]. Меди н общей выжив емости в д нном КИ был 23,1 мес. от времени проведения резекции опухоли. Двухлетний период выжив ния достигли 46,2% п циентов, трехлетнего — 25,4% п циентов. Несмотря н то что н д нном эт пе было подтверждено увеличение продолжительности жизни п циентов, получивших DCVax-L[®], д нное КИ продолж ется по н стоящее время с целью получения более точных д нных по выжив емости в р зных подгрупп х п циентов.

В связи с тем ф ктом, что объективный ответ н лечение ДК-в кцин ми счит ется неоптимальным, общепринятым мнением является возможность их применения в клинической онкологии в том случ е, когд н блюд ются рецидивы з болев ния после использов ния химио-/р диотер пии, ингибиторов иммунных точек (Immune checkpoint inhibitors, ICIs) или при невозможности применения CAR-T тер пии. Критериями, косвенно подтвержд ющими возможность эффективного применения ДК-в кцин, могут быть появление устойчивых к первой и второй линиям тер пии опухолевых клеток, низкий иммуногенный потенци л опухоли, низкий уровень TILs. Несмотря н то что в н стоящее время соотношение цены и тер пивтической эффективности ДК-в кцин является неоптимальным, д льнейшие исследования по оптимиз ции производств ДК-в кцин и получения преп р тов воспроизводимого к честв и эффективности могут изменить ситу цию.

⁴ <https://clinicaltrials.gov/>

Заключение

Применение *ex vivo* модифицированных клеток иммунной системы человека является новым подходом и имеет большие перспективы для лечения онкологических заболеваний, что, в частности, подтверждается значительным количеством проводимых КИ. Рассмотренные в статье основные направления доптивной клеточной терапии, базирующиеся на использовании ТИЛс или генетически модифицированных Т-лимфоцитов, имеют различные преимущества и недостатки. Дальнейшие исследования будут направлены на повышение эффективности и снижение побочных реакций при терапии БМКП. При ТCR-терапии важным является поиск новых антигенов, которые будут экспрессироваться только на опухолевых клетках, а также возможность использования неоптигенов в качестве мишеней. Для CAR-терапии в КИ уже следуются новые модификации, содержащие молекулярные переключатели или гены «с моубийств» с целью контроля терапии и снижения серьезных нежелательных реакций. Терапия ДК-вакцинами является безопасной, однако не отличается высокой клинической эффективностью и может быть применим при невозможности проведения терапии на основе ТИЛс или генно-модифицированных Т-лимфоцитов. Также перспективным направлением является комбинирование методов иммунотерапии с применением традиционных методов лечения онкологических заболеваний, что активно изучается в проводимых КИ.

Несмотря на имеющийся положительный опыт применения БМКП для лечения онкологических заболеваний, в настоящее время остаются много нерешенных проблем научных, экономических и регуляторных, решение которых необходимо для успешного внедрения новых методов клеточной терапии.

