

DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-114-126



Адаптивный иммунный ответ в патогенезе и лечении плоскоклеточного рака головы и шеи: влияние факторов иммуносупрессии и гендерных особенностей

А.И. Стукань^{1,2}, Р.А. Мурашко^{1,2}, Н.А. Цыган¹, А.Ю. Горяинова^{1,2}, О.Н. Нефёдов^{1,2}, В.А. Порханов¹⁻³

¹ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146;

²кафедра онкологии с курсом торакальной хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 350029 Краснодар, ул. Российская, 140;

³ГБУЗ «Научно-исследовательский институт — Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350086 Краснодар, ул. 1 Мая, 167

Контакты: Анастасия Игоревна Стукань jolie86@bk.ru

Очевидной тенденцией последнего десятилетия в изучении патогенеза плоскоклеточного рака головы и шеи является осознание значимости нарушений иммунного ответа в развитии этого заболевания. В обзоре представлен анализ различий типа и степени иммуносупрессии, а также ответа на консервативное лечение у больных плоскоклеточным раком головы и шеи в зависимости от влияющего канцерогенного фактора, пола, возраста и сопутствующих заболеваний. В исследованиях показано, что у курящих и злоупотребляющих алкоголем пациентов с данным заболеванием обнаружено увеличение CD8⁺-Т-лимфоцитов и снижение Т-клеток памяти, а в микроокружении опухоли выявлено меньшее количество CD8⁺-Т-лимфоцитов по сравнению с некурящими и непьющими пациентами. Лучший прогноз у больных плоскоклеточным раком головы и шеи, ассоциированным с вирусом папилломы человека, в значительной степени обусловлен наличием антител к Е6 и Е7 этого вируса, Е7-специфичных CD8⁺-Т-лимфоцитов в периферической крови и высоким уровнем опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов. Широко обсуждается вопрос гендерных различий в типе иммунного ответа. Показано, что применение ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в монорежиме более эффективно в отношении улучшения показателей выживаемости у мужчин, а использование этих препаратов в сочетании с химиотерапией — у женщин. Кроме того, у пожилых онкологических пациентов выявлены многочисленные возраст-ассоциированные повреждения функций Т-лимфоцитов, в том числе снижение количества наивных Т-лимфоцитов из-за возрастной инволюции тимуса и повышение относительного количества клеток памяти и эффекторных клеток.

Ключевые слова: адаптивный иммунный ответ, плоскоклеточный рак головы и шеи, CD4⁺-Т-лимфоциты, CD8⁺-Т-лимфоциты, факторы иммуносупрессии, гендерные различия, статус вируса папилломы человека

Для цитирования: Стукань А.И., Мурашко Р.А., Цыган Н.А. и др. Адаптивный иммунный ответ в патогенезе и лечении плоскоклеточного рака головы и шеи: влияние факторов иммуносупрессии и гендерных особенностей. Опухоли головы и шеи 2022;12(3):114–26. (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-114-126

Adaptive immune response in pathogenesis and treatment of head and neck squamous cell carcinoma: the influence of immunosuppression factors and gender

A.I. Stukan^{1,2}, R.A. Murashko^{1,2}, N.A. Tsygan¹, A.Y. Goryainov^{1,2}, O.N. Nefedov^{1,2}, V.A. Porkhanov¹⁻³

¹Clinical Oncological Dispensary No. 1, Ministry of Health of Krasnodar Territory; 146 Dimitrova St., Krasnodar 350040, Russia;

²Oncology with the course of thoracic surgery of advanced training and professional retraining of specialists department of Kuban State Medical University, Ministry of Health of Russia; 140 Rossiyskaya St., Krasnodar 350029, Russia;

³S.V. Ochapovsky Research Institute — Regional Clinical Hospital No. 1, Ministry of Health of Krasnodar Territory; 167 May 1 St., Krasnodar 350086, Russia

Contacts: Anastasia Igorevna Stukan jolie86@bk.ru

An obvious trend of the last decade in head and neck squamous cell carcinoma pathogenesis evaluation is awareness of the impact of immune response disorders on disease manifestation. The review presents an analysis of the differences in the type and degree of immunosuppression, as well as treatment response in head and neck squamous cell carcinoma patients in accordance with influencing carcinogenic factor, gender, age of the patient and concomitant diseases. An increase in CD8⁺ T-lymphocytes and a decrease of memory T-cells has been evaluated in smoking and alcohol abusing patients with head and neck squamous cell carcinoma, and a smaller number of CD8⁺ T-lymphocytes were detected in the tumor microenvironment compared to non-smoking and non-drinking patients. Studies have shown that the improved prognosis of patients with human papillomavirus (HPV) – associated head and neck squamous cell carcinoma is largely due to the presence of antibodies against HPV E6 and E7, E7-specific CD8⁺ T lymphocytes in peripheral blood and a high level of tumor-infiltrating T lymphocytes. The issue of gender differences in the type of immune response is widely discussed. It has been shown that the use of immune response checkpoint inhibitors is more effective in improving survival rates in men, and the use of these drugs in combination with chemotherapy is more effective in women. In addition, in elderly cancer patients, numerous age-associated T-lymphocyte's function changes were revealed, including a decrease in the number of naïve T-lymphocytes due to age-related involution of the thymus and an increase in the relative number of memory cells and effector cells. Thus, it is clear that immunosuppression type, as well as treatment response, differ depending on the influencing factor, gender, age of the patient, as well as comorbidities.

Keywords: adaptive immune response, head and neck squamous cell carcinoma, CD4⁺ T-lymphocytes, CD8⁺ T-lymphocytes, immunosuppressive factors, gender differences, human papillomavirus status

For citation: Stukan A.I., Murashko R.A., Tsygan N.A. et al. Adaptive immune response in pathogenesis and treatment of head and neck squamous cell carcinoma: the influence of immunosuppression factors and gender. *Opukholi golovy i shei* = Head and Neck Tumors 2022;12(3):114–26. (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-114-126

Введение

Предрасположенность иммунной системы к формированию иммунологической толерантности в ротовой полости и глотке с преимущественной активацией регуляторных Т-лимфоцитов (Tregs) играет существенную роль в канцерогенезе этой области. В исследованиях продемонстрированы различия в иммуносупрессивном влиянии клинико-биологических особенностей и факторов канцерогенеза в связи со значимостью специфического адаптивного иммунного ответа в патогенезе плоскоклеточного рака головы и шеи (ПРГШ). При этом тип и степень иммуносупрессии, как и ответ на консервативное лечение, весьма различны в зависимости от влияющего фактора, пола, возраста пациента, а также сопутствующих заболеваний.

Отсутствие значимых достижений в лечении и продлении жизни пациентов с ПРГШ свидетельствует о необходимости поиска эффективных стратегий терапии данной патологии. В связи с биологическими особенностями опухоли и разнородностью клинических исследований очевидно, что персонализированный подход к лечению больных ПРГШ должен учитывать анамнестический анализ всех факторов иммуносупрессии, а также целый спектр лабораторных показателей для формирования иммунологического и биологического портретов опухоли.

Иммунологическая толерантность как основа функционирования иммунной системы ротовой полости и глотки

Для реализации иммунных реакций в слизистой оболочке ротовой полости и глотки существуют индук-

тивные и эффекторные участки. Индуктивные участки включают лимфоидные фолликулы, которые активируются при стимуляции антигеном, в то время как эффекторные области характеризуются миграцией активированных лимфоцитов для осуществления иммунного ответа. Индуктивными очагами являются скопления лимфоидной ткани слизистой оболочки и лимфатические узлы, а эффекторные участки включают эпителий, собственную пластинку и слюнные железы [1].

Лимфоидная ткань слизистой оболочки относится к истинно вторичным лимфоидным органам (secondary lymphoid organs, SLO), которые образуют MALT-систему (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue, мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань), включающую небные, глоточную, трубные и язычную миндалины. Они формируются во время эмбриогенеза при отсутствии антигенной стимуляции. Эктопические третичные лимфоидные органы (tertiary lymphoid structures, TLO) образуются после рождения в местах инфицирования или воспаления и включают единичные фолликулы слизистой оболочки. Несмотря на разнородность происхождения, вторичные и третичные лимфоидные органы имеют схожую структуру, предназначенную для реализации индуктивной иммунной функции. Однако имеются различия в триггерах, запускающих иммунный ответ [2].

Каждый лимфоидный орган обладает механизмом рекрутирования лейкоцитов крови, привлечения лимфоцитов и миелоидных клеток для реализации клеточных взаимодействий, распознавания антигенов из окружающей ткани или с поверхности эпителия слизистой оболочки. Также существуют механизмы транслокации

активированных эффекторных лимфоцитов обратно в слизистую оболочку, где они элиминируют патогены или трансформируются в клетки памяти. Эпителий слизистой ротовой полости и глотки принимает активное участие в функционировании иммунной системы, непосредственно контактируя со множеством антигенов. Кроме этого, он модулирует иммунный ответ, секретируя растворимые факторы, такие как цитокины, простагландины и кинуренины, экспрессирует рецепторы TLR2, TLR3, TLR4, NOD1 и NOD2, а также инфламмасому NLRP3, которые обеспечивают прямое

взаимодействие с другими иммунными клетками. Резидентные дендритные клетки (ДК) способны захватывать антигены и мигрировать во вторичные лимфоидные ткани, включая миндалины и проксимальные лимфатические узлы, где осуществляется иммунный ответ [1] (рис. 1).

