

## Применение биомедицинских клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний

Е. А. Устюгова<sup>1,\*</sup>, М. В. Савкина<sup>1</sup>, А. А. Горяев<sup>1</sup>, В. П. Бондарев<sup>1</sup>, В. А. Меркулов<sup>1,2</sup>, Е. В. Мельникова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Федеральное 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. Стандартные методы терапии, включая лучевую и химиотерапию, имеют ограниченную эффективность. В связи с этим разработка принципиально новых методов терапии онкологических заболеваний является актуальной задачей. Перспективным и многообещающим подходом считается лечение онкологии с помощью биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), к которым можно отнести адоптивную клеточную терапию и терапию вакцинами 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 опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL-терапия), генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих специфические к опухолевым антигенам рецепторы (TCR/CAR-T-терапия), а также дендритно-клеточных вакцин. Применение *ex vivo* модифицированных клеток иммунной системы человека является новым подходом и имеет большие перспективы для лечения онкологических заболеваний. Представленные основные направления адоптивной 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 адоптивной клеточной терапии и вакцин 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; адоптивная клеточная терапия; дендритные клетки; модифицированные Т-клетки; химерный антигенный рецептор; дендритно-клеточная вакцина

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

**Контактное лицо:** Устюгова Екатерина Александровна; [ustugova@expmed.ru](mailto:ustugova@expmed.ru)

## The Current Use of Biomedical Cell Products for Cancer Treatment

Е. А. Ustyugova<sup>1,\*</sup>, М. V. Savkina<sup>1</sup>, А. А. Goryaev<sup>1</sup>, V. P. Bondarev<sup>1</sup>, V. A. Merkulov<sup>1,2</sup>, E. V. Melnikova<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>I. 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. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = 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](mailto:ustugova@expmed.ru)

На сегодняшний день установлено, что заболеваемость и смертность от онкологических заболеваний постоянно растут. По оценкам Международного агентства по изучению рака ВОЗ, в 2018 г. в мире было зарегистрировано около 18,1 млн новых случаев и 9,6 млн смертей в результате онкологических заболеваний [1]. В России в 2017 г. впервые выявлено около 540,9 тыс. онкобольных, смерть в результате заболевания наступила у 290,7 тыс. человек [2]. Одним из важных направлений предотвращения смертности от онкологических заболеваний является разработка новых и эффективных методов лечения, в том числе инновационных методов иммунотерапии, так как традиционные методы лечения рака (хирургия, химио- и лучевая терапия) имеют ограниченную эффективность, в особенности для пациентов на поздних стадиях заболеваний. Также химио- и лучевая терапия часто вызывают значительные побочные эффекты, снижая качество жизни пациентов. Успех терапии, основанной на применении моноклональных антител, ингибирующих контрольные точки иммунного ответа, например CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) и PD-1 (Programmed cell death 1; CD279), привел к тому, что иммунотерапия заняла ведущее направление в разработке новых методов лечения рака. К особому виду иммунотерапии относится применение культивированных жизнеспособных клеток человека, так называемых биомедицинских клеточных продуктов (БМКП). С учетом последних технологических достижений клеточной и молекулярной биологии применение БМКП является наиболее перспективным и многообещающим.

В данной работе рассмотрены современные подходы и направления создания БМКП с использованием лимфоцитов и дендритных клеток для лечения онкологических заболеваний, а также приведена сравнительная оценка их эффективности и безопасности. Цель работы — обзор современных представлений о принципах терапии, а также рассмотрение имеющегося опыта клинического применения клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний.

### Применение опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL-терапия)

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (Tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из Т-лимфоцитов и НК-клеток (Natural killer cells), которые естественным образом мигрируют к опухоли и распознают специфические опухолевые антигены посредством Т-клеточных рецепторов (T-cell receptor, TCR). Установлено, что присутствие TILs в опухолевых очагах связано с благоприятным прогнозом при различных типах онкологических заболеваний [3, 4]. Первое применение TILs было предпринято в 1988 г., когда пациентам вводили опухолеспецифические Т-лимфоциты, предварительно выделенные из опухолевого очага и размноженные *ex vivo* [5]. В настоящее время TILs выделяют из резецированного опухолевого материала, после чего их культивируют и вводят тому же пациенту (рис. 1), пред-

