

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИ-CD19 ТЕРАПИИ Т-ЛИМФОЦИТАМИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ХИМЕРНЫМ АНТИГЕННЫМ РЕЦЕПТОРОМ

Сердюк А.И., Иванова Н.О., Алешина О.А., Дианов Д.В., Кузнецова В.С., Мохаммад А., Боголюбова А.В.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Цикл производства Т-лимфоцитов с химерным антигенным рецептором (chimeric antigen receptor, CAR) включает в себя несколько последовательных стадий, параметры которых могут влиять на эффективность трансгенных клеток: получение клеточного материала больного, выделение целевой популяции Т-лимфоцитов, активация, трансдукция клеток вирусным вектором, несущим CAR конструктор, и экспансия полученных CAR Т-клеток с дальнейшим введением больному.

Цель: рассмотреть влияние каждого из этапов производства CAR Т-клеток на показатели эффективности клеточного продукта в *in vitro* и *in vivo* экспериментах, а также при клиническом применении.

Основные сведения. Проведен анализ особенностей производства различных CAR Т-клеточных препаратов. Обсуждено, как характеристики производства препарата и структуры химерного антигенного рецептора влияют на противоопухолевую эффективность и профиль безопасности клеточного продукта. Получение CAR Т-клеточного продукта — многофакторный процесс, который требует оптимизации параметров и обязан учитывать особенности исходного сырья.

Ключевые слова: CAR Т, CAR Т-клетки, CAR Т-клеточная терапия, клеточная терапия, химерный антигенный рецептор

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в соответствии с государственным заданием «Разработка анти-BCMA CAR Т-клеточного лекарственного препарата для нужд онкогематологии» РК № 125030703310-3.

Для цитирования: Сердюк А.И., Иванова Н.О., Алешина О.А., Дианов Д.В., Кузнецова В.С., Мохаммад А., Боголюбова А.В. Влияние различных характеристик клеточного продукта на эффективность анти-CD19 терапии Т-лимфоцитами, модифицированными химерным антигенным рецептором. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):208–228. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-208-228>

THE IMPACT OF VARIOUS CELLULAR PRODUCT CHARACTERISTICS ON THE EFFICACY OF ANTI-CD19 THERAPY WITH T-LYMPHOCYTES MODIFIED WITH CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR

Serdyuk A.I., Ivanova N.O., Aleshina O.A., Dianov D.V., Kuznetsova V.S., Mohammad A., Bogolyubova A.V.*

National Medical Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The production cycle of CAR T-cell product includes several sequential stages, each of which may influence the efficiency of transgenic cells: obtaining the patient's cellular material, isolating the target T-lymphocyte population, activation, transduction of the cells with a viral vector carrying the CAR construct, and expansion of the obtained CAR T-cells with further administration to the patient.

Aim: to review the impact of each of the production steps on the cell product performance in both in vitro and in vivo experiments, as well as clinical applications.

Main findings. The manufacturing characteristics of various CAR T-cell products were analyzed in this review, followed by a discussion on how different manufacturing characteristics and chimeric antigen receptor structures affect the antitumor efficacy and safety profile of the cell product. The production of a CAR T-cell product is a multifactorial process that requires optimization of parameters and must take into account the characteristics of the initial raw material (T-lymphocytes).

Keywords: CAR T, CAR T cells, CAR T-cell therapy, cell therapy, chimeric antigen receptor

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the work was performed in accordance with the state assignment "Development of anti-BCMA CAR T-cell drug for the needs of onco-hematology" RK No. 125030703310-3.

For citation: Serdyuk A.I., Ivanova N.O., Aleshina O.A., Dianov D.V., Kuznetsova V.S., Mohammad A., Bogolyubova A.V. The Impact of Various Cellular Product Characteristics on the Efficacy of Anti-CD19 Therapy with T-Lymphocytes Modified with Chimeric Antigen Receptor. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):208–228 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-208-228>

Введение

Злокачественные новообразования системы крови представляют собой совокупность патологических гетерогенных состояний, возникающих из клеток костного мозга и лимфатической системы [1]. Несмотря на то что в развитых странах летальность от этих заболеваний уменьшается, разработка новых терапевтических подходов к их лечению остается значимой задачей. Заболеваемость гематологическими злокачественными новообразованиями варьирует от года к году: в России в 2021 г. зарегистрировано 26,5 тыс. новых случаев, в 2022 г. — уже 27,8 тыс., а к 2023 г. достигла отметки 30 тыс. новых случаев [2, 3]. Помимо таких методов лечения, как химиотерапия и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, в последнее десятилетие показана эффективность терапии Т-лимфоцитами, модифицирован-

ными химерным антигенным рецептором (Chimeric antigen receptor, CAR), разработанная в начале 1990-х годов [4, 5].

CAR — это рекомбинантный рецептор, обеспечивающий как антигенсвязывающие, так и Т-клеточные активационные функции. Т-клетки, генетически модифицированные с целью экспрессии CAR, направляют свою эффекторную активность на антигенную мишень на поверхности опухолевых клеток [6]. Первые CAR Т-клеточные терапии, направленные на В-клеточный антиген CD19, были одобрены к применению Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (США) в 2017 г. [7]. Спектр одобренных препаратов стремительно расширяется: на сегодняшний день одобрено уже 7 препаратов, 5 из которых нацелены на антиген

CD19, 2 — на В-клеточный антиген созревания (B-cell maturation antigen, BCMA) [8] (табл. 1).

Одобрённые анти-CD19 CAR Т-клеточные препараты состоят из нескольких белковых доменов: антиген-распознающий домен, представляющий собой одноцепочечный фрагмент (single-chain variable fragment, scFv) моноклонального антитела, состоящий из тяжелой и легкой вариабельных цепей, соединенных линкером, трансмембранный, костимуляторный и сигнальный домены. Экспрессия CAR на поверхности Т-лимфоцитов приводит к переориентации эффекторной активности Т-лимфоцитов на необходимую мишень без необходимости презентации антигена в контексте главного комплекса гистосовместимости [16]. Все одобренные CAR

Т-клеточные препараты являются аутологичными, то есть изготавливаются из собственных Т-лимфоцитов больного. На стадии клинических исследований находятся и аллогенные клеточные продукты, произведенные путем генетической модификации Т-лимфоцитов здоровых доноров.

Типичный цикл производства CAR Т-клеточного продукта включает в себя несколько последовательных стадий, каждая из которых может влиять на эффективность трансгенных клеток: получение клеточного материала больного, выделение целевой популяции Т-лимфоцитов, активация, трансдукция клеток вирусным вектором, несущим CAR конструктор, и экспансия полученных CAR Т-клеток с дальнейшим введением больному [17] (см. рис. 1).

Таблица 1. Одобрённые Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов CAR Т-клеточные препараты
Table 1. Food and Drug Administration approved CAR T-cell treatments

Препарат: МНН, коммерческое название [ссылка] <i>Drug: INN, Commercial name [Reference]</i>	Тар- гетный антиген <i>Target antigen</i>	Антигенрас- познающий домен <i>Antigen- binding domain</i>	Костиму- ляторный домен <i>Costimulatory domain</i>	Показания к терапии <i>Indications</i>	Больные <i>Patients</i>	Год одобрения <i>Initial approval</i>
Аксикабтаген цилолеусел <i>Axicabtagene ciloleucel</i> YESCARTA [9]	CD19	FMC63	CD28	ДВККЛ, ФЛ <i>DLBCL, FL</i>	Взрослые <i>Adults</i>	2017
Тисагенлейклеуцел <i>Tisagenlecleucel</i> KYMRIAH [10]	CD19	FMC63	4-1BB	В-ОЛЛ, ДВККЛ, ФЛ <i>B-ALL, DLBCL, FL</i>	Дети и взрослые до 25 лет <i>Children and adults under 25 years</i>	2017
Брексукабтаген аутолеусел <i>Brexucabtagene autoleucel</i> TECARTUS [11]	CD19	FMC63	CD28	МКЛ, В-ОЛЛ <i>MCL, B-ALL</i>	Взрослые <i>Adults</i>	2020
Лизокабтаген маралеусел <i>Lisocabtagene maraleucel</i> BREYANZI [12]	CD19	FMC63	4-1BB	В-клеточная лимфома, включая ДВККЛ <i>B-cell lymphoma, including DLBCL</i>	Взрослые <i>Adults</i>	2021
Идекабтаген виклеусел <i>Idecabtagene vicleucel</i> ABECMA [13]	BCMA	bb2121	4-1BB	ММ	Взрослые <i>Adults</i>	2021
Цилтакабтаген аутолеусел <i>Ciltacabtagene autoleucel</i> CARVYKTI [14]	BCMA	Собственный клон анти- BCMA <i>Private clone of anti-BCMA</i>	4-1BB	ММ	Взрослые <i>Adults</i>	2022
Обекабтаген аутолеусел <i>Obecabtagene autoleucel</i> AUCATZYL [15]	CD19	CAT19	4-1BB	В-ОЛЛ <i>B-ALL</i>	Взрослые <i>Adults</i>	2024

Примечания: ДВККЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома, ФЛ — фолликулярная лимфома, В-ОЛЛ — острый В-лимфобластный лейкоз, МКЛ — мантийноклеточная лимфома, ММ — множественная миелома.
Notes: DLBCL — Diffuse Large B-Cell lymphoma, FL — follicular lymphoma, B-ALL — B-cell acute lymphoblastic leukemia, MCL Mantle cell lymphoma, MM — Multiple myeloma.

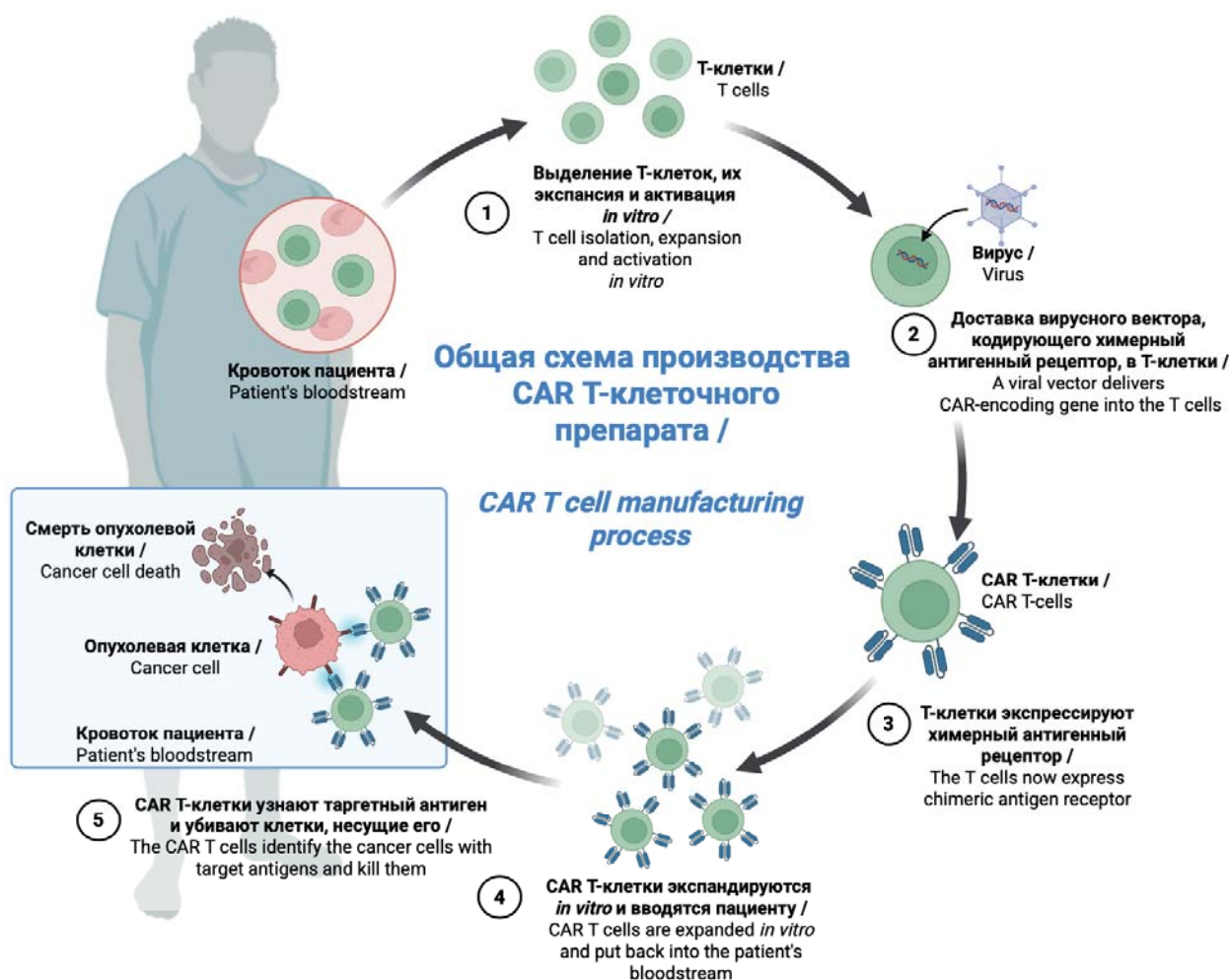


Рисунок 1. Общая схема производства CAR T-клеточного препарата (рисунок создан с помощью сервиса BioRender.com)

Figure 1. General scheme of CAR T-cells manufacturing (the figure created using BioRender.com service)

Цель настоящего обзора: рассмотреть влияние каждого из этапов производства CAR T-клеток на показатели эффективности клеточного продукта в *in vitro* и *in vivo* экспериментах, а также при клиническом применении.

