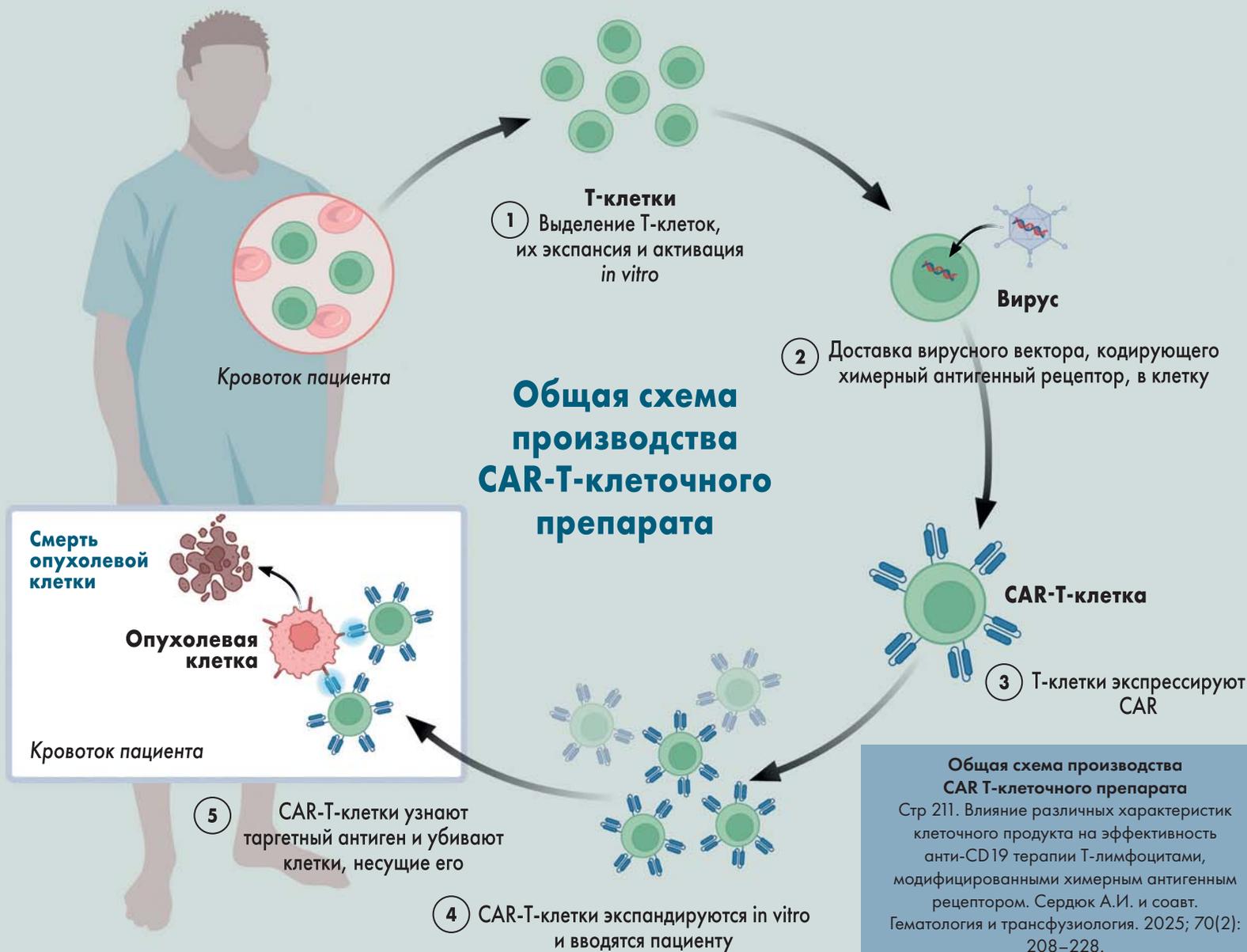


ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

70.2. 2025

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUSIOLOGIYA)