В индуктивных участках после активации Т-клеточных рецепторов наивные Т-лимфоциты дифференцируются в разные популяции CD4⁺Т-лимфоцитов под воздействием цитокинов, приобретая воспалительный или регуляторный фенотип. Выделено несколько

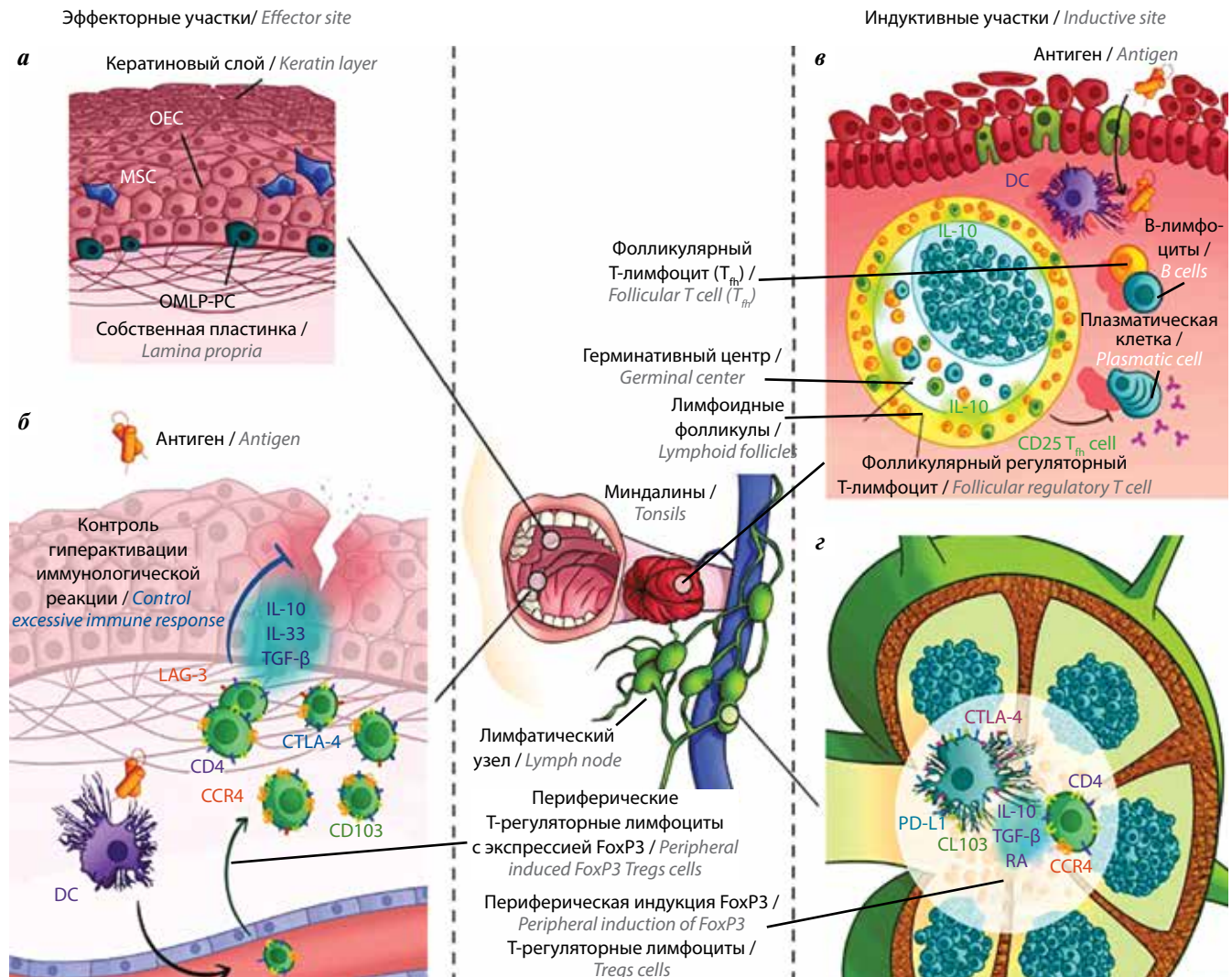


Рис. 1. Слизистая оболочка полости рта и связанные с ней лимфоидные структуры. Эффекторные участки: а — многослойный плоский эпителий в области, связанной с жеванием и покрытый кератиновым слоем; б — тонкая выстилающая слизистая оболочка без кератинового слоя. Индуктивные участки: в — миндалины; з — проксимальные лимфатические узлы. OEC — эпителиальные клетки полости рта; OMLP-PC — клетки-предшественники собственной пластинки слизистой оболочки полости рта; MSC — мезенхимальные стволовые клетки; DC — дендритные клетки; IL-10 — интерлейкин 10; IL-33 — интерлейкин 33; TGF-β — трансформирующий фактор роста β; PD-L1 — лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1; CTLA-4 — протеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4; CCR4 — C-C рецептор хемокина 4; RA — ретиноевая кислота

Fig. 1. Oral mucosa and associated lymphoid structures. Effector areas: a — multilayered squamous epithelium in the chewing-associated area covered by keratin layer; б — thin lining without keratin layer. Induction areas: в — tonsils; з — proximal lymph nodes. OEC — oral epithelial cells; OMLP-PC — oral mucosal lamina propria-progenitor cells; MSC — mesenchymal stem cell; DC — dendritic cells; IL-10 — interleukin 10; IL-33 — interleukin 33; TGF-β — transforming growth factor β; PD-L1 — programmed death-ligand 1; CTLA-4 — cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4; CCR4 — C-C chemokine receptor type 4; RA — retinoic acid

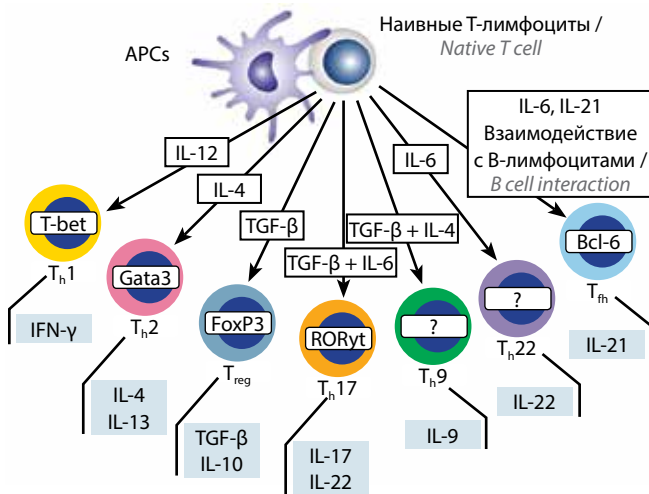


Рис. 2. Факторы, влияющие на субпопуляционный состав $CD4^+$ -Т-хелперных лимфоцитов, и цитокины, секретируемые Т-хелперами. Naive T cell – наивные Т-лимфоциты; APCs – антигенпрезентирующие клетки; IL-4 – интерлейкин 4; IL-6 – интерлейкин 6; IL-9 – интерлейкин 9; IL-12 – интерлейкин 12; IL-21 – интерлейкин 21; IL-22 – интерлейкин 22; TGF-β – трансформирующий фактор роста β; Th1 – Т-хелперы 1-го типа; Th2 – Т-хелперы 2-го типа; Th17 – Т-хелперы 17-го типа; Th9 – Т-хелперы 9-го типа; Th22 – Т-хелперы 22-го типа; Tfh – Т-хелперные фолликулярные лимфоциты; IFN-γ – интерферон γ; T-bet – транскрипционный фактор, экспрессированный на поверхности Т-хелперов 1-го типа

Fig. 2. Factors affecting subpopulation structure of $CD4^+$ -T helpers and cytokines produced by T helpers. APCs – antigen-presenting cells; IL-4 – interleukin 4; IL-6 – interleukin 6; IL-9 – interleukin 9; IL-12 – interleukin 12; IL-21 – interleukin 21; IL-22 – interleukin 22; TGF-β – transforming growth factor β; Th1 – type 1 T helpers; Th2 – type 2 T helpers; Th17 – type 17 T helpers; Th9 – type 9 T helpers; Th22 – type 22 T helpers; Tfh – T follicular helper cells; IFN-γ – interferon γ; T-bet – transcription factor expressed on the surface of type 1 T helpers

типов $CD4^+$ -Т-хелперных лимфоцитов (Th1, Th2, Th17, Th22, Th9, Tfh), характеризующихся разным цитокиновым профилем (рис. 2).

Th1 дифференцируются под влиянием выработки макрофагами, ДК, естественными киллерами (НК-клетками) цитокинов – интерлейкина 12 (IL-12) и интерферона γ (IFN-γ). Интерферон γ является основным эффекторным цитокином клеток Th1, который функционирует для привлечения нейтрофилов, распознавания антигенов и фагоцитоза внутриклеточных микробов. Цитокины Th1 также стимулируют цитотоксические реакции лимфоцитов и НК-клеток, которые имеют решающее значение для клеточно-опосредованных иммунных реакций при вирусных инфекциях и опухолевом иммунитете.

Дифференцировка Th2 инициируется передачей сигналов Т-клеточного рецептора (TCR) и интерлейкина 4 (IL-4). Цитокины Th2 рекрутируют тучные клетки и базофилы, лейкоциты и активируют макрофаги путем секреции IL-4 и интерлейкина 13 (IL-13) [3]. В связи с постоянной стимуляцией лимфоидной ткани ротовой полости антигенами внешней среды без ин-

дукции воспалительных реакций основным типом иммунного ответа в этой области является иммунологическая толерантность. Как правило, именно Tregs считаются ключевым фактором толерантности. При этом пристальное внимание уделено $CD4^+$ -Т-лимфоцитам, экспрессирующим CD25 и транскрипционный фактор FoxP3 [4].