Влияние характеристик стартового клеточного материала на эффекторные функции CAR T-клеточного препарата

Для производства CAR T-клеток необходимо получить первичные Т-лимфоциты больного или здорового донора. При получении клеточного препарата стартовым материалом его производства могут стать как аутологичные (собственные) лимфоциты больного, так и клетки здорового донора, которые могут по сути быть «аутологичными» для больного при условии, что ранее ему была проведена трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) и у него наблюдается полный донорский химеризм CD3⁺ клеток [18]. Как правило, для получения достаточного количества лейкоцитов периферической крови проводят лейкоферез, но возможно выделение целевых клеток и из цельной крови, например, при работе с педиатрическими больными в связи с их малой массой тела [19, 20].

Процесс лейкофереза является первым этапом производства CAR T-клеточного продукта. Чаще все-

го больные подвергаются этой процедуре уже после нескольких линий химиотерапии, которая негативно влияет на качество получаемых клеток: происходит увеличение экспрессии маркеров истощения на поверхности клеток, уменьшается их пролиферативный потенциал, а также общее количество в организме больного. В таком случае для получения достаточного для производства количества клеток допустимо проведение нескольких циклов лейкофереза у больных, у которых не удастся собрать необходимое количество лимфоцитов, в том числе из-за особенностей или количества предшествующих циклов химиотерапии [21]. Кроме того, существует ряд осложнений в процессе лейкофереза, таких как гипокальциемия, кровотечение, малый объем циркулирующей крови больного, в частности, недостаток эритроцитов и тромбоцитов, причем риск этих проявлений возрастает после проведения нескольких линий терапии, особенно высокодозных режимов химиотерапии [22]. В связи с вышеперечисленным привлекательным подходом является проведение лейкофереза практически сразу после установления диагноза, до проведения химиотерапии, для инициации производства CAR T-клеточного продукта из ранее заготовленных клеток [23].

Стартовое количество и состав полученных лейкоцитов важны для успешного производства клеточного продукта. Перед началом процедуры лейкафереза должна быть проведена оценка состояния больных: анализируются возрастные показатели, статус общего состояния больного по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG PS < 2) для взрослых или по шкале Карновского-Ланского (>60%) для детей и подростков [24]. Также должен быть изучен анамнез, например сопутствующие заболевания, в том числе наличие вторых и более онкологических заболеваний, проведение на предшествующих этапах алло-ТГСК или другой клеточной терапии и риски развития реакции «трансплантат против хозяина» [25].

Изоляция Т-клеток из периферической крови в клинических условиях осуществима с помощью автоматических закрытых систем. При необходимости проводится обогащение CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток путем их сепарации с помощью магнитных частиц [26], также возможно обогащение по определенным Т-клеточным фенотипам, таким как наивные Т-клетки или Т-клетки с фенотипом центральной памяти [27].

Содержание Т-лимфоцитов в крови

Подсчет CD3⁺ клеток в периферической крови с целью оценки успешности лейкафереза проводится не ранее чем за 10 дней до процедуры, поскольку этот показатель коррелирует с количеством CD3⁺ клеток в продукте афереза [24]. Согласно рекомендациям Европейского общества трансплантации костного мозга [24], минимальный рекомендуемый порог количества CD3⁺ клеток должен составлять $0,2 \times 10^9/\text{л}$ клеток (или 200 клеток в микролитре крови), а меньшее количество клеток обычно указывает на недостаточное восстановление крови после предшествующей терапии и создает сложности в процессе производства CAR Т-клеток. Однако чаще ориентируются на более высокое значение, составляющее $(0,5\text{--}0,6) \times 10^9/\text{л}$ периферической крови [28]. Для производства CAR Т-клеточного продукта стремятся выделить totally не менее $0,6 \times 10^9$ CD3⁺ клеток. Когда изготовление препарата предполагает цикл заморозки/разморозки лейкоцитов, требуется большее количество клеток для достижения требуемых параметров клеточности итогового продукта [29].

Аутологичные и аллогенные Т-лимфоциты

В клинической практике для производства зарегистрированных CAR Т-клеточных препаратов используют аутологичные и (псевдо)аллогенные Т-клетки. Последние применяют в случае предшествующей алло-ТГСК больному и наличия полного химеризма, тогда забор клеточного материала может быть произведен у того же донора [18]. В связи с разным происхожде-

нием клеточного материала аутологичные и аллогенные CAR Т-клетки обладают отличными свойствами, что приводит к формированию разнообразных клинических проявлений у больных.

Согласно результатам систематического анализа клинических исследований [30] применения анти-CD19 CAR Т-клеточных лекарственных препаратов при В-клеточном остром В-лимфобластном лейкозе, проведенных в период с 2012 по 2020 г., доля больных, достигших полной ремиссии после CAR Т-терапии аутологичными CAR Т-клетками, преобладала над долей больных, получавших лечение аллогенными CAR Т-клетками, полученными от доноров, от которых была выполнена алло-ТГСК, предшествовавшая CAR Т-терапии (83 % против 55 %).

В других публикациях сообщалось, что при сравнении больных, получавших аутологичные и аллогенные CAR Т-клетки, не наблюдали значимых различий по достижению полной ремиссии между группами [31, 32]. В то же время описана тенденция к достижению большей пиковой экспансии препарата в организме больного, получившего аутологичные CAR Т-клетки, по сравнению с больными, получившими аллогенные CAR Т-клетки. Этот эффект может быть связан с одновременным сигналингом через Т-клеточный рецептор (ТКР) и CAR у аллогенных CAR Т-клеток и, как следствие, с перегрузкой сигнального каскада этих рецепторов [33, 34]. Таким образом, ТКР-CAR взаимодействие способствует снижению противоопухолевой эффективности CAR Т-клеточного продукта [35]. Эта гипотеза подтверждается результатами ретроспективного анализа, проведенного в 2018 г., в котором медиана пиковой экспансии аутологичного клеточного препарата составила $0,107 \times 10^9/\text{л}$, тогда как для аллогенного клеточного препарата — $0,057 \times 10^9/\text{л}$ [31]. Повышенная пиковая экспансия аутологичных клеточных препаратов может не только являться фактором, повышающим противоопухолевую эффективность препарата, но и нести риск развития осложнений, например синдрома выброса цитокинов (СВЦ) 3–4-й степени тяжести [32].

Криоконсервация продукта лейкафереза

Производство CAR Т-клеток осуществляют как из свежих, так и из замороженных ранее продуктов лейкафереза [36]. Заморозка исходного клеточного материала усложняет процесс производства за счет внесения дополнительных стадий. Во время циклов заморозки и разморозки клетки подвергаются большому количеству факторов стресса: изменение рН, осмотический стресс и образование кристаллических структур [36, 37]. Одновременно с этим криоконсервация имеет свои преимущества для производства CAR Т-клеток, так как позволяет провести

сбор клеточного материала до проведения курса химиотерапии, что повышает шанс получения достаточного количества функциональных Т-клеток и упрощает процесс лейкофереза и *in vitro* экспансии клеток [37]. Показано, что после криоконсервации продукта лейкофереза соотношение Т-хелперов (Th-клетки), цитотоксических Т-клеток (CTL), NK-клеток, моноцитов, В-клеток и PD1+ клеток не менялось, а цитотоксические функции Т-лимфоцитов сохранялись. Сообщалось также об увеличении количества эффекторных CD45RA+CCR7 Т-клеток и значительном уменьшении TIM-3+ Т-клеток после разморозки, что является благоприятным фактором для производства CAR Т-клеток [37].

Согласно исследованиям, посвященным изучению влияния заморозки на конечный продукт, CAR Т-клетки, произведенные из замороженного продукта лейкофереза, не имели значимых функциональных отличий от произведенных из свежего продукта лейкофереза. Заморозка не повлияла на фенотип CAR Т-клеток *in vitro*, то есть на соотношение CD4+ и CD8+ Т-клеток, а также на соотношение стволовых клеток памяти (Tscm), клеток центральной памяти (Tcm), клеток эффекторной памяти (Tem) и терминально дифференцированных эффекторных клеток (Te) [38].

По данным клинического исследования [39], CAR Т-продукты, полученные как из свежих, так и из замороженных клеток, успешно активировались и пролиферировали в ответ на антигенный стимул в организме больного, при этом пиковая экспансия CAR-положительных (CAR+) клеток в обоих случаях наблюдалась в среднем между 7 и 21 днем после инфузии. При этом эффективность трансдукции клеток вирусным вектором при изготовлении препаратов из замороженных клеток была снижена и составляла в среднем 20% по сравнению с 50% трансдукции в препаратах из свежих клеток.

Кроме того, сообщалось о значительных различиях в скорости роста клеток в процессе экспансии *in vitro*: у CAR Т-клеток, произведенных из ранее замороженного материала, скорость удвоения клеток была значительно меньше [38]. Замедленный рост клеток при производстве коррелировал с низкой экспансией и эффективностью препарата *in vivo* [40]. В дополнение значительные различия между CAR Т препаратами, изготовленными из свежих и криоконсервированных клеток, наблюдались в экспрессии генов. В CAR Т препаратах, произведенных из криоконсервированных клеток, наблюдалась сверхэкспрессия белков апоптотических сигнальных путей и белков, связанных с нарушением клеточного цикла [41], в то время как CAR Т препараты из свежих клеток демонстрировали повышенную экспрессию белков сигнальных путей толл-подобного рецептора (TLR), факторов активации В-клеток и пр. [41].

Криоконсервация клеток сопряжена с необходимостью хранения полученных образцов, что требует создания специальных условий и объема криохранилищ. Все процессы и оборудование, связанные с криоконсервацией, должны быть стандартизированы во избежание оказания неопределенного воздействия на клетки [42]. В то же время криоконсервация продуктов лейкофереза привносит гибкость в процесс производства CAR Т-клеток, позволяя собирать клеточный материал в наиболее подходящее для больного время.

Влияние способа доставки CAR конструктора на эффективность терапии

Одним из важнейших этапов производства CAR Т-клеток является генетическая модификация выделенных из периферической крови больного Т-лимфоцитов, которая осуществляется с помощью вектора, несущего CAR-конструкт. Именно эффективность генетической модификации Т-клеток больного определяет количество полученных CAR Т-клеток и, соответственно, возможность их дальнейшего использования в клинической практике [43].

Существуют различные способы доставки CAR-конструкта, характеризующиеся профилем эффективности и потенциальной безопасности получаемого CAR Т-клеточного продукта. На сегодняшний день распространены два основных подхода к генетической модификации: интегрирующий и неинтегрирующий (транзientный). Для производства подавляющего большинства CAR Т препаратов используют интегрирующие векторы, так как они приводят к экспансии модифицированных клеток как *ex vivo*, так и *in vivo* после введения больному, что критически важно для достижения оптимальной пиковой экспансии и длительности персистенции генетически модифицированных клеток в организме [44].

Все одобренные на сегодняшний день коммерческие продукты основаны на вирусных системах доставки (лентивирусных и гаммаретровирусных векторах) по причине развития данных технологий и успешной истории медицинского применения [45].

Ретровирусный вектор PG13-CD19-H3 препарата аксикабаген цилолеусел (Yescarta) представляет собой вектор на основе мышиного вируса стволовых клеток (MSCV) [40] (белки Gag и Pol) с оболочкой вируса лейкоза гиббонов (GaLV). Вектор содержит самоинактивирующиеся длинные терминальные повторы (LTR) [44, 45]. Преимуществом гаммаретровирусных векторов является высокая трансдукция генетической конструкции, количество трансдуцированных Т-клеток составляет около 60% от общей популяции, а также простота и эффективность их наработки для дальнейшего клинического применения [46, 47]. Для ретрови-

русов характерно ярко выраженное явление инсерционного мутагенеза, проявляющееся во взаимодействии провируса с геномными элементами, окружающими место интеграции, например с сайтами начала транскрипции и CpG-островками, являющимися частью последовательностей энхансеров и промоторов [47]. Такие взаимодействия потенциально ведут к изменению уровня экспрессии генов в клетке и, соответственно, создают вероятность онкогенного события [48].