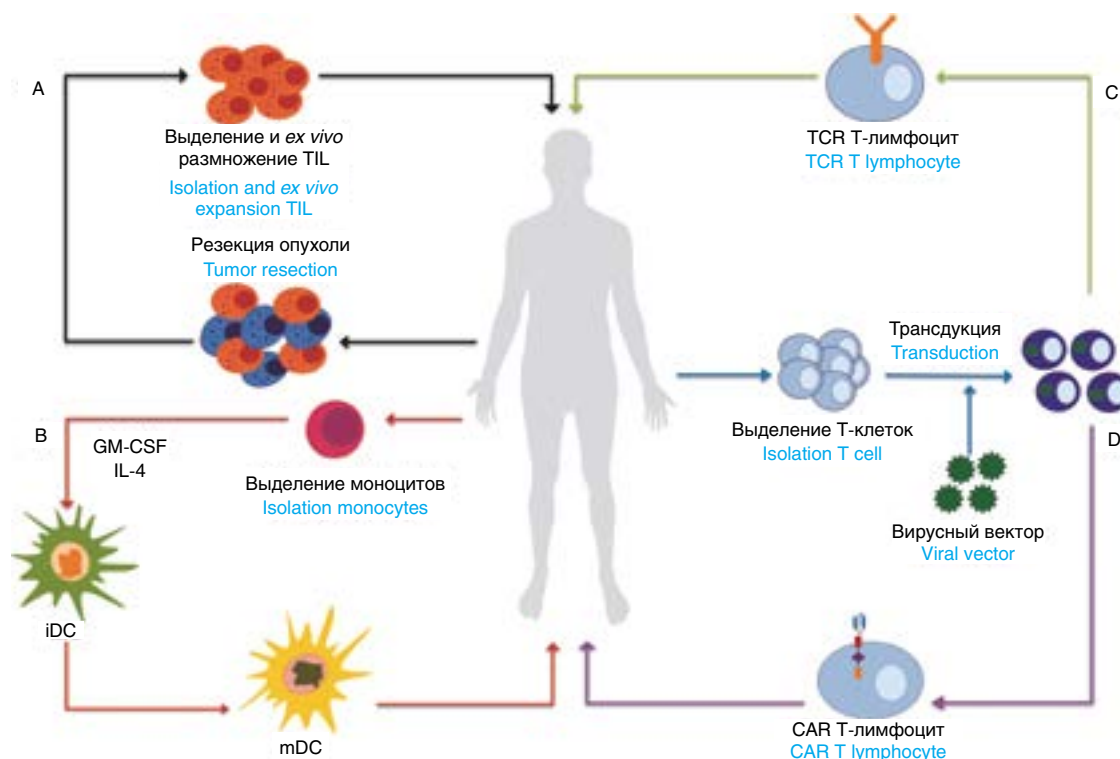
варительно прошедшему курс химиотерапии с целью лимфодепрессии [6].

Для успешного применения терапии на основе TILs должны быть соблюдены следующие условия: 1) проведена немиелоабляционная лимфодепрессия с целью подавления популяции регуляторных Т-клеток (Tregs); 2) введено достаточно большое количество TILs; 3) после инфузии TILs необходимо введение интерлейкина-2 (ИЛ-2) для более длительной персистенции введенных лимфоцитов *in vivo* [7, 8]. Помимо этого, опухоль у пациентов должна быть доступна и операбельна.

Преимущество терапии на основе TILs заключается в их способности распознавать широкий спектр опухолевых антигенов. Несколькими исследователями была подтверждена способность TILs распознавать опухолевые неоантигены, возникшие в результате мутаций [9, 10]. Считается, что именно специфичные к опухолевым неоантигенам TILs играют ключевую роль в регрессии опухоли. Кроме того, это объясняет факт низкой токсичности TIL-терапии, возникающей в результате «атаки» здоровых тканей, экспрессирующих опухолевые антигены. В связи с этим предполагается, что TIL-терапия более эффективна при лечении опухолей, характеризующихся высоким уровнем мутаций, включая меланому и мелкоклеточный рак легких, а также опухолей с нарушением процесса репарации ошибочно спаренных нуклеотидов, такими как опухоли вирусного происхождения (рак шейки матки, рак шеи и головы, ассоциированный с вирусом папилломы).