Tregs секретируют цитокины интерлейкин 10 (IL-10), трансформирующий фактор роста β (TGF-β) и интерлейкин 3 (IL-3), способствуя ингибированию синтеза и секреции провоспалительных факторов, подавляя экспрессию главного комплекса гистосовместимости класса II (major histocompatibility complex, МНС–II), костимулирующих молекул и пролиферацию Т-лимфоцитов [1]. Кроме того, Tregs способны модулировать функцию ДК посредством экспрессии антигена цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4), которые связываются с CD80/CD86, конкурируя за костимуляцию CD28 или мембранного белка гена 3 активации лимфоцитов (LAG 3/CD223). При его связывании с МНС–II нарушается функция презентации антигена [1]. Клетки FoxP3⁺-Treg могут образовываться в тимусе (tTregs) или натуральные Tregs (nTregs) или периферических тканях (периферические Tregs (pTregs)). Также под воздействием TGF-β образуются индуцируемые Tregs (iTregs). Клетки tTreg распознают собственные антигены и предотвращают аутоиммунные реакции [5]. Различить pTregs и tTregs довольно сложно, однако маркер активации Neuropilin-1 (Nrp-1) более характерен для tTregs и в меньшем количестве экспрессирован на Treg ротовой полости [6, 7]. Это свидетельствует о периферическом происхождении $CD103^+$ FoxP3⁺-Tregs ротовой полости.

Tregs контролируют иммунный ответ эффекторных и индуктивных участков. FoxP3⁺-Tregs активируются в лимфоидных структурах и рекрутируются при воспалении сигнальным механизмом CCL22-CCR4, ослабляя иммунный ответ в эпителии [8, 9]. Tregs регулируют выработку антител во вторичных лимфоидных структурах (индуктивных участках), стимулируемых BCL6⁺-Т-хелперными фолликулярными лимфоцитами (Tfh). Эти лимфоциты взаимодействуют с В-лимфоцитами на границах между зонами Т-клеток и В-клеточными фолликулами, способствуя их дифференцировке в долгоживущие плазматические клетки и В-лимфоциты памяти в герминативных центрах лимфоидной ткани [1]. Однако этот процесс регулируется Т-регуляторными фолликулярными клетками, включающими FoxP3⁺- и CD25⁺-tTregs и pTregs. Т-регуляторные фолликулярные клетки влияют на пролиферацию и секрецию цитокинов Tfh, тем самым модифицируя гуморальные ответы на разных уровнях (размер герминативного центра, отбор антигенспецифических клонов В-клеток, модуляция переключения классов и созревания аффинности) [10].

Таким образом, Tregs играют ключевую роль в поддержании иммунного гомеостаза и контроле иммунных реакций в слизистой оболочке полости рта и ассоциированной лимфоидной ткани. Их функционирование зависит от ДК, которые представляют собой весьма гетерогенную популяцию. Дендритные клетки находятся в состоянии покоя в периферических и лимфоидных тканях, выступая в качестве сигнальных клеток иммунной системы. В слизистой оболочке полости рта у человека имеются 2 типа ДК: ДК, экспрессирующие лангерин (CD207) (клетки Лангерганса), находящиеся между эпителиальными клетками, и конвенциональные ДК, располагающиеся вблизи собственной пластинки. Основная популяция ДК слизистой оболочки представлена CD11b- и CD103⁺-ДК. Происхождение резидентных ДК неизвестно, однако некоторые из них могут дифференцироваться в костном мозге из незрелых миелоидных клеток (IMCs). Эти клетки и миелоидные клетки-предшественники составляют уникальную популяцию, известную как миелоидные клетки-супрессоры (MDSCs), и обладают выраженным иммуномодулирующим потенциалом при воспалительных/инфекционных процессах [1]. Миелоидные клетки-супрессоры наиболее изучены при плоскоклеточном раке полости рта, поскольку они способствуют росту опухолевых клеток и уклонению от иммунного ответа [11–13]. Также MDSCs способны к дифференцировке в резидентные макрофаги, которые дифференцируются в провоспалительные макрофаги 1-го (M1) и 2-го (M2) типов [3]. Различия между макрофагами и ДК не окончательно установлены и являются весьма дискуссионными [1, 14]. Дендритные клетки служат связующим звеном между врожденным и адаптивным иммунитетом, презентуя антигены и вызывая антигенспецифические иммунные ответы. Однако в слизистой оболочке полости рта ДК имеют тенденцию к толерогенности ввиду незрелого или полужрелого фенотипа со слабой экспрессией костимуляторов (CD80, CD83, CD86) и молекул МНС-II, высвобождая противовоспалительные цитокины (IL-10 или TGF- β). Также эти клетки экспрессируют ингибирующие молекулы PD-L1, PD-L2 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 2) или CTLA-4 [1].

Реакция иммунной системы на опухолевую клетку заключается в иммуноредактировании, при котором для клинической манифестации заболевания обязательными этапами являются фазы элиминации, равновесия и ускользания. Иммуноредактирование характеризуется изменением иммуногенности опухоли в связи с противоопухолевым ответом иммунной системы, итогом которого служит появление иммунорезистентной опухолевой клетки. В 1-й фазе — элиминации — происходит активация врожденного и адаптивного иммунных ответов против опухолевой клетки. Результатом 2-й фазы — достижения равновесия — является

приобретение опухолевой клеткой неиммуногенного фенотипа после ускользания от иммунного ответа. В этой фазе специфические Т-лимфоциты и цитокины селективно воздействуют на опухолевые клетки, которые генетически нестабильны и быстро мутируют. После этого резистентные к элиминации опухолевые клетки переходят в 3-ю фазу — ускользание, в течение которой осуществляются неконтролируемый рост и экспансия тканей [15].

Формирование иммунного ответа в 1-й фазе — элиминации — включает активацию врожденного иммунного ответа, активацию специфических противоопухолевых Т-лимфоцитов и гибель опухолевой клетки под влиянием Т-лимфоцитов. Для активации иммунной системы необходимо прямое взаимодействие иммунных клеток и опухолеассоциированных антигенов (ОААГ), которые являются продуктами мутировавших генов, aberrантно экспрессируемых нормальных генов или вирусными белками. Взаимодействие ОААГ и иммунных клеток, их представление антигенпрезентирующей клеткой инициирует приобретение специфического фенотипа наивными CD8⁺-Т-лимфоцитами в отношении конкретных ОААГ [16–18]. Третья фаза — ускользание — включает миграцию цитотоксических Т-лимфоцитов к опухоли и атаку опухолевой клетки. В этом процессе значимую роль играет микроокружение опухоли в связи с его возможным ингибирующим действием на эффекторные CD8⁺-Т-лимфоциты [19, 20]. Нарушение иммунного ответа связано с подавлением активности эффекторных CD8⁺-Т-лимфоцитов цитокинами или взаимодействием с другими клетками иммунной системы, в частности Tregs, экспрессирующими CTLA-4, CD25 и FoxP3 [21]. При онкологическом процессе наблюдается увеличение как циркулирующих, так и опухоль-инфильтрирующих Tregs [22, 23]. Их привлечению в микроокружение опухоли из периферического кровообращения способствует взаимодействие CCR4 с его лигандом CCL22, который секретируют опухолевые клетки. Tregs в опухоли претерпевают изменение до активного иммуносупрессивного фенотипа под влиянием цитокинов TGF- β , IL-35 и IL-10, ослабляя опосредованный CD8⁺-Т-лимфоцитами иммунный ответ за счет прямого воздействия экспрессируемых белков (CTLA-4, TIM-3, CD39 и CD73). CTLA-4 способен связывать костимулирующую молекулу B7 на антигенпрезентирующих клетках, предотвращая их взаимодействие с CD28 на клеточной поверхности CD8⁺-Т-лимфоцитов. В результате Т-лимфоциты не активируются под влиянием антигенпрезентирующих клеток, что приводит к значительному снижению их пролиферации [21].

TIM-3 был впервые идентифицирован как основной фактор аутоиммунных заболеваний, экспрессируемый Tregs. Этот белок играет ключевую роль в ингибировании ответа Th1 и экспрессии фактора некроза

опухоли α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) и IFN- γ . Показано, что Tregs, экспрессирующие TIM-3, обладают более высокой иммуносупрессивной способностью из-за повышенной продукции ими IL-10 и других супрессорных молекул [24, 25]. Стимуляция TIM-3 на клеточной мембране Tregs может происходить при взаимодействии с галектином-9 на поверхности опухолевых клеток. Также в опухолевой клетке подавляется синтез молекул гистосовместимости — человеческого лейкоцитарного антигена класса I (class I human leukocyte antigen, HLA I), необходимых для презентации антигена и выработки цитокинов, влияющих на функцию CD8⁺-Т-лимфоцитов [21].

Факторы риска развития плоскоклеточного рака головы и шеи с позиции супрессивного влияния на системный и локальный иммунный ответ

Хроническое воздействие сигаретного дыма, в состав которого входят канцерогены (метилхолантрен, бензо- α -пирены, акролеин и др.), токсины (окись углерода, аммиак, ацетон, никотин, гидрохинон), химически активные твердые вещества и окислители (супероксид, перекись водорода, оксиды азота), связано с изменением гуморального и клеточно-опосредованного иммунного ответа. Влияние сигаретного дыма на иммунную систему многообразно и носит двойственный характер: провоспалительный и иммуносупрессивный.