Лентивирусные системы обладают менее выраженным инсерционным мутагенезом и, следовательно, меньшим онкогенным потенциалом, а также способностью трансдуцировать неделящиеся клетки [26]. Однако показано, что использование лентивирусных векторов для трансдукции опосредует более частое развитие цитопений [49]. Лентивирусный вектор способен кодировать последовательности генов длиной до 10 тысяч пар нуклеотидов и стабильно трансдуцировать эукариотические клетки [50]. Такой вектор включает гены структурных и регуляторных вирусных белков, обеспечивающих эффективное внедрение генетической информации в геном целевой клетки. К структурным генам относится *Gag*, кодирующий ключевые для сборки вириона последовательности белков матрикса, капсида и нуклеокапсида, и *Env*, кодирующий белок вирусной оболочки. Эти белки являются частью каркасов, выполняющих роль защитного слоя для вирусного генома. К регуляторным генам относится *Pol*, кодирующий протеазу (PR), обратную транскриптазу (RT) и интегразу (IN), которые, в свою очередь, обеспечивают ферментативные функции вирусных частиц, участвуя в процессах интеграции и репликации [50]. Лентивирусная система доставки препарата тисагенлейкелейсел (Кимрая) содержит три упаковочные плазмиды, включающие гены *Gag*, *Pol*, *VSV-G* (псевдотипированный рецептор вируса везикулярного стоматита) и *Rev* (регуляторный белок вируса иммунодефицита человека), а также целевую плазмиду с конструктом CAR, содержащую сайт полиаденилирования и самоинактивирующиеся LTR [51].

Ретровирусные векторы преимущественно встраиваются в участки с активной транскрипцией, что повышает риск инсерционного мутагенеза, а именно: появление нарушений работы генов опухолевых супрессоров, а также активации онкогенов с последующей злокачественной трансформацией [52]. Однако последние данные по наблюдению за исходами терапии показали, что вторичные Т-клеточные CAR-позитивные опухоли встречаются редко, с частотой 1 на 3000 больных, которым ввели CAR Т-клеточные препараты [53]. В большинстве случаев не удалось установить связь между интеграцией трансгена и малигнизацией (клональной экспансией) CAR-положительных клеток [54]. В таких случаях предполагается, что причина малигнизации лежит в трансдукции клеток с уже

существующими мутациями протоонкогенов, таких как TET2 [55]. Описан единственный случай интеграции CAR в интрон гена опухолевого супрессора *TP53*, когда, вероятно, именно трансдукция стала причиной появления вторичной опухоли [56].

Сообщается о высокой иммуногенности CAR Т-препаратов, созданных на основе вирусных векторов. Такая иммуногенность была спровоцирована клеточным и гуморальным ответом на вирусные антигены, экспрессировавшиеся на CAR Т-клетках [57]. Для решения проблем, связанных с вирусной трансдукцией, активно разрабатываются методы невирусной доставки генетического материала в клетки.

Невирусная интегрирующая доставка может быть осуществлена с помощью систем транспозиционных элементов или системы CRISPR-Cas9. Транспозиционные элементы (транспозоны) — это генетические элементы, обладающие способностью менять свое положение в геноме [58]. В сравнении с вирусными системами транспозоны обладают более низкой эффективностью доставки трансгена в первичные клетки человека, но также и рядом преимуществ, например прицельным встраиванием генетического конструкта в заданное место генома клетки. Одной из транспозонных систем, используемых для создания CAR Т-препаратов, является система Sleeping beauty (SB). SB система является синтетической, поскольку транспозаза SB — рекомбинантный белок из последовательностей транспозаз, обнаруженных в геномах лососевых рыб [59]. Для трансфекции клеток в данном случае производится электропорация смесью плазмид, благодаря чему упрощается доставка нескольких генетических конструкций одновременно [60]. Система SB позволяет внедрять генетический материал в клетку так, чтобы он не оказывал влияние на работу других генов, что, в свою очередь, ведет к снижению токсичности полученного клеточного препарата [61]. По результатам клинических исследований CAR Т-клетки, созданные с помощью этой системы, успешно активируются и экспандируются в организме больного [62].

Транспозонной также является система доставки генетического материала платформой PiggyBac (PB), которая состоит из 2 компонентов: транспозон и транспозаза. PB — это естественный транспозон, выделенный из капустного лупера (*Trichoplusia ni*) [42]. Транспозаза PiggyBac облегчает интеграцию транспозона в сайты ТТАА, случайно распределенные в геноме. Приблизительная частота ТТАА в геноме составляет 1 на каждые 256 пар оснований. Во время транспозиции транспозаза PB распознает транспозон-специфичные инвертированные концевые повторяющиеся последовательности, расположенные на обоих концах вектора транспозона, и эффективно перемещает и интегрирует их содержимое из исходных сайтов в сайты ТТАА [63]. Сообщается, что созданные

с помощью PiggyBac CAR Т-клетки выявляли в крови больных на протяжении 28 дней, они проявляли удовлетворительный профиль безопасности [64].

CRISPR-Cas9 — система, основанная на использовании машинерии бактериальных механизмов защиты от патогенов, позволяющая доставлять трансген одновременно с нокаутом другого гена благодаря сайт-специфической интеграции, присущей данной технологии. Например, возможно осуществить нокаут ТКР в трансгенных клетках для получения аллогенных CAR Т-клеток или нокаут PD-1 для предотвращения истощения [61, 62]. У больных, получивших CRISPR-Cas9-CAR Т терапию, не наблюдали побочных эффектов, связанных с редактированием генома, а терапия оказалась не только безопасной, но и эффективной [65], в том числе в клинических исследованиях по лечению острого миелоидного лейкоза препаратом CB-012. В этих исследованиях была проведена вставка CAR-конструкции в ген *TRAC* с использованием технологии CRISPR-геномного редактирования для удаления экспрессии Т-клеточного рецептора во избежание реакции «трансплантат против хозяина» при переносе аллогенных CAR. А также в ген *B2M* был внесен B2M-HLA-E трансген для устранения экспрессии HLA-I и, как следствие, избежания отторжения аллогенных CAR Т- и NK-клетками больного [66].

Неинтегрирующие методы доставки могут применяться в случае, когда продолжительная экспрессия CAR нежелательна или опасна. Показано получение транзистентно трансфицированных CAR Т-клеток, направленных на активированные фибробласты, и подтверждена их эффективность в экспериментальных моделях фиброза миокарда, воспроизведенных на мышах [67].

Влияние клеточного состава и дозирования препарата на эффективность терапии

Иммунофенотип Т-клеток определяет способность клеток пролиферировать и персистировать в организме на протяжении времени. Пролиферация CAR Т-клеток и их способность к длительной персистенции являются важными параметрами, опосредующими противоопухолевую эффективность. Показана большая эффективность CAR Т-клеток в модельных экспериментах на мышах *in vivo*, произведенных из субпопуляций наивных Т-клеток, Т-клеток центральной памяти (Т_{cm}) и Т-клеток памяти со стволовым фенотипом (Т_{scm}) в связи с их способностью к интенсивной экспансии и длительной персистенции. CAR Т препараты из Т-клеток эффекторной памяти (Т_{em}), напротив, демонстрируют низкий уровень пролиферации *in vivo*, способность к распознаванию опухолевых клеток, низкую выживаемость в сравнении с CAR Т-клетками с фенотипом центральной памяти [26].

Клеточные препараты, в составе которых преобладают Т_{cm}-клетки, обладают лучшей противоопухолевой эффективностью [68].

Соотношение популяций цитотоксических CD8⁺ и хелперных CD4⁺ Т-лимфоцитов также имеет значение для исхода терапии. Показано взаимодействие между CD8⁺ и CD4⁺ CAR Т-клетками, обеспечивающее взаимное поддержание их функций. Наибольший «вспомогательный» эффект обеспечивается наивными CD4⁺ Т-клетками по сравнению с CD4⁺ Т_{cm} и Т_{em} за счет наивысшей степени продукции интерлейкинов (ИЛ) [69]. Благодаря активной продукции CD4⁺ клетками ИЛ-2 и интерферона-γ (ИФН-γ) увеличиваются пролиферация и цитотоксические свойства CD8⁺ CAR Т-клеток. Наилучший противоопухолевый эффект был показан при комбинировании CD8⁺ CAR Т-клеток центральной памяти с CD4⁺ наивными Т-клетками или клетками центральной памяти в экспериментах на мышах [69]. Некоторые исследования создали предпосылки к пониманию того, что наибольшую эффективность для использования в клинической практике демонстрирует соотношение фенотипических популяций CD4⁺:CD8⁺ клеток 1:1 [70]. По результатам этих исследований был разработан CAR Т-клеточный препарат лисокабтаген маралеусел (BREYANZI), который вводят больному в соотношении клеток CD4:CD8 как 1:1. Однако при проведении клинических исследований не удалось подтвердить повышенную эффективность данного подхода.

Параметры культивации CAR Т

Реагенты, используемые для работы с CAR Т-клетками *ex vivo*, могут значительно влиять на функции и экспансию CAR Т-клеточного продукта *in vivo*. Как правило, в качестве питательной среды для работы с Т-клетками в лабораторных условиях используют RPMI-1640, кроме того, в среду дополнительно вносят человеческую или фетальную телячью сыворотку. Ведутся исследования влияния компонентов культуральной среды и сыворотки на экспансию клеток, их функции и фенотип, но однозначного мнения об оптимальном подходе пока не существует [71–73].

В настоящее время для производства CAR Т-клеток наравне со средами, обогащенными сывороткой, используются бессывороточные среды. Однако считается, что сыворотка является ключевым компонентом среды, стимулирующим экспансию клеток [73].

В производстве CAR Т препаратов могут быть использованы протоколы культивирования, предполагающие использование бессывороточных сред, а также сред с добавлением пулированной человеческой сыворотки или различных добавок, произведенных из человеческой крови. Могут быть использованы экстракты из фракций цельной крови человека, содержащие

большее количество карнозина в сравнении с человеческой сывороткой. Карнозин сдвигает метаболический профиль Т-клеток к окислительному состоянию, что напрямую связано с повышенной противоопухолевой активностью [74].

Вопреки тому, что большая часть исследований демонстрирует преимущества добавления человеческой сыворотки в среду при производстве CAR Т препаратов, существуют данные и о преимуществах культивации в бессывороточных средах. Например, в таких условиях была детектирована пониженная секреция фактора некроза опухоли (ФНО) и ИЛ-2 при культивации в присутствии человеческой сыворотки. Несмотря на низкую секрецию цитокинов, у таких CAR Т препаратов был зафиксирован выраженный противоопухолевый ответ *in vivo* [75]. Широкое использование бессывороточных сред во многом объясняется колебаниями качества человеческой сыворотки, ее нестандартизированностью, чувствительностью к условиям хранения, а также рисками контаминации [76, 77].

Помимо сыворотки, при работе *ex vivo* на CAR Т-клетки оказывают влияние цитокины, входящие в состав культуральной среды. Внесение цитокинов *in vitro* важно для обеспечения жизнеспособности, а следовательно, и эффекторной функции Т-клеток. Для производства CAR Т препаратов, как правило, используют ИЛ-2, который способствует увеличению экспансии и дифференциации клеток. Также проводятся исследования о влиянии других цитокинов, а именно ИЛ-7, ИЛ-15, ИЛ-21, на качество клеточного продукта. Эта группа цитокинов играет значимую роль в стимуляции Т-лимфоцитов к борьбе с опухолевыми клетками [78]. Показано участие данных ИЛ в активации группы транскрипционных факторов STAT [79], что опосредует их обширное влияние на клетки: удерживает клетки в наивном состоянии (CD45RA⁺ CCR7⁺), а также происходит преимущественная дифференцировка

цитотоксических Т-лимфоцитов в клетки с фенотипом центральной памяти (CD45RO⁺ CCR7⁺) [80], их пролиферация и пониженная экспрессия маркеров истощения [81], а также усиление эффекторных функций [78, 82].

В экспериментах *in vitro* добавление ИЛ-21 само по себе не вызывало повышенной пролиферации Т-клеток, однако в совокупности с другими цитокинами (ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-15) ИЛ-21 мог усиливать противоопухолевую функцию, пролиферацию, рост популяции наивных Т-клеток и Т-клеток памяти. В некоторых исследованиях представлены данные об улучшении экспрессии CAR на поверхности клеток при добавлении ИЛ-21 после лентивирусной трансдукции за счет подавления экспрессии ИФН-γ [78].

Дозирование CAR Т-клеток

По завершении всех этапов производства проводят инфузию CAR Т-клеточного препарата больному. Количество клеток в рамках одной дозы варьирует и зависит от многих параметров. Во-первых, дозу рассчитывают исходя из количества жизнеспособных CAR⁺ клеток. Во-вторых, доза может быть рассчитана на 1 кг массы тела больного с предельно допустимым общим количеством клеток в препарате (табл. 2). Как правило, для подбора первичной дозы используется предыдущий клинический опыт [8]. Однако прямой корреляции между введенной дозой и эффективностью препарата не наблюдается, поэтому в современной практике является возможным применение препарата, количество CAR⁺ клеток в котором меньше порогового значения, если такой вариант терапии обоснован соотношением риск-польза для больного (использование так называемых препаратов «вне спецификации») [83, 84].

