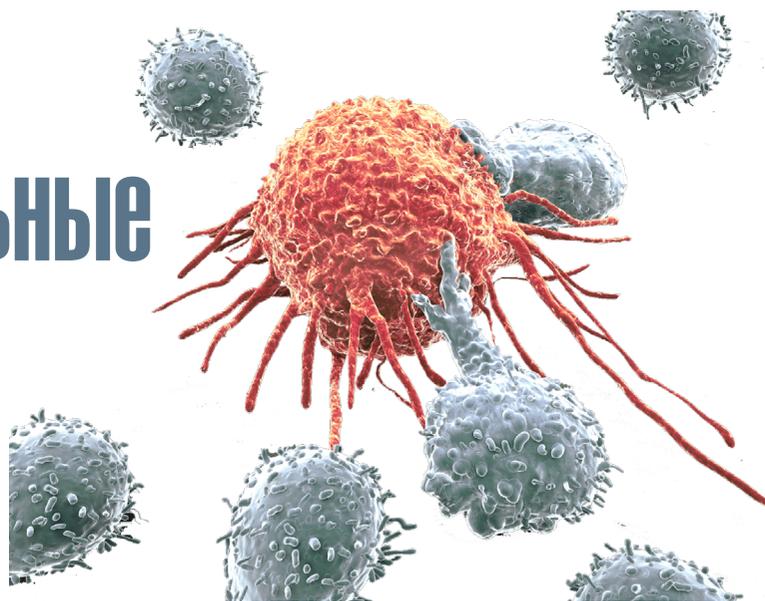


Дендримерные многофункциональные комплексы для генетической терапии рака



Алеся Становая,
научный сотрудник
лаборатории
нанобиотехнологий
Института биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси, аспирант;
alesiastanovaya@gmail.com

Мария Терехова,
научный сотрудник
лаборатории
нанобиотехнологий
Института биофизики и
клеточной инженерии
НАН Беларуси;
maryja.cierachava@yandex.by

Виктор Абашкин,
завлабораторией
нанобиотехнологий
Института биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук

Егор Улащик,
научный сотрудник
лаборатории химии
биокопьюгатов
Института физико-
органической химии
НАН Беларуси

Дмитрий Щербин,
завотделом медицинских
биотехнологий Института
биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси,
доктор биологических
наук, профессор

Аннотация. В статье представлен обзор синтезированных к настоящему времени наночастиц, перспективных для применения в терапии онкозаболеваний в качестве носителей лекарств и нуклеиновых кислот, а также для снижения токсичности противоопухолевых препаратов. Затрагиваются вопросы взаимодействия различных наноматериалов с малыми противораковыми РНК. Приведены данные использования некоторых нетоксичных и эффективных многофункциональных наноконъюгатов в генной терапии для лечения и диагностики онкологических заболеваний.

Ключевые слова: наноматериалы, дендримеры, миРНК, наноконъюгаты, наноносители, нанокомпозиты, рак, фототермическая терапия, фотодинамическая терапия, генная терапия.

Для цитирования: Становая А., Терехова М., Абашкин В., Улащик Е., Щербин Д. Дендримерные многофункциональные комплексы для генетической терапии рака // Наука и инновации. 2025. №1. С. 78–83.
<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2025-1-78-83>

Поиск эффективных способов лечения онкозаболеваний – одна из важнейших задач современной медицины. Большое внимание уделяется развитию генной терапии, в том числе такому подходу, как доставка противораковых малых РНК (малые интерферирующие РНК, микроРНК) в опухолевые клетки. Терапевтическое действие в данном случае осуществляется посредством метода РНК-интерференции,

подразумевающего использование систем доставки ввиду малой устойчивости молекул РНК в окружающей среде. Нанотехнологии и связанные с ними науки объединяют такие классические дисциплины, как химия, биология, физика и молекулярное моделирование, и новые подходы к созданию инновационных наномедицинских препаратов и лекарств, получению действенных и безопасных наноматериалов для доставки терапевтических агентов, в том числе малых РНК, в раковые клетки.