Как и в случае с другими видами адоптивной клеточной терапии (АКТ), получение клеточного продукта для TIL-терапии остается трудоемким и дорогостоящим процессом. Иссеченный образец опухоли разделяют на фрагменты, каждый из которых отдельно обрабатывают ферментами с целью получения суспензии индивидуальных клеток (клетки опухоли и лимфоциты). В присутствии ИЛ-2 происходит экспансия лимфоцитов и уничтожение опухолевых клеток в течение 3–5 недель. Далее проводят селекцию TILs на основании их способности к опухолеспецифичной секреции интерферона- $\gamma$  и цитотоксичности [11]. После чего отобранные изоляты TILs используют для получения конечного продукта для инфузии, что занимает еще две недели. В результате проведенных манипуляций получают суспензию клеток с концентрацией до  $2 \cdot 10^{11}$  Т-лимфоцитов [12]. Однако существуют способы ускоренного получения TILs, при которых сокращают начальную фазу экспансии до двух недель и минуют стадию селекции, используя «неотобранные TILs» для получения конечного продукта. При использовании данного метода получения TILs общий ответ на лечение в клинических исследованиях (КИ) с участием пациентов с меланомой был сравним с ответом, полученным при использовании TILs, приготовленных с включением стадии селекции [13, 14]. Установлено, что такие параметры, как количество Т-лимфоцитов в суспензии, количество и процентное содержание CD8<sup>+</sup> клеток, коррелировали с клиническим ответом [15].

Применение TIL-терапии, главным образом, было изучено в КИ с участием пациентов с поздними стадиями меланомы при



**Рис. 1.** Схема создания препаратов адоптивной 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 — вакцины на основе дендритных клеток; моноциты или CD34<sup>+</sup>-клетки, полученные из периферической крови, инкубируют в присутствии GM-CSF и ИЛ-4. Затем полученные незрелые дендритные клетки (iDC) активируют 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<sup>+</sup> cells, obtained from the peripheral blood and 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 на проведение стандартной терапии. Объективный ответ на лечение, подтвержденный в нескольких независимых КИ, был достигнут у 40–50% пациентов, включая случаи полной регрессии опухоли, наблюдавшейся у 10–25% пациентов [8]. Более того, среди пациентов, достигших полной регрессии опухоли, наблюдаемый клинический ответ на проведение TIL-терапии был длительным [5, 16, 17]. Для сравнения, при лечении меланомы моноклональными антителами, направленными на рецепторы CTLA-4 или PD-1, в качестве монотерапии или в комбинации, полную регрессию опухоли наблюдали от 2,2 до 11,5% пациентов [18].

Применение TILs связано с проявлением токсичности 3 и 4 категории, что объясняется введением высоких доз ИЛ-2 после введения клеток [5]. Наиболее часто возникающими токсическими явлениями были синдром повышенной проницаемости капилляров, гипотензия и тахикардия. Кроме того, предварительная лимфодеплеция зачастую является причиной развития гематологической токсичности. Однако данные нежелательные реакции были сравнительно 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, таких как рак яичников, рак груди, рак шейки матки, саркома и рак почки [8, 12]. Однако в данном случае эффективность применения TILs оказалась невысокой. Имеется сообщение об успешном применении TILs у пациентов с метастатическим раком 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 пациентам. Средний возраст пациентов составлял 37 лет (от 18 до 66). Это привело к полной ремиссии заболевания в течение 22 и 15 месяцев у двух пациенток [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, МНС). 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, генами опухолеспецифичных TCR в составе лентивирусных или ретровирусных генетических конструкций (рис. 1). Критическим моментом, определяющим эффективность и безопасность данной терапии, является аффинность выбранного TCR в отношении выбранного антигена. Другим важным моментом является встречаемость данного антигена в разных органах и тканях человека. В идеальном случае целевой для TCR антиген должен экспрессироваться только клетками опухоли [8].

Несколько КИ терапии 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 зародышевых клеток опухоли, таким как ассоциированный с меланомой антиген MAGE-A3 и антиген NY-ESO-1 плоскоклеточного рака пищевода [23, 25]. В исследовании с лимфоцитами, трансфецированными TCR, специфичным к NY-ESO-1 антигену, объективный клинический ответ наблюдали у 4 из 6 пациентов с саркомой и 5 из 11 пациентов с меланомой, что продемонстрировало высокую эффективность данного способа лечения [25].

Так же как и в случае TIL-терапии, пациентам предвзительно проводится лимфодеплегация, а после инфузии Т-лимфоцитов вводится высокая доза ИЛ-2. Аналогично TIL-терапии, токсичность при терапии TCR-модифицированными лимфоцитами обусловлена лимфодеплекцией и применением высоких доз ИЛ-2. Кроме того, в результате данной терапии может развиваться опасный для жизни 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 карциноэмбриональному 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 сопровождавшуюся серьезной токсичностью [25].