Гордимся нашей линией жизни в гематологии



**ОСТРЫЙ
ЛИМФОБЛАСТНЫЙ
ЛЕЙКОЗ**

**ТЯЖЕЛАЯ
АПЛАСТИЧЕСКАЯ
АНЕМИЯ**

**ИММУННАЯ
ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ**

**ХРОНИЧЕСКИЙ
МИЕЛОЛЕЙКОЗ**

**ИСТИННАЯ
ПОЛИЦИТЕМИЯ**

МИЕЛОФИБРОЗ

**ДИФУЗНАЯ
В-КРУПНОКЛЕТОЧНАЯ
ЛИМФОМА**

**ОСТРЫЙ
МИЕЛОИДНЫЙ
ЛЕЙКОЗ**

**РАСПРОСТРАНЕННЫЙ
СИСТЕМНЫЙ МАСТОЦИТОЗ**

1. Общая характеристика лекарственного препарата Револейд ЛП-№(001879)-(РГ-РУ) от 01.02.2024. 2. Общая характеристика лекарственного препарата Джакави ЛП-№(003404)-(РГ-РУ) от 14.08.2024. 3. Общая характеристика лекарственного препарата Митикайд ЛП-№(000432)-(РГ-РУ) от 05.06.2024. 4. Общая характеристика лекарственного препарата Сцембликс ЛП-№(001723)-(РГ-РУ) от 06.08.2024. 5. Общая характеристика лекарственного препарата Кимряя ЛП-№(002162)-(РГ-РУ) от 30.01.2024

Только для медицинских и фармацевтических работников. Для распространения в местах проведения медицинских или фармацевтических выставок, семинаров, конференций и иных подобных мероприятий. Материал подготовлен при поддержке компании ООО «Новартис Фарма».

ООО «Новартис Фарма», 125315, Москва, Ленинградский пр., д.70.
Тел.: +7 (495) 967 12 70, факс: +7 (495) 969 21 60, www.novartis.ru

FA-11268740/HEMA/PDF/ALL/09.24/0



ПРОГРАММЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ И ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПЕРЕПОДГОТОВКИ

НА БАЗЕ ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ РАСПОЛОЖЕН ЦЕНТР ИННОВАЦИОННОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ, КОТОРЫЙ ОСУЩЕСТВЛЯЕТ ПОДГОТОВКУ СЛУШАТЕЛЕЙ ПО ПРОГРАММАМ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ И ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПЕРЕПОДГОТОВКИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТЯМ:

Гематология Трансфузиология

И смежным специальностям (анестезиология-реаниматология, клиническая лабораторная диагностика, лабораторная диагностика, патологическая анатомия и др.)

Регулярно проводятся циклы повышения квалификации и профессиональной переподготовки по гематологии и трансфузиологии. Реализация программ дополнительного профессионального образования проходит в очной, очно-заочной и заочной формах обучения, в том числе включает стажировку в клинических подразделениях.

Аккредитация

На базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России проходит первичная специализированная аккредитация по специальностям гематология, трансфузиология, нефрология, патологическая анатомия. Проводится обучение ординаторов и врачей практическим навыкам в симулированных условиях (с помощью тренажеров для выполнения люмбальной пункции, трепанобиопсии, внутривенной инъекции, а также роботов-пациентов для отработки экстренной медицинской помощи, сердечно-легочной реанимации).

Контакты

Подробная информация и расписание на сайтах www.blood.ru (раздел «Образование/ дополнительное образование») и edu.rosminzdrav.ru.
Телефон: +7 (495) 6120192, Email: dpo@blood.ru

Журнал представлен
в международной базе данных Scopus
(Gematologiya i Transfuziologiya) и в российской базе
РИНЦ (Российский индекс научного цитирования)

Импакт-фактор (РИНЦ) – 1,20

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК)
Министерства образования и науки РФ журнал
«Гематология и трансфузиология» включен в перечень
ведущих научных рецензируемых журналов, в которых
должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой
степени кандидата наук
и ученой степени доктора наук

УЧРЕДИТЕЛИ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Некоммерческое партнерство содействия развитию
гематологии и трансплантации костного мозга
«Национальное гематологическое общество»

Периодичность издания: 4 номера в год
Префикс DOI: 10.35754

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Телефоны: 89268163887, 89166812291
E-mail: o.levchenko@hjournal.ru

Научный редактор Галстян Г. М.
Корректоры Пигулевская И. С., Зелексон Л. А.
Верстка Чорненький С. И.