В данной статье представлен обзор мировых и анализ отечественных результатов по изучению взаимодействий между различными наночастицами (липидными, дендронизированными золотыми, амфифильными дендронами) и малыми противораковыми РНК для разработки эффективных и не вредящих здоровью носителей. В этом отношении дендримеры и другие наночастицы неиммуногенны, обладают самой высокой результативностью трансфекции среди других невирусных систем и не имеют недостатков, характерных для вирусных систем. Выявление их токсичности как *in vitro*, так и *in vivo* является важным моментом, который пристально изучался. Также в данной статье обсуждаются некоторые нетоксичные и эффективные многофункциональные наноконъюгаты для доставки генов.

Комплексные наночастицы, модифицированные дендронами, ПЭГ и фолатами для эффективной доставки противораковых миРНК

В качестве невирусных векторов для нескольких клеточных линий, включая раковые и стволовые клетки, M. San Anselmo с соавт. [1] предложили серию дендронизированных гиперразветвленных полимеров с концевыми аминогруппами разных поколений на основе диметилпропионовой (bis-MPA) или бис(глицилоксиметил)пропионовой (bis-GMPA) кислот. Исследователи обнаружили, что дендронизация повышает эффективность наночастиц при применении к линии мезенхимальных клеток. В свою очередь Y. Sun и др. [2] создали нанокристаллы целлюлозы, модифицированные ПАМАМ-дендримерами, для доставки противоопухолевой плазмидной ДНК или миРНК в раковые клетки. Наноконъюгат включал систему, состоящую из проапоптотического гена и предшественника лекарственного средства (цитозиндезаминаза/5-фторцитозин – CD/5-FC) и оказывал противораковое действие *in vivo*. Механизм РНК-интерференции для лечения онкологических заболеваний также применили Y. Wu и др. [3]. В качестве носителей миРНК в данном случае выступали дендримеры пептидов, состоящие из остатков глутаминовой кислоты и лизина. В результате экспрессия генов hTERT и TRF2 и концентрация соответствующих белков в опухолевых клетках линии A549/PTX снижались. Подавление регуляции генов hTERT и TRF2 наблюдалось *in vivo* у мышей, что приво-

дило к ингибированию роста опухолевых тканей. В качестве наносистемы для доставки миРНК был синтезирован и полимер катехол-ПЭГ, покрытый на поверхности дендримерами ПАМАМ 5-й генерации, модифицированными фенилборной кислотой [4]. Наноконъюгаты *in vivo* на мышах были стабильны в присутствии сыворотки и обладали способностью подавлять экспрессию генов в опухолевых клетках.

Наночастицы на основе липидов, амфифильных дендримеров и дендронов для доставки и визуализации миРНК

Амфифильный дендример, несущий гидрофобную алкильную цепь и гидрофильные ПАМАМ-дендроны, объединил преимущества липидных и дендримерных векторов для доставки миРНК HSP 27, а также индуцировал сильное подавление экспрессии генов и противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* на модели рака предстательной железы. Этот вектор имел гидрофобную алкильную цепь и гидрофильный ПАМАМ-дендрон с 7 третичными аминами внутри и 8 первичными аминами на концах. Важно, что таким образом был предложен новый способ терапии кастрационно-резистентного рака предстательной железы, для которого до сих пор не существует эффективного лечения [5]. M. Ebrahimian и др. [6] разработали сложный наноконъюгат, состоящий из ПАМАМ-дендримера ТАТ-пептида и гиалуроновой кислоты, модифицированный липосомами с усиленным зеленым флуоресцентным белком для обеспечения визуализации раковых клеток. Анализ применения данного наноконъюгата на мышах со злокачественными новообразованиями C26 (кишечного тракта неуточненной локализации) показал отсутствие значительной токсичности, эффективное биораспределение и высокую экспрессию гена зеленого флуоресцентного белка в опухолевых тканях. L. Farbiak и др. [7] использовали липидные наночастицы на основе дендримеров для создания системы CRISPR/CAS для коррекции гомологически направленной репарации (homology-directed repair, HDR) *in vivo*. Было обнаружено, что наноконъюгат редактирует >91% всех клеток с эффективностью HDR 56% *in vitro* и >20% *in vivo* в ксенотрансплантатных опухолях. E. Yuba и соавт. [8] для транспорта противораковой миРНК в клетки синтезировали дендронсодержащую липидную наносистему, модифицированную