Дым сигарет приводит к выработке провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), приводя к накоплению иммунных клеток в слизистой оболочке дыхательных путей. Однако результаты многих исследований *in vitro* свидетельствуют об иммуносупрессивных свойствах сигаретного дыма. Так, показано, что никотин снижает продукцию IL-6, IL-8 и IL-10. Один из потенциальных никотин-индуцированных иммуносупрессивных путей связан с активацией никотинового ацетилхолинового рецептора $\alpha 7$ на макрофагах, Т- и В-лимфоцитах, что подавляет ответы Th1 и Th17 со сдвигом в сторону Th2-опосредованной иммунной реакции. Также вдыхание акролеина способствует реакциям гиперчувствительности дыхательных путей и накоплению в них нейтрофилов, что вызывает иммунную толерантность [26].

Данные о влиянии сигаретного дыма на иммунологические изменения в периферической крови пациентов с ПРГШ ограничены. В исследование С. Idel и соавт. включены 64 больных с данной патологией, которые были разделены на 3 группы: некурящих, бывших курильщиков и активных курильщиков, а также на непьющих и злоупотребляющих алкоголем и на 2 возрастные группы (моложе 65 лет и старше 65 лет). Установлена гетерогенность типов моноцитов у больных

ПРГШ по сравнению со здоровыми донорами, однако не выявлена гетерогенность типов моноцитов в зависимости от курения, употребления алкоголя или возраста. Кроме того, различия экспрессии PD-L1 на моноцитах не связаны с курением и приемом алкоголя, а снижение уровня экспрессии моноцитарного PD-L1 наблюдалось у больных ПРГШ старше 65 лет по сравнению с более молодой когортой. Это можно объяснить нарушением активации моноцитарного ядерного фактора транскрипции NF- κ B у пожилых людей [27].

Предполагается, что рецептор хемокина CX3CR1 (C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1, CX3CR1) играет большую роль в противоопухолевом иммунном ответе путем рекрутирования и активации эффекторных Т-лимфоцитов [28]. Показано значительное снижение содержания CD4⁺-Т-лимфоцитов, сопровождающееся повышенным уровнем CD4⁺-Т-клеток памяти у пациентов с ПРГШ. Между подгруппами пациентов, разделенных по принципу курения и употребления алкоголя, не было обнаружено существенных различий. Однако у активно курящих и злоупотребляющих алкоголем больных ПРГШ обнаружено увеличение CD8⁺-Т-лимфоцитов и снижение CD8⁺-Т-клеток памяти по сравнению с некурящими/непьющими пациентами [29]. Однако при этом в микроокружении опухоли выявлено меньшее количество CD8⁺-Т-лимфоцитов, что предполагает перераспределительный характер повышения циркулирующих CD8⁺-Т-лимфоцитов. Кроме того, вероятнее всего, курение и злоупотребление алкоголем синергично повышают риск развития ПРГШ из-за действия этанола — растворителя канцерогенов сигаретного дыма. При проведении лучевой терапии курение связано с неблагоприятными исходами у больных ПРГШ в связи с высоким уровнем карбоксигемоглобина в крови, что приводит к снижению оксигенации опухоли. Выявлено уменьшение доли CD4⁺-Т-лимфоцитов, сопровождающееся повышением уровня CD4⁺-Т-клеток памяти, особенно у пожилых пациентов с данной патологией ввиду возрастного снижения функции тимуса. У здоровых людей при активации Т-клетки памяти быстро превращаются в эффекторные Т-лимфоциты [26]. Аналогичный переход от наивных к эффекторным Т-клеткам памяти наблюдается у пациентов с раком ротоглотки, независимо от ВПЧ-статуса [30, 31]. Также показано снижение экспрессии иммуносупрессивных маркеров CD73 и CCR7 на периферических Т-лимфоцитах у здоровых добровольцев, а также у пожилых онкологических пациентов [32].

В исследовании А. Desrichard и соавт. выявлена схожесть ПРГШ и плоскоклеточного рака легкого по профилю иммунной инфильтрации, цитолитической активности и активации сигнального пути IFN- γ . Анализ экспрессии генов продемонстрировал иммуносупрессию у курящих больных ПРГШ в связи с низкой экспрессией MHC-II, Т-клеточных рецепторов,

иммунорегуляторных молекул и цитокинов. Пациенты, не отказавшиеся от курения, имели самое низкое количество иммунных клеток по сравнению с бывшими курильщиками и никогда не курившими больными [33]. С учетом отсутствия различий в профилях мутаций в зависимости от статуса курения такое различие может быть обусловлено экспрессией генов или синтеза белков из-за недавней экспозиции сигаретного дыма. Кроме того, активность сигнальных путей интерферона α и IFN- γ была снижена у пациентов, не отказавшихся от курения по сравнению с теми, кто никогда не курил или бросил курить.

Анализ профилей хемокинов у курящих пациентов показал снижение экспрессии CXCL9, CXCL10 и CXCL11, регуляторов иммунной миграции, дифференцировки и активации клеток за счет привлечения цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток в ответ на экспрессию IFN- γ . У активных курильщиков выявлено меньшее количество PD-L1-позитивных клеток в опухоли по сравнению с никогда не курившими и теми, кто бросил курить, что объясняет низкую частоту ответа на анти-PD-1-терапию по сравнению с некурящими больными ПРГШ. На мышинной модели ПРГШ показано снижение эффективности анти-PD-1-терапии при блокировании CXCR3, что демонстрирует важную роль хоминг-эффекта Т-лимфоцитов при взаимодействии CXCL9, -10, -11 и CXCR3. Таким образом, активное курение при ПРГШ может иметь существенное иммуносупрессивное значение за счет подавления хемотаксиса Т-лимфоцитов и уменьшения эффективности анти-PD-1-терапии [26, 34].

Особенности иммунного ответа при ассоциации плоскоклеточного рака головы и шеи с вирусом папилломы человека

При ВПЧ-позитивном ПРГШ описано несколько механизмов уклонения от иммунологического надзора. Однако, вероятно, благоприятный прогноз рака, ассоциированного с ВПЧ, связан с эффективным противовирусным иммунным ответом и выраженной инфильтрацией опухоли лимфоцитами [35]. В исследованиях показана значимая роль гуморального адаптивного иммунного ответа, в частности плазматических клеток, ввиду выработки противовирусных антител. Наличие антител к ВПЧ, по-видимому, является потенциальным прогностическим и диагностическим маркером ВПЧ-ассоциированного ПРГШ. Е.М. Smith и соавт. обнаружили, что у 67 % больных ВПЧ-позитивным раком отмечалось наличие антител к Е6 и/или Е7 [36]. Показано, что антитела к Е6 ВПЧ 16-го типа на момент постановки диагноза присутствуют у подавляющего большинства пациентов с ВПЧ-ассоциированным орофарингеальным плоскоклеточным раком (ОФПКР) [37]. У больных, не имеющих антител к Е6 ВПЧ 16-го типа на момент постановки диагноза, как правило, реци-

дивы развиваются чаще. Кроме того, А.Р. Kreimer и соавт. показали, что серопозитивность в отношении Е6 ВПЧ 16-го типа может быть обнаружена в плазме пациентов с ОФПКР, диагностированным более 10 лет назад [38].

Исследования продемонстрировали, что лучший прогноз при ВПЧ-позитивном ПРГШ был в значительной степени обусловлен опухоль-инфильтрирующими Т-лимфоцитами (TILs). Высокий уровень инфильтрации внутриопухолевыми и стромальными CD8⁺-Т-лимфоцитами связан с увеличением показателей выживаемости при ВПЧ-ассоциированном ОФПКР [39]. Было выявлено, что 3-летняя выживаемость пациентов с ВПЧ-положительным ОФПКР и высоким, средним и низким уровнями TILs в опухоли составила 94, 72 и 56 % соответственно. Следует отметить, что показатели выживаемости больных с опухолями, ассоциированными с ВПЧ, низким уровнем TILs и ВПЧ-негативным ОФПКР были одинаковыми [40, 41]. Повышенные уровни как циркулирующих, так и инфильтрирующих опухоль CD8⁺-Т-лимфоцитов, по-видимому, связаны с лучшей выживаемостью при ВПЧ-положительном ПРГШ. Установлено, что пациенты с высоким уровнем циркулирующих CD8⁺-Т-лимфоцитов (>24 %), как правило, имеют большую продолжительность жизни и лучший ответ на химиолучевую терапию по сравнению с пациентами, имеющими низкий уровень CD8⁺-Т-лимфоцитов. Есть данные, что при ВПЧ-позитивном ОФПКР повышена частота Е7-специфических CD8⁺-Т-клеток в циркулирующей крови, обладающих способностью секретировать IFN- γ . Таким образом, наличие CD4⁺- и CD8⁺-Т-лимфоцитов может быть свидетельством иммунного ответа в отношении Е6 или Е7 ВПЧ более чем у 60 % больных ВПЧ-позитивным ОФПКР [42, 43]. При этом повышенный уровень Е7-специфических CD8⁺-Т-лимфоцитов связан с увеличением периода без признаков заболевания. Высокий уровень ВПЧ-специфических CD4⁺-Т-лимфоцитов обусловлен IFN- γ и TNF- α , которые обладают способностью повышать эффективность цисплатинсодержащей терапии. Несмотря на то, что связи между количеством CD4⁺-Т-лимфоцитов и общей выживаемостью у пациентов с ВПЧ-положительным ПРГШ не обнаружено, высокий уровень CD4⁺-Т-лимфоцитов влиял на прогноз ВПЧ-негативных опухолей [44]. Также более низкое соотношение CD4⁺-/CD8⁺-Т-лимфоцитов связано с увеличением продолжительности жизни при ВПЧ-позитивном ПРГШ [39, 45].