Дизайн Канивченко Л. Е.

Формат 230x297 мм
Тираж 1000 экз.
Выход в свет: 08.07.2025

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре РФ.
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-72666
от 16 апреля 2018 года

Издательство: ООО «НЭИКОН ИСП»,
115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4
тел./факс: +7(499)754-99-94
<https://neicon.ru/>

Объединенный каталог
«Пресса России»: индекс 41284

Подписка через интернет: www.ppressa-rl.ru
Подписка на электронную версию журнала: elibrary.ru
Журнал открыт для ознакомления на сайте
<https://www.hjournal.ru/>

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2025. Т. 70. №2, 138–272

© Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр гематологии» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Контент доступен под лицензией Creative Commons
Attribution 4.0 license.

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1956 ГОДУ

Цели и задачи журнала

Обобщение научных и практических достижений в области гематологии и трансфузиологии, повышение квалификации врачей различных специальностей.

Международный журнал «Гематология и трансфузиология» публикует оригинальные и фундаментальные исследования, лекции, обзоры и клинические наблюдения, касающиеся различных разделов гематологии, гемостазиологии и трансфузиологии: физиологии и патофизиологии кроветворения, миелопоэза, иммуногематологии, состояний и заболеваний, обусловленных нарушениями функции и количества тромбоцитов, врожденных и приобретенных нарушений коагуляции и фибринолиза, тромбозов, тромбофилий, вопросов терапии антикоагулянтами и дезагрегантами, вопросов онкогематологии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной терапии, экспериментальной биологии и экспериментальной терапии, эпидемиологических исследований, интенсивной терапии критических состояний, возникающих при заболеваниях системы крови, вопросов производственной трансфузиологии, а именно получения и тестирования компонентов крови, их клинического применения при различных заболеваниях.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР ЖУРНАЛА

Паровичникова Елена Николаевна

д.м.н., член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Галстян Геннадий Мартинович

д.м.н., заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Троицкая Вера Витальевна

д.м.н., первый заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

Левченко Ольга Константиновна

к.м.н., зав. методическим аккредитационно-симуляционным центром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Буланов Андрей Юльевич, д.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог Департамента здравоохранения г. Москвы, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, (Москва, Россия)

Гапонова Татьяна Владимировна, д.м.н., главный внештатный специалист-трансфузиолог МЗ РФ, первый заместитель генерального директора – заведующая отделом трансфузиологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, директор Института рака (Розвелл Парк, Баффало, США)

Звонков Евгений Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Зозуля Надежда Ивановна, д.м.н., заведующая отделом коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Клясова Галина Александровна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Ковригина Алла Михайловна, д.б.н., заведующая патолого-анатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний онкологического центра Alta Bates Summit Medical Center (Беркли, Калифорния, США)

Купряшов Алексей Анатольевич, д.м.н., заведующий отделением переливания крови ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Масчан Алексей Александрович, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заместитель генерального директора, директор Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., профессор, руководитель управления по научной и образовательной работе, заведующая отделом высокодозной химиотерапии паранеопластических гемобластозов ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., заведующий дневным стационаром гематологии, онкологии и химиотерапии ГБУЗ г. Москвы «КБ им. С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы (Москва, Россия)

Семочкин Сергей Вячеславович, д.м.н., профессор кафедры онкологии и гематологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ (Москва, Россия)

Судариков Андрей Борисович, д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Трахтман Павел Евгеньевич, д.м.н., заведующий отделением трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Тумян Гаяне Сепуговна, д.м.н., профессор кафедры онкологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ (Москва, Россия)

