ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 602.68:612.112.94:577.27
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-4-303-313

Поступила в редакцию 14.06.2026
Received 14.06.206

Т. В. Шман[1, 2], Е. П. Вашкевич[1], Ю. В. Лебедева[1], А. С. Мухаметшина[1], А. В. Клыч[1], Д. В. Луцкович[1], Е. А. Ласюков[1]

[1]Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Минский район, Республика Беларусь
[2]Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК И ПОЛУЧЕНИЕ АНТИ-BCMA CAR EK КЛЕТОК

Аннотация. В работе представлены результаты оптимизации протокола создания CAR естественных киллерных (CAR EK) клеток человека методом лентивирусной трансдукции. Наибольшую эффективность генетической модификации EK клеток обеспечили BaEV-псевдотипированные частицы, при этом выбор режима доставки вектора (двукратная спинокуляция или суспензия с вектофузином) достоверно не влиял на результат. Полученные анти-BCMA CAR EK клетки позволили увеличить гибель BCMA-позитивных опухолевых мишеней на 20–28 % по сравнению с контролем. Полученные результаты перспективны для создания безопасных, эффективных аллогенных препаратов на основе CAR EK клеток для иммунотерапии рака.

Ключевые слова: естественные киллерные (EK) клетки, лентивирусная трансдукция, BCMA, CAR EK

Для цитирования: Генетическая модификация естественных киллерных клеток и получение анти-BCMA CAR EK клеток / Т. В. Шман, Е. П. Вашкевич, Ю. В. Лебедева [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 4. – С. 303–313. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-4-303-313

Tatsiana V. Shman[1, 2], Katsiaryna P. Vashkevich[1], Yuliya V. Lebedeva[1], Anastasia S. Muhametshina[1], Hanna V. Klych[1], Dzmitry V. Lutskovich[1], Eugeniy A. Lasyukov[1]

[1]Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus
[2]Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

GENETIC MODIFICATION OF NATURAL KILLER CELLS AND GENERATION OF ANTI-BCMA CAR NK CELLS

Abstract. This study describes the optimization of a protocol for generating via human chimeric antigen receptor (CAR) natural killer (NK) cells by lentiviral transduction. BaEV-pseudotyped particles yielded the highest genetic modification efficiency in NK cells, whereas the vector delivery mode (double spinoculation or suspension with Vectofusin) did not significantly affect the results. Anti-BCMA CAR NK cells demonstrated a 20–28 % increase in the lysis of BCMA-positive tumor targets compared with the control. These findings hold promise for the development of safe and effective allogeneic CAR NK cell-based products for cancer immunotherapy.

Keywords: natural killer (NK) cells, lentiviral transduction, BCMA, CAR NK

For citation: Shman T. V., Vashkevich K. P., Lebedeva Yu. V., Muhametshina A. S., Klych H. V., Lutskovich D. V., Lasyukov E. A. Genetic modification of natural killer cells and generation of anti-BCMA CAR NK cells. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 4, pp. 303–313 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-4-303-313

Введение. Естественные киллерные (EK) клетки относятся к группе клеток врожденного иммунитета, основной функцией которых является защита организма от вирусов и опухолевой трансформации. К настоящему времени накоплены положительные клинические результаты применения иммунотерапии аллогенными EK клетками при лечении острого миелоидного лейкоза в первой линии терапии [1–3], при рецидивах острых лейкозов [4, 5], после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток [6, 7]. Также показана возможность использования аутологичных EK клеток для противоопухолевой терапии миеломной болезни [8] и неходжкинских лимфом [9]. EK клеточная иммунотерапия используется также при лечении пациентов с солидными опухолями: рак яичников [10], молочной железы [11], рак желудка и кишечника [12], рак лёгких [13] и др. Ни в одном из проведенных исследований не было описано

развития жизнеугрожающих состояний и серьезных побочных явлений, связанных с введением ЕК клеток.

Преимуществами использования ЕК клеток в онкологии являются их врожденная высокая противоопухолевая активность, а также безопасность для пациента даже при использовании аллогенных ЕК клеток. Использование генетически модифицированных ЕК клеток, нацеленных на опухолевые антигены, является перспективным направлением их применения в терапии онкологических заболеваний [14].

Беспрецедентная эффективность терапии рефрактерных/рецидивирующих В-клеточных лейкозов и лимфом с применением анти-CD19 CAR Т-клеток, а также терапии множественной миеломы с использованием анти-BCMA CAR Т-клеток вызвала бурный рост количества исследований и клинических испытаний в данном направлении [15, 16]. Однако высокая эффективность CAR Т-клеток зачастую сопровождается токсичностью терапии. К таким неблагоприятным явлениям относят синдром высвобождения цитокинов (CRS), нейротоксичность (ICANS), гематологическую токсичность (ICAHT) и др. [17].

CAR ЕК в отличие от CAR Т-клеток не обладают токсичностью и могут быть получены и использованы от аллогенного донора, что позволяет создать банк CAR ЕК клеток для их клинического применения (off the shelf) [18]. Наличие такого банка значительно сокращает промежуток времени между возникновением необходимости использования клеточной терапии для пациента и ее проведением, что увеличивает шансы последнего на выживание.

Однако активное использование генетически модифицированных ЕК клеток ограничено методологическими трудностями доставки генетического материала. Резистентность ЕК клеток к трансдукции объясняется активацией TLR3, RIG-I и MDA-5 рецепторов в результате взаимодействия с РНК ретро- и лентивирусов, что индуцирует гибель клеток [19, 20]. Таким образом, проблемы с генетической модификацией первичных ЕК клеток остаются актуальными.

Цель работы – проанализировать эффективность модификации ЕК клеток человека *in vitro* методом лентивирусной трансдукции с использованием различных вариантов псевдотипированных лентивирусных частиц и условий трансдукции, получить образцы анти-BCMA CAR ЕК клеток и оценить их функциональную активность.

Материалы и методы исследования. *Используемые клетки и клеточные линии.* Мононуклеарные клетки, выделенные из периферической крови здоровых доноров (n = 10). HEK293T (ATCC CRL-3216) – клеточная линия эмбриональной почки человека. THP-1 (ATCC TIB-202) – лейкемическая клеточная линия, изолированная из периферической крови пациента с острым моноцитарным лейкозом. THP-1/BCMA+ – лейкемическая клеточная линия, полученная из исходной линии THP-1 путем лентивирусной трансдукции для эктопической экспрессии белка BCMA в лаборатории генетических биотехнологий Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Получение ЕК клеток. ЕК клетки получали путем экспансии мононуклеарных клеток доноров *ex vivo* в присутствии генно-инженерной фидерной клеточной линии K-562, экспрессирующей 4-1BBL и мембраносвязанный вариант ИЛ-21 (K-562-4-1BBL-мИЛ-21) [21]. Содержание ЕК клеток в образцах определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител по наличию экспрессии CD56 и отсутствию CD3. Сбор и анализ данных иммунофенотипирования проводили на аппарате DxFLEX (Beckman Coulter, США).