В исследовании с участием 139 пациентов высокая инфильтрация CD3⁺-Т-лимфоцитов в опухоли и строме ВПЧ-позитивного ОФПКР была связана с благоприятным прогнозом, а стромальная инфильтрация CD3⁺-CD8⁺-Т-клетками — с лучшим клиническим эффектом лечения [46]. Однако инфильтрация CD3⁺-Т-лимфоцитами влияет на увеличение показателей

выживаемости лишь при ВПЧ-отрицательном ПРГШ и не оказывает прогностического влияния на ВПЧ-положительные опухоли. Интересно, что повышенная инфильтрация PD-1⁺-Т-лимфоцитов, включая PD-1⁺CD4⁺Т- и PD-1⁺CD8⁺-Т-лимфоциты, коррелирует с благоприятным клиническим исходом у пациентов с ПРГШ, ассоциированным с ВПЧ [39]. При этом часть PD-1⁺-Т-лимфоцитов в микроокружении опухоли не истощается ввиду отсутствия коэкспрессии TIM-3 и PD-1 в этих клетках. PD-1⁺-Т-лимфоциты экспрессируют более высокие уровни HLA-DR и CD38, что может подавлять рост опухоли. У больных ВПЧ-положительным ОФПКР с высоким уровнем PD-L1 на опухолевых иммунных клетках отмечается увеличение продолжительности жизни [42].

Изучение CD20⁺-В-лимфоцитов в микроокружении опухоли привело к пониманию их благоприятного влияния на прогноз многих опухолей. Однако регуляторные В-лимфоциты на мышиных моделях и при различных онкологических заболеваниях человека характеризуются иммуносупрессивными свойствами. На биологических моделях установлены протуморогенные свойства иммунных комплексов, содержащих иммуноглобулины. Тем не менее В-лимфоциты являются источником противоопухолевых антител, принимающих участие в реализации антителозависимой цитотоксичности, и служат антигенпрезентирующими клетками, активируя Т-лимфоциты.

Третичные лимфоидные структуры в микроокружении опухоли характеризуются взаимодействием В- и Т-лимфоцитов, а их наличие улучшает показатели выживаемости пациентов при онкологических заболеваниях, в том числе при плоскоклеточном раке ротовой полости. Несмотря на способность ВПЧ-негативного ПРГШ экспрессировать различные ОААГ, гуморальный ответ на большинство из них при химическом канцерогенезе не изучен. Большинство исследований гуморального ответа в отношении отдельных ОААГ основывались на иммуногистохимическом анализе CD20⁺-В-лимфоцитов, являющихся предиктором благоприятного исхода на ранней стадии ПРГШ. Однако существует обратная корреляция на поздней стадии, предполагающая пластичность функции и состава В-лимфоцитов в течении заболевания [47]. В исследовании A. Lechnera и соавт. внутриопухолевые В-лимфоциты в основном представлены активированными CD86⁺-В-лимфоцитами, антигенпрезентирующими (CD86⁺/CD21⁻) В-лимфоцитами и В-лимфоцитами памяти (IgD⁻/CD27⁺). При этом повышено количество опухолевых фолликулярных Т-хелперов (CD4⁺/CXCR5⁺/CD45RA⁻/CCR7⁻) и плазматических клеток в третичных лимфоидных структурах.

Анализ гуморального иммунного ответа на 23 ОААГ показал реактивность, по крайней мере, в отношении 1 антигена у 56 % больных ПРГШ. Иммунореактив-

ность была менее выражена при ВПЧ-положительном ПРГШ и у здоровых людей по сравнению с ВПЧ-негативным ПРГШ. Точно так же у пациентов с ПРГШ ранней стадии или с утратой МНС-I на опухолевых клетках наблюдалась низкая иммунореактивность в отношении ОААГ. Антитела к ОААГ чаще выявлялись на поздних стадиях ПРГШ, хотя субпопуляции В-лимфоцитов не различались в зависимости от стадии заболевания [48]. Отмечен более выраженный гуморальный ответ антител на ОААГ у пациентов с высокой экспрессией МНС-I, следовательно, экспрессия МНС-I при ПРГШ не только влияет на ответы эффекторных Т-лимфоцитов или НК-клеток, но и может воздействовать на функцию В-лимфоцитов [47-48].

Кроме ассоциации рака ротоглотки с ВПЧ появляется все больше данных о сочетании ПРГШ с вирусом гепатита С (ВГС) и совместном выявлении вирусов ВПЧ и ВГС. В исследовании P. Mahale и соавт. оценена связь между наличием антител к вирусу ВГ и ПРГШ. Заболевание ПРГШ выявлено у 409 из 34 545 больных раком, протестированных на антитела к вирусу гепатита С: 164 (40 %) случая ОФПКР и 245 (60 %) — рака других локализаций. Больные ОФПКР были в основном мужчинами (82 % против 68 %; $p = 0,001$), у которых рак диагностирован в более молодом возрасте по сравнению с больными ПРГШ без антител к ВГС (медиана 59 лет против 63 лет; $p < 0,0001$), некурящими, но употребляющими алкоголь в большем количестве, чем пациенты контрольной группы. Выявлена достоверная связь антител к ВГС с ОФПКР ($p = 0,02$) и с другими ПРГШ других локализаций ($p = 0,005$). Однако показатели были значимы только для ВПЧ-положительного ОФПКР ($p = 0,001$) [49, 50]. Известно, что отличительным признаком хронической ВГС-инфекции является наличие функционально нарушенных вирус-специфических CD8⁺-Т-клеток, характеризующихся неспособностью к пролиферации или секреции противовирусных цитокинов. Это состояние истощения Т-клеток связано с активацией ингибирующих рецепторов, таких как PD-1, низкой экспрессией CD127 и нарушением функции ВГС-специфических CD4⁺-Т-лимфоцитов [50].

Роль гендерных различий в реализации адаптивного иммунного ответа и в ответе на иммунотерапевтические стратегии

В современной онкологии при выборе терапии в связи с наличием гендерных иммунологических особенностей все чаще учитывается пол пациента. Установлено, что клетки женского организма демонстрируют большую способность к преодолению клеточного стресса путем индукции протективных механизмов, таких как аутофагия и функционирование антиоксидантной системы. Гендерные факторы риска — курение, злоупотребление алкоголем, воздействие окружающей среды,

масса тела, диетические особенности — по-разному влияют на мужчин и женщин. При этом, несмотря на более высокий уровень повреждения ДНК у мужчин, способность к репарации ДНК у женщин ниже [51]. У женщин более активно функционирует врожденный и адаптивный иммунный ответ по сравнению с мужчинами, что снижает риск смерти от онкологического заболевания. Это сопряжено с эпигенетическими и генетическими факторами, гормональным фоном и психофизиологическими факторами [52].

Гены, играющие значимую роль в иммунном ответе, — кодирующий γ -субъединицу IL-2, толл-подобные рецепторы 7 (TLR7) и 8 (TLR8), CD40L и FoxP3 — расположены на X-хромосоме. Эта хромосома связана с иммуно-ассоциированными микроРНК, действующими как посттранскрипционные регуляторы экспрессии генов, нарушение регуляции которых связано с патогенезом многих типов опухолей. На X-хромосоме обнаружено около 120 генов, кодирующих микроРНК, тогда как на Y-хромосоме — 4, на аутосомах — 40–50. Уникальный способ наследования X-хромосомы в конечном счете является причиной иммунного дефицита у мужчин. Также половые гормоны влияют на дифференцировку, созревание, продолжительность жизни и эффекторные функции клеток иммунного ответа, включая ДК, нейтрофилы, NK-клетки, макрофаги, В- и Т-лимфоциты. Принято считать, что для женщин характерны аутоиммунные и воспалительные заболевания как следствие более напряженного иммунного ответа из-за преобладания Th1-пути иммунореактивности. В целом Th1 запускают эффективный противоопухолевый ответ. Однако гормональный фон у женщин циклический, и уровень гормонов, как и различные триггеры с соответствующим цитокиновым профилем, влияют на дихотомию Th1/Th2. Низкий уровень эстрогенов воздействует на дифференцировку Th1, в то время как высокий уровень эстрогена — на Tregs. При старении уровень эстрогена снижается только у женщин в менопаузе, а уменьшение уровня андрогенов происходит у обоих полов, начиная примерно с 30 лет. Показано, что сигнальный путь IL-6 специфичен для женщин, а продукция IFN- γ — для мужчин. Однако у женщин наивные Т-лимфоциты продуцируют IFN- γ , а у мужчин — интерлейкин 17 (IL-17). Сигнальный путь IL-10 не зависит от пола [53, 54]. В постпубертатный период у женщин наблюдаются высокие соотношения CD4/CD8, уровень CD4⁺-Т-лимфоцитов и низкий уровень CD8⁺-Т-лимфоцитов, Tregs и NK-клеток. Также для женщин характерен более высокий уровень В-лимфоцитов и иммуноглобулинов [51]. С учетом этих особенностей для манифестации метастатического заболевания онкологический процесс у пациентов женского пола должен демонстрировать более выраженную иммуносупрессию и существенно корректировать иммунный ответ. Этому может способствовать потеря

иммуногенности, что снижает эффективность иммунотерапевтических стратегий [54, 55].