Чернов Вениамин Михайлович, д.м.н., член-корреспондент РАЕН, профессор, заведующий научно-консультативным отделом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Алешина Ольга Александровна, к.м.н., заведующая отделом клеточной и иммунной терапии, гематолог отделения гематологии и химиотерапии острых лейкозов и лимфом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Алейникова Ольга Витальевна, член-корр. НАН Беларуси, д.м.н., профессор, директор Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии (Минск, Республика Беларусь)

Аль-Ради Любовь Саттаровна, к.м.н., зам. заведующего консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Байков Вадим Валентинович, д.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Бигильдеев Алексей Евгеньевич, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бидерман Белла Вениаминовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Бондаренко Сергей Николаевич, д.м.н., руководитель отдела онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Васильев Сергей Александрович, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник консультативного гематологического отделения с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Гармаева Татьяна Цыреновна, д.м.н., заведующая научно-организационным отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Грицаев Сергей Васильевич, д.м.н., руководитель Республиканского центра трансплантации костного мозга ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА» (Санкт-Петербург, Россия)

Двирник Валентина Николаевна, к.м.н., заведующая централизованной клинко-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Джулакян Унан Левонович, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дроков Михаил Юрьевич, к.м.н., руководитель сектора по изучению иммунных воздействий и осложнений после трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Дубинкин Игорь Владимирович, к.б.н., ведущий специалист группы трансфузионной биотехнологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Исхаков Эльдор Джасурович, заместитель директора по лечебной работе Республиканского специализированного центра научно-практического медицинского центра гематологии МЗ Республики Узбекистан (Ташкент, Узбекистан)

Кохно Алина Владимировна, к.м.н., начальник клинко-диагностического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кузьмина Лариса Анатольевна, к.м.н., заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Кулагин Александр Дмитриевич, д.м.н., профессор, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии ФПО им. проф. Б.В. Афанасьева, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ (Санкт-Петербург, Россия)

Куликов Сергей Михайлович, к.т.н., заведующий информационно-аналитическим отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Луговская Светлана Алексеевна, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ (Москва, Россия)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением орфанных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Магомедова Аминат Умарасхабовна, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Маккарти Филип, профессор онкологии и внутренней медицины Института рака (Розвелл Парк, Баффало, США)

Масчан Михаил Александрович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, директор института молекулярной и экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ (Москва, Россия)

Михайлова Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Моисеева Татьяна Николаевна, к.м.н., заведующая консультативным гематологическим отделением с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Нидервайзер Дитгер, профессор медицины, руководитель отдела гематологии и онкологии университетского госпиталя (Лейпциг, Германия)

Обухова Татьяна Никифоровна, к.м.н., заведующая лабораторией кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Салимов Эмин Львович, д.м.н., заведующий отделом заготовки крови и ее компонентов, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) МЗ РФ (Москва, Россия)

Сметанина Наталия Сергеевна, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора, директор управления по научно-аналитической работе с регионами ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Туполева Татьяна Алексеевна, д.м.н., заведующая отделом вирусологической диагностики ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Туркина Анна Григорьевна, д.м.н., профессор, заведующая научно-консультативным отделением химиотерапии миелопролиферативных заболеваний ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фидарова Залина Таймуразовна, к.м.н., заведующая отделением химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Фоа Робин, д.м.н., профессор гематологии, руководитель отдела гематологии Римского университета «La Sapienza» (Рим, Италия)

Хамаганова Екатерина Георгиевна, д.б.н., заведующая лабораторией тканевого типирования, ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

Хельман Ричард, преподаватель клинической медицины в больнице Лоренс Мемориал (Нью-Йорк, США)

Хольцер Дитер, профессор медицины и гематологии университета Франкфурта, вице-президент Европейской школы гематологии и европейской и немецкой сети специалистов по лейкозам, координатор европейской рабочей группы острого лимфобластного лейкоза у взрослых (Франкфурт-на-Майне, Германия)

Цаур Григорий Анатольевич, д.м.н., заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии ОКБ № 1 (Екатеринбург, Россия)

Шипунова Ирина Николаевна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии кроветворения ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (Москва, Россия)

The journal is presented in the international database of Scopus (Gematologiya i Transfuziologiya) and Russian database RSCI (Russian science citation index)

IF (RISC) – 1,20

Under the decision of the Higher Attestation Commission (HAC) of the Ministry of Education and Science, Russian Journal of Hematology and Transfusiology is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals, where the main scientific results of dissertations for academic degree of Candidate of Sciences and for academic degree of Doctor of Sciences should be published.