Получение рекомбинантных псевдотипированных лентивирусных частиц. Сборку лентивирусных частиц проводили с применением транзиторной котрансфекции пакующей клеточной линии HEK293T. В качестве трансфер-вектора использовали основу плазмиды pWPXL, в составе которой закодирован флуоресцентный белок eGFP (для исследования условий проведения трансдукции) либо анти-BCMA CAR рецептор (для получения анти-BCMA CAR ЕК клеток). В качестве пакующего плазмидного вектора использовали psPAX2, в качестве вектора оболочки – pMD2.G (VSV-G-псевдотипированные) или pBaEV (BaEV-псевдотипированные). Сбор вирусных частиц проводили через 48 ч после трансфекции, после чего вирус концентрировали методом осаждения. Функциональный титр лентивирусных частиц (количество трансдуцирующих единиц, TU/мл) определяли путем трансдукции клеток HEK293T методом серийных разведений [22].

Условия генетической модификации ЕК клеток. Исследовали три варианта проведения трансдукции: двойная спинокуляция (осаждение одной части вируса, после чего ЕК клетки смешива-

ли со второй частью вируса и проводили второе осаждение); однократная спинокуляция (клетки смешивали с вирусом и осаждали); суспензионный вариант (клетки смешивали с вирусом с добавлением вектофузина). Спинокуляцию проводили при 800 g в течение 90 мин при температуре +32 °C в плоскодонных 96-луночных планшетах в лунках, предварительно покрытых ретронектином. Тестировали два варианта лентивирусных частиц: VSV-G **(**Vesicular stomatitis virus type-G) и BaEV (Baboon envelope) псевдотипированные, а также различную множественность инфекции (MOI). Количество полученных генетически модифицированных клеток оценивали по экспрессии eGFP в ЕК клетках через 72 ч после трансдукции методом проточной цитофлуориметрии на аппарате DxFLEX.

Получение анти-BCMA CAR ЕК клеток. Вирусные частицы добавляли к ЕК клеткам в количестве, необходимом для достижения желаемой MOI. Трансдукцию проводили путем однократной спинокуляции с добавлением 10 мкг/мл вектофузина (Miltenyi Biotec, Германия). Затем клетки помещали в CO_2-инкубатор на 72 ч, после чего анализировали количество трансдуцированных ЕК клеток. Для этого образец клеток окрашивали антителами к CD3, CD56, а также флуоресцентно меченным BCMA-белком. Анти-BCMA CAR ЕК клетки выявляли по связыванию клетками BCMA-белка, меченного Alexa Fluor488 (R&D Systems, США) методом проточной цитофлуориметрии на аппарате DxFLEX.

Цитотоксический тест. В качестве клеток-мишеней для оценки функциональной активности CAR ЕК использовали клетки линий THP-1 и THP-1/BCMA+, окрашенные CellTrace Violet (ThermoFisher, США). В качестве клеток-эффекторов применяли экспансированные *in vitro* немодифицированные ЕК клетки и генетически модифицированные CAR ЕК клетки. Соотношение эффектор : мишень составило 1 : 1, 2 : 1, 5 : 1 и 10 : 1. Цитотоксический тест проводили в диапазоне от 1 до 24 ч. По окончании реакции в клеточную взвесь добавляли витальный краситель 7-AAD (Sigma Aldrich, США). Результаты измеряли на проточном цитофлуориметре DxFLEX. Клетки-мишени выделяли по флуоресценции CellTrace Violet, количество погибших клеток определяли по окрашиванию 7-AAD.

Специфический лизис (%) вычисляли по формуле:

$$\frac{\%\ \text{7-AAD} + \text{клеток}_{\text{опыт.}} - \%\ \text{7-AAD} + \text{клеток}_{\text{спонт.}}}{100\ \% - \%\ \text{7-AAD} + \text{клеток}_{\text{спонт.}}} \cdot 100\ \%,$$

где % 7-AAD+ клеток$_{\text{опыт.}}$ – процент лизированных клеток в опытных образцах при совместном культивировании мишеней и ЕК клеток, % 7-AAD + клеток$_{\text{спонт.}}$ – спонтанный лизис клеток-мишеней.

Статистический анализ. Результаты представлены в виде индивидуальных значений, а также средних значений ± ошибка среднего. Анализ и представление данных проводили с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. *Оптимизация условий получения генетически модифицированных ЕК клеток.* Ретровирусные векторы являются главным инструментом для получения генетически модифицированных клеток и широко применяются в различных областях клеточной инженерии. Ретровирусные векторы включают простые ретровирусы (альфа-, бета-, гамма-ретровирусы) и сложные ретровирусы (лентивирусы). Простые ретровирусы были первыми векторами, используемыми для трансдукции ЕК клеток, но с умеренной или вариабельной эффективностью [23]. Для встраивания в геном простые ретровирусы нуждаются в активно делящихся клетках, поэтому в этом случае ЕК клетки должны быть в процессе экспансии. В первой опубликованной работе, в которой для терапии лейкоза применяли CAR ЕК клетки, в качестве вектора использовали RD114-псевдотипированные гамма-ретровирусные частицы [24].

В последнее время большее распространение для клинических целей получили лентивирусы, что объясняется их меньшей генотоксичностью по сравнению с простыми ретровирусами. До настоящего времени не описано ни одного случая инсерционного онкогенеза, связанного с терапией при использовании лентивирусных векторов [25]. Также преимуществом лентивирусов является их способность трансдуцировать не только делящиеся, но и покоящиеся, и постмитотические клетки [26].

ЕК клетки по сравнению с Т-клетками или гемопоэтическими стволовыми клетками трансдуцируются с меньшей эффективностью при использовании VSV-G псевдотипированных лентивирусов. Применение BaEV псевдотипированных лентивирусных векторов позволяет значительно увеличить количество трансдуцированных ЕК клеток [27]. BaEV взаимодействует с ASCT1 и ASCT2 транспортерами, которые высоко экспрессируются на активированных ЕК клетках, тем самым облегчая проникновение BaEV-лентивирусных векторов в клетки [28, 29].

На первом этапе своей работы мы сравнили эффективность трансдукции ЕК клеток при использовании различных псевдотипов лентивирусных частиц и возрастающей MOI. В данном эксперименте для улучшения трансдукции применяли метод однократной спинокуляции, тестирование проводили в трех независимых повторах. Полученные результаты – на рис. 1.

