

ПРИМЕНЕНИЕ IFN γ ИЛИ TNF α -Т В ПРОТОКОЛАХ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИК ДЛЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Гельм Ю.В.¹, Гривцова Л.Ю.¹, Пасова И.А.¹, Константинова Т.В.¹,
Мушкарина Т.Ю.¹, Иванов С.А.^{1, 2}, Каприн А.Д.^{2, 3, 4}

¹ Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

⁴ Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Методы иммунокоррекции, основанные на введении в организм аутологичных лейкоцитов, активированных в условиях *in vitro* различными иммуномодуляторами, получают все более широкое распространение. Ранее проведенные нами исследования позволяют утверждать об эффективности применения иммунотерапии лимфоцитами, активированными *in vitro* с помощью цитокинов для лечения онкологических больных и хорошей переносимости данной терапии. В данной статье рассмотрены варианты применения препаратов рекомбинантного интерферона гамма (IFN γ) и рекомбинантного фактора некроза опухоли-альфа-тимозина-альфа-1 (TNF α -Т) для получения цитокин-индуцированных киллеров (ЦИК) человека *in vitro*. Целью исследования являлась оценка возможности применения препаратов IFN γ и TNF α -Т в протоколах получения ЦИК человека в условиях *in vitro*. Мононуклеары (МНК), выделенные из крови 15 доноров, культивировали в условиях CO₂-инкубатора до 12 суток. Для оценки токсичности IFN γ и TNF α -Т в отношении лимфоцитов *in vitro* концентрации препаратов были выверены экспериментальным путем с учетом контроля уровня жизнеспособности клеток. Уровни цитокинов в супернатантах на этапах культивирования клеток определяли методом иммуноферментного анализ (ИФА). До и после культивирования оценивали наличие адгезии и гранулярности изучаемых лимфоцитов, фенотип клеток изучали методом проточной цитометрии, оценку уровня жизнеспособности активированных лимфоцитов проводили в камере Горяева. Проведен сравнительный анализ способов культивирования лимфоцитов в различных средах, содержащих: только IFN γ (группа 1); IFN γ , интерлейкин-2 (IL-2) и интерлейкин-15 (IL-15) (группа 2);

Адрес для переписки:

Гельм Юлия Витальевна
Медицинский радиологический научный центр
имени А.Ф. Цыба
249031, Россия, г. Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10.
Тел.: 8 (48439) 2-96-04.
E-mail: julia_marizina@mail.ru

Address for correspondence:

Yulia V. Gelm
A. Tsyb Medical Radiological Research Centre
10 Marshal Zhukov St
Obninsk
249031 Russian Federation
Phone: +7 (48439) 2-96-04.
E-mail: julia_marizina@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.В. Гельм, Л.Ю. Гривцова, И.А. Пасова, Т.В. Константинова, Т.Ю. Мушкарина, С.А. Иванов, А.Д. Каприн «Применение IFN γ или TNF α -Т в протоколах получения ЦИК для адоптивной иммунотерапии» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 2. С. 407-416.
doi: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

© Гельм Ю.В. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu.V. Gelm, L.Yu. Grivtsova, I.A. Pasova, T.V. Konstantinova, T.Yu. Mushkarina, S.A. Ivanov, A.D. Kaprin "Usage of IFN γ or TNF α -T in protocols for obtaining cytokine-induced killer cells for adoptive immunotherapy", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 2, pp. 407-416.
doi: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

© Gelm Yu.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-UOI-3027

только TNF α -T (группа 3); TNF α -T, IL-2 и IL-15 (группа 4) и только IL-2 и IL-15 (группа контроля). При активации МНК в среде, содержащей IFN γ , IL-2 и IL-15 или в среде, содержащей TNF α -T, IL-2 и IL-15, отмечена общая тенденция к значительному увеличению показателей Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), активированных лимфоцитов (HLA-DR⁺), активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺) и маркеров активации на всех лимфоцитах (CD38⁺) и на Т-клетках (CD3⁺CD38⁺). Оценена возможность применения препаратов IFN γ и TNF α -T для получения ЦИК человека *in vitro*. Полученные данным способом активированные цитотоксические лимфоциты могут применяться для фундаментальных исследований по выявлению новых закономерностей и морфо-функциональных особенностей активированных лимфоцитов человека, а также для проведения адоптивной иммунотерапии онкологическим больным.

Ключевые слова: культивирование, IFN γ , TNF α -T, IL-2, IL-15, ЦИК, ИФА, фенотип

USAGE OF IFN γ OR TNF α -T IN PROTOCOLS FOR OBTAINING CYTOKINE-INDUCED KILLER CELLS FOR ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY

Gelm Yu.V.^a, Grivtsova L.Yu.^a, Pasova I.A.^a, Konstantinova T.V.^a,
Mushkarina T.Yu.^a, Ivanov S.A.^{a, b}, Kaprin A.D.^{b, c, d}

^a A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

^b P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^c National Medical Research Radiological Center of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