Благодарности. Робот выполнен в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590045-2).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as a part of publicly funded research project № 056-00154-19-00 and was supported by Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590045-2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
2. Каприна АД, Старинский ВВ, Петров ГВ, ред. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018. [Kaprina AD, Starinsky VV, Petrova GV, eds. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow: Herzen P.A. MNIIOI — a branch of the Federal State Budgetary Scientific Radiology Research Center of the Ministry of Health of Russia; 2018 (In Russ.)]
3. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, et al. Intraepithelial CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8⁺/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *PNAS*. 2005;102(51):18538–43. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509182102>
4. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006;313(5795):1960–4. <https://doi.org/10.1126/science.1129139>
5. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2011;17(13):4550–7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0116>
6. Rohaan MW, Wilgenhof S, Haanen JBAG. Adoptive cellular therapies: the current landscape. *Virchows Arch*. 2019;474(4):449–61. <https://doi.org/10.1007/s00428-018-2484-0>
7. Salas-Benito D, Casares N, Sarobe P, Lasarte JJ, Hervas-Stubbs S. Pre-selection of PD-1⁺ tumor-infiltrating CD8⁺ T cells improves the efficacy of adoptive T-cell therapy. *J Immunol Sci*. 2018;2(1):55–9.
8. Met Ö, Jensen K.M, Chamberlain CA, Donia M, Svane IM. Principles of adoptive T cell therapy in cancer. *Semin Immunopathol*. 2019;41(1):49–58. <https://doi.org/10.1007/s00281-018-0703-z>
9. Lu YC, Yao X, Li YF, El-Gamil M, Dudley ME, Yang JC, et al. Mutated PPP1R3B is recognized by T cells used to treat a melanoma patient who experienced a durable complete tumor regression. *J Immunol*. 2013;190(12):6034–42. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202830>
10. Tran E, Turcotte S, Gros A, Robbins PF, Lu YC, Dudley ME, et al. Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4⁺ T cells in a patient with epithelial cancer. *Science*. 2014;344(6184):641–5. <https://doi.org/10.1126/science.1251102>
11. Dudley ME, Wunderlich JR, Shelton TE, Even J, Rosenberg SA. Generation of tumor-infiltrating lymphocyte cultures for use in adoptive transfer therapy for melanoma patients. *J Immunother*. 2003;26(4):332–42.
12. Andersen R, Borch TH, Draghi A, Gokuldass A, Rana MAH, Pedersen M, et al. T cells isolated from patients with checkpoint inhibitor-resistant melanoma are functional and can mediate tumor regression. *Ann Oncol*. 2018;29(7):1575–81. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy139>
13. Besser MJ, Shapira-Frommer R, Treves AJ, Zippel D, Itzhaki O, Hershkovitz L, et al. Clinical responses in a phase II study using adoptive transfer of short-term cultured tumor-infiltrating lymphocytes in metastatic melanoma patients. *Clin Cancer Res*. 2010;16(9):2646–55. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0041>
14. Besser MJ, Shapira-Frommer R, Treves AJ, Zippel D, Itzhaki O, Schalmach E, et al. Minimally cultured or selected autologous tumor-infiltrating lymphocytes after a lymphodepleting chemotherapy regimen in metastatic melanoma patients. *J Immunother*. 2009;32(4):415–23. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e31819c8bda>
15. Cohen IJ, Blasberg R. Impact of the tumor microenvironment on tumor-infiltrating lymphocytes: focus on breast cancer. *Breast Cancer (Auckl)*. 2017;11:1178223417731565. <https://doi.org/10.1177/1178223417731565>
16. Andersen R, Donia M, Ellebaek E, Borch TH, Kongsted P, Iversen TZ, et al. Long-lasting complete responses in patients with metastatic melanoma after adoptive cell therapy with tumor-infiltrating lymphocytes and an attenuated IL2 regimen. *Clin Cancer Res*. 2016;22(15):3734–45. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1879>
17. Pilon-Thomas S, Kuhn L, Ellwanger S, Janssen W, Royster E, Marzban S, et al. Efficacy of adoptive cell transfer of tumor-infiltrating lymphocytes after lymphopenia induction for metastatic melanoma. *J Immunother*. 2012;35(8):615–20. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e31826e8f5f>

18. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med.* 2015;373(1):23–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504030>
19. Stevanović S, Draper LM, Langan MM, Campbell TE, Kwong ML, Wunderlich JR, et al. Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus targeted tumor-infiltrating T cells. *J Clin Oncol.* 2015;33(14):1543–50. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.9093>
20. Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, Cassard L, Yang JC, Hughes MS, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood.* 2009;114(3):535–46. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-03-211714>
21. Chodon T, Comin-Anduix B, Chmielowski B, Koya RC, Wu Z, Auerbach M, et al. Adoptive transfer of MART-1 T-cell receptor transgenic lymphocytes and dendritic cell vaccination in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res.* 2014;20(9):2457–65. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-3017>
22. Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, Dudley ME, Nathan DA, Feldman SA, et al. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol Ther.* 2011;19(3):620–6. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.272>
23. Morgan RA, Chinnasamy N, Abate-Daga D, Gros A, Robbins PF, Zheng Z, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. *J Immunother.* 2013;36(2):133–51. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3182829903>
24. Rapoport AP, Stadtmauer EA, Binder-Scholl GK, Goloubeva O, Vogl DT, Lacey SF, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma. *Nat Med.* 2015;21(8):914–21. <https://doi.org/10.1038/nm.3910>
25. Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, Yang JC, Sherry RM, Dudley ME, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol.* 2011;29(7):917–24. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.32.2537>
26. Wolf B, Zimmermann S, Arber C, Irving M, Trueb L, Coukos G. Safety and tolerability of adoptive cell therapy in cancer. *Drug Saf.* 2019;42(2):315–34. <https://doi.org/10.1007/s40264-018-0779-3>
27. Linette GP, Stadtmauer EA, Maus MV, Rapoport AP, Levine BL, Emery L, et al. Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma. *Blood.* 2013;122(6):863–71. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-03-490565>
28. Hartmann J, Schübler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ. Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med.* 2017;9(9):1183–97. <https://doi.org/10.15252/emmm.201607485>
29. Arabi F, Torabi-Rahvar M, Shariati A, Ahmadbeigi N, Naderi M. Antigenic targets of CAR T cell therapy. A retrospective view on clinical trials. *Exp Cell Res.* 2018;369(1):1–10. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.05.009>
30. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood.* 2010;116(20):4099–102. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-04-281931>
31. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 2013;368:1509–18. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1215134>
32. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 2011;365(8):725–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1103849>
33. Wang Z, Wu Z, Liu Y, Han W. New development in CAR-T cell therapy. *J Hematol Oncol.* 2017;10(1):53. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0423-1>
34. Charrot S, Hallam S. CAR-T cells: future perspectives. *HemaSphere.* 2019;3(2):e188. <https://doi.org/10.1097/HS9.000000000000188>
35. Long KB, Young RM, Boesteanu AC, Davis MM, Melnhorst JJ, Lacey SF, et al. CAR T cell therapy of non-hematopoietic malignancies: detours on the road to clinical success. *Front Immunol.* 2018;9:2740. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02740>
36. Dudek AM, Martin S, Garg AD, Agostinis P. Immature, semi-mature, and fully mature dendritic cells: toward a DC-cancer cells interface that augments anticancer immunity. *Front Immunol.* 2013;4:438. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00438>
37. Garg AD, Vara Perez M, Schaaf M, Agostinis P, Zitvogel L, Kroemer G, Galluzzi L. Trial watch: dendritic cell-based anticancer immunotherapy. *Oncoimmunology.* 2017;6(7):e1328341. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1328341>
38. Sabado RL, Balan S, Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res.* 2017;27(1):74–95. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.157>
39. Anguille S, Smits EL, Bryant C, Van Acker HH, Goossens H, Lion E, et al. Dendritic cells as pharmacological tools for cancer immunotherapy. *Pharmacol Rev.* 2015;67(4):731–53. <https://doi.org/10.1124/pr.114.009456>
40. Cohn L, Delamarre L. Dendritic cell-targeted vaccines. *Front Immunol.* 2014;5:255. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00255>
41. Decker WK, Xing D, Li S, Robinson SN, Yang H, Yao X, et al. Double loading of dendritic cell MHC class I and MHC class II with an AML antigen repertoire enhances correlates of T-cell immunity *in vitro* via amplification of T-cell help. *Vaccine.* 2006;24(16):3203–16. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.01.029>
42. Draube A, Klein-González N, Mattheus S, Brilliant C, Hellmich M, Engert A, von Bergwelt-Baildon M. Dendritic cell based tumor vaccination in prostate and renal cell cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2011;6(4):e18801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018801>
43. Anguille S, Smits EL, Lion E, van Tendeloo VF, Berneman ZN. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 2014;15(7):e257–67. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70585-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70585-0)
44. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(5):411–22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1001294>
45. Vandenberk L, Belmans J, Van Woensel M, Riva M, Van Gool SW. Exploiting the immunogenic potential of cancer cells for improved dendritic cell vaccines. *Front Immunol.* 2016;6:663. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00663>
46. Liao LM, Ashkan K, Tran DD, Campian JL, Trusheim JE, Cobbs CS, et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. *J Transl Med.* 2018;16(1):142. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1507-6>
47. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):987–96. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043330>

Об авторах / Authors

Устюгова Екатерина Александровна, к нд. биол. н ук. *Ekaterina A. Ustyugova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6553-5303>

Савкина Мария Владимировна, к нд. биол. н ук. *Maria V. Savkina*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8527-2157>

Горяев Артем Анатольевич, к нд. биол. н ук. *Artem A. Goryaev*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1620-6233>

Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. н ук, проф. *Vladimir P. Bondarev*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. н ук, проф. *Vadim A. Merkulov*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Мельникова Екатерина Валерьевна, к нд. биол. н ук. *Ekaterina V. Melnikova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Поступил 04.10.2019
После доработки 28.10.2019
Принято к публикации 22.11.2019

Received 4 October 2019
Revised 28 October 2019
Accepted 22 November 2019