Представленные данные показывают, что при использовании VSV-G псевдотипированных лентивирусных частиц уровень трансдукции ЕК клеток не превышает 5 % и значительно не изменяется при увеличении MOI. При этом при применении BaEV псевдотипированных лентивирусных частиц уровень трансдукции был выше 30 % при MOI 1 и повышался при увеличении MOI. При MOI 10 уровень инфекции ЕК клеток достигал 72 ± 1 %.

Далее сравнили эффективность трансдукции ЕК клеток при различных условиях ее проведения: однократная спинокуляция (спинокуляция 1), двойная спинокуляция (спинокуляция 2), трансдукция без спинокуляции с добавлением усилителя трансдукции вектофузина (вектофузин). Тестирование проводили в пяти независимых экспериментах. Полученные результаты представлены на рис. 2.

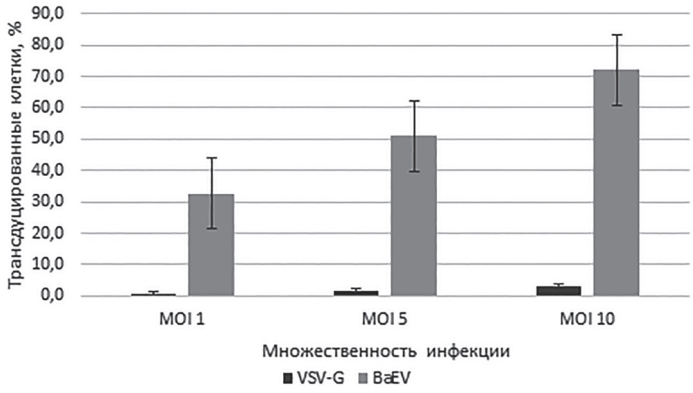

Рис. 1. Сравнение эффективности трансдукции ЕК клеток
при использовании VSV-G и BaEV псевдотипированных лентивирусных частиц и MOI

Fig. 1. Comparison of NK cell transduction efficiency with VSV-G and BaEV pseudotyped lentiviral particles at different multiplicities of infection (MOI)

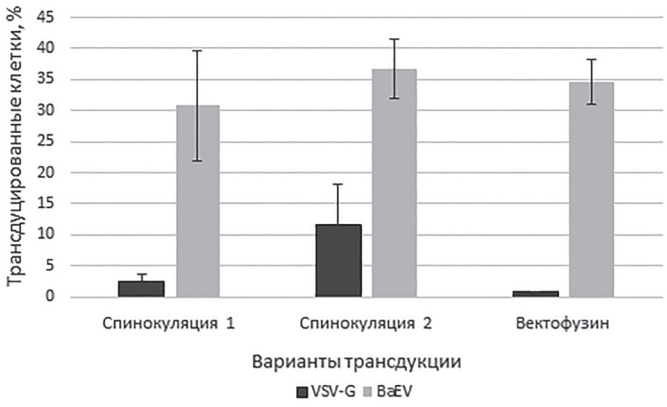

Рис. 2. Сравнение эффективности трансдукции ЕК клеток
при использовании различных вариантов проведения трансдукции при MOI 1

Fig. 2. Comparison of the efficiency of NK cell transduction using different transduction protocols at MOI 1

Согласно представленным на рис. 2 данным уровень трансдукции при использовании VSV-G псевдотипированных лентивирусных частиц был низким при всех вариантах ее проведения. При использовании BaEV псевдотипированных лентивирусных частиц уровень трансдукции был достоверно выше по сравнению с VSV-G, однако достоверно не отличался между вариантами проведения трансдукции – количество трансдуцированных ЕК клеток находилось в диапазоне от 30 до 35 %. Использование вектофузина позволяет трансдуцировать клетки в суспензионной культуре без проведения этапа спинокуляции. Такой вариант трансдукции является оптимальным для масштабирования процесса получения модифицированных ЕК клеток для клинического применения.

Таким образом, на последующем этапе работы для получения CAR ЕК клеток использовали BaEV псевдотипированные лентивирусные частицы с усилителем трансдукции вектофузином. Вектофузин (Vectofusin-1) – это короткий катионный пептид, который повышает уровень трансдукции клеток за счет улучшения адгезии и слияния вируса с клеточной мембраной [30]. В настоящее время он широко применяется в качестве усилителя трансдукции для получения различных генетически модифицированных клеточных продуктов [31, 32].

Получение и тестирование анти-BCMA CAR ЕК клеток. BCMA (B-cell maturation antigen) кодируется геном TNFRSF17, расположенным на хромосоме 16. BCMA ответственен за выживаемость, пролиферацию и созревание В-клеток, преимущественно экспрессируется на плазмобластах и плазматических клетках, в том числе на опухолевых клетках пациентов с множественной миеломой [33].

ЕК клетки получали путем экспансии из периферической крови двух доноров с использованием фидерных клеток. Через 7 дней после начала экспансии ЕК клетки были трансдуцированы BaEV псевдотипированным лентивектором, кодирующим анти-BCMA CAR.

Уровень трансдукции ЕК клеток определяли по связыванию клетками BCMA-белка. На рис. 3 представлены результаты оценки количества полученных трансдуцированных ЕК клеток (CAR ЕК) для двух доноров.

Уровень трансдукции для донора № 1 составил 57 %, для донора № 2 – 47 %.

Далее проанализировали противоопухолевую активность полученных CAR ЕК клеток в цитотоксическом тесте. В качестве клеток-мишеней использовали клетки линии THP-1 и ее модифицированный вариант THP-1/BCMA+, отличающийся позитивной экспрессией BCMA. На рис. 4 – результаты сравнения цитотоксической активности немодифицированных ЕК клеток и анти-BCMA CAR ЕК клеток против клеток трансгенной линии THP-1/BCMA+. Тестировали различные соотношения эффектор : мишень и длительность совместного культивирования клеток (2, 4, 18 и 24 ч).