сверхразветвленным лауриловым эфиром полиглицидола. Такой наноконкомплекс обладал высокой эффективностью трансфекции в отношении раковых клеток. L. Ding и др. [9] исследовали амфифильные дендримеры с радионуклидами In^{3+} для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, которая генерирует высококонтрастный профиль биораспределения, сопровождающийся резко сниженным поглощением в печени, и приводит к значительному улучшению визуализации опухолей. Группой исследователей был предложен оригинальный подход к использованию РНК в качестве строительного блока для построения дендримеров [10]. Были созданы дендримеры на основе РНК с поколениями от G1 до G4 и включенным противораковым препаратом паклитакселом. В результате комплексы продуктивно ингибировали рост раковых клеток. Инкапсуляция клеточно-связывающих лигандов и гидрофобных препаратов внутри дендримера значительно снижает эффективность клеточного и белкового связывания соответственно и демонстрирует экранирующий эффект РНК-дендримеров.

Магнитные наноконкомплексы и мультинаночастичные гибриды в лечении рака

Для создания сложной системы для зондирования опухолей на основе комплексов с магнитными наночастицами, модифицированными стрептавидином, X. Meng и др. [11] конъюгировали фолиевую кислоту с поверхностью ПАМАМ-дендримеров, модифици-

рованных ПЭГ и биотином. Была показана высокая эффективность визуализации на клеточной линии SKOV3 (аденокарцинома яичников). D. Li и др. [12] синтезировали многофункциональные наногриды желтых флуоресцентных углеродных точек (γ -CD) с дендримерами для ультразвуковой флуоресцентной визуализации и химиотерапии опухолей. Комплексы были нагружены противораковым препаратом доксорубицином и эффективно связывали лекарственные средства, отличались значительной интенсивностью флуоресценции, индуцированной γ -CD, и высокой скоростью высвобождения доксорубицина в опухолевых тканях. Кроме того, действие наноконкомплекс может быть усилено за счет эффекта сонопорации. R.C. Cooper с соавт. [13] разработали синтетический пептид ядерной локализации, конъюгированный с ПАМАМ-дендримером 4-й генерации, в качестве системы для доставки плазмиды, кодирующей зеленый флуоресцентный белок, в раковые клетки NIH3T3 (эмбриональные фибробласты мыши).

Мезопористые наночастицы в терапии рака

Для химиотерапевтического, фотодинамического и фототермического лечения рака H. W. Choi с соавт. [14] были синтезированы мезопористые кремнеземорганические наноконкомпозиты, нагруженные глутатионом в качестве антиоксиданта, гиалуронидазой в качестве фермента и доксорубицином. Были показаны их усиленное высвобождение и высокая терапевтическая эффективность