^d P. Herzen Moscow Oncology Research Institute, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. Methods of immunocorrection based on injection of *in vitro* activated autologous leukocytes are becoming widespread. Our previous studies suggest that implementation of immunotherapy with *in vitro* activated lymphocytes using cytokines is effective for the treatment of cancer patients, and that this therapy is well tolerated. This article discusses the use of biological drugs, i.e., recombinant interferon-gamma (IFN γ) and recombinant tumor necrosis factor-alpha-thymosin-alpha-1 (TNF α -T) for the *in vitro* production of human cytokine-induced killer cells (CIK). The purpose of our study was to assess the possibility of IFN γ and TNF α -T usage within protocols for *in vitro* production of human CIK. Isolated mononuclear blood cells from 15 donors were cultured in a CO₂ incubator for 12 days and the morpho-functional characteristics of lymphocytes were studied. To assess the *in vitro* toxicity of IFN γ and TNF α -T towards lymphocytes, the drug concentrations have been adjusted experimentally, with respect to control of cell viability. The levels of cytokines in the supernatants at the stages of cell culture were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Before and after cultivation, the presence of adhesion and granularity of the studied lymphocytes was assessed, the phenotype of cultured cells was studied by flow cytometry, and the level of viability of activated lymphocytes was assessed in a haemocytometer chamber. We carried out a comparison of methods for culturing lymphocytes under different conditions. We studied culture media containing the following supplements: only IFN γ (group 1); IFN γ , interleukin-2 (IL-2) and interleukin-15 (IL-15) (group 2); TNF α -T only (group 3); TNF α -T, IL-2 and IL-15 (group 4), and only IL-2 and IL-15 (control group). When mononuclear cells are activated in a medium containing IFN γ , IL-2 and IL-15, or in a medium containing TNF α -T, IL-2 and IL-15, we observed a general trend towards significant increase in T-cytotoxic cells (CD3⁺CD8⁺), NKT cells (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), activated lymphocytes (HLA-DR⁺), activated T lymphocytes (CD3⁺HLA-DR⁺), and activation markers of all lymphocytes (CD38⁺) and on T cells (CD3⁺CD38⁺). We assessed the possibility of using IFN γ and TNF α -T to obtain human CIK *in vitro*. Activated cytotoxic lymphocytes obtained by this approach may be used for fundamental research, in order to identify new patterns and morpho-functional characteristics of activated human lymphocytes, as well as for adoptive immunotherapy for cancer patients.

Keywords: natural killer cells, culture, IFN γ , TNF α -T, IL-2, IL-15, ELISA, phenotype

Введение

Как известно, иммуномодуляторы — это биологические вещества, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы, т. е. приводят патологически измененный иммунный ответ в физиологическую норму [10, 15]. В последние годы проведено большое количество исследований по использованию иммуномодуляторов для коррекции иммунологических показателей у онкологических больных, получающих химиотерапию. Существуют данные о том, что такие препараты могут способствовать уменьшению токсичности химиопрепаратов, сокращению сроков восстановления лейкоцитов, снижению заболеваемости от вирусных инфекций, а в ряде случаев — увеличению продолжительности ремиссии. Однако применение иммуномодуляторов также ассоциируют и с возникновением побочных эффектов или серьезных осложнений, связанных с проведением лечения, а также повышением риска возникновения инфекций и рецидива перенесенных ранее заболеваний [5, 16].

Все более широкое распространение получают методы иммунокоррекции, основанные на введении в организм аутологичных лейкоцитов, активированных в условиях *in vitro* различными иммуномодуляторами: адоптивная или экстракорпоральная терапия [6, 7, 11, 18]. Ранее проведенные нами исследования дают основания говорить об эффективности лечения онкологических больных и хорошей переносимости иммунотерапии лимфоцитами, активированными *in vitro* с помощью IL-2 и IL-15. Полученные данные позволили сделать выводы о том, что адоптивная иммунотерапия является безопасным методом лечения, а у значительной части пациентов — эффективным методом сопроводительной терапии, так как она позволяет увеличить продолжительность безрецидивного периода, уменьшить количество побочных эффектов химиотерапии и улучшить результаты комплексного лечения онкологических пациентов [1, 2, 3].

Оптимизация путей введения иммуномодуляторов в организм, обеспечивающих максимальную биодоступность препаратов для клеток-мишеней и повышающих эффективность терапии при минимизировании побочных реакций, является основной задачей исследования. Указанные тенденции актуализируют необходимость изучения иммуномодуляторов в протоколах культивирования в качестве стимулятора для клеточных культур. В данной работе рассмотрено применение таких препаратов, как IFN γ и TNF α -Т (гибридная молекула рекомбинантного TNF α и тимозина-альфа-1), для активации лимфоцитов человека *in vitro*. Известно, что IFN γ и TNF α вырабатываются различными клетками иммунной

системы для регуляции комплекса межклеточных взаимодействий при иммунном ответе, а именно — индуцируют активацию киллерных свойств мононуклеаров периферической крови человека, которые при этом приобретают свойственный им фенотип. Цитотоксические Т-лимфоциты, NK-клетки, а также макрофаги и нейтрофилы, имеют рецепторы к IFN γ , поэтому он активирует эффекторные функции этих клеток, а именно: их цитотоксичность и цитокинопродукцию. В клинических исследованиях выявлена способность IFN γ снижать процент супрессорных Т-клеток (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺), ингибировать В-клеточный ответ на IL-4 (интерлейкин), подавлять продукцию IgE и экспрессию CD23-антигена. IFN γ способен отменять супрессивный эффект IL-4 на IL-2-зависимую пролиферацию и генерацию лимфокин-активированных киллеров (ЛАК). TNF α может выделяться NK-клетками периферической крови, Т-лимфоцитами и гранулоцитами. Он не оказывает цитотоксического действия на нормальные клетки, а оказывает стимулирующее влияние на цитотоксичность NK-клеток и фагоцитоз, усиливает экспрессию CD4 и CD8, являясь фактором дифференцировки Т-хелперов и Т-киллеров [7, 8, 11].