Из соображений безопасности может быть рассмотрен вариант разделения дозы на несколько после-

Таблица 2. Система дозирования одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов анти-CD19 CAR Т-клеточных препаратов
Table 2. Dosage system of FDA-approved anti-CD19 CAR T-cells

Препарат [ссылка] Drug [Reference]	Доза Dosage	Больные Patients
Аксикаптаген цилолеусел Axicaptagene ciloleucel [9]	2×10 ⁶ клеток/кг массы тела 2×10 ⁶ cells/kg of body weight	Взрослые Adults
Брексукаптаген аутолеусел Brexucaptagene autoleucel [11]	(1–2)×10 ⁶ клеток/кг массы тела (1–2)×10 ⁶ cells/kg of body weight	Взрослые Adults
Тисагенлейклецел [10] Tisagenlecleucel [10]	(60–600)×10 ⁶ клеток (60–600)×10 ⁶ cells totally	Взрослые Adults
Тисагенлейклецел [10] Tisagenlecleucel [10]	(0,2–5)×10 ⁶ клеток/кг массы тела (при массе тела до 50 кг) (0,2–5)×10 ⁶ cells/kg of body weight (up to 50kg body weight) (10–250)×10 ⁶ клеток (при массе тела от 50 кг) (10–250)×10 ⁶ cells totally (at a body weight of 50 kg or more)	Дети и молодые взрослые Children and adults under 25 years
Лизокаптаген маралеусел [12] Lisocaptagene maraleucel [12]	(50–110)×10 ⁶ клеток totally (50–110)×10 ⁶ cells totally	Взрослые Adults
Обекаптаген аутолеусел [15] Obecaptagene autoleucel [15]	410×10 ⁶ клеток totally 410×10 ⁶ cells totally	Взрослые Adults

довательных инфузий. Безопасность в таком случае опосредована малой первой дозой, в результате чего снижается риск развития побочных действий. Существует несколько разных схем дозирования. Часто используется вариант введения препарата трехкратно с увеличением дозировки [85]. Увеличение дозы часто происходит с полулогарифмическим трехкратным шагом, но в таком случае необходимо учитывать степень тяжести СВИ, а также опухолевую нагрузку. Безопасная доза для больного с низкой опухолевой нагрузкой может быть в значительной степени токсичной для больного с более высокой опухолевой нагрузкой. Последующее дозирование с введением доз препарата с интервалом более 14 дней требует повторного проведения лимфодеплеции, в связи с чем может увеличиваться риск развития цитопении, инфекционных осложнений, а также вторичных опухолей, включая миелодиспластический синдром и другие. Вне зависимости от дозирования пиковая экспансия CAR Т-клеток наступает между 1-й и 2-й неделями после введения препарата [86].

Влияние структуры CAR на эффекторные функции одобренных анти-CD19 CAR Т препаратов

Развитие CAR Т-клеточной терапии началось с создания химерного антигенного рецептора первого поколения. Такие химерные антигенные рецепторы включают в себя антиген-распознающую часть, представляющую собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) моноклонального антитела, трансмембранный участок и внутриклеточный сигнальный домен CD3ζ. Ранее были показаны низкие экспансия и персистенция в организме больного после введения таких CAR Т-клеточных препаратов [84]. Однако исследования показали длительную персистенцию анти-GD2-CAR Т-клеток в течение 18 лет в организме больного, получившего CAR Т-клетки для лечения глиобластомы [87].

Дальнейшие исследования механизмов Т-клеточной активации, реализующейся через Т-клеточный рецептор, показали вклад костимуляторных молекул, таких как CD28 и 4-1BB, в процесс активации Т-клеток. Это послужило основанием для использования костимуляторных доменов в конструктах CAR, что привело к созданию CAR Т препаратов второго поколения, обладающих выраженной противоопухолевой эффективностью и длительной персистенцией в организме [6]. Именно CAR Т-клеточные препараты второго поколения получили одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США и местных регуляторных органов в разных странах и стали основой для развития CAR Т-клеточной терапии [86]. Следующим этапом развития CAR Т стало создание

третьего и последующих поколений химерных антигенных рецепторов. CAR третьего поколения обычно несут комбинацию из двух костимуляторных доменов (например, CD28, 4-1BB и OX40) для увеличения цитотоксической функции. Однако такие CAR оказались малоэффективны, поэтому от идеи совмещения в одной молекуле нескольких костимуляторных доменов отказались [88].

CAR четвертого поколения помимо антиген-распознающего, трансмембранного и одного костимуляторного доменов могут нести последовательности цитокинов (например, ИЛ-12), привлекающих иммунные клетки для борьбы с опухолью [89], или транскрипционных факторов, экспрессия которых может отсрочить истощение CAR Т-клеток и, соответственно, усилить их способность контролировать рост опухоли [90]. Одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов препараты используются в терапии лимфопролиферативных заболеваний и имеют специфические различия в строении химерного антигенного рецептора (табл. 3).

Антиген-распознающие и сигнальные домены у одобренных анти-CD19 CAR схожи, поэтому наиболее информативным является сравнение эффектов от костимуляторных и трансмембранных доменов.

Костимуляторные домены CD28 и 4-1BB представляют собой последовательности, регулирующие реакцию активации Т-лимфоцитов в ответ на антигенный стимул. Сигналинг через эти домены опосредует выработку цитокинов клетками, например ИЛ-2, ФНО, ИФН-γ и др., а также продукцию антиапоптотических белков [101, 102]. Являясь частью химерного антигенного рецептора, 4-1BB и CD28 опосредуют костимуляторный сигнал для CAR Т-клеток, что приводит к активации транскрипционных факторов. 4-1BB активирует транскрипционные факторы NF-κB и AP-1, а CD28 — NF-κB, NFAT и AP-1.

CAR Т-клетки, несущие костимуляторный домен 4-1BB, характеризуются формированием популяции с преобладанием клеток с фенотипом центральной памяти, однако важно отметить, что данное явление часто является специфичным для каждого отдельного больного [68, 88]. Такой фенотип создает потенциал к длительной персистенции в организме больного [68]. Показано, что клеточные препараты, в составе которых преобладали клетки центральной памяти, обладали лучшей противоопухолевой эффективностью [27]. Для CAR Т-клеток, несущих костимуляторный домен CD28, характерна сильная активация, и, как следствие, они быстрее достигают пика экспансии по сравнению с CAR Т-клетками, несущими 4-1BB-CAR, также им присуща быстрая элиминация опухолевых клеток [103]. Такие преимущества CD28-CAR Т опосредуют и их побочные эффекты. CAR на основе CD28 склонны к преобладанию фенотипа эффекторной памяти;

Таблица 3. Различия одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов CAR T-клеточных препаратов второго поколения
Table 3. Differences of FDA-approved second-generation CAR

Различия	Препарат							
	Тисагенлейкцел <i>Tisagenlecleucel</i> [91]	Аксикабтаген цилолеусел <i>Axicabtagene cicleucel</i> [92]	Брексукабтаген аутолеусел <i>Brexucabtagene autoleucel</i> [93]	Лизокабтаген маралеусел <i>Lisocabtagene maraleucel</i> [94]	Обекабтаген аутолеусел <i>Obecabtagene autoleucel</i> [95]	Идекабтаген виклеусел <i>Idecabtagene vicleucel</i> [96]	Цилтакабтаген аутолеусел <i>Ciltacabtagene autoleucel</i> [97]	
	Тип доставки конструкции <i>Vehicle</i>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>	Гамма-ретровирус <i>Gammaretrovirus</i>	Гамма-ретровирус <i>Gammaretrovirus</i>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>	
	Тип промотора <i>Promotor type</i>	EF1α	MSCV	MSCV	I/H N/A	I/H N/A	I/H N/A	
	Трансмембранный домен <i>Transmembrane domain</i>	CD8α	CD28	CD28	CD28	CD8α	CD8α	
	Антиген-распознающий домен <i>Antigen-binding domain</i>	FMC63	FMC63	FMC63	FMC63	CAT19	bb2121	
	Сигнальный домен <i>Signaling domain</i>	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	
	Костимуляторный домен <i>Costimulatory domain</i>	4–1BB	CD28	CD28	4–1BB	4–1BB	4–1BB	
	Персистенция организме <i>Persistence</i>	2,5–9 лет 2,5–9 years [98]	Около 6 мес. Approximately 6 months [99]	Около 6 мес. Approximately 6 months [99]	11–16 мес. 11–16 months [94]	Около 17,8 мес. Approximately 17,8 months [100]	Около года Approximately a year [96]	Более 6 мес. Over 6 months [14]

Примечание: И/Н — информация недоступна.
Note: N/A — note available.

такие клетки быстрее истощаются и погибают, а их персистенция в организме менее продолжительна в сравнении с CAR T на основе 4–1 BB [68]. Такой эффект может быть опосредован явлением тонического сигналинга, которое характеризуется активацией клеток в отсутствие антигенной стимуляции, провоцирующей истощение [104].

Не менее значим и тип трансмембранного домена CAR, соединяющего внеклеточную и цитоплазматическую части рецептора. Дополнительное влияние CD8-α на эффекторные функции CAR T-клеток не установлено, в то же время для трансмембранного домена CD28 существуют данные о том, что его наличие может обуславливать гетеродимеризацию с эндогенным CD28, опосредуя тонический сигналинг и приводя как к ускоренному истощению клеток, так и усилению их цитотоксических свойств [105].

Побочные действия

Поскольку терапия заболеваний системы крови с использованием CAR T-клеток становится широко распространенным вариантом лечения, осведомленность о возможной токсичности и факторах, влияющих на нее, становится все более необходимой. В связи с тем что разные CAR T-клеточные препараты несут химерные рецепторы, состоящие из разных доменов, профиль токсичности уникален для каждого препарата. Состояния, вызванные токсичностью CAR T-клеток, можно объединить в несколько групп, основными из которых являются СВЦ, с иммунными клетками ассоциированный нейротоксический синдром (ИКАНС), цитопения. Среди последствий CAR T часто встречаются вторичный гуморальный иммунодефицит и инфекционные осложнения.

СВЦ является наиболее частым побочным эффектом при анти-CD19 CAR T терапии. Основной причиной его возникновения считается экспансия и активация CAR T-клеток *in vivo* и, как следствие, выброс ими эффекторных цитокинов, таких как ИФН-γ, ФНО и ИЛ-2. Это ведет к массовому выбросу цитокинов макрофагами (в первую очередь ИЛ-6) и системному воспалению. Симптомы СВЦ проявляются с первой недели после введения клеточного препарата и развиваются до двух недель [106].

ИКАНС наравне с СВЦ является значимым и частым побочным действием после проведения CAR T-клеточной терапии. Это состояние развивается вследствие прохождения CAR T-клеток через гематоэнцефалический барьер и выработки перичеситами цитокинов ИЛ-6 и ФНО. Кроме того, проникая через гематоэнцефалический барьер, CAR T-клетки начинают атаковать муральные клетки или перичеситы микроциркуляторного русла мозга, поскольку те экспрессируют CD19 [107]. Временной профиль развития ИКАНС совпадает с СВЦ [108].

Поскольку разные CAR T-клеточные препараты имеют различную структуру CAR, уровень токсичности и частота связанных с ней состояний варьируют. Согласно данным клинического исследования «DESCAR T» (NCT04328298) [109], у 86 % больных, получавших лечение аксикабтагеном цилолеуселом (костимуляторный домен CD28), развился СВЦ, в сравнении с 75,6 % больных, получавших тисагенлейклейцел (костимуляторный домен 4–1 BB). Случаев нейротоксичности также гораздо больше после получения аксикабтагена цилолеусела (у 35 % больных возник ИКАНС 1–2-й степени, у 13,9 % — ИКАНС третьей степени или более) по сравнению с тисагенлейклейцелом (у 19,1 % больных возник ИКАНС 1–2-й степени, у 2,9 % — ИКАНС третьей степени или более). Кроме того, значительно более выраженная цитопения наблюдалась после введения аксикабтагена цилолеусела как через 1 мес. после инфузии препарата, так и через 3 мес. и выражалась в нейтропении, анемии и тромбоцитопении [110].

Цитопенические синдромы нередко возникают в качестве побочного действия как после введения анти-CD19 CAR T-клеток, так и после введения анти-BCMA CAR T-клеток. Механизмы и причины возникновения цитопении изучают, но в основном отмечают ее развитие в результате лимфоплегирующей химиотерапии, применяющейся в рамках подготовки к введению клеточного препарата, или тяжелого течения СВЦ (3–4 степени). CAR T препараты опосредуют разную частоту встречаемости цитопенических синдромов [111–114], однако существует тенденция к более частому развитию нейтропении, реже — тромбоцитопении и реже всего — анемии [115]. Тяжелая нейтропения развивается у 90 % больных после лимфоплегии, предшествующей CAR T-терапии [116, 117]. Разработана шкала, предсказывающая развитие длительной цитопении, которая основана на детекции содержания маркеров гематотоксичности в крови. Показателями, используемыми для предсказания степени тяжести цитопении, являются абсолютное количество тромбоцитов и нейтрофилов, концентрации гемоглобина, С-реактивного белка и ферритина. В зависимости от содержания этих маркеров предсказываемой степени тяжести присваиваются баллы, где низкая степень тяжести описывается от 0 до 1 баллов, а высокая — от двух баллов и выше [118].