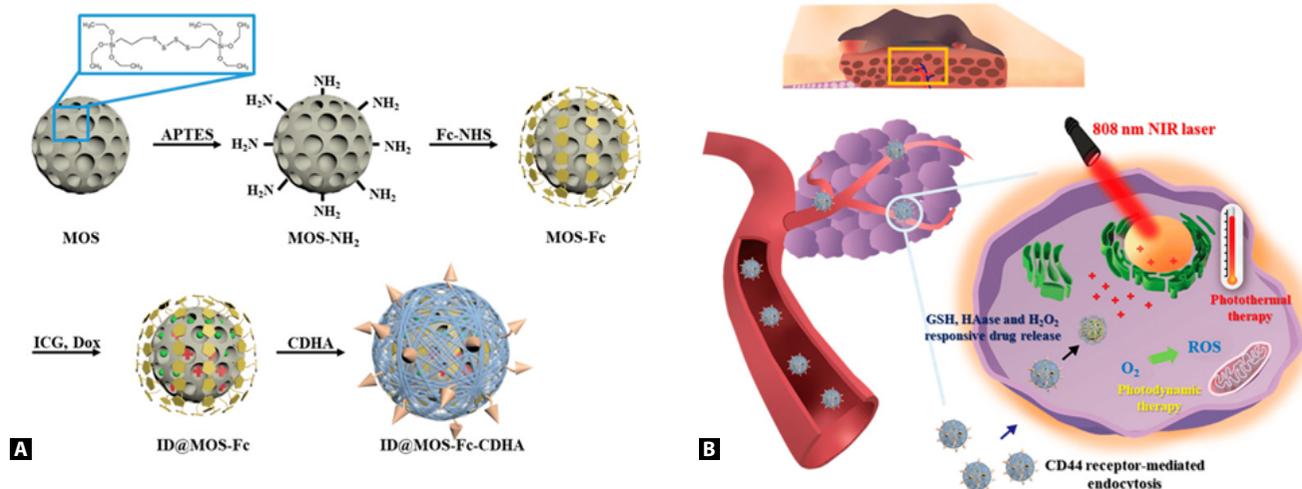


Рис. 1. А – процесс синтеза мультитриггерного наноконкомпозита, нацеленного на меланому; В – высвобождение лекарственного вещества, реагирующего на глутатион, гиалуронидазу и H_2O_2 [14]