Известно, что TNF α успешно используют в протоколах получения активированных дендритных клеток совместно с GM-CSF и IL-4, IL-1 β , IL-6 или с IL-12 и IL-18 [12, 13, 14, 17]. Известно о применении IFN γ в питательной среде для культивирования макрофагов и для активации макрофагов совместно с IL-2 и анти-CD3 [4, 9]. Однако данные способы не предусматривают применение IFN γ или TNF α совместно с IL-2 и IL-15 для активации лимфоцитов *in vitro*, с последующим их применением для адоптивной иммунотерапии. В российских и зарубежных базах данных отсутствует информация о дозировках препаратов IFN γ и TNF α совместно с IL-2 и IL-15 и без них, сроках культивирования, и влияния данных препаратов на уровень активации лимфоцитов (Т-, NK- и ЦИК-клеток) в условиях *in vitro*. **Целью данного исследования** являлось изучение морфо-функциональных характеристик лимфоцитов, культивируемых с IFN γ или TNF α -Т для оценки возможности применения данной схемы активации *in vitro* для получения ЦИК-клеток человека.

Материалы и методы

Выделение и культивирование МНК

В исследование включены данные 15 доноров. Объект исследования — периферическая кровь доноров для пациентов, поступающих к нам в Центр с целью проведения адоптивной иммунотерапии (после подписания информиро-

ванного согласия). Мононуклеары (МНК) выделяли из гепаринизированной венозной крови в стерильных условиях на градиенте плотности фиколла ($\rho = 1,077$) путем центрифугирования при 2000 оборотов/мин в течение 40 мин, далее МНК дважды отмывали фосфатно-солевым буфером ($\text{pH} = 7,4$) путем центрифугирования при 1800 оборотов/мин в течение 10 мин и доводили до концентрации 1,5 млн/мл в изучаемой среде. Выделенные МНК доноров культивировали в условиях CO_2 — инкубатора в 24-луночных планшетах в концентрации клеток 1,5 млн/мл в среде на основе RPMI-1640 и 5% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) с добавлением определенных цитокинов. Концентрации препаратов $\text{IFN}\gamma$ («Ингарон», НПП «Фармаклон», Россия) и $\text{TNF}\alpha$ -Т («Рефнот», НПП «Фармаклон», Россия) выверены экспериментальным путем с учетом оценки уровня жизнеспособности культивируемых лимфоцитов ($\text{IFN}\gamma$ — 500 МЕ/мл, $\text{TNF}\alpha$ -Т — 100 МЕ/мл), концентрация IL-2 («Ронколейкин», ООО «Биотех», Россия) составляла 250 МЕ/мл, IL-15 («Активный Интерлейкин-15», Cloud-Clone Corp., США) — 5 нг/мл. Изучали и сравнивали способ культивирования лимфоцитов в среде, содержащей только $\text{IFN}\gamma$ (группа 1), содержащей $\text{IFN}\gamma$, IL-2 и IL-15 (группа 2), содержащей только $\text{TNF}\alpha$ -Т без интерлейкинов (группа 3), содержащей $\text{TNF}\alpha$ -Т, IL-2 и IL-15 (группа 4) и содержащей только IL-2 и IL-15 (группа контроля). На 3-и и 7-е сутки культивирования собирали и замораживали супернатанты для ИФА: группа 1, группа 2, группа 3, группа 4 и группа контроля и добавляли новой питательной среды в планшеты. До и после культивирования оценивали наличие адгезии и гранулярность изучаемых клеток, проводили фенотипирование и считали процент живых клеток в камере Горяева с помощью 0,4%-ного раствора трипанового синего (ООО «Биотех», Россия), пересчитывали в процентном соотношении долю окрашенных (мертвых) к общему количеству клеток.

Проточная цитометрия

Фенотипирование флуоресцентно меченых клеток проводили на цитофлуориметре FACScanto II (Becton Dickinson, США). Оценивали субпопуляционный состав Т-, НК-, НКТ-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD45, CD56) и маркеры активации на них (CD25, CD38 и HLA-DR). Субпопуляционный состав клеточной суспензии определяли до и после культивирования — на 12-е сутки.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

В супернатантах, полученных на этапах культивирования на 3-и и 7-е сутки, для определения функциональной активности клеток измеряли концентрации цитокинов: IL-2, IL-4, IL-6,

IL-10, $\text{IFN}\gamma$ и $\text{TNF}\alpha$. ИФА проводили с помощью наборов реагентов АО «Вектор Бест» (Россия) по инструкции фирмы-производителя. Оптическую плотность образцов измеряли на фотометре ChroMate (Awareness Technology, США) в двухволновом режиме: основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр — 620 нм.

Статистика

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2007. Результаты представлены в виде среднего арифметического значения по группе (М) или среднее $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Работа выполнялась в рамках темы Государственного задания Центра: «Экспериментальная разработка и клиническая апробация подходов и схем для иммунной и клеточной терапии при комбинированном лечении онкологических заболеваний».