Выраженность нейтропении и ее продолжительность являются определяющими факторами риска развития бактериальной, грибковой и вирусной инфекций [119]. Развитие инфекций в течение первого месяца после инфузии CAR T-клеток наблюдается у 12–46 % больных, эта частота уменьшается в течение последующих месяцев [119–121]. Бактериальная инфекция является наиболее частым инфекционным осложнением

и наблюдается в 32–68 % случаев в течение первого месяца после введения CAR T-клеток [122, 123]. Вирусные инфекции выявляют в 19–47 % случаев, чаще встречаются респираторные вирусы, герпес вирус и цитомегаловирус [124]. Наиболее редко развиваются грибковые инфекции, их диагностируют в 3–14 % случаев [125]. С 0 до 90 дня после введения CAR T-клеток инфекции легкой и средней тяжести течения обнаружили в 50 % случаев всех инфекционных эпизодов, тяжелое течение инфекции наблюдали в 41 % инфекционных эпизодов, а угрожающие жизни инфекции встретились в 6 % случаев, в 3 % умерли от инфекционных осложнений [119].

В-клеточная деплеция является еще одним побочным эффектом после терапии CAR T-клетками. У большинства больных В-клеточная деплеция наблюдается в течение 6–12 мес. после введения препарата, а у 25–38 % больных сохраняется в течение нескольких лет [126, 127]. Кратковременное течение В-клеточной деплеции, менее 3 мес., является фактором риска развития рецидива заболевания.

Прямое сравнение клинических исследований между собой является некорректным, поскольку в них варьирует выборка больных. Для более точного анализа связи выраженности токсичности следует проводить клинические исследования, в которых могли быть сравнимы сопоставимые группы больных по таким характеристикам, как основной диагноз и масса опухолевой нагрузки перед терапией, клинико-лабораторные характеристики больных, а также дозы вводимых препаратов и прочее.

Литература

- Rodriguez-Abreu D., Bordoni A., Zucca E. Epidemiology of hematological malignancies. *Ann Oncol.* 2007;18 (Suppl 1):i3–8. DOI: 10.1093/annonc/mdl443.
- Александрова Г.А., Ахметзянова Р.Р., Голубев Н.А. и др. Здравоохранение в России 2023. М.: Росстат; 2023.
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, М.; 2024.
- Mitra A., Barua A., Huang L., et al. From bench to bedside: the history and progress of CAR T cell therapy. *Front Immunol.* 2023;14:1188049. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1188049.
- Wei G., Hu Y., Pu C., et al. CD19 targeted CAR-T therapy versus chemotherapy in re-induction treatment of refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia: results of a case-controlled study. *Ann Hematol.* 2018;97(5):781–9. DOI: 10.1007/s00277-018-3246-4.
- Sadelain M., Brentjens R., Rivière I. The Basic Principles of Chimeric Antigen Receptor Design. *Cancer Discovery.* 2013;3(4):388–98. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0548.
- First-Ever CAR T-cell Therapy Approved in U.S. *Cancer Discovery.* 2017;7(10):OF1. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-NB2017-126.
- Rotte A., Frigault M.J., Ansari A., et al. Dose–response correlation for CAR-T cells: a systematic review of clinical studies. *J Immunother Cancer.* 2022;10(12):e005678. DOI: 10.1136/jitc-2022-005678.

Таким образом, в настоящее время наблюдается развитие технологий CAR T-клеточной терапии, всплеск которого связан с появлением все большего количества клеточных продуктов, различия между которыми характеризуются как структурой CAR, так и особенностями производственного процесса. Это создало предпосылки к появлению исследований, в которых показана корреляция между определенными характеристиками CAR T-клеточного продукта и профилем его эффективности и безопасности. Несмотря на множество работ по сравнению влияния параметров производства и свойств химерного антигенного рецептора на качество итогового клеточного продукта, количества исследований по прямому сравнению описанных выше параметров с исходом терапии у больных недостаточно для формирования заключений. При этом существующие сравнительные исследования показали, что функциональный профиль клеточного продукта в организме является пациент-специфичным. При введении фиксированного соотношения CD4:CD8 CAR T-клеток данные о побочных действиях препарата и его эффективности разнятся в зависимости от предшествующей терапии и других особенностей истории болезни больного [70]. Принимая во внимание нарастающий объем данных, нередко диссонирующих между собой, необходимо продолжать исследования взаимного влияния факторов, опосредующих эффективность CAR T-клеточных препаратов, для стремительного развития возможностей применения данной терапии у больных.

References

- Rodriguez-Abreu D., Bordoni A., Zucca E. Epidemiology of hematological malignancies. *Ann Oncol.* 2007;18 (Suppl 1):i3–8. DOI: 10.1093/annonc/mdl443.
- Aleksandrova G.A., Akhmetzyanova R.R., Golubev N.A., et al. *Zdravookhranenie v Rossii* 2023. Moscow: Rosstat; 2023 (In Russian).
- Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology — branch of FGBI 'NMRC Radiology', Ministry of Health of Russia, Moscow. 2024 (In Russian).
- Mitra A., Barua A., Huang L., et al. From bench to bedside: the history and progress of CAR T cell therapy. *Front Immunol.* 2023;14:1188049. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1188049.
- Wei G., Hu Y., Pu C., et al. CD19 targeted CAR-T therapy versus chemotherapy in re-induction treatment of refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia: results of a case-controlled study. *Ann Hematol.* 2018;97(5):781–9. DOI: 10.1007/s00277-018-3246-4.
- Sadelain M., Brentjens R., Rivière I. The Basic Principles of Chimeric Antigen Receptor Design. *Cancer Discovery.* 2013;3(4):388–98. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0548.
- First-Ever CAR T-cell Therapy Approved in U.S. *Cancer Discovery.* 2017;7(10):OF1. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-NB2017-126.
- Rotte A., Frigault M.J., Ansari A., et al. Dose–response correlation for CAR-T cells: a systematic review of clinical studies. *J Immunother Cancer.* 2022;10(12):e005678. DOI: 10.1136/jitc-2022-005678.

9. FDA. Package Insert and Medication Guide — YESCARTA. 2017.
10. FDA. Package Insert and Medication Guide — KYMRIAH. 2017.
11. FDA. Package Insert and Medication Guide — TECARTUS. 2020.
12. FDA. Package Insert and Medication Guide — BREYANZI. 2021.
13. FDA. Package Insert and Medication Guide — ABECMA. 2021.
14. FDA. Package Insert and Medication Guide — CARVYKTI. 2022.
15. FDA. Package Insert — AUCATZYL. 2024.
16. Sterner R.C., Sterner R.M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J.* 2021;11(4):69. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
17. Ayala Ceja M., Khericha M., Harris C.M., et al. CAR-T cell manufacturing: Major process parameters and next-generation strategies. *J Exp Med.* 2024;221(2):e20230903. DOI: 10.1084/jem.20230903.
18. Shelikhova L., Rakhtenko A., Molostova O., et al. Allogeneic Donor-Derived Myeloid Antigen Directed CAR-T Cells — for Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia in Children after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report of Three Cases. *Blood.* 2022;140(Suppl 1):4600–1. DOI: 10.1182/blood-2022-168891.
19. Pulsipher M.A., Levine J.E., Hayashi R.J., et al. Safety and efficacy of allogeneic PBSC collection in normal pediatric donors: The Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium Experience (PBMTc) 1996–2003. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(4):361–7. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704743.
20. Worel N., Peteres C., Gerhartl K., et al. Collection of peripheral blood stem cells (PBSC) after chemotherapy and administration of rhGM-CSF in children weighing less than 17 kg. *Transfus Sci.* 1996;17(4):601–6.
21. Das R.K., Vernau L., Grupp S.A., et al. Naive T-cell Deficits at Diagnosis and after Chemotherapy Impair Cell Therapy Potential in Pediatric Cancers. *Cancer Discov.* 2019;9(4):492–9. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1314.
22. Zhang D., Zhu Y., Jin Y., et al. Leukapheresis and Hyperleukocytosis, Past and Future. *IJGM.* 2021;14:3457–67. DOI: 10.2147/IJGM.S321787.
23. Künkele A., Brown C., Beebe A., et al. Manufacture of Chimeric Antigen Receptor T Cells from Mobilized Cyropreserved Peripheral Blood Stem Cell Units Depends on Monocyte Depletion. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(2):223–32. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.10.004.
24. Hayden P.J., Roddie C., Bader P., et al. Management of adults and children receiving CAR T-cell therapy: 2021 best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) and the European Haematology Association (EHA). *Ann Oncol.* 2022;33(3):259–75. DOI: 10.1016/jannonc.2021.12.003.
25. Qayed M., McGuirk J.P., Myers G.D., et al. Leukapheresis guidance and best practices for optimal chimeric antigen receptor T-cell manufacturing. *Cytotherapy.* 2022;24(9):869–78. DOI: 10.1016/j.jcyt.2022.05.003.
26. Vormittag P., Gunn R., Ghorashian S., et al. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol.* 2018 r;53:164–81. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.01.025.
27. López-Cantillo G., Urueña C., Camacho B.A., et al. CAR-T Cell Performance: How to Improve Their Persistence? *Front Immunol.* 2022;13:878209. DOI: 10.3389/fimmu.2022.878209.
28. Wada F., Jo T., Arai Y., et al. T-cell counts in peripheral blood at leukapheresis predict responses to subsequent CAR-T cell therapy. *Sci Rep.* 2022;12(1):18696. DOI: 10.1038/s41598-022-23589-9.
29. Allen E.S., Stroncek D.F., Ren J., et al. Autologous lymphapheresis for the production of chimeric antigen receptor T cells. *Transfusion.* 2017;57(5):1133–41. DOI: 10.1111/trf.14003.
9. FDA. Package Insert and Medication Guide — YESCARTA. 2017.
10. FDA. Package Insert and Medication Guide — KYMRIAH. 2017.
11. FDA. Package Insert and Medication Guide — TECARTUS. 2020.
12. FDA. Package Insert and Medication Guide — BREYANZI. 2021.
13. FDA. Package Insert and Medication Guide — ABECMA. 2021.
14. FDA. Package Insert and Medication Guide — CARVYKTI. 2022.
15. FDA. Package Insert — AUCATZYL. 2024.
16. Sterner R.C., Sterner R.M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J.* 2021;11(4):69. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
17. Ayala Ceja M., Khericha M., Harris C.M., et al. CAR-T cell manufacturing: Major process parameters and next-generation strategies. *J Exp Med.* 2024;221(2):e20230903. DOI: 10.1084/jem.20230903.
18. Shelikhova L., Rakhtenko A., Molostova O., et al. Allogeneic Donor-Derived Myeloid Antigen Directed CAR-T Cells — for Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia in Children after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report of Three Cases. *Blood.* 2022;140(Suppl 1):4600–1. DOI: 10.1182/blood-2022-168891.
19. Pulsipher M.A., Levine J.E., Hayashi R.J., et al. Safety and efficacy of allogeneic PBSC collection in normal pediatric donors: The Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium Experience (PBMTc) 1996–2003. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(4):361–7. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704743.
20. Worel N., Peteres C., Gerhartl K., et al. Collection of peripheral blood stem cells (PBSC) after chemotherapy and administration of rhGM-CSF in children weighing less than 17 kg. *Transfus Sci.* 1996;17(4):601–6.
21. Das R.K., Vernau L., Grupp S.A., et al. Naive T-cell Deficits at Diagnosis and after Chemotherapy Impair Cell Therapy Potential in Pediatric Cancers. *Cancer Discov.* 2019;9(4):492–9. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1314.
22. Zhang D., Zhu Y., Jin Y., et al. Leukapheresis and Hyperleukocytosis, Past and Future. *IJGM.* 2021;14:3457–67. DOI: 10.2147/IJGM.S321787.
23. Künkele A., Brown C., Beebe A., et al. Manufacture of Chimeric Antigen Receptor T Cells from Mobilized Cyropreserved Peripheral Blood Stem Cell Units Depends on Monocyte Depletion. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(2):223–32. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.10.004.
24. Hayden P.J., Roddie C., Bader P., et al. Management of adults and children receiving CAR T-cell therapy: 2021 best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) and the European Haematology Association (EHA). *Ann Oncol.* 2022;33(3):259–75. DOI: 10.1016/jannonc.2021.12.003.
25. Qayed M., McGuirk J.P., Myers G.D., et al. Leukapheresis guidance and best practices for optimal chimeric antigen receptor T-cell manufacturing. *Cytotherapy.* 2022;24(9):869–78. DOI: 10.1016/j.jcyt.2022.05.003.
26. Vormittag P., Gunn R., Ghorashian S., et al. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol.* 2018 r;53:164–81. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.01.025.
27. López-Cantillo G., Urueña C., Camacho B.A., et al. CAR-T Cell Performance: How to Improve Their Persistence? *Front Immunol.* 2022;13:878209. DOI: 10.3389/fimmu.2022.878209.
28. Wada F., Jo T., Arai Y., et al. T-cell counts in peripheral blood at leukapheresis predict responses to subsequent CAR-T cell therapy. *Sci Rep.* 2022;12(1):18696. DOI: 10.1038/s41598-022-23589-9.
29. Allen E.S., Stroncek D.F., Ren J., et al. Autologous lymphapheresis for the production of chimeric antigen receptor T cells. *Transfusion.* 2017;57(5):1133–41. DOI: 10.1111/trf.14003.