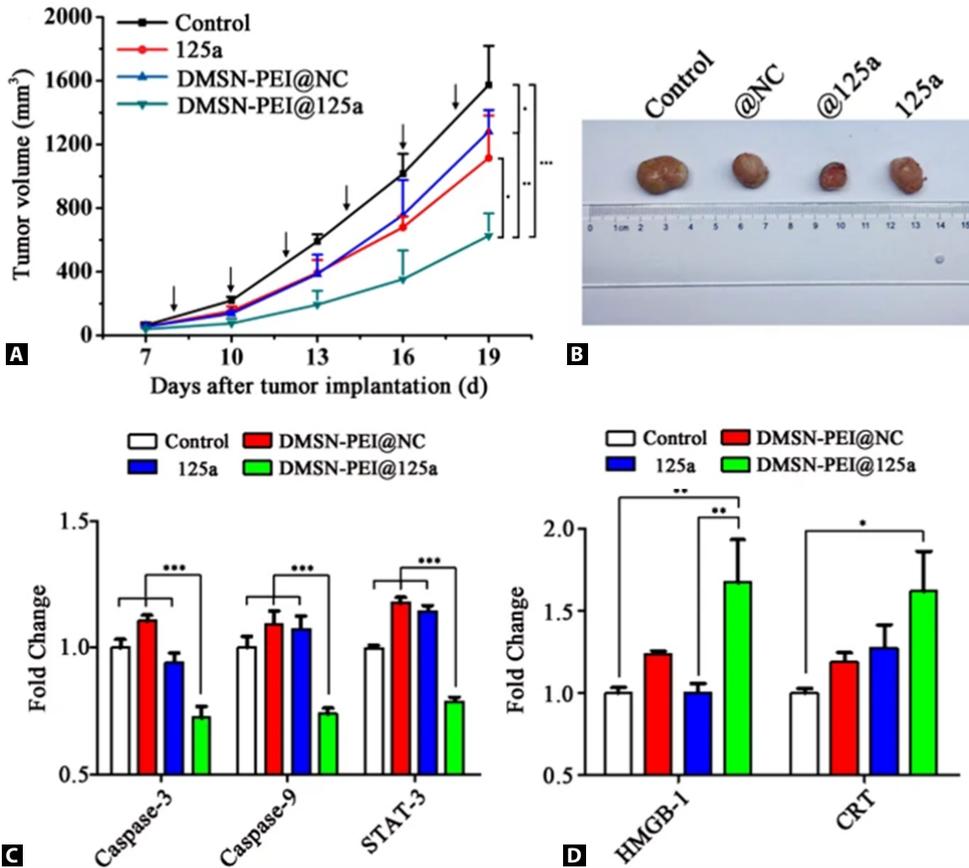


Рис. 2. Противоопухолевый эффект DMSN-PEI@125a *in vivo*. А – графики роста опухоли при различных методах лечения; В – фотоизображения типичных опухолей на 20-й день после имплантации опухоли; С, D – уровни экспрессии мРНК генов, связанных с апоптозом (caspase-3, caspase-9, STAT-3), и молекулярных паттернов, связанных с повреждением в опухолях [17]

при лазерном облучении на клетках меланомы со сверхэкспрессией CD44 (рис. 1).

J.G. Croissant и др. [15] создали золото-мезопористые кремнийорганические наноконпозиты для двухфотонной фотодинамической терапии раковых клеток, которые индуцировали гибель 63% клеток рака молочной железы (РМЖ) линии MCF-7. Для лечения этой патологии W. Zhan и др. [16] синтезировали биоразлагаемые наноконпозиты мезопористого кремнезема с доксорубицином и противораковым препаратом IR780. Результаты *in vivo* показали, что они накапливаются преимущественно в опухолевых тканях и проявляют усиленное противоопухолевое действие на моделях мышей с РМЖ. L. Yang и др. [17] разработали модифицированные полиэтиленгликолем (PEI) дендритные мезопористые наноконпозиты кремнезема (DMSN), модифицированные микроРНК-125а (DMSN-PEI@125a), для индукции иммунного ответа и реверсии иммуносупрессии в раковых клетках. Данные *in vitro* показали, что наноконпозиты индуцировали реполяризацию опухолеассоциированных макрофагов до неракового типа M1 и способствовали иммуногенной гибели клеток линии клеток рака шейки матки TC-1. При

исследованиях *in vivo* на мышах отмечалось ингибирование роста опухоли TC-1 (рис. 2).

Также были созданы магнитные мезопористые наночастицы кремнезема, нагруженные фотосенсибилизатором хлорином е6 (Ce6) и доксорубицином, для фотодинамической терапии рака [18]. Исследования *in vivo* на мышах Balb/c с опухолями показали синергетический противоопухолевый эффект как е6, так и доксорубицина. Другая группа исследователей синтезировала и оценила золотые нанобипирамидально-мезопористые наноконпозиты диоксида кремния, загруженные агентом фотодинамической терапии IR780, производящие нанозимные носители с усиленной пероксидазной активностью [19]. Они стимулировали высокий уровень продукции активных форм кислорода, вызывая противоопухолевый иммунный ответ на разрушение опухолевых тканей. Были получены и наночастицы мезопористого кремнезема, нагруженные доксорубицином и выбранным фитостероидом таншиноном ПА для лечения рака молочной железы [20]. Данные *in vivo* показали хорошее таргетное и противоопухолевое действие на моделях мышей с РМЖ, а также низкую токсичность в здоровых органах.

Применение наноконплексов для противоопухолевой иммунотерапии и фототермической терапии

Комплексы дендримеров с лекарственным препаратом, содержащие тойокамицин, созданные G. Yunqi и соавт. [21], вызывали апоптоз опухолевых клеток и их иммуногенную гибель за счет как опосредованного тойокамицином усиления стресса эндоплазматического ретикулума, так и дисфункции митохондрий, опосредованной содержащими медь (II) наноконплексами. Кроме того, последние повлияли на иммунотерапию опухолей с использованием антитела к лиганду запрограммированной клеточной гибели. S. Shen и др. [22] синтезировали комплексную нановакцину на основе фенилбороновой кислоты в комплексе с ПАМAM-дендримером 5-й генерации, наночастицами сульфида меди и циклическим ГМФ-АМФ в качестве иммунного адъюванта для фототермической противораковой терапии.