Заболевания, ассоциированные с ВПЧ, также различаются по гендерному признаку из-за разной воспалительной реакции. Ингибирование эстрогенного сигнального механизма и активация тестостеронового механизма позволяют быстрее элиминировать вирус у мужчин [56]. Эстрадиол способен повышать продукцию иммуноглобулинов за счет увеличения высвобождения IL-10 моноцитами, что, в свою очередь, запускает секрецию В-лимфоцитами иммуноглобулинов (IgG и IgM). Тестостерон снижает выработку иммуноглобулина более чем на 50 %, напрямую влияя на секрецию IgG и IgM в В-лимфоцитах и снижая выработку моноцитами IL-6, одновременно увеличивая секрецию противовоспалительного IL-10. Также было показано, что эстрадиол непосредственно повышает экспрессию медиаторов выживания В-лимфоцитов (CD22, SHP-1 и Bcl-2) и изменяет экспрессию медиаторов апоптоза В-клеток (PD-1). К половым гормонам чувствительны не только В-лимфоциты, но и ДК, макрофаги, нейтрофилы и NK-клетки [51, 57–59].

В литературе широко обсуждается вопрос о влиянии пола и половых гормонов на эффективность иммунонкологических препаратов, клеточной иммунотерапии, в том числе анти-PD-1-, анти-PD-L1- и анти-CTLA-4-терапии [60, 61]. Терапия ИКТ может оказаться менее эффективной у женщин, чем у мужчин. В ходе нескольких исследований получены данные о том, что применение ИКТ в монорежиме в отношении показателей выживаемости более результативно у мужчин, тогда как ее использование в сочетании с химиотерапией — у женщин [55, 61–63]. Метаанализ, проведенный F. Conforti и соавт., показал, что женщины имеют лучшие показатели продолжительности жизни при анти-PD1/анти-PD-L1-терапии в сочетании с химиотерапией, чем мужчины (по сравнению с контрольной группой). Продemonстрирована большая клиническая эффективность монорежима ИКТ у мужчин по сравнению с контрольной группой [64]. Принято считать, что химиотерапия повышает мутационную нагрузку опухоли у женщин. Также различно влияние химиотерапии на модуляцию противоопухолевого иммунного ответа из-за разного состава микроокружения опухоли. Кроме того, антиэстроген фулвестрант, вероятно, можно использовать в комбинации с анти-PD-1/PD-L1-агентами [56, 65].

По данным генетического анализа (The Cancer Genome Atlas, TCGA), женщины с ВПЧ-негативным ПРГШ имеют худшие показатели выживаемости по сравнению с мужчинами. В исследовании R. Tobillo и соавт. больные получали либо лучевую терапию (ЛТ) с химиотерапией, или самостоятельную ЛТ ($n = 51$), либо хирургическое вмешательство совместно с химиолучевой терапией (ХЛТ) или без ХЛТ ($n = 410$).

У женщин наблюдалась повышенная экспрессия матричной РНК (мРНК) *PD1*, *PDL1*, *IDO1*, *CXCL11*, *TIGIT* и *TIM3* ($p < 0,05$). Не было различий в мутациях *TP53* или экспрессии мРНК генов *L1CAM*, *SAAI*, *CTLA4* и *LAG3*. Низкие показатели продолжительности жизни коррелировали с женским полом (отношение рисков (ОР) 1,7; доверительный интервал (ДИ) 1,12–1,74; $p = 0,01$), мутациями *TP53* (ОР 1,63; ДИ 1,03–2,60; $p = 0,03$), метастатическим поражением >4 лимфатических узлов включительно (ОР 1,71; ДИ 1,05–2,78; $p = 0,03$), положительными краями резекции (ОР 2,63; ДИ 1,51–4,58; $p < 0,001$) и экспрессией мРНК генов *PD1*, *PDL1*, *IDO1*, *CXCL11*, *TIGIT* и *TIM3* (ОР 2,72; ДИ 1,44–5,13; $p = 0,002$). При проведении регрессионного анализа с использованием модели Кокса на снижение выживаемости без прогрессирования влияли женский пол (ОР 1,36; ДИ 1,00–1,87; $p = 0,048$), экстракапсулярное поражение метастатических лимфатических узлов (ОР 2,44; ДИ 1,78–3,45; $p < 0,001$), метастатическое поражение ≥ 4 лимфатических узлов (ОР 1,46; ДИ 1,04–2,05; $p = 0,03$) и положительные края резекции (ОР 1,57; ДИ 1,07–2,32; $p = 0,02$) [66].

Влияние возраста на показатели иммунного ответа у больных плоскоклеточным раком головы и шеи

В последнее десятилетие наметилась тенденция к росту заболеваемости ПРГШ, в том числе и у пожилых пациентов. Однако эта категория больных зачастую не представлена в клинических исследованиях [67, 68]. При этом канцерогенез пожилых пациентов своеобразен в связи с возрастными изменениями иммунной системы, способствующими повышению восприимчивости к инфекционным заболеваниям и снижению иммунного ответа при вакцинации и канцерогенезе. Происходит инволюция вилочковой железы — первичного лимфоидного органа созревания Т-лимфоцитов, его замещение жировой тканью, следовательно, количество наивных Т-лимфоцитов, в частности $CD8^+$ -Т-лимфоцитов, неуклонно уменьшается [67, 69]. В результате снижения продукции наивных Т-лимфоцитов с возрастом происходит относительное увеличение функционально истощенных клеток памяти и эффекторных клеток.

В ходе метаанализа, включавшего более 11 тыс. пациентов с различными онкологическими патологиями, выявлено, что больные в возрасте 65 лет и старше получают больше пользы от иммунотерапии, чем более молодые пациенты [67]. Однако при ПРГШ возрастные показатели ответа на иммунотерапию еще окончательно не выяснены, поскольку в клинические исследования было включено лишь небольшое количество пожилых пациентов. Выявлены многочисленные возраст-ассоциированные повреждения Т-лимфоцитов как у здоровых пожилых добровольцев, так и у пожилых

онкологических пациентов. При этом в исследованиях продемонстрировано снижение реактивности иммунной системы — так называемое «старение» иммунной системы, или иммуносенесценция. В группе контроля наблюдались снижение количества $CD8^+$ -Т-лимфоцитов в периферической крови и экспрессии $CD73$ и $CCR7$, повышение экспрессии PD-1. Несмотря на снижение количества Т-лимфоцитов, с возрастом повышается относительное количество клеток памяти и эффекторных клеток, однако количество наивных $CD8^+$ -Т-лимфоцитов может быть снижено. Кроме того, с возрастом увеличивается соотношение $CD4^+$ -/ $CD8^+$ -Т-клеток у здоровых добровольцев, чего не наблюдалось у пожилых больных ПРГШ [67, 70, 71]. Вероятно, нарушения физиологических возрастных изменений в Т-лимфоцитах частично связаны с канцерогенезом. Экспрессия $CD73$ на $CD8^+$ -Т-лимфоцитах отрицательно коррелирует с пожилым возрастом у здоровых людей и в исследованной когорте пациентов с ПРГШ. Это может свидетельствовать о сниженной активности $CD8^+$ -Т-лимфоцитов у пожилых людей.

Экспрессия PD-1 с возрастом увеличивается во всех субпопуляциях Т-лимфоцитов как у здоровых добровольцев, так и у онкологических пациентов, что указывает на сдвиг в сторону усиления иммуносупрессии у пожилых людей. Вероятно, поэтому у больных раком старше 65 лет ингибирование PD-1 более эффективно, чем у более молодых пациентов [72]. Что касается ПРГШ, в исследовании Keynote-012 по изучению эффективности и безопасности пембролизумаба при рецидивирующем или метастатическом ПРГШ клинический ответ выявлен у 18 % больных, средний возраст которых составил 63 года [73]. В исследовании Checkmate-141 сравнивалась эффективность ниволумаба со стандартной однокомпонентной системной терапией у пациентов с ПРГШ и рецидивом заболевания в течение 6 мес после химиотерапии на основе препаратов платины [74]. Изначально у больных возрастной группы 65–75 лет не было выявлено различий в показателях общей выживаемости в случае применения ниволумаба по сравнению с другой терапией. Однако более поздний анализ показал значимое увеличение продолжительности жизни при применении ниволумаба независимо от демографических характеристик [34].

У пожилых онкологических пациентов количество Tregs в микроокружении опухоли ниже по сравнению с более молодыми больными. Несмотря на то, что Tregs подавляют иммунный ответ на опухолассоциированные антигены, при ПРГШ присутствие Tregs было связано с лучшими показателями выживаемости, особенно при орофарингеальном раке [67, 75]. Таким образом, снижение количества Tregs в опухолевой ткани у пожилых пациентов может указывать на меньшую восприимчивость иммунной системы в этой возрастной группе. Поскольку у пожилых пациентов часто не наблюдается

эффекта от химиолучевой терапии, анти-PD-1-терапия представляется обнадеживающей стратегией лечения у этой категории больных [76].