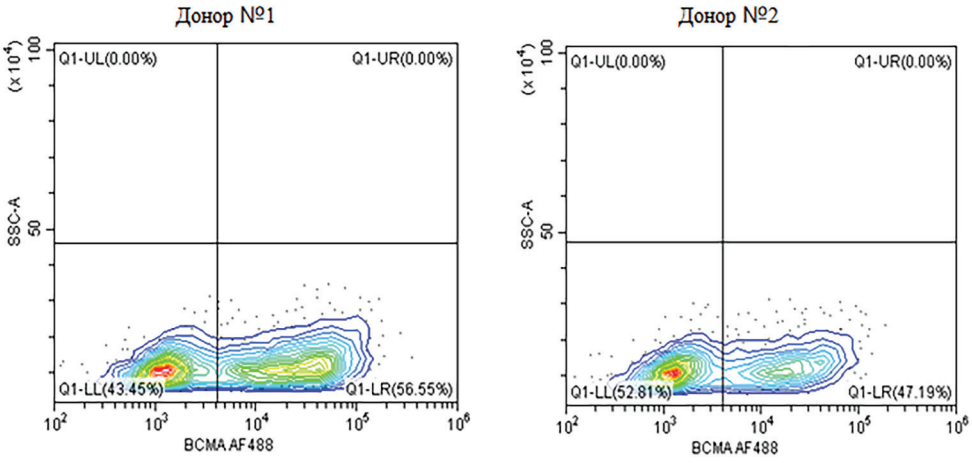

Рис. 3. Содержание анти-BCMA CAR ЕК клеток после трансдукции ЕК клеток доноров

Fig. 3. The percentage of anti-BCMA CAR NK cells after transduction of donor NK cells

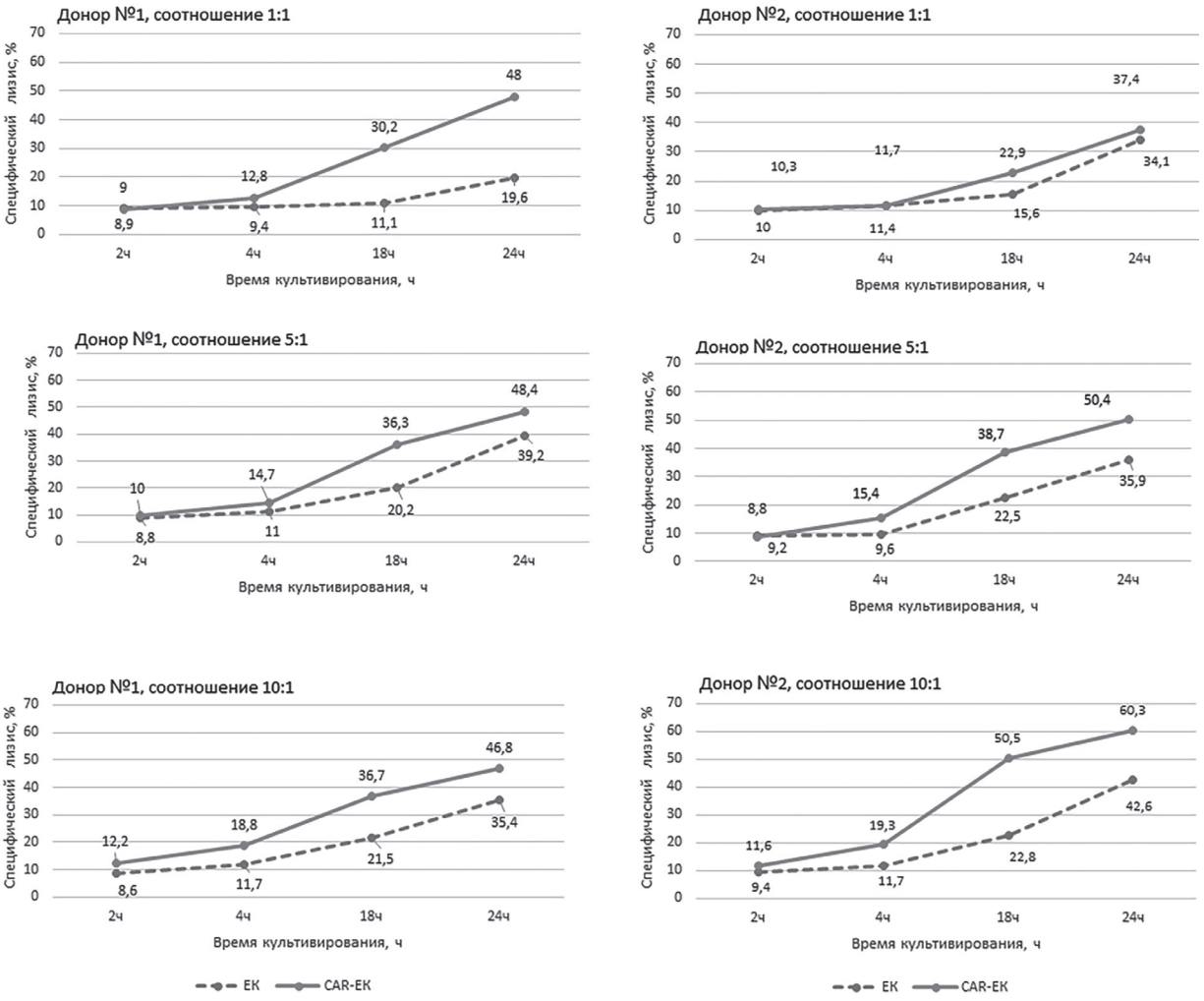

Рис. 4. Сравнение цитотоксической активности ЕК и анти-BCMA CAR ЕК клеток против линии THP-1/BCMA+. Исследовали различные соотношения эффектор : мишень и длительность совместного культивирования клеток

Fig. 4. Comparison of the cytotoxic activity of NK and anti-BCMA CAR NK cells against THP-1/BCMA+ cells. Various effector:target ratios and co-culture durations were tested

Согласно данным, представленным на рис. 4, отмечается более высокий уровень цитотоксической активности анти-BCMA CAR ЕК клеток по сравнению с немодифицированными ЕК клетками в отношении клеток линии THP-1/BCMA+. Наибольшее повышение чувствительности THP-1/BCMA+ клеток к противоопухолевому действию CAR ЕК клеток составило 28,4 % (донор № 1, соотношение 1 : 1, 24 ч культивирования).

На рис. 5 – результаты сравнения активности образцов анти-BCMA CAR ЕК клеток двух доноров против линий THP-1 и THP-1/BCMA+.

Результаты, показанные на рис. 5, демонстрируют более высокую цитотоксическую активность анти-BCMA CAR ЕК клеток против клеток линии THP-1/BCMA+ по сравнению с исходной линией THP-1. Через 4 ч культивирования наибольшие различия заметны при соотношениях 5 : 1 и 10 : 1, тогда как через 24 ч культивирования уровень специфического лизиса опухолевых клеток THP-1/BCMA+ значительно выше по сравнению с исходными клетками THP-1 при всех соотношениях. Наибольший прирост специфического противоопухолевого действия CAR ЕК клеток против клеток линии THP-1/BCMA+ по сравнению с клетками THP-1 составил 29,7 % (донор № 1, соотношение 2 : 1, 24 ч культивирования). Таким образом, проведенные эксперименты продемонстрировали, что анти-BCMA CAR ЕК клетки обладают большей специфической противоопухолевой активностью против BCMA-экспрессирующих клеток-мишеней по сравнению с немодифицированными ЕК клетками.