FOUNDERS

National Research Center for Hematology of the Ministry of Health of the Russian Federation
125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4

Non-profit partnership of assistance to development of hematology and bone marrow transplantation «National Society of Hematology»

Frequency: quarterly
DOI Prefix: 10.35754

ADDRESS OF EDITORIAL

125167, Moscow, Novyy Zhykovskiy proezd, 4
National Research Center for Hematology, Moscow

Phone: +79268163887, +79166812291
E-mail: hi@htjournal.ru

Science editor Galstyan G. M.
Correctors Pigulevskaya I. S., Zelekson L. A.
Layout of Chornenkij S. I.

Design by Kanivchenko L. E.

Format 230x297 mm
Printed copies 1000
Publication: 08.07.2025

The journal is registered in Roskomnadzor of the Russian Federation Registrations certificate PI No. FS77-72666 dated April 16, 2018

NEICON ISP Ltd, Letnikovskaya str., 4,
bldng 5, of. 2.4, Moscow, 115114, Russia
<https://neicon.ru/>

United Catalog «Press of Russia»: Index 41284
Subscription via the Internet: www.pressa-rt.ru
Subscription to the electronic version of the journal: elibrary.ru

ISSN 0234-5730 (Print)
ISSN 2411-3042 (Online)

Гематология и трансфузиология.
Russian Journal of Hematology and Transfusiology
(Gematologiya i Transfuziologiya)
2025. Vol. 70. No. 2, 138–272

© National Research Center for Hematology, Moscow

Content is distributed
under Creative Commons Attribution 4.0 license

THE JOURNAL IS BASED IN JANUARY 1956

Aims and Scope

Hematology and Transfusiology is a peer-reviewed scholarly journal aimed at presenting scientifically and practically significant research findings in the field of hematology and transfusiology, as well as at advancing professional competencies of physicians of various specialities.

Hematology and Transfusiology is an international peer-reviewed scholarly journal aimed publishes original research papers, reviews, clinical cases and lecture notes pertaining to a broad range of problems in the fields of hematology, hemostasiology and transfusiology. Among them are the physiology and pathophysiology of hematopoiesis, myelopoiesis, immunohematology; conditions and diseases caused by impaired platelet function and number, congenital and acquired disorders of coagulation and fibrinolysis, thrombosis, thrombophilia; therapy with anticoagulants and disaggregants; problems of oncohematology, hematopoietic stem cell transplantation, gene therapy, experimental biology and experimental therapy; epidemiological studies of blood system diseases, intensive therapy of critical conditions that arise due to various blood system diseases; issues of industrial transfusion, i.e. production of plasma and blood components for treating various diseases and conditions.

EDITOR-IN-CHIEF

Elena N. Parovichnikova

Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the of the Russian Academy of Science, Head of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Gennady M. Galstyan

Dr. Sci. (Med.), Head of the Intensive Care Department of the National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

EXECUTIVE SECRETARY

Vera V. Troitskaya

Dr. Sci. (Med.), First Deputy Director National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

HEAD OF THE EDITORIAL OFFICE

Olga K. Levchenko

Cand. Sci. (Med.), Head of the Medical Accreditation and Simulation Centre, National Medical Hematology Research Centre (Moscow, Russia).