Заключение

В развитии ПРГШ большую роль играют многочисленные факторы риска, к которым относят курение, употребление алкоголя, особенности диеты и гигиены, а также инфицирование ВПЧ. Хотя в этиопатогенезе данного заболевания важное значение имеют генетические нарушения, представление о механизме взаимодействия различных факторов риска канцерогенеза окончательно не сформировано. Очевидным становится существенное влияние факторов риска ПРГШ на подавление иммунного ответа, способствующее уклонению опухоли от иммунологического надзора. Изменения показателей врожденного иммунитета, гуморального и клеточного звеньев адаптивного иммунного ответа связаны с различными клиническими и биологическими

особенностями: стадией, локализацией опухоли, ассоциацией с ВПЧ, гендерной принадлежностью и возрастом. Показано, что локальный и системный иммунные ответы принимают активное участие в реализации эффекта стандартных методов лечения онкологического заболевания, в свою очередь, претерпевая значимые изменения. Так, несмотря на доказанную эффективность анти-PD-1-терапии при ПРГШ, лишь небольшая часть пациентов получает от нее существенную клиническую пользу. Интерес представляют данные о влиянии гендерных различий, возраста, типа иммуносупрессивного влияния факторов канцерогенеза и предшествующего лечения на результативность анти-PD-1-терапии. Это указывает на необходимость расширения представлений об особенностях иммунного ответа в случае иммуносупрессивного воздействия факторов канцерогенеза и оптимизации подходов к консервативным методам лечения ПРГШ в связи с особенностями локального и системного иммунных ответов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pelaez-Prestel H.F., Sanchez-Trincado J.L., Lafuente E.M., Reche P.A. Immune tolerance in the oral mucosa. *Int J Mol Sci* 2021;22(22):12149. DOI: 10.3390/ijms222212149
2. Silva-Sanchez A., Randall T.D. Anatomical uniqueness of the mucosal immune system (GALT, NALT, iBALT) for the induction and regulation of mucosal immunity and tolerance. *Mucosal Vaccines* 2020;21–54. DOI: 10.1016/b978-0-12-811924-2.00002-x. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149644/>
3. Wu R.-Q., Zhang D.F., Tu E. et al. The mucosal immune system in the oral cavity – an orchestra of T cell diversity. *Int J of Oral Sci* 2014;6(3):125–32. DOI: 10.1038/ijos.2014.48
4. Park J.Y., Chung H., DiPalma D.T. et al. Immune quiescence in the oral mucosa is maintained by a uniquely large population of highly activated Foxp3(+) regulatory T cells. *Mucosal Immunol* 2018;11(4):1092–102. DOI: 10.1038/s41385-018-0027-2
5. Lee W., Lee G.R. Transcriptional regulation and development of regulatory T cells. *Exp Mol Med* 2018;50(3):e456. DOI: 10.1038/emmm.2017.313
6. Yadav M., Louvet C., Davini D. et al. Neuropilin-1 distinguishes natural and inducible regulatory T cells among regulatory T cell subsets in vivo. *J Exp Med* 2012;209:1713–22. DOI: 10.1084/jem.20120822
7. Weiss J.M., Bilate A.M., Gobert M. et al. Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced Foxp3+ T reg cells. *J Exp Med* 2012;209(10):1723–42. DOI: 10.1084/jem.20120914
8. Zhang Y., Guo, J., Jia R. Treg: a promising immunotherapeutic target in oral diseases. *Front Immunol* 2021;12:2195. DOI: 10.3389/fimmu.2021.667862
9. Francisconi C.F., Vieira A.E., Bigueti et al. Characterization of the protective role of regulatory T cells in experimental periapical lesion development and their chemoattraction manipulation as a therapeutic tool. *J Endod* 2016;42(1):120–6. DOI: 10.1016/j.joen.2015.09.022
10. Fonseca V.R., Graca L. Contribution of FoxP3(+) Tfr cells to overall human blood CXCR5(+) T cells. *Clin Exp Immunol* 2019;195(3):302–4. DOI: 10.1111/cei.13245
11. Dar A.A., Patil R.S., Pradhan et al. Myeloid-derived suppressor cells impede T cell functionality and promote Th17 differentiation in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2020;69(6):1071–86. DOI: 10.1007/s00262-020-02523-w
12. Pang X., Fan H.Y., Tang Y.L. et al. Myeloid-derived suppressor cells contribute to the malignant progression of oral squamous cell carcinoma. *PLoS ONE* 2020;15(2):e0229089. DOI: 10.1371/journal.pone.0229089
13. Zhong L.M., Liu Z.G., Zhou X. et al. Expansion of PMN-myeloid derived suppressor cells and their clinical relevance in patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2019;95:157–63. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.06.004
14. Shapouri-Moghaddam A., Mohammadian S., Vazini H. et al. A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol* 2018;233(9):6425–40. DOI: 10.1002/jcp.26429
15. Fridman W.H. From cancer immune surveillance to cancer immunoediting: birth of modern immuno-oncology. *J Immunol* 2018;201(3):825e826. DOI: 10.4049/jimmunol.1800827
16. Perri F., Ionna F., Scarpati G.D.V. et al. Translational research: a future strategy for managing squamous cell carcinoma of the head and neck? *Anticancer Agents Med Chem* 2018;18(9):1220e1227. DOI: 10.2174/1871520618666180411110036
17. Butt S.U., Malik L. Role of immunotherapy in bladder cancer: past, present and future. *Cancer Chemother Pharmacol* 2018;81(4):629e645. DOI: 10.1007/s00280-018-3518-7
18. Scarpati D.V.G., Fuscillo C., Perri F. et al. Ipilimumab in the treatment of metastatic melanoma: management of adverse events. *Onco Targets Ther* 2014;7:203e209. DOI: 10.2147/ott.s57335
19. Marra A., Ferrone C.R., Fuscillo C. et al. Translational research in cutaneous melanoma: new therapeutic perspectives. *Anticancer Agents Med Chem* 2018;18(2):166e181. DOI: 10.2174/1871520618666171219115335
20. Mahoney K.M., Freeman G.J., McDermott D.F. The next immune-checkpoint inhibitors: PD-1/PD-L1 blockade in melanoma. *Clin Ther* 2015;37(4):764e782. DOI: 10.1016/j.clinthera.2015.02.018
21. Ferri T.F., Ionna F., Carpati G.V.C. et al. Immune response against head and neck cancer: biological mechanisms and implication

- on therapy. *Translational Oncology* 2020;13(2):262–74. DOI: 10.1016/j.tranon.2019.11.008
22. Schipmann S., Wermker K., Schulze H.J. et al. Cutaneous and oral squamous cell carcinoma-dual immunosuppression via recruitment of FOXP3C regulatory T cells and endogenous tumour FOXP3 expression? *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42(8):1827–33. DOI: 1016/j.jcms.2014.06.022
 23. Tanaka A., Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Cell Res* 2017;27(1):109e118. DOI: 10.1038/cr.2016.151
 24. Yu J., Zhang H., Sun S. et al. The effects of Tim-3 activation on T-cells in gastric cancer progression. *Oncol Lett* 2019;17(2):1461–6. DOI: 10.3892/ol.2018.9743
 25. Sheng C.C., Han F.Y. Immunoregulation effects of TIM-3 on tumors. *Neoplasma* 2015;66(2):167e175. DOI: 10.4149/neo_2018_180610n385
 26. De la Iglesia J.V., Slebos R.J.C., Martin-Gomez L. et al. Effects of tobacco smoking on the tumor immune microenvironment in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2020;26(6):1474–85. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1769
 27. Panek C.A., Ramos M.V., Mejias M.P. et al. Differential expression of the fractalkine chemokine receptor (CX3CR1) in human monocytes during differentiation. *Cell Mol Immunol* 2015;12(6):669–80. DOI: 10.1038/cmi.2014.116
 28. Idel C., Loyal K., Rades D. et al. Smoking-, Alcohol-, and Age-related alterations of blood monocyte subsets and circulating CD4/CD8 T cells in head and neck cancer. *Biology* 2022;11(5):658. DOI: 10.3390/biology11050658
 29. Barnes T.A., Amir E. HYPE or HOPE: The prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *Br J Cancer* 2017;117(4):451–60. DOI: 10.1038/bjc.2017.220
 30. Turksma A.W., Bontkes H.J., Van den Heuvel H. et al. Effector memory T-cell frequencies in relation to tumour stage, location and HPV status in HNSCC patients. *Oral Dis* 2013;19(6):577–84. DOI: 10.1111/odi.12037
 31. Le Page A., Dupuis G., Larbi A. et al. Signal transduction changes in CD4(+) and CD8(+) T cell subpopulations with aging. *Exp Gerontol* 2018;105:128–39. DOI: 10.1016/j.exger.2018.01.005
 32. Jeske S.S., Schuler P.J., Doescher J. et al. Age-related changes in T lymphocytes of patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Immun Ageing* 2020;17:3. DOI: 10.1186/s12979-020-0174-7
 33. Desrichard A., Kuo F., Chowell D. et al. Tobacco smoking-associated alterations in the immune microenvironment of squamous cell carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2018;110(12):1386–92. DOI: 10.1093/jnci/djy060
 34. Ferris R.L., Blumenschein G., Fayette J. et al. Nivolumab vs investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression. *Oral Oncol* 2018;81:45–51. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2018.04.008
 35. Solomon B., Young R.J., Rischin D. Head and neck squamous cell carcinoma: genomics and emerging biomarkers for immunomodulatory cancer treatments. *Semin Cancer Biol* 2018;52(2):228–40. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.01.008
 36. Smith E.M., Pawlita M., Rubenstein L.M. et al. Risk factors and survival by HPV-16 E6 and E7 antibody status in human papillomavirus positive head and neck cancer. *Int J Cancer* 2010;127(1):111–7. DOI: 10.1002/ijc.25015
 37. Lang Kuhs K.A., Kreimer A.R., Trivedi S. et al. Human papillomavirus 16 E6 antibodies are sensitive for human papillomavirus – driven oropharyngeal cancer and are associated with recurrence. *Cancer* 2017;123(22):4382–90. DOI: 10.1002/cncr.30966
 38. Kreimer A.R., Johansson M., Waterboer T. et al. Evaluation of human papillomavirus antibodies and risk of subsequent head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(21):2708–15. DOI: 10.1200/JCO.2012.47.2738
 39. Wang H., Wang S., Tang Y-J. et al. The double-edged sword – how human papillomaviruses interact with immunity in head and neck cancer. *Front Immunol* 2019;10:653. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00653
 40. King E.V., Ottensmeier C.H., Thomas G.J. The immune response in HPV+ oropharyngeal cancer. *Oncoimmunology* 2014;3(1):e27254. DOI: 10.4161/onci.27254
 41. Partlová S., Boucek J., Kloudová K. et al. Distinct patterns of intratumoral immune cell infiltrates in patients with HPV-associated compared to non-virally induced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology* 2015;4(1):e965570. DOI: 10.4161/21624011.2014.965570
 42. Solomon B., Young R.J., Bressel M. et al. Prognostic significance of PD-L1+ and CD8+ immune cells in HPV+ oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2018;6(3):295–303. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0299
 43. Masterson L., Lechner M., Loewenbein S. et al. CD8+ T cell response to human papillomavirus 16 E7 is able to predict survival outcome in oropharyngeal cancer. *Eur J Cancer* 2016;67:141–51. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.08.012
 44. Welters M.J.P., Ma W., Santegeerts S.J.A.M. et al. Intratumoral HPV16-Specific T cells constitute a type I-oriented tumor microenvironment to improve survival in HPV16-driven oropharyngeal cancer. *Clin Cancer Res* 2018;24(3):634–47. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2140
 45. Krupar R., Robold K., Gaag D. et al. Immunologic and metabolic characteristics of HPV-negative and HPV-positive head and neck squamous cell carcinomas are strikingly different. *Virchows Arch* 2014;465(3):299–312. DOI: 10.1007/s00428-014-1630-6
 46. Oguejiofor K., Hall J., Slater C. et al. Stromal infiltration of CD8 T cells is associated with improved clinical outcome in HPV-positive oropharyngeal squamous carcinoma. *Br J Cancer* 2015;113(6):886–93. DOI: 10.1038/bjc.2015.277
 47. Lechner A., Schlößer H.A., Thelen M. et al. Tumor-associated B cells and humoral immune response in head and neck squamous cell carcinoma *Oncoimmunology* 2019;8(3):e1535293. DOI: 10.4161/onci.24065
 48. Svensson M.C., Warfvinge C.F., Fristedt R. et al. The integrative clinical impact of tumor-infiltrating T lymphocytes and NK cells in relation to B lymphocyte and plasma cell density in esophageal and gastric denocarcinoma. *Oncotarget* 2017;8(42):72108–26. DOI: 10.18632/oncotarget.v8i42
 49. Mahale P., Sturgis E.M., Tweardy D.J. et al. Association between hepatitis C virus and head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(8):djw035. DOI: 10.1093/jnci/djw035
 50. Heim M.H., Thimme R. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. *J Hepatol* 2014;61(1 Suppl):S14–25. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.06.035
 51. Irelli A., Sirufo M.M., D'Ugo C. et al. Sex and gender influences on cancer Immunotherapy response. *Biomedicine* 2020;8(7):232. DOI: 10.3390/biomedicine8070232
 52. Ortona E., Pierdominici M., Rider V. Editorial: Sex hormones and gender differences in immune responses. *Front Immunol* 2019;10:1076. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01076
 53. Pellegrini P., Contasta I., DelBeato T. et al. Gender-specific cytokine pathways, targets, and biomarkers for the switch from health to adenoma and colorectal cancer. *Clin Dev Immunol* 2011;819724. DOI: 10.1155/2011/819724
 54. Furman D., Hejblum B.P., Simon N. et al. Systems analysis of sex differences reveals an immunosuppressive role for testosterone in the response to influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(2):869–74. DOI: 10.1073/pnas.1321060111
 55. Conforti F., Pala L., Bagnardi V. et al. Cancer immunotherapy efficacy and patients' sex: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2018;19(6):737–46. DOI: 10.1016/s1470-2045(18)30261-4
 56. Garutti P., Montori S., Bazzan E., Tarabba C. Gender differences in the epidemiology and prevention of human papillomavirus (HPV) and HPV-related diseases. *Ital J Gender-Specific Med* 2018;4(4):152–61. DOI: 10.1723/3091.30836
 57. Mohamad N., Wong S., Hasan W.N.W. et al. The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men. *Aging Male* 2019;22(2):129–40. DOI: 10.1080/13685538.2018.1482487