Разработка обладала хорошим поглощением ближнего инфракрасного диапазона и адсорбцией белков, поэтому ее можно было использовать для фототермической терапии первичных опухолей меланомы. Многофункциональный белок иммунной системы лактоферрин может быть эффективен в качестве лиганда, воздействующего на опухоли. Также были получены золотые наноклетки, конъюгированные с диаминомасляным поли(пропилениминовым) дендримером [23].

Их оценка на клетках рака простаты РС-3 свидетельствует о высокой результативности трансфекции лактоферриновым наноконплексом плазмидной ДНК в клетки рака предстательной железы.

Фотодинамическая терапия с использованием наноконплексов

Фотодинамическая терапия – метод лечения злокачественных новообразований, основанный на использовании специального препарата – фотосенсибилизатора и лазеров, генерирующих излучение с определенной длиной волны. L. Ye и др. [24] разработали модифицированные дендримерами золотые наностержни, модифицированные пептидом GX1, в качестве наноносителя гена FAM172A для лечения

рака толстой кишки. Этот наноконплекс доставлял FAM172A в раковые клетки с высокой эффективностью проникновения в них, а при лазерном облучении его действие значительно усиливалось, что было подтверждено *in vivo* на модели мышей с раком толстой кишки.

Исследования в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

Совместно с Университетом Доньхуа (Китай) нами изучена способность мультифункциональных дендримерных наноконплексов обеспечивать МРТ-изображение опухоли и одновременно снижать закисление ее микроокружения с помощью снижения концентрации лактата. Указанные наноконплексы способствовали существенному увеличению продолжительности жизни у мышей с глиомой по сравнению с контролем [25, 26].

Совместно с Казанским федеральным университетом (РФ) нами установлена способность наноконплексов на основе дендримеров и тиокаликс[4]аренов обеспечивать доставку антираковых миРНК в опухолевые клетки. Запланированы исследования их эффективности на животных [27].

Выводы

Наноматериалы, применяемые для транспорта лекарственных веществ при лечении рака, позволяют улучшить биодоступность и уменьшить выраженность побочных эффектов используемых препаратов за счет нацеливания их в конкретные ткани и органы.

Наночастицы в генной терапии онкозаболеваний способны играть ключевую роль, выполняя функцию векторов для доставки малых некодируемых РНК в опухолевые клетки. Однако для эффективной адресной доставки малых РНК необходимо, чтобы вектор соответствовал ряду требований, в том числе был нетоксичным и избирательно проникал в опухолевые ткани.

Наноматериалы уже нашли применение в фототермической терапии, которая заключается в избирательном нагреве живых тканей инфракрасным излучением. Его воздействие на раковые клетки, в которых присутствуют наночастицы, приводит к тому, что опухолевые ткани будут нагреваться сильнее, чем здоровые, что позволяет снизить негативное влияние на них. ■

■ **Summary.** Every year there is a rapid increase in cancer, which is one of the main causes of death. Methods used to treat cancer often do not produce the desired results and can cause various side effects. Therefore, to effectively combat cancer, it is necessary to find new solutions. The use of nanotechnology opens up new opportunities in the diagnosis and treatment of human malignant tumors. Nanoparticles used in antitumor therapy can act as carriers of drugs and nucleic acids, and also reduce the toxicity of anticancer drugs. This review is devoted to the analysis of the interaction of various nanomaterials with small anticancer RNAs. Data are presented on the use of some non-toxic and effective multifunctional nanoconjugates in gene therapy for the treatment and diagnosis of cancer.