30. Anagnostou T., Riaz I.B., Hashmi S.K., et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy in acute lymphocytic leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol.* 2020;7(11):e816–26. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30277-5.
31. Hu Y., Wang J., Wei G., et al. A retrospective comparison of allogenic and autologous chimeric antigen receptor T cell therapy targeting CD19 in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(8):1208–17. DOI: 10.1038/s41409-018-0403-2.
32. Park J.H., Rivière I., Gonen M., et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449–59. DOI: 10.1056/NEJMoa1709919.
33. Smith M., Zakrzewski J., James S., et al. Posttransplant chimeric antigen receptor therapy. *Blood.* 2018;131(10):1045–52. DOI: 10.1182/blood-2017-08-752121.
34. Yang Y., Kohler M.E., Chien C.D., et al. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance. *Sci Transl Med.* 2017;9(417):eaag1209. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1209.
35. Bridgeman J.S., Ladell K., Sheard V.E., et al. CD3 ζ -based chimeric antigen receptors mediate T cell activation via cis – and trans -signalling mechanisms: implications for optimization of receptor structure for adoptive cell therapy. *Clin Exp Immunol.* 2014;175(2):258–67. DOI: 10.1111/cei.12216.
36. Wang X., Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Mol Ther Oncolytics.* 2016;3:16015. DOI: 10.1038/mt.2016.15.
37. Nazarpour R., Zabihi E., Alijanpour E., et al. Optimization of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) Cryopreservation. *Int J Mol Cell Med.* 2012;1(2):88–93.
38. Brezinger-Dayan K., Itzhaki O., Melnichenko J., et al. Impact of cryopreservation on CAR T production and clinical response. *Front Oncol.* 2022;12:1024362. DOI: 10.3389/fonc.2022.1024362.
39. Abraham-Miranda J., Menges M., Atkins R., et al. CAR-T manufactured from frozen PBMC yield efficient function with prolonged in vitro production. *Front Immunol.* 2022;13:1007042. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1007042.
40. Su T., Ying Z., Lu X., et al. The clinical outcomes of fresh versus cryopreserved CD19-directed chimeric antigen receptor T cells in non-Hodgkin lymphoma patients. *Cryobiology.* 2020;96:106–13. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2020.07.009.
41. Locke F.L., Rossi J.M., Neelapu S.S., et al. Tumor burden, inflammation, and product attributes determine outcomes of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv.* 2020;4(19):4898–911. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002394.
42. Panch S.R., Srivastava S.K., Elavia N., et al. Effect of Cryopreservation on Autologous Chimeric Antigen Receptor T Cell Characteristics. *Mol Ther.* 2019;27(7):1275–85. DOI: 10.1016/j.jymthe.2019.05.015.
43. Tyagarajan S., Schmitt D., Acker C., et al. Autologous cryopreserved leukapheresis cellular material for chimeric antigen receptor–T cell manufacture. *Cytotherapy.* 2019;21(12):1198–205. DOI: 10.1016/j.jcyt.2019.10.005.
44. Okuma A. Generation of CAR-T Cells by Lentiviral Transduction. *Methods Mol Biol.* 2021; 2312:3–14. DOI: 10.1007/978-1-0716-1441-9_1.
45. Safety and Efficacy of Gene-Based Therapeutics for Inherited Disorders. Ed. Brunetti-Pierri N. Springer Int Pub; 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-53457-2.
46. Labbé R.P., Vessillier S., Rafiq Q.A. Lentiviral Vectors for T Cell Engineering: Clinical Applications, Bioprocessing and Future Perspectives. *Viruses.* 2021;13(8):1528. DOI: 10.3390/v13081528.
47. Pedersen F.S., Mikkelsen J.G. Retroviruses in Human Gene Therapy. In: *Encyclopedia of Life Sciences.* Wiley; 2018:1–12. DOI: 10.1002/9780470015902.a0001002.pub4.
48. Cesana D., Volpin M., Serina Secanechia Y.N., et al. Safety and Efficacy of Retroviral and Lentiviral Vectors for Gene Therapy. In *Safety and Efficacy of Gene-*
30. Anagnostou T., Riaz I.B., Hashmi S.K., et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy in acute lymphocytic leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Haematol.* 2020;7(11):e816–26. DOI: 10.1016/S2352-3026(20)30277-5.
31. Hu Y., Wang J., Wei G., et al. A retrospective comparison of allogenic and autologous chimeric antigen receptor T cell therapy targeting CD19 in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(8):1208–17. DOI: 10.1038/s41409-018-0403-2.
32. Park J.H., Rivière I., Gonen M., et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449–59. DOI: 10.1056/NEJMoa1709919.
33. Smith M., Zakrzewski J., James S., et al. Posttransplant chimeric antigen receptor therapy. *Blood.* 2018;131(10):1045–52. DOI: 10.1182/blood-2017-08-752121.
34. Yang Y., Kohler M.E., Chien C.D., et al. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance. *Sci Transl Med.* 2017;9(417):eaag1209. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1209.
35. Bridgeman J.S., Ladell K., Sheard V.E., et al. CD3 ζ -based chimeric antigen receptors mediate T cell activation via cis – and trans -signalling mechanisms: implications for optimization of receptor structure for adoptive cell therapy. *Clin Exp Immunol.* 2014;175(2):258–67. DOI: 10.1111/cei.12216.
36. Wang X., Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Mol Ther Oncolytics.* 2016;3:16015. DOI: 10.1038/mt.2016.15.
37. Nazarpour R., Zabihi E., Alijanpour E., et al. Optimization of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) Cryopreservation. *Int J Mol Cell Med.* 2012;1(2):88–93.
38. Brezinger-Dayan K., Itzhaki O., Melnichenko J., et al. Impact of cryopreservation on CAR T production and clinical response. *Front Oncol.* 2022;12:1024362. DOI: 10.3389/fonc.2022.1024362.
39. Abraham-Miranda J., Menges M., Atkins R., et al. CAR-T manufactured from frozen PBMC yield efficient function with prolonged in vitro production. *Front Immunol.* 2022;13:1007042. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1007042.
40. Su T., Ying Z., Lu X., et al. The clinical outcomes of fresh versus cryopreserved CD19-directed chimeric antigen receptor T cells in non-Hodgkin lymphoma patients. *Cryobiology.* 2020;96:106–13. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2020.07.009.
41. Locke F.L., Rossi J.M., Neelapu S.S., et al. Tumor burden, inflammation, and product attributes determine outcomes of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv.* 2020;4(19):4898–911. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002394.
42. Panch S.R., Srivastava S.K., Elavia N., et al. Effect of Cryopreservation on Autologous Chimeric Antigen Receptor T Cell Characteristics. *Mol Ther.* 2019;27(7):1275–85. DOI: 10.1016/j.jymthe.2019.05.015.
43. Tyagarajan S., Schmitt D., Acker C., et al. Autologous cryopreserved leukapheresis cellular material for chimeric antigen receptor–T cell manufacture. *Cytotherapy.* 2019;21(12):1198–205. DOI: 10.1016/j.jcyt.2019.10.005.
44. Okuma A. Generation of CAR-T Cells by Lentiviral Transduction. *Methods Mol Biol.* 2021; 2312:3–14. DOI: 10.1007/978-1-0716-1441-9_1.
45. Safety and Efficacy of Gene-Based Therapeutics for Inherited Disorders. Ed. Brunetti-Pierri N. Springer Int Pub; 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-53457-2.
46. Labbé R.P., Vessillier S., Rafiq Q.A. Lentiviral Vectors for T Cell Engineering: Clinical Applications, Bioprocessing and Future Perspectives. *Viruses.* 2021;13(8):1528. DOI: 10.3390/v13081528.
47. Pedersen F.S., Mikkelsen J.G. Retroviruses in Human Gene Therapy. In: *Encyclopedia of Life Sciences.* Wiley; 2018:1–12. DOI: 10.1002/9780470015902.a0001002.pub4.
48. Cesana D., Volpin M., Serina Secanechia Y.N., et al. Safety and Efficacy of Retroviral and Lentiviral Vectors for Gene Therapy. In *Safety and Efficacy of Gene-*

- Based Therapeutics for Inherited Disorders. Ed. Brunetti-Pierri N. Springer Int Publ; 2017:9–35. DOI: 10.1007/978-3-319-53457-2_2.
49. Xia Y., Zhang J., Li J., et al. Cytopenias following anti-CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy: a systematic analysis for contributing factors. *Ann Med.* 2022;54(1):2950–64. DOI: 10.1080/07853890.2022.2136748.
 50. Poletti V., Mavilio F. Designing Lentiviral Vectors for Gene Therapy of Genetic Diseases. *Viruses.* 2021;13(8):1526. DOI: 10.3390/v13081526.
 51. Wilson W. Bryan. Tisagenlecleucel Novartis Pharmaceuticals Corporation. Oncologic Drugs Advisory Committee Meeting; 2017.
 52. Bushman F.D. Retroviral Insertional Mutagenesis in Humans: Evidence for Four Genetic Mechanisms Promoting Expansion of Cell Clones. *Mol Ther.* 2020;28(2):352–6. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.12.009.
 53. Dulery R., Guiraud V., Choquet S., et al. T cell malignancies after CAR T cell therapy in the DESCAR-T registry. *Nat Med.*, 2025; 31(4): 1130–1133. DOI: 10.1038/s41591-024-03458-w.
 54. Jadowsky J.K., Hexner E.O., Marshall A., et al. Long-term safety of lentiviral or gammaretroviral gene-modified T cell therapies. *Nat Med.*, 2025; 31(4) 1134–1144. DOI: 10.1038/s41591-024-03478-6.
 55. Harrison S.J., Touzeau C., Kint N., et al. CAR+ T-Cell Lymphoma after Cilta-cel Therapy for Relapsed or Refractory Myeloma. *N Engl J Med.* 2025;392(7):677–85. DOI: 10.1056/NEJMoa2309728.
 56. Perica K., Jain N., Scordo M., et al. CD4+ T-Cell Lymphoma Harboring a Chimeric Antigen Receptor Integration in TP53. *N Engl J Med.* 2025;392(6):577–83. DOI: 10.1056/NEJMoa2411507.
 57. Lamers C.H.J., Willemsen R., Van Elzakker P., et al. Immune responses to transgene and retroviral vector in patients treated with ex vivo–engineered T cells. *Blood.* 2011;117(1):72–82. DOI: 10.1182/blood-2010-07-294520.
 58. Hudecek M., Ivics Z. Non-viral therapeutic cell engineering with the Sleeping Beauty transposon system. *Curr Opin Genet Dev.* 2018;52:100–8. DOI: 10.1016/j.gde.2018.06.003.
 59. Izsvák Z., Ivics Z. Sleeping Beauty Transposition: Biology and Applications for Molecular Therapy. *Mol Ther.* 2004;9(2):147–56. DOI: 10.1016/j.ymthe.2003.11.009.
 60. Monjezi R., Miskey C., Gogishvili T., et al. Enhanced CAR T-cell engineering using non-viral Sleeping Beauty transposition from minicircle vectors. *Leukemia.* 2017;31(1):186–94. DOI: 10.1038/leu.2016.180.
 61. Atsavapranee E.S., Billingsley M.M., Mitchell M.J. Delivery technologies for T cell gene editing: Applications in cancer immunotherapy. *EBioMedicine.* 2021;67:103354. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103354.
 62. Kebriaei P., Singh H., Huls M.H., et al. Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Invest.* 2016;126(9):3363–76. DOI: 10.1172/JCI86721.
 63. Yusa K. piggyBac Transposon. Chandler M, Craig N, редакторы. *Microbiol Spectr.* 2015;3(2):3.2.04. DOI: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0028-2014.
 64. Zhang Y., Zhang Z., Ding Y., et al. Phase I clinical trial of EGFR-specific CAR-T cells generated by the piggyBac transposon system in advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2021;147(12):3725–34. DOI: 10.1007/s00432-021-03613-7.
 65. Hu Y., Zhou Y., Zhang M., et al. CRISPR/Cas9-Engineered Universal CD19/CD22 Dual-Targeted CAR-T Cell Therapy for Relapsed/Refractory B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Cancer Res.* 2021;27(10):2764–72. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3863.
 66. Garner E., Kelly E., Namburi S., et al. CB-012, an allogeneic anti-CLL-1 CAR-T cell therapy engineered with next-generation CRISPR technology to resist both the immunosuppressive tumor microenvironment and immune cell-mediated rejection, for patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 2023;83 (7_Suppl):3201. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2023-3201.