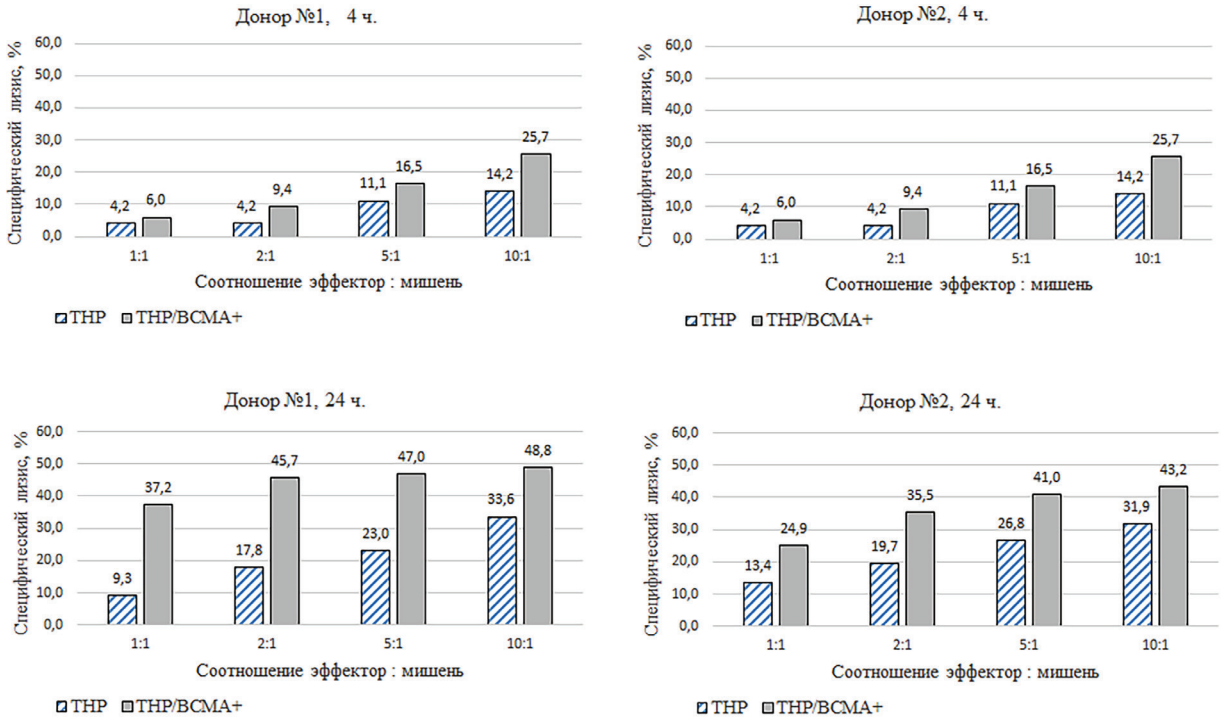

Рис. 5. Сравнение цитотоксической активности образцов анти-BCMA CAR EK клеток двух доноров против клеток линий THP-1 и THP-1/BCMA+. Исследовали различные соотношения эффектор : мишень и длительность совместного культивирования клеток

Fig. 5. Comparison of the cytotoxic activity of anti-BCMA CAR NK cell samples from two donors against THP-1 and THP-1/BCMA+ cell lines. Various effector:target ratios and co-culture durations were tested

Заключение. Благодаря врожденным противоопухолевым свойствам ЕК клетки широко используются в иммунотерапии онкологических заболеваний. Модификация исходных свойств ЕК клеток и получение CAR ЕК клеток может существенно повысить направленность их противоопухолевого действия. Наиболее распространенный подход к изменению свойств ЕК клеток – это генетическая модификация с применением лентивирусных векторов. В работе протестированы различные условия проведения трансдукции и показано, что наибольшее количество генетически-модифицированных клеток достигается при использовании BaEV псевдотипированных лентивирусных векторов. Эффективность модификации ЕК клеток не зависела от тестируемых способов проведения трансдукции. При использовании однократной и двукратной спинокуляции, а также трансдукции в суспензионной культуре в присутствии вектофузина доля модифицированных клеток достоверно не различалась. Тестирование противоопухолевых свойств полученных экспериментальных образцов анти-BCMA CAR ЕК клеток продемонстрировало максимальный прирост количества погибших BCMA-позитивных клеток-мишеней в диапазоне 20–29 % по сравнению с немодифицированными ЕК клетками. Таким образом, представленный способ генетической модификации ЕК клеток позволяет получать CAR ЕК клетки и расширять их клиническое применение. Успешная оптимизация генетической модификации ЕК клеток приближает создание безопасных, высокоэффективных и доступных «готовых» (аллогенных off-the-shelf) препаратов для клеточной иммунотерапии рака.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia / J. E. Rubnitz, H. Inaba, R. C. Ribeiro [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2010. – Vol. 280, N 6. – P. 955–959. https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.4590

2. Two-Stage Priming of Allogeneic Natural Killer Cells for the Treatment of Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Phase I Trial / P. D. Kottaridis, J. North, M. Tsirogianni [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 6. – Art. e0123416. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123416

3. Complete Remission with Reduction of High-Risk Clones following Haploidentical NK-Cell Therapy against MDS and AML / A. T. Björklund, M. Carlsten, E. Sohlberg [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2018. – Vol. 24, N 8. – P. 1834–1844. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3196

4. Natural killer cell therapy in children with relapsed leukemia / J. E. Rubnitz, H. Inaba, G. Kang [et al.] // Pediatric Blood Cancer. – 2015. – Vol. 62, N 8. – P. 1468–1472. https://doi.org/10.1002/pbc.25555

5. Haploidentical IL-15/41BBL activated and expanded natural killer cell infusion therapy after salvage chemotherapy in children with relapsed and refractory leukemia / M. Vela, D. Corral, P. Carrasco [et al.] // Cancer Letters. – 2018. – Vol. 422. – P. 107–117. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.02.033

6. Phase 1 clinical trial using mbIL21 ex vivo-expanded donor-derived NK cells after haploidentical transplantation / S. O. Ciurea, J. R. Schafer, R. Bassett [et al.] // Blood. – 2017. – Vol. 130, N 16. – P. 1857–1868. https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-785659

7. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: a dose-escalation study / I. Choi, S. R. Yoon, S. Y. Park [et al.] // Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2014. – Vol. 20, N 5. – P. 696–704. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.01.031

8. Potential of NK cells in multiple Myeloma therapy / A. M. Khan, S. Devarakonda, N. Bumma [et al.] // Expert Review of Hematology. – 2019. – Vol. 12, N 6. – P. 425–435. https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1617128