Результаты

Проведен сравнительный анализ культивирования лимфоцитов в различных средах. Группа 1 — применялась среда только с препаратом $\text{IFN}\gamma$, без интерлейкинов; группа 2 — $\text{IFN}\gamma$ и интерлейкины: IL-2 и IL-15; группа 3 — только $\text{TNF}\alpha$ -Т без интерлейкинов; группа 4 — $\text{TNF}\alpha$ -Т и интерлейкины: IL-2 и IL-15; группа контроля — только IL-2 и IL-15, без $\text{IFN}\gamma$ или $\text{TNF}\alpha$ -Т.

Жизнеспособность и морфология клеток

Жизнеспособность выделенных лимфоцитов до культивирования составляла $99,7 \pm 0,3\%$ и постепенно снижалась во всех группах с каждым последующим днем активации ($p < 0,05$).

Следует отметить, что при использовании сочетания препаратов $\text{IFN}\gamma$ или $\text{TNF}\alpha$ -Т с цитокинами IL-2 и IL-15 отмечался более высокий уровень жизнеспособности клеток ($p < 0,05$), чем без цитокинов (табл. 1). В группе контроля и группах 2 и 4 — клетки достаточно хорошо пролиферировали — количество клеток увеличивалось в 1,5-2 раза, чего не наблюдалось в группах 1 и 3, вероятно, из-за присутствия в среде IL-2 и IL-15, способствующих данному процессу.

При ежедневной оценке морфологии лимфоцитов доноров в культуре было замечено формирование скоплений клеток в процессе роста, и адгезия некоторых лимфоцитов к поверхности культурального пластика, так, в группах 1 и 3 — с 1-х суток культивирования, а в группах 2, 4 и контрольной — с 3-х суток. Известно, что адгезивными свойствами могут обладать В-лимфоциты и в меньшей степени — Т- и НК-клетки во время

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ СОСТАВА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СУТОК КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

TABLE 1. EFFECT OF THE COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM ON THE VIABILITY OF LYMPHOCYTES DEPENDING ON THE DAY OF CULTIVATION

Сутки культивирования Cultivation day	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
0-е сутки 0 th day	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3	99,7±0,3
3-и сутки 3 rd day	95,7±1,9*	97,4±2,2	93,8±1,6**	97,8±2,4	99,2±0,4***
7-е сутки 7 th day	89,4±2,6*	93,6±3,4	86,2±5,3**	94,7±6,1	97,4±0,9***
12-е сутки 12 th day	77,1±6,0*	91,4±5,7	70,4±10,4**	89,4±7,8	93,5±1,7***

Примечание. Различия статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 1 (*), групп 4 и 3 (**), групп 2 и 4 с группой контроля (***).

Note. The differences are statistically significant at $p < 0,05$ when comparing groups 2 and 1 (*), groups 4 and 3 (**), groups 2 and 4 with the control group (***).

активации. В группах 1 и 3 клетки становились более гранулярными после 3-х суток и сохраняли адгезивные свойства с 1-х суток до окончания наблюдения (до 12 суток). В контрольной группе лимфоциты начинали отпадать от поверхности пластика после 10-х суток наблюдения, в группе 2 — после 7-х суток, а в группе 4 — после 3-х суток. Переход клеток в суспензию может означать окончание процесса их активации. Отмечено, что клетки групп 2, 4 и группы контроля постепенно начинали пролиферировать, в отличие от групп 1 и 3 соответственно, и менять форму с круглой на продолговатую и неровную, увеличиваться в размерах и сохраняли морфологию больших гранулярных лимфоцитов на протяжении всего периода наблюдения.

Проточная цитометрия

При изучении фенотипа клеток после культивирования на 12-е сутки, относительно клеток до активации, отмечается общая тенденция во всех группах к существенному увеличению показателей Т-клеток ($CD3^+CD45^+$), NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$), активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$) и Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$). В группах 1 и 3 замечен рост показателей Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) в среднем на 11,9% и 13,7%, в то время как в группах 2, 4 и контрольной группе значительного роста не наблюдалось, что подтверждает предварительно полученные данные. Однако в группах 2, 4 и контрольной группе замечен существенный рост показателей Т-цитотоксических клеток ($CD3^+CD8^+$) в сред-

нем на 11,2%, 11,0% и на 11% соответственно ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция наблюдается и для NKT-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$), активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$), активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$), маркеров активации на всех лимфоцитах ($CD38^+$) и на Т-клетках ($CD3^+CD38^+$), что указывает на эффективность применения препаратов $IFN\gamma$ или $TNF\alpha$ -Т совместно с IL-2 и IL-15 для активации клеток *in vitro*. Сравнивая показатели группы 1 с группой 2 и группы 3 с группой 4, можно отметить существенное увеличение активированных лимфоцитов ($HLA-DR^+$) в 2,1 раза (на 19,3%) и в 2,4 раза (на 22,3%) соответственно ($p < 0,05$), активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$) в 2,8 раза (на 22,2% и на 22,0% соответственно) ($p < 0,05$), маркеров активации на всех лимфоцитах ($CD38^+$) в 2,8 раза (на 37,4%) и в 2,4 раза (на 30,0%), на Т-клетках ($CD3^+CD38^+$) в 5,0 раза (на 42,7%) и в 3,5 раза (на 31,4%) соответственно.