67. Rurik J.G., Tombácz I., Yadegari A., et al. CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury. *Science*. 2022;375(6576):91–6. DOI: 10.1126/science.abm0594.
68. Cheng Z., Wei R., Ma Q., et al. In Vivo Expansion and Antitumor Activity of Coinfused CD28- and 4-1BB-Engineered CAR-T Cells in Patients with B Cell Leukemia. *Mol Ther*. 2018;26(4):976–85. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.01.022.
69. Sommermeyer D., Hudecek M., Kosasih P.L., et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo. *Leukemia*. 2016;30(2):492–500. DOI: 10.1038/leu.2015.247.
70. Turtle C.J., Hanafi L.-A., Berger C., et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *J Clin Invest*. 2016;126(6):2123–38. DOI: 10.1172/JCI85309.
71. MacPherson S., Keyes S., Kilgour M.K., et al. Clinically relevant T cell expansion media activate distinct metabolic programs uncoupled from cellular function. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2022;24:380–93. DOI: 10.1016/j.omtm.2022.02.004.
72. Eberhardt F., Hückelhoven-Krauss A., Kunz A., et al. Impact of serum-free media on the expansion and functionality of CD19.CAR T-cells. *Int J Mol Med*. 2023;52(1):58. DOI: 10.3892/ijmm.2023.5261.
73. Sato K., Kondo M., Sakuta K., et al. Impact of culture medium on the expansion of T cells for immunotherapy. *Cytotherapy*. 2009;11(7):936–46. DOI: 10.3109/14653240903219114.
74. Ghassemi S., Martinez-Becerra F.J., Master A.M., et al. Enhancing Chimeric Antigen Receptor T Cell Anti-tumor Function through Advanced Media Design. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;18:595–606. DOI: 10.1016/j.omtm.2020.07.008.
75. Medvec A.R., Ecker C., Kong H., et al. Improved Expansion and In Vivo Function of Patient T Cells by a Serum-free Medium. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018;8:65–74. DOI: 10.1016/j.omtm.2017.11.001.
76. Pawlik-Sobecka L., Sołkiewicz K., Kokot I., et al. The Influence of Serum Sample Storage Conditions on Selected Laboratory Parameters Related to Oxidative Stress: A Preliminary Study. *Diagnostics*. 2020;10(1):51. DOI: 10.3390/diagnostics10010051.
77. Xu H., Wang N., Cao W., et al. Influence of various medium environment to in vitro human T cell culture. *In Vitro Cell Dev Biol Animal*. 2018;54(8):559–66. DOI: 10.1007/s11626-018-0273-3.
78. Du L., Nai Y., Shen M., et al. IL-21 Optimizes the CAR-T Cell Preparation Through Improving Lentivirus Mediated Transfection Efficiency of T Cells and Enhancing CAR-T Cell Cytotoxic Activities. *Front Mol Biosci*. 2021;8:675179. DOI: 10.3389/fmolb.2021.675179.
79. Zeng R., Spolski R., Casas E., et al. The molecular basis of IL-21-mediated proliferation. *Blood*. 2007;109(10):4135–42. DOI: 10.1182/blood-2006-10-054973.
80. Cui W., Liu Y., Weinstein J.S., et al. An Interleukin-21- Interleukin-10-STAT3 Pathway Is Critical for Functional Maturation of Memory CD8+ T Cells. *Immunity*. 2011;35(5):792–805. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.09.017.
81. Adachi K., Kano Y., Nagai T., et al. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol*. 2018;36(4):346–51. DOI: 10.1038/nbt.4086.
82. Zhou J., Jin L., Wang F., et al. Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells expanded with IL-7/IL-15 mediate superior antitumor effects. *Protein Cell*. 2019;10(10):764–9. DOI: 10.1007/s13238-019-0643-y.
83. Talleur A.C., Qudeimat A., Métais J.-Y., et al. Preferential expansion of CD8+ CD19-CAR T cells postinfusion and the role of disease burden on outcome in pe-
67. Rurik J.G., Tombácz I., Yadegari A., et al. CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury. *Science*. 2022;375(6576):91–6. DOI: 10.1126/science.abm0594.
68. Cheng Z., Wei R., Ma Q., et al. In Vivo Expansion and Antitumor Activity of Coinfused CD28- and 4-1BB-Engineered CAR-T Cells in Patients with B Cell Leukemia. *Mol Ther*. 2018;26(4):976–85. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.01.022.
69. Sommermeyer D., Hudecek M., Kosasih P.L., et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo. *Leukemia*. 2016;30(2):492–500. DOI: 10.1038/leu.2015.247.
70. Turtle C.J., Hanafi L.-A., Berger C., et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *J Clin Invest*. 2016;126(6):2123–38. DOI: 10.1172/JCI85309.
71. MacPherson S., Keyes S., Kilgour M.K., et al. Clinically relevant T cell expansion media activate distinct metabolic programs uncoupled from cellular function. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2022;24:380–93. DOI: 10.1016/j.omtm.2022.02.004.
72. Eberhardt F., Hückelhoven-Krauss A., Kunz A., et al. Impact of serum-free media on the expansion and functionality of CD19.CAR T-cells. *Int J Mol Med*. 2023;52(1):58. DOI: 10.3892/ijmm.2023.5261.
73. Sato K., Kondo M., Sakuta K., et al. Impact of culture medium on the expansion of T cells for immunotherapy. *Cytotherapy*. 2009;11(7):936–46. DOI: 10.3109/14653240903219114.
74. Ghassemi S., Martinez-Becerra F.J., Master A.M., et al. Enhancing Chimeric Antigen Receptor T Cell Anti-tumor Function through Advanced Media Design. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;18:595–606. DOI: 10.1016/j.omtm.2020.07.008.
75. Medvec A.R., Ecker C., Kong H., et al. Improved Expansion and In Vivo Function of Patient T Cells by a Serum-free Medium. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018;8:65–74. DOI: 10.1016/j.omtm.2017.11.001.
76. Pawlik-Sobecka L., Sołkiewicz K., Kokot I., et al. The Influence of Serum Sample Storage Conditions on Selected Laboratory Parameters Related to Oxidative Stress: A Preliminary Study. *Diagnostics*. 2020;10(1):51. DOI: 10.3390/diagnostics10010051.
77. Xu H., Wang N., Cao W., et al. Influence of various medium environment to in vitro human T cell culture. *In Vitro Cell Dev Biol Animal*. 2018;54(8):559–66. DOI: 10.1007/s11626-018-0273-3.
78. Du L., Nai Y., Shen M., et al. IL-21 Optimizes the CAR-T Cell Preparation Through Improving Lentivirus Mediated Transfection Efficiency of T Cells and Enhancing CAR-T Cell Cytotoxic Activities. *Front Mol Biosci*. 2021;8:675179. DOI: 10.3389/fmolb.2021.675179.
79. Zeng R., Spolski R., Casas E., et al. The molecular basis of IL-21-mediated proliferation. *Blood*. 2007;109(10):4135–42. DOI: 10.1182/blood-2006-10-054973.
80. Cui W., Liu Y., Weinstein J.S., et al. An Interleukin-21- Interleukin-10-STAT3 Pathway Is Critical for Functional Maturation of Memory CD8+ T Cells. *Immunity*. 2011;35(5):792–805. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.09.017.
81. Adachi K., Kano Y., Nagai T., et al. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol*. 2018;36(4):346–51. DOI: 10.1038/nbt.4086.
82. Zhou J., Jin L., Wang F., et al. Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells expanded with IL-7/IL-15 mediate superior antitumor effects. *Protein Cell*. 2019;10(10):764–9. DOI: 10.1007/s13238-019-0643-y.
83. Talleur A.C., Qudeimat A., Métais J.-Y., et al. Preferential expansion of CD8+ CD19-CAR T cells postinfusion and the role of disease burden on outcome in pe-

- diatric B-ALL. *Blood Adv.* 2022;6(21):5737–49. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006293.
84. Zhang C., Liu J., Zhong J.F., et al. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res.* 2017;5(1):22. DOI: 10.1186/s40364-017-0102-y.
85. Molostova O., Shelikhova L., Muzalevsky Y., et al. CD19 Car T Therapy In Children with R/R ALL: Adaptive Split Dosing Improves Safety and Maintains Efficacy of the Approach. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56 (SUPPL 1):36.
86. Brentjens R.J., Davila M.L., Riviere I., et al. CD19-Targeted T Cells Rapidly Induce Molecular Remissions in Adults with Chemotherapy-Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Sci Transl Med.* 2013;5(177): 177ra38. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005930.
87. Li C.-H., Sharma S., Heczey A.A., et al. Long-term outcomes of GD2-directed CAR-T cell therapy in patients with neuroblastoma. *Nat Med.* 2025;31(4):1125–1129. DOI: 10.1038/s41591-025-03513-0.
88. Roselli E., Boucher J.C., Li G., et al. 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *J Immunother Cancer.* 2021;9(10):e003354. DOI: 10.1136/jitc-2021-003354.
89. Chmielewski M., Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther.* 2015;15(8):1145–54. DOI: 10.1517/14712598.2015.1046430.
90. Tang L., Pan S., Wei X., et al. Arming CAR-T cells with cytokines and more: Innovations in the fourth-generation CAR-T development. *Mol Ther.* 2023;31(11):3146–62. DOI: 10.1016/j.ymthe.2023.09.021.
91. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – KYMRIAH.
92. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – YESCARTA.
93. Research C. for B.E. and. TECARTUS. FDA. 2024 r.
94. FDA. Clinical Pharmacology BLA Review – BREYANZI.
95. FDA. Summary Basis for Regulatory Action – AUCATZYL.
96. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – ABECMA.
97. FDA. Summary Basis for Regulatory Action – CARVYKTI.
98. Awasthi R., Waldron E., Grupp S., et al. Long Term Durable Responses in Relapsed/Refractory (r/r) ALL, DLBCL, and FL Patients Treated with Tisagenlecleucel and Its Association with Persistence of CAR T-Cells. *Blood.* 2023;142(Suppl 1):4872. DOI: 10.1182/blood-2023-181663.
99. Wittibschlager V., Bacher U., Seipel K., et al. CAR T-Cell Persistence Correlates with Improved Outcome in Patients with B-Cell Lymphoma. *IJMS.* 2023;24(6):5688. DOI: 10.3390/ijms24065688.
100. Roddie C., Sandhu K.S., Tholouli E., et al. Obecabtagene Autoleucel in Adults with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2024;391(23):2219–30. DOI: 10.1056/NEJMoa2406526.
101. Shen X., Zhang R., Nie X., et al. 4-1BB Targeting Immunotherapy: Mechanism, Antibodies, and Chimeric Antigen Receptor T. *Cancer Biother Radiopharm.* 2023;38(7):431–44. DOI: 10.1089/cbr.2023.0022.
102. June C.H., Ledbetter J.A., Linsley P.S., et al. Role of the CD28 receptor in T-cell activation. *Immunol Today.* 1990 ;11:211–6. DOI: 10.1016/0167-5699(90)90085-N.
103. Tao Z., Chyra Z., Kotulová J., et al. Impact of T cell characteristics on CAR-T cell therapy in hematological malignancies. *Blood Cancer J.* 2024;14(1):213. DOI: 10.1038/s41408-024-01193-6.
104. Frigault M.J., Lee J., Basil M.C., et al. Identification of Chimeric Antigen Receptors That Mediate Constitutive or Inducible Proliferation of T Cells. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(4):356–67. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0186.
105. Muller Y.D., Nguyen D.P., Ferreira L.M.R., et al. The CD28-Transmembrane Domain Mediates Chimeric Antigen Receptor Heterodimerization With CD28. *Front Immunol.* 2021;12:639818. DOI: 10.3389/fimmu.2021.639818.
- diatric B-ALL. *Blood Adv.* 2022;6(21):5737–49. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006293.
84. Zhang C., Liu J., Zhong J.F., et al. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res.* 2017;5(1):22. DOI: 10.1186/s40364-017-0102-y.
85. Molostova O., Shelikhova L., Muzalevsky Y., et al. CD19 Car T Therapy In Children with R/R ALL: Adaptive Split Dosing Improves Safety and Maintains Efficacy of the Approach. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56 (SUPPL 1):36.
86. Brentjens R.J., Davila M.L., Riviere I., et al. CD19-Targeted T Cells Rapidly Induce Molecular Remissions in Adults with Chemotherapy-Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Sci Transl Med.* 2013;5(177): 177ra38. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005930.
87. Li C.-H., Sharma S., Heczey A.A., et al. Long-term outcomes of GD2-directed CAR-T cell therapy in patients with neuroblastoma. *Nat Med.* 2025;31(4):1125–1129. DOI: 10.1038/s41591-025-03513-0.
88. Roselli E., Boucher J.C., Li G., et al. 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *J Immunother Cancer.* 2021;9(10):e003354. DOI: 10.1136/jitc-2021-003354.
89. Chmielewski M., Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther.* 2015;15(8):1145–54. DOI: 10.1517/14712598.2015.1046430.
90. Tang L., Pan S., Wei X., et al. Arming CAR-T cells with cytokines and more: Innovations in the fourth-generation CAR-T development. *Mol Ther.* 2023;31(11):3146–62. DOI: 10.1016/j.ymthe.2023.09.021.
91. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – KYMRIAH.
92. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – YESCARTA.
93. Research C. for B.E. and. TECARTUS. FDA. 2024 r.
94. FDA. Clinical Pharmacology BLA Review – BREYANZI.
95. FDA. Summary Basis for Regulatory Action – AUCATZYL.
96. FDA. BLA Clinical Review Memorandum – ABECMA.
97. FDA. Summary Basis for Regulatory Action – CARVYKTI.
98. Awasthi R., Waldron E., Grupp S., et al. Long Term Durable Responses in Relapsed/Refractory (r/r) ALL, DLBCL, and FL Patients Treated with Tisagenlecleucel and Its Association with Persistence of CAR T-Cells. *Blood.* 2023;142(Suppl 1):4872. DOI: 10.1182/blood-2023-181663.
99. Wittibschlager V., Bacher U., Seipel K., et al. CAR T-Cell Persistence Correlates with Improved Outcome in Patients with B-Cell Lymphoma. *IJMS.* 2023;24(6):5688. DOI: 10.3390/ijms24065688.
100. Roddie C., Sandhu K.S., Tholouli E., et al. Obecabtagene Autoleucel in Adults with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2024;391(23):2219–30. DOI: 10.1056/NEJMoa2406526.
101. Shen X., Zhang R., Nie X., et al. 4-1BB Targeting Immunotherapy: Mechanism, Antibodies, and Chimeric Antigen Receptor T. *Cancer Biother Radiopharm.* 2023;38(7):431–44. DOI: 10.1089/cbr.2023.0022.
102. June C.H., Ledbetter J.A., Linsley P.S., et al. Role of the CD28 receptor in T-cell activation. *Immunol Today.* 1990 ;11:211–6. DOI: 10.1016/0167-5699(90)90085-N.
103. Tao Z., Chyra Z., Kotulová J., et al. Impact of T cell characteristics on CAR-T cell therapy in hematological malignancies. *Blood Cancer J.* 2024;14(1):213. DOI: 10.1038/s41408-024-01193-6.
104. Frigault M.J., Lee J., Basil M.C., et al. Identification of Chimeric Antigen Receptors That Mediate Constitutive or Inducible Proliferation of T Cells. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(4):356–67. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0186.
105. Muller Y.D., Nguyen D.P., Ferreira L.M.R., et al. The CD28-Transmembrane Domain Mediates Chimeric Antigen Receptor Heterodimerization With CD28. *Front Immunol.* 2021;12:639818. DOI: 10.3389/fimmu.2021.639818.