9. Haploidentical natural killer cells induce remissions in non-Hodgkin lymphoma patients with low levels of immune-suppressor cells / V. Bachanova, D. Sarhan, T. E. de For [et al.] // Cancer Immunology, Immunotherapy. – 2018. – Vol. 67, N 3. – P. 483–494. https://doi.org/10.1007/s00262-017-2100-1

10. Intraperitoneal infusion of ex vivo-cultured allogeneic NK cells in recurrent ovarian carcinoma patients (a phase I study) / J. Hoogstad-van Evert, R. Bekkers, N. Ottevanger [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2019. – Vol. 98, N 5. – Art. e14290. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000014290

11. Tumor cryoablation in combination with natural killer cells therapy and Herceptin in patients with HER2-overexpressing recurrent breast cancer / S. Liang, L. Niu, K. Xu [et al.] // Molecular Immunology. – 2017. – Vol. 92. – P. 45–53. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.10.003

12. Phase I clinical trial of adoptive transfer of expanded natural killer cells in combination with IgG1 antibody in patients with gastric or colorectal cancer / T. Ishikawa, T. Okayama, N. Sakamoto [et al.] // International Journal of Cancer. – 2018. – Vol. 142, N 12. – P. 2599–2609. https://doi.org/10.1002/ijc.31285

13. Clinical efficacy of percutaneous cryoablation combined with allogenic NK cell immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer / M. Lin, S. Z. Liang, X. H. Wang [et al.] // Immunologic Research. – 2017. – Vol. 65, N 4. – P. 880–887. https://doi.org/10.1007/s12026-017-8927-x

14. NK cells for cancer immunotherapy / N. Shimasaki, A. Jain, D. Campana // Nature Reviews Drug Discovery. – 2020. – Vol. 19, N 3. – P. 200–218. https://doi.org/10.1038/s41573-019-0052-1

15. CAR-T cell therapy in Multiple Myeloma: current status and future challenges / D. Swan, D. Madduri, J. Hocking // Blood Cancer Journal. – 2024. – Vol. 14, N 1. – Art. 206. https://doi.org/10.1038/s41408-024-01191-8

16. The long road to the first FDA-approved gene therapy: chimeric antigen receptor T cells targeting CD19 / P. Braendstrup, B. L. Levine, M. Ruella // Cytotherapy. – 2020. – Vol. 22, N 2. – P. 57–69. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.12.004

17. CAR-T cell therapy: Efficacy in management of cancers, adverse effects, dose-limiting toxicities and long-term follow up / M. Elmarasi, I. Elkonaissi, A.A. Elsabagh [et al.] // International Immunopharmacology. – 2024. – Vol. 135. – Art. 112312. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112312

18. Chimeric antigen receptor-natural killer cell therapy: current advancements and strategies to overcome challenges / J. C. Kong, M. A. Sa'ad, H. M. Vijayan [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1384039. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1384039

19. Inhibition of intracellular antiviral defense mechanisms augments lentiviral transduction of human natural killer cells: implications for gene therapy / T. Sutlu, S. Nyström, M. Gilljam [et al.] // Human Gene Therapy. – 2012. – Vol. 23, N 10. – P. 1090–1100. https://doi.org/10.1089/hum.2012.080

20. Coroadinha, A. S. Host Cell Restriction Factors Blocking Efficient Vector Transduction: Challenges in Lentiviral and Adeno-Associated Vector Based Gene Therapies / A. S. Coroadinha // Cells. – 2023. – Vol. 12, N 5. – Art. 732. https://doi.org/10.3390/cells12050732

21. Expansion and Activation of Human Natural Killer Cells ex vivo in the Presence of Transgenic Feeder Cells / E. P. Vashkevich, A. A. Migas, A. N. Meleshko [et al.] // Cell and Tissue Biology. – 2020. – Vol. 14. – P. 365–371. https://doi.org/10.31857/S0041377120040070

22. Titration of Lentivirus Vectors / M. Sena-Esteves, G. Gao // Cold Spring Harbor Protocols. – 2018. – Vol. 2018. – Art. 4. https://doi.org/10.1101/pdb.prot095695

23. Efficient gene transfer into primary human natural killer cells by retroviral transduction / H. Guven, K. V. Konstantinidis, E. Alici [et al.] // Experimental Hematology. – 2005. – Vol. 33, N 11. – P. 1320–1328. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2005.07.006

24. Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity / E. Liu, Y. Tong, G. Dotti [et al.] // Leukemia. – 2018. – Vol. 32, N 2. – P. 520–531. https://doi.org/10.1038/leu.2017.226

25. Clinical use of lentiviral vectors / M. C. Milone, U. O'Doherty // Leukemia. – 2018. – Vol. 32, N 7. – P. 1529–1541. https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0

26. Recent advances in lentiviral vector development and applications / J. Mátrai, M. K. Chuah, T. Vanden Driessche // Molecular Therapy. – 2010. – Vol. 18, N 3. – P. 477–490. https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0

27. Efficient and robust NK-Cell transduction with baboon envelope pseudotyped lentivector / A. B. L. Colamartino, W. Lemieux, P. Bifsha // Frontiers in Immunology. – 2019. – Vol. 10. – Art. 2873. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02873

28. Distinct Subset of Highly Proliferative and Lentiviral Vector (LV)-Transducible NK Cells Define a Readily Engineered Subset for Adoptive Cellular Therapy / R. Bari, M. Granzin, K. S. Tsang // Frontiers in Immunology. – 2019. – Vol. 10. – Art. 2001. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02001

29. Lentiviral vector pseudotypes: precious tools to improve gene modification of hematopoietic cells for research and gene therapy / A. Gutierrez-Guerrero, F. L. Cosset, E. Verhoeyen // Viruses. – 2020. – Vol. 12, N 9. – Art. 1016. https://doi.org/10.3390/v12091016

30. Vectofusin-1, a new viral entry enhancer, strongly promotes lentiviral transduction of human hematopoietic stem cells / D. Fenard, D. Ingrao, A. Seye [et al.] // Molecular Therapy Nucleic Acids. – 2013. – Vol. 2, N 5. – Art. e90. https://doi.org/10.1038/mtna.2013.17

31. Vectofusin-1 Improves Transduction of Primary Human Cells with Diverse Retroviral and Lentiviral Pseudotypes, Enabling Robust, Automated Closed-System Manufacturing / C. Radek, O. Bernadin, K. Drechsel [et al.] // Human Gene Therapy. – 2019. – Vol. 30, N 12. – P. 1477–1493. https://doi.org/10.1089/hum.2019.157