58. Pala L., Nezi L., de Pas T. et al. Sex differences in efficacy and toxicity of systemic cancer treatments: role of the microbiome. *J Clin Oncol* 2019;37(5):439. DOI: 10.1200/jco.18.01270
59. Wagner A.D., Oertelt-Prigione S., Adjei A. et al. Gender medicine and oncology: report and consensus of an ESMO workshop. *Ann Oncol* 2019;30(12):1914–24. DOI: 10.1093/annonc/mdz414
60. Jäger U., Fridrik M.A., Zeitlinger M. et al. Rituximab serum concentrations during immuno-chemotherapy of follicular lymphoma correlate with patient gender, bone marrow infiltration and clinical response. *Haematologica* 2012;97(9):1431–8. DOI: 10.3324/haematol.2011.059246
61. Wang S., He Z., Wang X. et al. Can tumor mutational burden determine the most effective treatment for lung cancer patients? *Lung Cancer* 2020;8(4):LMT21. DOI: 10.2217/lmt-2019-0013
62. Pinto J.A., Vallejos C.S., Raez L.E. et al. Gender and outcomes in non-small cell lung cancer: an old prognostic variable comes back for targeted therapy and immunotherapy? *ESMO Open* 2018;3(3):e000344. DOI: 1136/esmoopen-2018-000344
63. Ruggieri A., Malorni W., Ricciardi W. Gender disparity in response to anti-viral vaccines: new clues toward personalized vaccinology *Ital J Gender-Specific Med* 2016;2(3):93–8. DOI: 10.1007/978-3-319-25832-4_1
64. Conforti F., Pala L., Bagnardi V. et al. Sex-based heterogeneity in response to lung cancer immunotherapy: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2019;111(8):772–81. DOI: 10.1093/jnci/djz094
65. Frasier J., Danes J.M., Komm B. et al. Profiling of estrogen up- and down-regulated gene expression in human breast cancer cells: insights into gene networks and pathways underlying estrogenic control of proliferation and cell phenotype. *Endocrinology* 2003;144(10):4562–74. DOI: 10.1210/en.2003-0567
66. Tobillo R., De Joya E., Dooley S. et al. Female sex and increased immune marker mRNA gene expression are associated with decreased overall survival in patients with HPV-negative head and neck cancer. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 2021;111(3S):e238–9. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2021.07.810
67. Jeske S.S., Schuler P.I., Doescher J. et al. Age-related changes in T lymphocytes of patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Immun Ageing* 2020;17:3. DOI: 10.1186/s12979-020-0174-7
68. Maggiore R., Zumsteg Z.S., BrintzenhofeSzoc K. et al. The older adult with Locoregionally advanced head and neck squamous cell carcinoma: knowledge gaps and future direction in assessment and treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017;98(4):868–83. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2017.02.022
69. Bottazzi B., Riboli E., Mantovani A. Aging, inflammation and cancer. *Semin Immunol* 2018;40:74–82. DOI: 10.1016/j.smim.2018.10.011
70. Saavedra D., Garcia B., Lage A. T cell subpopulations in healthy elderly and lung Cancer patients: insights from Cuban studies. *Front Immunol* 2017;8:146. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00146
71. Saavedra D., Garcia B., Lorenzo-Luaces P. et al. Biomarkers related to immunosenescence: relationships with therapy and survival in lung cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2016;65(1):37–45. DOI: 10.1007/s00262-015-1773-6
72. Constantinidou A., Aliferis C., Trafalis D.T. Targeting programmed cell death –1 (PD-1) and ligand (PD-L1): a new era in cancer active immunotherapy. *Pharmacol Ther* 2018;194:84–106. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2018.09.008
73. Seiwert T.Y., Burtneß B., Mehra R. et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016;17(7):956. DOI: 10.1016/s1470-2045(16)30066-3
74. Ferris R.L., Blumenschein G., Fayette J. et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2016;375(19):1856–67. DOI: 10.1056/nejmoa1602252
75. Shang B., Liu Y., Jiang S.J., Liu Y. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2015;5:15179. DOI: 10.1038/srep15179
76. Zumsteg Z.S., Cook-Wiens G., Yoshida E. et al. Incidence of Oropharyngeal Cancer among elderly patients in the United States. *JAMA Oncol* 2016;2(12):1617–23. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1804

Вклад авторов

А.И. Стукань: обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи;
Р.А. Мурашко, О.Н. Невёдов: научное редактирование;
Н.А. Цыган, А.Ю. Горьяинова: обзор литературы по теме статьи;
В.А. Порханов: утверждение окончательной версии статьи.

Authors' contribution

A.I. Stukan: literature review on the topic of the article, article writing;
R.A. Murashko, O.N. Nefedov: scientific editing;
N.A. Tsygan, A.Yu. Goryainova: literature review on the topic of the article;
V.A. Porkhanov: approval of the final version of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.И. Стукань / A.I. Stukan: <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>
Р.А. Мурашко / R.A. Murashko: <https://orcid.org/0000-0001-8084-8770>
Н.А. Цыган / N.A. Tsygan: <https://orcid.org/0000-0002-9783-6423>
О.Н. Невёдов / O.N. Nefyodov: <https://orcid.org/0000-0002-0325-0932>
А.Ю. Горьяинова / A.Yu. Goryainova: <https://orcid.org/0000-0001-7127-7945>
В.А. Порханов / V.A. Porkhanov: <https://orcid.org/0000-0003-0572-1395>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Funding. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 17.05.2022. **Принята к публикации:** 09.07.2022.
Article submitted: 17.05.2022. **Accepted for publication:** 09.07.2022.