### CAR Т-лимфоциты

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

CAR состоят из внеклеточного антигенраспознающего домена (scFv), специфичного к определенному опухолевому антигену, шарнирной области, 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 время как второе или третье поколение помимо CD3ζ содержит костимулирующие домены CD28 и/или 4–1 BB (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 направляют действие иммунных клеток на уничтожение клеток опухоли [28].

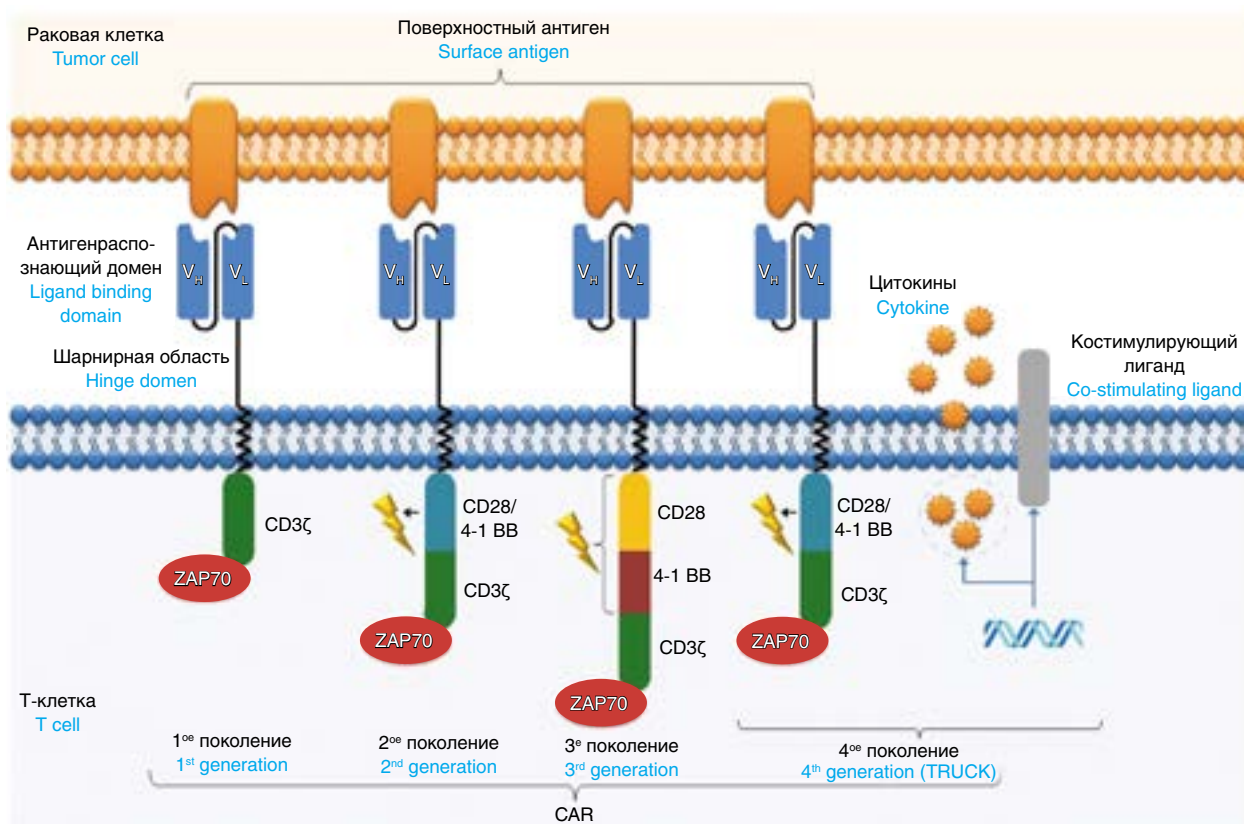
К настоящему времени в мире проведено или проводится около 600 КИ<sup>1</sup>, большинство которых находятся на ранних стадиях исследований (I и II фазы КИ). По данным F. Arabi с соавт. [29], 57% всех КИ с использованием CAR Т-лимфоцитов (CAR Т-терапия) приходится на лечение гематологических злокачественных 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 КИ 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 КИ JULIET, в котором у 52% пациентов наблюдали полный или частичный ответ, было одобрено показание Kymriah для лечения рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДБКЛ)<sup>2</sup>. Также для лечения ДБКЛ в 2017 г. был одобрен второй препарат — Yescarta (Kite Pharma, Inc.). При исследовании Yescarta в КИ у 51% пациентов наблюдался полный и у 21% — частичный ответ<sup>3</sup>. 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