106. Neelapu S.S., Tummala S., Kebriaei P., et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy — assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15(1):47–62. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.148.
107. Parker K.R., Migliorini D., Perkey E., et al. Single-Cell Analyses Identify Brain Mural Cells Expressing CD19 as Potential Off-Tumor Targets for CAR-T Immunotherapies. *Cell.* 2020;183(1):126–142.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.022.
108. Zhang Y., Qin D., Shou A.C., et al. Exploring CAR-T Cell Therapy Side Effects: Mechanisms and Management Strategies. *JCM.* 2023;12(19):6124. DOI: 10.3390/jcm12196124.
109. The Lymphoma Academic Research Organisation. French Register Of Patients With Hemopathy Eligible For CAR-T Cell Treatment (DESCAR-T). *clinicaltrials.gov*. Report No.: NCT04328298.
110. Bachy E., Le Gouill S., Di Blasi R., et al. A real-world comparison of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel CAR T cells in relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med.* 2022;28(10):2145–54. DOI: 10.1038/s41591-022-01969-y.
111. Schuster S.J., Bishop M.R., Tam C.S., et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2019;380(1):45–56. DOI: 10.1056/NEJMoa1804980.
112. Jacobson C.A., Chavez J.C., Sehgal A.R., et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2022 ;23(1):91–103. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00591-X.
113. Munshi N.C., Anderson L.D., Shah N., и др. Idecabtagene Vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2021;384(8):705–16. DOI: 10.1056/NEJMoa2024850.
114. Berdeja J.G., Madduri D., Usmani S.Z., et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *Lancet.* 2021;398(10297):314–24. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00933-8.
115. Jain T., Olson T.S., Locke F.L. How I Treat Cytopenias after CAR T-cell Therapy. *Blood.* 2023;blood.2022017415. DOI: 10.1182/blood.2022017415.
116. Fried S., Avigdor A., Bielei B., et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(10):1643–50. DOI: 10.1038/s41409-019-0487-3.
117. Wang L., Hong R., Zhou L., et al. New-Onset Severe Cytopenia After CAR-T Cell Therapy: Analysis of 76 Patients With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol.* 2021;11:702644. DOI: 10.3389/fonc.2021.702644.
118. Rejeski K., Perez A., Sesques P., et al. CAR-HEMATOTOX: a model for CAR T-cell-related hematologic toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood.* 2021;138(24):2499–513. DOI: 10.1182/blood.2020010543.
119. Hill J.A., Li D., Hay K.A., et al. Infectious complications of CD19-targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy. *Blood.* 2018;131(1):121–30. DOI: 10.1182/blood-2017-07-793760.
120. Vora S.B., Waghmare A., Englund J.A., et al. Infectious Complications Following CD19 Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy for Children, Adolescents, and Young Adults. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(5):ofaa121. DOI: 10.1093/ofid/ofaa121.
121. Mikkilineni L., Yates B., Steinberg S.M., et al. Infectious complications of CAR T-cell therapy across novel antigen targets in the first 30 days. *Blood Adv.* 2021;5(23):5312–22. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021004896.
122. Jennifer M. Logue, Elisa Zucchetti, Christina A. Bachmeier, et al. Immune reconstitution and associated infections following axicabtagene ciloleucel in re-
106. Neelapu S.S., Tummala S., Kebriaei P., et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy — assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15(1):47–62. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.148.
107. Parker K.R., Migliorini D., Perkey E., et al. Single-Cell Analyses Identify Brain Mural Cells Expressing CD19 as Potential Off-Tumor Targets for CAR-T Immunotherapies. *Cell.* 2020;183(1):126–142.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.022.
108. Zhang Y., Qin D., Shou A.C., et al. Exploring CAR-T Cell Therapy Side Effects: Mechanisms and Management Strategies. *JCM.* 2023;12(19):6124. DOI: 10.3390/jcm12196124.
109. The Lymphoma Academic Research Organisation. French Register Of Patients With Hemopathy Eligible For CAR-T Cell Treatment (DESCAR-T). *clinicaltrials.gov*. Report No.: NCT04328298.
110. Bachy E., Le Gouill S., Di Blasi R., et al. A real-world comparison of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel CAR T cells in relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med.* 2022;28(10):2145–54. DOI: 10.1038/s41591-022-01969-y.
111. Schuster S.J., Bishop M.R., Tam C.S., et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2019;380(1):45–56. DOI: 10.1056/NEJMoa1804980.
112. Jacobson C.A., Chavez J.C., Sehgal A.R., et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2022 ;23(1):91–103. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00591-X.
113. Munshi N.C., Anderson L.D., Shah N., и др. Idecabtagene Vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2021;384(8):705–16. DOI: 10.1056/NEJMoa2024850.
114. Berdeja J.G., Madduri D., Usmani S.Z., et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *Lancet.* 2021;398(10297):314–24. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00933-8.
115. Jain T., Olson T.S., Locke F.L. How I Treat Cytopenias after CAR T-cell Therapy. *Blood.* 2023;blood.2022017415. DOI: 10.1182/blood.2022017415.
116. Fried S., Avigdor A., Bielei B., et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(10):1643–50. DOI: 10.1038/s41409-019-0487-3.
117. Wang L., Hong R., Zhou L., et al. New-Onset Severe Cytopenia After CAR-T Cell Therapy: Analysis of 76 Patients With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol.* 2021;11:702644. DOI: 10.3389/fonc.2021.702644.
118. Rejeski K., Perez A., Sesques P., et al. CAR-HEMATOTOX: a model for CAR T-cell-related hematologic toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood.* 2021;138(24):2499–513. DOI: 10.1182/blood.2020010543.
119. Hill J.A., Li D., Hay K.A., et al. Infectious complications of CD19-targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy. *Blood.* 2018;131(1):121–30. DOI: 10.1182/blood-2017-07-793760.
120. Vora S.B., Waghmare A., Englund J.A., et al. Infectious Complications Following CD19 Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy for Children, Adolescents, and Young Adults. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(5):ofaa121. DOI: 10.1093/ofid/ofaa121.
121. Mikkilineni L., Yates B., Steinberg S.M., et al. Infectious complications of CAR T-cell therapy across novel antigen targets in the first 30 days. *Blood Adv.* 2021;5(23):5312–22. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021004896.
122. Jennifer M. Logue, Elisa Zucchetti, Christina A. Bachmeier, et al. Immune reconstitution and associated infections following axicabtagene ciloleucel in re-

lapsed or refractory large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2020;106(4):978–86. DOI: 10.3324/haematol.2019.238634.

123. Wudhikarn K., Palomba M.L., Pennisi M., et al. Infection during the first year in patients treated with CD19 CAR T cells for diffuse large B cell lymphoma. *Blood Cancer J*. 2020;10(8):79. DOI: 10.1038/s41408-020-00346-7.

124. Beyar-Katz O., Kikozashvili N., Bar On Y., et al. Characteristics and recognition of early infections in patients treated with commercial anti-CD19 CAR-T cells. *Eur J Haematol*. 2022;108(1):52–60. DOI: 10.1111/ejh.13712.

125. Kampouri E., Little J.S., Rejeski K., et al. Infections after chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy for hematologic malignancies. *Transplant Infectious Dis*. 2023;25(S1):e14157. DOI: 10.1111/tid.14157.

126. Chong E.A., Ruella M., Schuster S.J. Five-Year Outcomes for Refractory B-Cell Lymphomas with CAR T-Cell Therapy. *N Engl J Med*. 2021;384(7):673–4. DOI: 10.1056/NEJMc2030164.

127. Cappell K.M., Kochenderfer J.N. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20(6):359–71. DOI: 10.1038/s41571-023-00754-1.

lapsed or refractory large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2020;106(4):978–86. DOI: 10.3324/haematol.2019.238634.

123. Wudhikarn K., Palomba M.L., Pennisi M., et al. Infection during the first year in patients treated with CD19 CAR T cells for diffuse large B cell lymphoma. *Blood Cancer J*. 2020;10(8):79. DOI: 10.1038/s41408-020-00346-7.

124. Beyar-Katz O., Kikozashvili N., Bar On Y., et al. Characteristics and recognition of early infections in patients treated with commercial anti-CD19 CAR-T cells. *Eur J Haematol*. 2022;108(1):52–60. DOI: 10.1111/ejh.13712.

125. Kampouri E., Little J.S., Rejeski K., et al. Infections after chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy for hematologic malignancies. *Transplant Infectious Dis*. 2023;25(S1):e14157. DOI: 10.1111/tid.14157.

126. Chong E.A., Ruella M., Schuster S.J. Five-Year Outcomes for Refractory B-Cell Lymphomas with CAR T-Cell Therapy. *N Engl J Med*. 2021;384(7):673–4. DOI: 10.1056/NEJMc2030164.

127. Cappell K.M., Kochenderfer J.N. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20(6):359–71. DOI: 10.1038/s41571-023-00754-1.

Информация об авторах

Сердюк Анна Игоревна, лаборант лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: anne.serdyuk@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3139-0176>

Иванова Наталия Олеговна, молекулярный биолог лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ivanova.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4725-6391>

Алешина Ольга Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделом клеточной и иммунной терапии, гематолог отделения гематологии и химиотерапии острых лейкозов и лимфом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Дианов Дмитрий Витальевич, стажер-исследователь лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: dvdianov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2687-8482>

Кузнецова Варвара Сергеевна, лаборант лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: barbarakuznetsowa@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0404-1531>

Information about the authors

Anna I. Serdyuk, Laboratory assistant, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: anne.serdyuk@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3139-0176>

Natalia O. Ivanova, Molecular biologist, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: ivanova.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4725-6391>

Olga A. Aleshina, Cand Sci (Med), Head of the Laboratory of cell and immune therapy, Hematologist, Department of Hematology and Chemotherapy of Acute Leukemia and Lymphomas, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Dmitry V. Dianov, Researcher, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: dvdianov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2687-8482>

Varvara S. Kuznetsova, Laboratory assistant, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: barbarakuznetsowa@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0404-1531>

Мохаммад Афраа, стажер-исследователь лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: mohammad.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4765-6501>

Боголюбова Аполлиналия Васильевна*, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8664-6341>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 24.03.2025

Принята к печати: 10.06.2025

Afraa Mohammad, Researcher, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: mohammad.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4765-6501>

Apollinariya V. Bogolyubova*, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8664-6341>

*** Corresponding author**

Received 24 Mar 2025

Accepted 10 Jun 2025