32. High Cytotoxic Efficiency of Lentivirally and Alpharetrovirally Engineered CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor Natural Killer Cells Against Acute Lymphoblastic Leukemia / S. Müller, T. Bexte, V. Gebel [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol. 10. – Art. 3123. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03123

33. CAR-T-Cell Therapy in Multiple Myeloma: B-Cell Maturation Antigen (BCMA) and Beyond / A. K. Mishra, A. Gupta, G. Dagar // Vaccines (Basel). – 2023. – Vol. 11, N 11. – Art. 1721. https://doi.org/10.3390/vaccines11111721

References

1. Rubnitz J. E., Inaba H., Ribeiro R. C., Pounds S., Rooney B., Bell T., Pui C. H., Leung W. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 2010, vol. 28, no. 6, pp. 955–959. https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.4590

2. Kottaridis P. D., North J., Tsirogianni M., Marden C., Samuel E. R., Jide-Banwo S., Grace S., Lowdell M. W. Two-Stage Priming of Allogeneic Natural Killer Cells for the Treatment of Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Phase I Trial. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0123416. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123416

3. Björklund A. T., Carlsten M., Sohlberg E., Liu L. L., Clancy T., Karimi M., Cooley S., Miller J. S., Klimkowska M., Schaffer M., Watz E., Wikström K., Blomberg P., Wahlin B. E., Palma M., Hansson L., Ljungman P., Hellström-Lindberg E., Ljunggren H. G., Malmberg K. J. Complete Remission with Reduction of High-Risk Clones following Haploidentical NK-Cell Therapy against MDS and AML. *Clinical Cancer Research*, 2018, vol. 24, no. 8, pp. 1834–1844. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3196

4. Rubnitz J. E., Inaba H., Kang G., Gan K., Hartford C., Triplett B. M., Dallas M., Shook D., Gruber T., Pui C. H., Leung W. Natural killer cell therapy in children with relapsed leukemia. *Pediatric Blood Cancer*, 2015, vol. 62, no. 8, pp. 1468–1472. https://doi.org/10.1002/pbc.25555

5. Vela M., Corral D., Carrasco P., Fernández L., Valentín J., González B., Escudero A., Balas A., de Paz R., Torres J., Leivas A., Martinez-Lopez J., Pérez-Martínez A. Haploidentical IL-15/41BBL activated and expanded natural killer cell infusion therapy after salvage chemotherapy in children with relapsed and refractory leukemia. *Cancer Letters*, 2018, vol. 422, pp. 107–117. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.02.033

6. Ciurea S. O., Schafer J. R., Bassett R., Denman C. J., Cao K., Willis D. [et al.]. Phase 1 clinical trial using mbIL21 ex vivo-expanded donor-derived NK cells after haploidentical transplantation. *Blood*, 2017, vol. 130, no. 16, pp. 1857–1868. https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-785659

7. Choi I., Yoon S. R., Park S. Y., Kim H., Jung S. J., Jang Y. J. [et al.]. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: a dose-escalation study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2014, vol. 20, no. 5, pp. 696–704. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.01.031

8. Khan A. M., Devarakonda S., Bumma N., Chaudhry M., Benson D. M. (Jr.). Potential of NK cells in multiple Myeloma therapy. *Expert Review of Hematology*, 2019, vol. 12, no. 6, pp. 425–435. https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1617128

9. Bachanova V., Sarhan D., de For T. E., Cooley S., Panoskaltsis-Mortari A., Blazar B. R., Curtsinger J. M., Burns L., Weisdorf D. J., Miller J. S. Haploidentical natural killer cells induce remissions in non-Hodgkin lymphoma patients with low levels of immune-suppressor cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2018, vol. 67, no. 3, pp. 483–494. https://doi.org/10.1007/s00262-017-2100-1

10. Hoogstad-van Evert J., Bekkers R., Ottevanger N., Schaap N., Hobo W., Jansen J. H., Massuger L., Dolstra H. Intraperitoneal infusion of ex vivo-cultured allogeneic NK cells in recurrent ovarian carcinoma patients (a phase I study). *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98, no. 5, art. e14290. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000014290

11. Liang S., Niu L., Xu K., Wang X., Liang Y., Zhang M., Chen J., Lin M. Tumor cryoablation in combination with natural killer cells therapy and Herceptin in patients with HER2-overexpressing recurrent breast cancer. *Molecular Immunology*, 2017, vol. 92, pp. 45–53. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.10.003

12. Ishikawa T., Okayama T., Sakamoto N., Ideno M., Oka K., Enoki T., Mineno J., Yoshida N., Katada K., Kamada K., Uchiyama K., Handa O., Takagi T., Konishi H., Kokura S., Uno K., Naito Y., Itoh Y. Phase I clinical trial of adoptive transfer

of expanded natural killer cells in combination with IgG1 antibody in patients with gastric or colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, 2018, vol. 142, no. 12, pp. 2599–2609. https://doi.org/10.1002/ijc.31285

13. Lin M., Liang S. Z., Wang X. H., Liang Y. Q., Zhang M. J., Niu L. Z., Chen J. B., Li H. B., Xu K. C. Clinical efficacy of percutaneous cryoablation combined with allogenic NK cell immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer. *Immunologic Research*, 2017, vol. 65, no. 4, pp. 880–887. https://doi.org/ 10.1007/s12026-017-8927-x

14. Shimasaki N., Jain A., Campana D. NK cells for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2020, vol. 19, no. 3, pp. 200–218. https://doi.org/10.1038/s41573-019-0052-1

15. Swan D., Madduri D., Hocking J. CAR-T cell therapy in Multiple Myeloma: current status and future challenges. *Blood Cancer Journal*, 2024, vol. 14, no. 1, art. 206. https://doi.org/10.1038/s41408-024-01191-8

16. Braendstrup P., Levine B. L., Ruella M. The long road to the first FDA-approved gene therapy: chimeric antigen receptor T cells targeting CD19. *Cytotherapy*, 2020, vol. 22, no. 2, pp. 57–69. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.12.004

17. Elmarasi M., Elkonaissi I., Elsabagh A. A., Elsayed E., Elsayed A., Elsayed B., Elmakaty I., Yassin M. CAR-T cell therapy: Efficacy in management of cancers, adverse effects, dose-limiting toxicities and long-term follow up. *International Immunopharmacology*, 2024, vol. 135, art. 112312. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112312

18. Kong J. C., Sa'ad M. A., Vijayan H. M., Ravichandran M., Balakrishnan V., Tham S. K., Tye G. J. Chimeric antigen receptor-natural killer cell therapy: current advancements and strategies to overcome challenges. *Frontiers in Immunology*, 2024, vol. 15, art. 1384039. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1384039