<sup>1</sup> <https://clinicaltrials.gov/>

<sup>2</sup> Summary of product characteristics. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_en.pdf)

<sup>3</sup> Summary of product characteristics. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yescarta-epar-product-information\\_en.pdf](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 варибельный фрагмент (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<sup>+</sup> 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. Захваченные антигены процессируются либо по эндогенному пути и презентуются посредством МНС I класса CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитам, либо процессируются через экзогенный путь и презентуются посредством МНС II класса CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам [36]. Аналогичным

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, «нагрузка» 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 гранулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и ИЛ-4 в течение 5–6 суток.

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

3) На следующей стадии происходит нагрузка ДК опухолевыми антигенами с последующим введением в организм пациента.

Наиболее важными стадиями получения ДК-вакцин являются стадии созревания и нагрузки антигенами. От стадии созревания зависит иммуногенность получаемой ДК-вакцины. В свою очередь, способ нагрузки антигенами дендритных клеток напрямую влияет на способность к презентации антигенов. ДК могут быть подвергнуты экспозиции антигенами в виде пептидов, белков, цельных лизатов убитых опухолевых клеток или стволовых клеток опухоли; либо трансфицированы мРНК или кДНК, кодирующими опухолевые антигены. Нагрузка антигенами также возможна за счет комбинации нескольких методов (обработки лизатами опухолевых клеток и трансфекции мРНК), что позволяет антигенам задействовать оба класса МНС I и II [41]. Установлено, что для более эффективной доставки ДК в периферические лимфоузлы наиболее подходящим способом введения является внутривенный/подкожный или непосредственное введение в лимфатический узел [42].

К настоящему времени проведено около 200 КИ с участием пациентов с меланомой (применено у >1250 пациентов), раком предстательной железы (применено у >750 пациентов), глиомой (применено у >500 пациентов) и почечно-клеточным раком (применено у >250 пациентов) [43]. Большинство этих исследований являются небольшими исследованиями с целью оптимизации иммунологических параметров вакцин и измерения иммунного ответа. Безопасность иммунотерапии на основе ДК-вакцин была подтверждена в многочисленных исследованиях I и II фазы. Наблюдаемые побочные эффекты были относительно умеренными и преходящими. Наиболее частыми проявлениями были реакции в месте введения (боль, покраснение, зуд). Системные реакции включали лихорадку и другие гриппоподобные симптомы. Применение вакцин на основе ДК не вызвало серьезных осложнений со стороны иммунной системы. Таким образом, применение вакцин на основе ДК не приводит к ухудшению качества жизни пациентов с онкологическими заболеваниями.

Несмотря на благоприятный профиль безопасности, применение ДК-вакцин в клинической практике выглядит не очень успешным в связи с их относительно низкой терапевтической эффективностью. В работе S. Anguille [43] проведен систематический анализ опубликованных результатов КИ. В случае меланомы объективный ответ наблюдался у 8,5% пациентов, что показывало схожую эффективность с дакарбазином. Среди пациентов с раком простаты объективный ответ после применения иммунотерапии на основе ДК наблюдали у 7,1% пациентов, тогда как при применении традиционной терапии ответ наблюдается у 10% пациентов. При проведении иммунотерапии у пациентов со злокачественной глиомой ответ наблюдался в 15,6% случаев, у пациентов с раком почки — 11,5% [43].

Наиболее убедительным исследованием, демонстрирующим увеличение медианы общей выживаемости, является КИ III фазы IMPACT, в котором была продемонстрирована эффективность препарата Sipuleucel-T для лечения гормоностойчивого рака простаты. В данном исследовании медиана общей выживаемости составила 25,8 мес. в экспериментальной группе и 21,7 мес. в контрольной группе. На основании данного исследования Sipuleucel-T был одобрен FDA, несмотря на то что объективный ответ наблюдался только у <5% пациентов. В данном исследовании также была подтверждена корреляция между антиген-специфичным иммунным ответом вследствие

введения Sipuleucel-T и увеличением общей выживаемости [44]. В течение трехлетнего наблюдения за пациентами численность выживших пациентов в группе, получавших Sipuleucel-T, была на 50% больше по сравнению с контрольной группой. В настоящее время Sipuleucel-T, зарегистрированный под торговой маркой Provenge, является единственным препаратом на основе ДК, одобренным FDA.