■ **Keywords:** nanomaterials, dendrimers, siRNA, nanoconjugates, nanocarriers, nanocomposites, cancer, photothermal therapy, photodynamic therapy, gene therapy.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2025-01-78-83>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Dendron-functionalised hyperbranched bis-MPA polyesters as efficient non-viral vectors for gene therapy in different cell line / M. San Anselmo [et al.] // *Biomater Sci.* 2022. May 17. №10. P. 2706–2719. Doi: 10.1039/d2bm00365a.
2. PAMAM-Functionalized Cellulose Nanocrystals with Needle-Like Morphology for Effective Cancer Treatment / Y. Sun [et al.] // *Nanomaterials (Basel)*. 2021. №11 (7). P. 1640. Doi: 10.3390/nano11071640.
3. A tumor-activatable peptide supramolecular nanoplatfrom for the delivery of dual-gene targeted siRNAs for drug-resistant cancer treatment / Y. Wu [et al.] // *Nanoscale*. 2021. №13 (9). P. 4887–4898. Doi: 10.1039/d0nr08487e.
4. Nanoassemblies with Effective Serum Tolerance Capability Achieving Robust Gene Silencing Efficacy for Breast Cancer Gene Therapy / H. Liu [et al.] // *Adv Mater.* 2021. №33 (7). P. e2003523. Doi: 10.1002/adma.202003523.
5. An amphiphilic dendrimer for effective delivery of small interfering RNA and gene silencing *in vitro* and *in vivo* / T. Yu [et al.] // *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012. №51. P. 8478–8484.
6. Development of targeted gene delivery system based on liposome and PAMAM dendrimer functionalized with hyaluronic acid and TAT peptide: *In vitro* and *in vivo* studies / M. Ebrahimian [et al.] // *Biotechnol Prog.* 2022. №38(5) P. e3278. Doi: 10.1002/btpr.3278.
7. All-In-One Dendrimer-Based Lipid Nanoparticles Enable Precise HDR-Mediated Gene Editing *In Vivo* / L. Farbiak [et al.] // *Adv Mater.* 2021. №33(30). P. e2006619. Doi: 10.1002/adma.202006619.
8. Yuba E. Hydrophilic Hyperbranched Polymer-Coated siRNA/Polyamidoamine Dendron-Bearing Lipid Complexes Preparation for High Colloidal Stability and Efficient RNAi / E. Yuba, T. Korenaga, A. Harada // *Bioconjug Chem.* 2021. №32 (3). P. 563–571. Doi: 10.1021/acs.bioconjchem.1c00035.
9. Surface Charge of Supramolecular Nanosystems for *In Vivo* Biodistribution: A MicroSPECT/CT Imaging Study / L. Ding [et al.] // *Small.* 2020. №16 (37). P. e2003290. Doi: 10.1002/smll.202003290.
10. Li X. Self-assembly of four generations of RNA dendrimers for drug shielding with controllable layer-by-layer release // X. Li, M. Vieweger, P. Guo // *Nanoscale*. 2020. №12 (31). P. 16514–16525. Doi: 10.1039/d0nr02614j.
11. Folic acid-functionalized magnetic nanoprobe via a PAMAM dendrimer/SA-biotin mediated cascade-amplifying system for the efficient enrichment of circulating tumor cells / X. Meng [et al.] // *Biomater Sci.* 2020. №8 (22). P. 6395–6403. Doi: 10.1039/d0bm01212b.
12. Ultrasound-enhanced fluorescence imaging and chemotherapy of multidrug-resistant tumors using multifunctional dendrimer/carbon dot nanohybrids / D. Li [et al.] // *Bioact Mater.* 2020. №6 (3). P. 729–739. Doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.015.
13. Cooper R. C. Duplex of Polyamidoamine Dendrimer/Custom-Designed Nuclear-Localization Sequence Peptide for Enhanced Gene Delivery / R. C. Cooper, H. Yang // *Bioelectricity*. 2020. №2 (2). P. 150–157. Doi: 10.1089/bioe.2020.0009.