19. Sutlu T., Nyström S., Gilljam M., Stellan B., Applequist S. E., Alici E. Inhibition of intracellular antiviral defense mechanisms augments lentiviral transduction of human natural killer cells: implications for gene therapy. *Human Gene Therapy*, 2012, vol. 23, no. 10, pp. 1090–1100. https://doi.org/10.1089/hum.2012.080

20. Coroadinha A. S. Host Cell Restriction Factors Blocking Efficient Vector Transduction: Challenges in Lentiviral and Adeno-Associated Vector Based Gene Therapies. *Cells*, 2023, vol. 12, no. 5, art. 732. https://doi.org/10.3390/cells12050732

21. Vashkevich E., Migas A., Meleshko A., Matveyenkaa M., Strushkevich N., Shman T. Expansion and Activation of Human Natural Killer Cells ex vivo in the Presence of Transgenic Feeder Cells. *Cell and Tissue Biology*, 2020, vol. 14, pp. 365–371. https://doi.org/10.31857/S0041377120040070

22. Sena-Esteves M., Gao G. Titration of Lentivirus Vectors. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018, vol. 2018, art. 4. https://doi.org/10.1101/pdb.prot095695

23. Guven H., Konstantinidis K. V., Alici E., Aints A., Abedi-Valugerdi M., Christensson B., Ljunggren H. G., Dilber M. S. Efficient gene transfer into primary human natural killer cells by retroviral transduction. *Experimental Hematology*, 2005, vol. 33, no. 11, pp. 1320–1328. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2005.07.006

24. Liu E., Tong Y., Dotti G., Shaim H., Savoldo B., Mukherjee M., Orange J., Wan X., Lu X., Reynolds A., Gagea M., Banerjee P., Cai R., Bdaiwi M. H., Basar R., Muftuoglu M., Li L., Marin D., Wierda W., Keating M., Champlin R., Shpall E., Rezvani K. Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity. *Leukemia*, 2018, vol. 32, no. 2, pp. 520–531. https://doi.org/10.1038/leu.2017.226

25. Milone M. C., O'Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia*, 2018, vol. 32, no. 7, pp. 1529–1541. https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0

26. Mátrai J., Chuah M. K., Vanden Driessche T. Recent advances in lentiviral vector development and applications. *Molecular Therapy*, 2010, vol. 18, no. 3, pp. 477–490. https://doi.org/10.1038/s41375-018-0106-0

27. Colamartino A. B. L., Lemieux W., Bifsha P., Nicoletti S., Chakravarti N., Sanz J., Roméro H., Selleri S., Béland K., Guiot M., Tremblay-Laganière C., Dicaire R., Barreiro L., Lee D. A., Verhoeyen E., Haddad E. Efficient and robust NK-Cell transduction with baboon envelope pseudotyped lentivector. *Frontiers in Immunology*, 2019, vol. 10, art. 2873. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02873

28. Bari R., Granzin M., Tsang K. S., Roy A., Krueger W., Orentas R., Schneider D., Pfeifer R., Moeker N., Verhoeyen E., Dropulic B., Leung W. A Distinct Subset of Highly Proliferative and Lentiviral Vector (LV)-Transducible NK Cells Define a Readily Engineered Subset for Adoptive Cellular Therapy. *Frontiers in Immunology*, 2019, vol. 10, art. 2001. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02001

29. Gutierrez-Guerrero A., Cosset F. L., Verhoeyen E. Lentiviral Vector Pseudotypes: Precious Tools to Improve Gene Modification of Hematopoietic Cells for Research and Gene Therapy. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 9, art. 1016. https://doi.org/10.3390/v12091016

30. Fenard D., Ingrao D., Seye A., Buisset J., Genries S., Martin S., Kichler A., Galy A. Vectofusin-1, a new viral entry enhancer, strongly promotes lentiviral transduction of human hematopoietic stem cells. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2013, vol. 2, no. 5, art. e90. https://doi.org/10.1038/mtna.2013.17

31. Radek C., Bernadin O., Drechsel K., Cordes N., Pfeifer R., Sträßer P. [et al.]. Vectofusin-1 Improves Transduction of Primary Human Cells with Diverse Retroviral and Lentiviral Pseudotypes, Enabling Robust, Automated Closed-System Manufacturing. *Human Gene Therapy*, 2019, vol. 30, no. 12, pp. 1477–1493. https://doi.org/10.1089/hum.2019.157

32. Müller S., Bexte T., Gebel V., Kalensee F., Stolzenberg E., Hartmann J., Koehl U., Schambach A., Wels W. S., Modlich U., Ullrich E. High Cytotoxic Efficiency of Lentivirally and Alpharetrovirally Engineered CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor Natural Killer Cells Against Acute Lymphoblastic Leukemia. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 10, art. 3123. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03123

33. Mishra A. K., Gupta A., Dagar G., Das D., Chakraborty A., Haque S. [et al.]. CAR-T-Cell Therapy in Multiple Myeloma: B-Cell Maturation Antigen (BCMA) and Beyond. *Vaccines (Basel)*, 2023, vol. 11, no. 11, art. 1721. https://doi.org/10.3390/vaccines11111721

Информация об авторах

Шман Татьяна Викторовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь); Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220087, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t_shman@yahoo.com. https://orcid.org/0000-0001-8669-8005

Вашкевич Екатерина Петровна – ст. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: immunology@oncology.by. https://orcid.org/0000-0002-5105-3757

Лебедева Юлия Владиславовна – аспирант. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: lebedevaula859@gmail.com. https://orcid.org/0009-0007-0880-8580

Мухаметшина Анастасия Станиславовна – аспирант. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: nastya.shevtsova19@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-0029-1499

Клыч Анна Васильевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: annklych@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-2898-2419

Луцкович Дмитрий Викторович – ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: lutskovichdm@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-3998-8023

Ласюков Евгений Анатольевич – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: zhenya_lasyukov@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-4183-0134

Information about the authors

Tatsiana V. Shman – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus); Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (8, Semashko Str., 220087, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shman@yahoo.com. https://orcid.org/0000-0001-8669-8005

Katsiaryna P. Vashkevich – Senior Researcher, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: immunology@oncology.by. https://orcid.org/0000-0002-5105-3757

Yuliya V. Lebedeva – Postgraduate Student. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: lebedevaula859@gmail.com. https://orcid.org/0009-0007-0880-8580

Anastasia S. Muhametshina – Postgraduate Student. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: nastya.shevtsova19@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0029-1499

Hanna V. Klych – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: annklych@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-2898-2419

Dzmitry V. Lutskovich – Senior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: lutskovichdm@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-3998-8023

Eugeniy A. Lasyukov – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology, and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovlyany village, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: zhenya_lasyukov@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-4183-0134