Клиническая эффективность ДК-вакцин считается неоптимальной [45]. Частично это объясняется тяжелой опухолевой иммуносупрессией и включением в КИ пациентов с прогрессирующим статусом заболевания. Основными способами увеличения эффективности иммунотерапии на основе дендритных клеток являются: 1) усиление иммуностимулирующих свойств препаратов на основе ДК; 2) усиление их эффективности посредством применения в комбинации с другими противоопухолевыми лекарственными препаратами. В настоящее время проводятся КИ с целью увеличения эффективности препарата Sipuleucel-T при применении в комплексной терапии с другими химио- или иммунотерапевтическими лекарственными средствами: с ипилимумабом (NCT01804465), атезолизумабом (NCT03024216), индоксимодом (завершено, NCT01560923), бустерной ДНК-вакциной rTVG-HP (завершено, NCT01706458), радием (NCT02463799), разнообразными способами радиации (NCT02232230, NCT01833208, NCT01818986) и ИЛ-7 (NCT01881867) при лечении рака простаты<sup>4</sup>.

Другим перспективным продуктом, разрабатываемым на основе ДК, является вакцина DCVax-L<sup>®</sup>, представляющая собой аутологичные ДК, «нагруженные» опухолевым лизатом, полученным из резецированной глиобластомы [46]. Глиобластома является наиболее агрессивной опухолью у взрослых. Стандартное лечение включает в себя хирургическое удаление с последующей радиотерапией и назначением темозоломида [47]. При этом медиана общей выживаемости составляет 15–17 мес., ≤5% пациентов переживают пятилетний период. В работе L. M. Liao с соавт. [46] приводятся промежуточные данные, полученные в КИ III фазы с участием 331 пациента, из которых 232 получили вакцину DCVax-L<sup>®</sup>. Медиана общей выживаемости в данном КИ была 23,1 мес. от времени проведения резекции опухоли. Двухлетний период выживания достигли 46,2% пациентов, трехлетнего — 25,4% пациентов. Несмотря на то что на данном этапе было подтверждено увеличение продолжительности жизни пациентов, получивших DCVax-L<sup>®</sup>, данное КИ продолжается по настоящее время с целью получения более точных данных по выживаемости в разных подгруппах пациентов.

В связи с тем фактом, что объективный ответ на лечение ДК-вакцинами считается неоптимальным, общепринятым мнением является возможность их применения в клинической онкологии в том случае, когда наблюдаются рецидивы заболевания после использования химио-/радиотерапии, ингибиторов иммунных точек (Immune checkpoint inhibitors, ICIs) или при невозможности применения CAR-T терапии. Критериями, косвенно подтверждающими возможность эффективного применения ДК-вакцин, могут быть появление устойчивых к первой и второй линиям терапии опухолевых клеток, низкий иммуногенный потенциал опухоли, низкий уровень TILs. Несмотря на то что в настоящее время соотношение цены и терапевтической эффективности ДК-вакцин является неоптимальным, дальнейшие исследования по оптимизации производства ДК-вакцин и получения препаратов воспроизводимого качества и эффективности могут изменить ситуацию.

<sup>4</sup> <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 адоптивной клеточной терапии, базирующиеся на использовании TILs 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 TCR-терапии важным является поиск новых антигенов, которые будут экспрессироваться только на опухолевых клетках, а также возможность использования неоантигенов в качестве мишеней. Для CAR-терапии в КИ уже исследуются новые модификации, содержащие молекулярные переключатели или гены «самоубийства» с целью контроля терапии и снижения серьезных нежелательных реакций. Терапия ДК-вакцинами является безопасной, однако не отличается высокой клинической эффективностью и может быть применима при невозможности проведения терапии на основе TILs 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 настоящий момент остается много нерешенных проблем как научных, так экономических и регуляторных, решение которых необходимо для успешного внедрения новых методов клеточной терапии.

**Благодарности.** Работа выполнена 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, Петрова 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<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes and a high

- CD8<sup>+</sup>/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<sup>+</sup> tumor-infiltrating CD8<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 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 infiltration 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 tumorinfiltrating 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**, канд. биол. наук. *Ekaterina A. Ustyugova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6553-5303>

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

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

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

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

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

Поступила 04.10.2019

После доработки 28.10.2019

Принята к публикации 22.11.2019

Received 4 October 2019

Revised 28 October 2019

Accepted 22 November 2019