ИФА (3-и сутки)

Следует отметить, что уровень всех изучаемых цитокинов в группах 1 и 3 был невысоким на 3-и сутки культивирования. При сравнении группы 1 с группой 2 на 3-и сутки культивирования наблюдается значительное повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-6, IL-10, $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ в среде, содержащей $IFN\gamma$, IL-2 и IL-15, чем в среде, содержащей только $IFN\gamma$ (табл. 2). Учитывая, что основными продуцентами указанных цитокинов являются цитотоксические Т-лимфоциты, NKT- и NK-клетки, подтверждает факт имен-

но их активации. Содержание IL-2 в группе 2 было выше, чем в группе 1 в среднем в 7,5 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 20,3 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 14,1 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 10,0 раза ($p < 0,05$); TNF α в 21,4 раза ($p < 0,05$). Уровень IL-4 на 3-и сутки был невысоким и примерно одинаковым во всех группах. Сравнив группу 3 с группой 4, заметили значительное повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-6, IL-10 и IFN γ в среде, содержащей TNF α -Т, IL-2 и IL-15, чем в среде содержащей только TNF α -Т. Содержание IL-2 в группе 4 было выше, чем в группе 3, в среднем в 9,7 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 5,1 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 11,3 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 102,2 раза ($p < 0,05$).

При сравнении группы 2 и 4 с группой контроля можно отметить, что уровень IL-2, IL-4, IL-6 был примерно одинаковым. Уровень IL-10 во 2-й группе был несколько выше, чем в контрольной на 13,2%, а в 4-й группе — на 9,4%. Уровень IFN γ во 2-й группе был значительно выше, чем в контрольной — в 2,2 раза ($p < 0,05$), а в 4-й группе —

на 26,8%. Уровень TNF α во 2-й группе был выше, чем в контрольной на 71,3%, а в 4-й группе — на 53,2% (табл. 2).

ИФА (7-е сутки). При сравнении группы 1 с группой 2 на 7-е сутки культивирования наблюдается повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN γ , TNF α в среде, содержащей IFN γ , IL-2 и IL-15, чем в среде, содержащей только IFN γ (табл. 3). Содержание IL-2 в группе 2 было выше, чем в группе 1 в среднем в 18,9 раза ($p < 0,05$); IL-4 в 3,3 раза; IL-6 в 4,7 раза ($p < 0,05$); IL-10 в 5,7 раза; IFN γ в 11,9 раза ($p < 0,05$); TNF α в 4,6 раза ($p < 0,05$). Сравнив группу 3 с группой 4, можно отметить значительное повышение концентраций цитокинов IL-2, IL-6 и IFN γ в среде, содержащей TNF α -Т, IL-2 и IL-15, чем в среде, содержащей только TNF α -Т. Содержание IL-2 в группе 4 было значительно выше, чем в группе 3 — в среднем в 29,4 раза ($p < 0,05$); IFN γ в 21,5 раза ($p < 0,05$); IL-6 в 4,5 раза ($p < 0,05$); IL-4,

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИФА СУПЕРНАТАНТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПО ГРУППАМ НА 3-И СУТКИ

TABLE 2. RESULTS OF ELISA OF SUPERNATANTS AFTER CULTURING LYMPHOCYTES BY GROUP ON THE 3RD DAY

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
IL-2	38,2*	287,2	30,7**	289,3	284,0
IL-4	1,5	1,7	1,5	1,5	1,7
IL-6	2,2*	44,7	8,8**	45,2	41,7
IL-10	15,2*	213,7	18,3**	206,5	188,7
IFN γ	120,8*	1203,2	6,8**	694,8	549,5
TNF α	7,8*	166,7	141,8	147,5	96,3

Примечание. Различия статистически значимы при $p < 0,05$ при сравнении групп 2 и 1 (*), групп 4 и 3 (**).

Note. The differences are statistically significant at $p < 0.05$ when comparing groups 2 and 1 (*), groups 4 and 3 (**).

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИФА СУПЕРНАТАНТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ПО ГРУППАМ НА 7-Е СУТКИ

TABLE 3. RESULTS OF ELISA OF SUPERNATANTS AFTER CULTURING LYMPHOCYTES BY GROUP ON THE 7TH DAY

	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа контроля Control group
IL-2	16,8*	317,5	10,2**	299,5	294,7
IL-4	2,0	6,5	1,8**	3,8	6,0
IL-6	7,5*	35,0	7,7**	34,3	32,5
IL-10	57,0	325,7	115,3	189,7	212,0
IFN γ	72,7*	867,7	30,3**	650,8	661,3
TNF α	31,2*	143,3	135,3	155,0	118,5

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

IL-10 и TNF α — незначительно — в 2,1 раза, в 1,6 раза и в 1,1 раза соответственно.

При сравнении группы 2 с группой контроля на 7-е сутки можно отметить, что уровень IL-10, IFN γ и TNF α во 2-й группе был значительно выше, чем в контрольной группе на 53,6%, 31,2% и на 20,9% соответственно. Уровень IL-2, IL-4 и IL-6 был несколько выше контрольных значений, но не более чем на 8,3%. Полученные данные указывают на эффективность применения полной питательной среды, содержащей IFN γ совместного с IL-2 и IL-15, в протоколах культивирования до 7 суток. При сравнении группы 4 с группой контроля уровень TNF α был выше на 30,8%. Уровень IL-2, IL-6 и IL-4 был незначительно выше, чем в группе контроля, но не более чем на 5,5%. А уровень IL-10 и IFN γ был несколько ниже: на 36,7%, на 10,5%, и на 1,6% соответственно. Таким образом, цитокинопродуцирующая способность клеток в данной схеме культивирования снижается к 7-м суткам (табл. 3).