14. Antioxidant, Enzyme, and H2O2-Triggered Melanoma Targeted Mesoporous Organosilica Nanocomposites for Synergistic Cancer Therapy / H. W. Choi [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. 2022. №11. P. 2137. Doi: 10.3390/antiox11112137.
15. Multifunctional Gold-Mesoporous Silica Nanocomposites for Enhanced Two-Photon Imaging and Therapy of Cancer Cells / J. G. Croissant [et al.] // *Front Mol Biosci.* 2016. №3. P. 1. Doi: 10.3389/fmolb.2016.00001.
16. Hyaluronic acid functionalized biodegradable mesoporous silica nanocomposites for efficient photothermal and chemotherapy in breast cancer / W. Zhan [et al.] // *Nanotechnology*. 2021. №32 (16). P. 165703. Doi: 10.1088/1361-6528/abda74.
17. Multifunctional silica nanocomposites prime tumoricidal immunity for efficient cancer immunotherapy / L. Yang [et al.] // *J Nanobiotechnology*. 2021. №19 (1). P. 328. Doi: 10.1186/s12951-021-01073-2.
18. Chemo-photodynamic combined gene therapy and dual-modal cancer imaging achieved by pH-responsive alginate/chitosan multilayer-modified magnetic mesoporous silica nanocomposites / H. Yang [et al.] // *Biomater Sci.* 2017. №5(5). P. 1001–1013. Doi: 10.1039/c7bm00043j.
19. Confining Prepared Ultrasmall Nanozymes Loading ATO for Lung Cancer Catalytic Therapy/Immunotherapy / A. Zhang [et al.] // *Adv Mater.* 2023. №35 (45). P. e2303722. Doi: 10.1002/adma.202303722.
20. Phytoestrogen-derived multifunctional ligands for targeted therapy of breast cancer / Y. Zhang [et al.] // *Asian J Pharm Sci.* 2023. №18(4). P. 100827. Doi: 10.1016/j.ajps.2023.100827.
21. Chemotherapy Mediated by Biomimetic Polymeric Nanoparticles Potentiates Enhanced Tumor Immunotherapy via Amplification of Endoplasmic Reticulum Stress and Mitochondrial Dysfunction / G. Yunqi [et al.] // *Adv. Mater.* 2022. 34 P. 2206861.
22. Photothermal-triggered dendrimer nanovaccines boost systemic antitumor immunity / S. Shen [et al.] // *J Control Release*. 2023. №355 P. 171–183. Doi: 10.1016/j.jconrel.2023.01.076.
23. Lactoferrin- and Dendrimer-Bearing Gold Nanocages for Stimulus-Free DNA Delivery to Prostate Cancer Cells / J. Almolwad [et al.] // *Int J Nanomedicine*. 2022. №17. P. 1409–1421. Doi: 10.2147/IJN.S347574.
24. Dendrimer-modified gold nanorods as a platform for combinational gene therapy and photothermal therapy of tumors / L. Ye [et al.] // *J Exp Clin Cancer Res*. 2021. №40(1). P. 303. Doi: 10.1186/s13046-021-02105-3.
25. Dendrimer-Cu(II) Complexes Mediate Enzyme Delivery for Lactate Depletion-Enhanced Combinational Treatment of Leukemia and Glioma / A. Li [et al.] // *Adv. Funct. Mater.* 2024. 24 Nov. Doi: 10.1002/adfm.202420825.
26. Dendrimer/Copper(II) Complex-Mediated siRNA Delivery Disrupts Lactate Metabolism to Reprogram Local Immune Microenvironment Against Tumor Growth and Metastasis / G. Yue [et al.] // *Biomacromolecules*. 2024. №21. Doi: 10.1021/acs.biomac.4c01249.
27. Non-viral systems based on PAMAM-calix-dendrimers for regulatory siRNA delivery into cancer cells / P. Padnya [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. №25 (23). P. 12614. Doi:10.3390/ijms252312614.

Статья поступила в редакцию
24.06.2024 г.