ИФА (сравнительная характеристика)

Сравнивая уровень всех изучаемых цитокинов в группах 1 и 3, продуцируемых на 3-и и 7-е сутки, можно отметить, что к 7-м суткам несколько увеличивается рост IL-10 относительно 3-х суток. Увеличение концентраций IL-10 в образцах, вероятно, способствовало ингибированию индукции секреции воспалительных цитокинов TNF α и IFN γ в некоторых образцах, что свойственно для IL-10, а также привело к снижению экспрессии цитокинов Т-хелперами-1. Так, в 1-й группе уровень IL-10 вырос в 4,8 раза, TNF α — в 4 раза, а уровень IL-2 при этом снизился в 2,3 раза, IFN γ — в 1,7 раза, уровень IL-4 и IL-6 существенно не изменился. В группе 3 уровень IL-10 вырос в 6,3 раза, IFN γ — в 4,5 раза, а уровень IL-2 при этом снизился в 3,0 раза, уровень IL-4 и IL-6 и TNF α существенно не изменился. Полученные результаты значительно хуже, чем в группах 2, 4 и группе контроля, что также сопоставимо с худшими показателями по уровню жизнеспособности в сравнении с данными группами.

В группе контроля на 7-е сутки продолжается рост уровня цитокинов: IL-2, IL-4, IL-10, IFN γ и TNF α в супернатантах, что свойственно активированным клеткам в данной схеме культивирования. В группе 2 и 4 на 7-е сутки несколько увеличивается уровень IL-2 на 10,6% и 3,5% соответственно. Однако в группе 2 на 7-е сутки начинает снижаться уровень IL-6, IFN γ , TNF α , но остается выше контрольных значений, что позволяет сделать вывод о возможности применения данной схемы совместного использования IFN γ с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования до 7 суток. В группе 4 на 7-е сутки начинает снижаться уровень IL-6, IL-10, IFN γ , причем

концентрации IL-10 и IFN γ уже несколько ниже контрольных значений (табл. 3, 4). Полученные данные указывают на малую эффективность применения полной питательной среды, содержащей TNF α -Т совместно с IL-2 и IL-15, в протоколах культивирования более 3 суток, так как клетки начинают терять свою способность к продукции цитокинов.

Обсуждение

В данной работе проведена оценка морфологии, уровня жизнеспособности, фенотипа и цитокинопродуцирующей способности лимфоцитов доноров до активации и на этапах культивирования в среде, содержащей IL-2, IL-15, IFN γ , TNF α . Следует отметить, что при применении препарата IFN γ или TNF α -Т в сочетании с цитокинами IL-2 и IL-15 в культуре отмечался более высокий уровень жизнеспособности клеток, чем без цитокинов, особенно к 12-м суткам культивирования, уровень пролиферации клеток также был выше в 1,5–2 раза [1–3]. Отмечается общая тенденция к значительному увеличению показателей Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), активированных лимфоцитов (HLA-DR⁺), активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺), и маркеров активации на всех лимфоцитах (CD38⁺) и на Т-клетках (CD3⁺CD38⁺). ИФА показал, что продукция цитокинов лимфоцитами доноров, которые культивировали только в присутствии IFN γ или TNF α , была значительно ниже, чем при совместном культивировании с IL-2 и IL-15, что также сопоставимо с худшими показателями по уровню жизнеспособности и пролиферации клеток. Показано, что при совместном использовании IFN γ с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования к 7-м суткам в супернатантах начинает снижаться уровень IL-6, IFN γ , TNF α , но остается выше контрольных значений. При совместном использовании TNF α -Т с IL-2 и IL-15 в протоколах культивирования после 3-х суток начинает снижаться уровень IL-6, IL-10, IFN γ , причем концентрации IL-10 и IFN γ уже несколько ниже контрольных значений. Полученные данные позволили установить оптимальные сроки культивирования для получения активированных лимфоцитов доноров.

Заключение

Оценена возможность применения препаратов IFN γ и TNF α -Т в протоколах получения активированных лимфоцитов доноров в условиях *in vitro*. Препараты IFN γ или TNF α -Т можно рекомендовать только в сочетании с цитокинами IL-2 и IL-15, причем данные схемы эффектив-

нее, чем при применении только ИЛ-2 и ИЛ-15 для получения активированных лимфоцитов в более короткий срок [1, 2, 3]. При этом питательную среду необходимо дополнять препаратами в следующих концентрациях: IFN γ – 500 МЕ/мл, TNF α -Т – 100 МЕ/мл, ИЛ-2 – 250 МЕ/мл и ИЛ-15 – 5 нг/мл, сроки культивирования при этом должны составлять до 7 суток с препаратом IFN γ , с

TNF α -Т – до 3 суток. Полученные данным способом активированные цитотоксические лимфоциты могут применяться для фундаментальных исследований по выявлению новых закономерностей и морфо-функциональных особенностей активированных лимфоцитов человека, а также для проведения адоптивной иммунотерапии онкологическим больным.

Список литературы / References

1. Абакушина Е.В., Гельм Ю.В., Пасова И.А., Бажин А.В. Иммунотерапевтические подходы к лечению больных колоректальным раком // Биохимия, 2019. Т. 84, № 7. С. 923-933. [Abakushina E.V., Gelm Yu.V., Pasova I.A., Bazhin A.V. Immunotherapeutic approaches for the treatment of colorectal cancer. *Biokhimiya* = *Biochemistry*, 2019, Vol. 84, no. 7, pp. 720-728. (In Russ.)]
2. Гельм Ю.В., Абакушина Е.В., Пасова И.А., Гривцова Л.Ю. Разработка подходов к клеточной иммунотерапии онкологических больных // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 2. С. 381-388. [Gelm Yu.V., Abakushina E.V., Pasova I.A., Grivtsova L.Yu. Development of approaches for cellular immunotherapy of cancer patients. *Meditsinskaya immunologiya* = *Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 2, pp. 381-388. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-DOA-2135.
3. Гельм Ю.В., Кузьмина Е.Г., Абакушина Е.В. Функциональная активность лимфоцитов здоровых доноров и онкологических больных при культивировании в присутствии ИЛ-2 и ИЛ-15 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2019. Т. 167, № 4. С. 471-477. [Gel'm Yu.V., Kuz'mina E.G., Abakushina E.V. Functional activity of lymphocytes of healthy donors and cancer patients after culturing with IL-2 and IL-15. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny* = *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019, Vol. 167, no. 4, pp. 486-491. (In Russ.)]
4. Горчаков А.А., Кулемзин С.В., Чикаев А.Н., Таранин А.В. НК-клеточная линия, экспрессирующая PSMA-специфический химерный антигенный рецептор и секретирующая блокатор взаимодействия CD47/SIRP α . Патент RU 2757353 C1, 12.10.2020. [Gorchakov A.A., Kulemzin S.V., Chikaev A.N., Taranin A.V. NK cell line expressing PSMA-specific chimeric antigen receptor and secreting a blocker of the CD47/SIRP α interaction. Patent RU C1 2757353, 12.10.2020].
5. Земсков В.М., Земсков А.М., Нейманн В.В., Пронько К.Н., Земскова В.А., Демидова В.С. Противоречия клинической иммунологии. Полезные и вредные свойства иммунотерапии // Успехи современной биологии, 2021. Т. 141, № 3. С. 258-264. [Zemskov V.M., Zemskov A.M., Neymann V.V., Pronko K.N., Zemskova V.A., Demidova V.S. Contradictions to Clinical Immunology. Useful and Harmful Immunotherapy Properties. *Uspekhi sovremennoy biologii* = *Advances in Modern Biology*, 2021, Vol. 141, no. 3, pp. 258-264. (In Russ.)]
6. Лежнин Ю.Н., Христинченко А.Ю., Ратникова Н.М. Клеточная иммунотерапия – современный подход к лечению онкологических заболеваний // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 3. С. 313-340. [Lezhnin Yu.N., Khristichenko A.Yu., Ratnikova N.M. Cellular immunotherapy: a modern approach to treatment of oncological diseases. *Meditsinskaya immunologiya* = *Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 3, pp. 313-340. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-3-313-340.
7. Ниёзова Ш.Х. Экстракорпоральные методы иммунокоррекции при лечении злокачественных новообразований // Вестник науки и образования, 2019. № 17. С. 83-91. [Niyozova Sh.Kh. Extracorporeal immunocorrection methods in the treatment of malignant neoplasms. *Vestnik nauki i obrazovaniya* = *Bulletin of Science and Education*, 2019, no. 17, pp. 83-91. (In Russ.)]
8. Методические рекомендации по применению препаратов Рефнот и Ингарон. НПП Фармаклон. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.pharmaclon.ru/publikatsii/onkologiya/metodicheskie-rekomendatsii-po-primeneniyu-preparatov-refnot-i-ingaron/> (дата обращения: 14.03.2024). [Guidelines for the use of the drugs Refnot and Ingaron. Research and production enterprise Pharmaklon. [Electronic resource]. Available at: <http://www.pharmaclon.ru/publikatsii/onkologiya/metodicheskie-rekomendatsii-po-primeneniyu-preparatov-refnot-i-ingaron/> (access date: March 14, 2024)].
9. Парк С.В., Сон Й.О., Сон Ч.Х., Парк Й.С., Бан Д.Х., Ли К.-Г., Дзанг Д.С., Канг Ч.Д., Ким В.-С., Ан К.Ч., Ли Б.Ч., Ким Д.И., Парк Е.К., Чой С.Х. Способ производства активированных лимфоцитов для иммунотерапии. Заявка 2009110156, 27.09.2010. [Park S.W., Song Y.O., Song C.H., Park Y.S., Ban D.H., Lee K.-G., Dzang D.S., Kang C.D., Kim V.-S., Ahn K.Ch., Lee B.Ch., Kim D.I., Park E.K., Choi S.H. Method of production of activated lymphocytes for immunotherapy. Application 2009110156. 27.09.2010].
10. Пинегин Б.В., Хаитов Р.М. Современные принципы создания иммунотропных лекарственных препаратов // Иммунология, 2019. Т. 40, № 6. С. 57–62. [Pinegin B.V., Khaitov R.M. Modern principles of immunotropic drugs creation. *Immunologiya* = *Immunology*, 2019, Vol. 40, no. 6, pp. 57-62. (In Russ.)]
11. Селедцов В.И., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П. Иммунотерапия в комплексном лечении опухолевых заболеваний // Сибирский онкологический журнал, 2022. Т. 21, № 2. С. 118-129. [Seledtsov V.I.,

Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P. Immunotherapy in the complex treatment of tumor diseases. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2022, Vol. 21, no. 2, pp. 118-129. (In Russ.)]

12. Сенников С.В., Курилин В.В., Облеухова И.А., Лопатникова Ю.А., Якушенко Е.В., Якушенко В.К. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с противоопухолевой активностью. Патент RU 2458985 C1, 18.03.2011. [Sennikov S.V., Kurilin V.V., Obleukhova I.A., Lopatnikova Yu.A., Yakushenko E.V., Yakushenko V.K. Method for generating antigen-specific cytotoxic cells with antitumor activity. Patent RU 2458985 C1, 18.03.2011].

13. Сенников С.В., Облеухова И.А., Курилин В.В., Красильников С.Э., Тархов А.В., Гончаров М.А. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с активностью против клеток рака яичника. Патент RU 2508298 C2, 03.02.2012. [Sennikov S.V., Obleukhova I.A., Kurilin V.V., Krasilnikov S.E., Tarkhov A.V., Goncharov M.A. Method for generating antigen-specific cytotoxic cells with activity against ovarian cancer cells. Patent RU 2508298 C2, 03.02.2012].

14. Сенников С.В., Шевченко Ю.А., Хантакова Ю.Н., Курилин В.В., Лопатникова Ю.А., Сидоров С.В., Волгушев С.А., Оглоблин В.П., Ефимова Л.В., Теплова Н.В. Способ генерации антиген-специфических цитотоксических клеток с противоопухолевой активностью при раке молочной железы. Патент RU 2521506 C1, 01.04.2013. [Sennikov S.V., Shevchenko Yu.A., Khantakova Yu.N., Kurilin V.V., Lopatnikova Yu.A., Sidorov S.V., Volgushev S.A., Ogloblin V.P., Efimova L.V., Teplova N.V. A method for generating antigen-specific cytotoxic cells with antitumor activity in breast cancer. Patent RU 2521506 C1, 01.04.2013].

15. Хаитов Р.М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность // Иммунология, 2020. Т. 41, № 2. С. 101-106. [Khaitov R.M. Immunomodulators: myths and reality. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 2, pp. 101-106. (In Russ.)]

16. Цой О.Г., Макишев А.К., Цой Н.О., Рутжанулы И.Р. Иммуномодуляторы химио и лучевой терапии // Медицинский журнал Астаны, 2019. № 3. С. 60-70. [Tsoi O., Makishev A., Tsoi N., Rutzhanuly I. Immunomodulators with chemistry and radiotherapy. *Meditsinskiy zhurnal Astany = Medical Journal of Astana*, 2019, no. 3, pp. 60-70. (In Russ.)]

17. Черных Е.Р., Олейник Е.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Старостина Н.М., Останин А.А. Индукция HCV-специфического клеточного ответа *in vitro* дендритными клетками, генерированными в присутствии интерферона-α // Инфекция и иммунитет, 2019. Т. 9, № 1. С. 76-86. [Chernykh E.R., Oleynik E.A., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Starostina N.M., Ostanin A.A. Induction of HCV-specific cell response *in vitro* by dendritic cells generated with interferon-α. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 76-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-76-86.

18. Lee D.A. Cellular therapy: Adoptive immunotherapy with expanded natural killer cells. *Immunol. Rev.*, 2019, Vol. 290, Iss. 1, pp. 85-99.

Авторы:

Гельм Ю.В. — научный сотрудник отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Гривцова Л.Ю. — д.б.н., заведующая отделением клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Пасова И.А. — врач — аллерголог-иммунолог отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Константинова Т.В. — биолог отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Authors:

Gelm Yu.V., Research Associate, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Gritsova L. Yu., PhD, MD (Biology), Head, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Pasova I.A., Allergologist-Immunologist, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Konstantinova T.V., Biologist, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Мушкарина Т.Ю. — научный сотрудник отделения клинической иммунологии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск, Россия

Иванов С.А. — д.м.н., член-корр. РАН, директор Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба — филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики имени В.П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Каприн А.Д. — д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск; заведующий кафедрой онкологии и рентгенодиагностики имени В.П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва; директор Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена — филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Mushkarina T.Yu., Research Associate, Department of Clinical Immunology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk, Russian Federation

Ivanov S.A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Obninsk; Professor, V. Kharchenko Department of Oncology and Radiology, P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Kaprin A.D., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, General Director, National Medical Research Radiological Center of the Russian Federation, Obninsk; Director, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute, a Branch of National Medical Research Radiological Centre of the Russian Federation, Moscow; Head, V. Kharchenko Department of Oncology and Radiology, P. Lumumba Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Поступила 11.07.2024
Отправлена на доработку 16.07.2024
Принята к печати 14.09.2024

Received 11.07.2024
Revision received 16.07.2024
Accepted 14.09.2024