EDITORIAL BOARD

Andrei Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Full Member of Transfusiologist of the Moscow Health Department N.V. Sklifosovskiy Research Institute for Emergency Medicine, (Moscow, Russia)

Tatyana V. Gaponova, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, First Deputy Director, Head of the Department of Transfusiology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Andrei V. Gudkov, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Director of the Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of High-Dose Lymphoma Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Head of the Coagulopathy Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Laboratory of Clinical Bacteriology, Mycology and Antibiotic Therapy National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Pathology Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)

Oleg I. Kryzhanovsky, Cand. Sci. (Med.), Director of Malignant Hematology Program Comprehensive Cancer Center "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, CA, USA)

Alexey A. Kupryashov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Blood Transfusion Department, A.N. Bakulev National Medical Research Center of Cardiovascular Surgery (Moscow, Russia)

Alexey A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Science, Deputy General Director Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cell's Technology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Larisa P. Mendeleeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., head of the department for scientific and educational work, Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of paraproteinemic haematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Evgeny A. Nikitin, Dr. Sci. (Med.), Head of the day care Department of Hematology, Chemotherapy and Oncology, Boikin Moscow City Hospital (Moscow, Russia).

Sergey V. Semochkin, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Chair of Oncology and Hematology, Pirogov Russian National Research Medical University, (Moscow, Russia).

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Pavel E. Trakhtman, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Transfusiology, Procurement and Processing of Hematopoietic Stem Cells, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Gayane S. Tumyan, Dr. Sci. (Med.), Prof., of the Chair of Oncology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Leading Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of oncology* (Moscow, Russia).

Veniamin M. Chernov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the of the Russian Academy of Natural Sciences, Head of the Scientific Consulting Department, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

EDITORIAL COUNCIL

Olga A. Aleshina, Cand. Sci. (Med.), Head of the department of cell and immunotherapy, hematologist in the department of hematology & chemotherapy of acute leukemias and lymphoma, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Olga V. Aleinikova, Dr. Sci. (Med.), Prof., RAS Corresponding Member, National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology and Hematology (Minsk, Belarus).

Lyubov S. Al-Radi, Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Vadim V. Baikov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor, Pathology Department, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Alexey E. Bigildeev, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, Federal Medical Research Center of Hematology (Moscow, Russia).

Sergey N. Bondarenko, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Oncology, Hematology and Transplantology for Adolescents and Adults, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg (St. Petersburg, Russia).

Sergey A. Vasiliev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy for High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana Ts. Garmeva, Head of the Scientific and Organizational Department for Hematology, Transfusiology, Donation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Sergey V. Gritsaev, Dr. Sci. (Med.), Head of the Republican Center for Bone Marrow Transplantation, Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology under the Federal Medico-Biological Agency (St. Petersburg, Russia).

Valentina N. Dvirnyk, Cand. Sci. (Med.), Head of the Centralized Clinical and Diagnostic Laboratory, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Hunan L. Julhakyany, Cand. Sci. (Med.), Scientific Secretary, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Mikhail Yu. Drovkov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Sector for the Study of Immune Effects and Complications After Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Igor V. Dubinkin, Cand. Sci. (Biol.), Leading specialist of the Transfusion Biotechnology Group, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Eldor D. Iskhakov, Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Medical Work of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology of the Ministry of Healthcare of the Republic of Uzbekistan (Tashkent, Uzbekistan).

Alina V. Kokhno, Cand. Sci. (Med.), Head of the clinical and diagnostic department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Alexander D. Kulagin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Director of RM Gorbacheva Research Institute, Head of the Postgraduate Department of Hematology, Transfusion Medicine, Transplantation with a Course of Pediatric Oncology n.a. Prof. B.V. Afanasyev, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia).

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Engineering), Head of the Information and Analytical Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Svetlana A. Lugovskaya, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia).

Elena A. Lukina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Orphan Diseases Department, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Aminat U. Magomedova, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Intensive High-Dose Chemotherapy of Hematological malignancies, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Philip McCarthy, MD, Prof. of Oncology and Internal Medicine, Roswell Park Comprehensive Cancer Center (Buffalo, USA).

Mikhail A. Maschan, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy General Director, Director of the Higher School of Molecular and Experimental Medicine, Dmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Elena A. Mikhailova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher, of the Department of Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Tatyana N. Moiseeva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Advisory Hematology Outpatient Department for Intensive High-Dose Chemotherapy, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Dietger Niederwieser, MD, Professor of Medicine, Head of the Department of Hematology and Oncology, Leipzig University Clinic (Leipzig, Germany).

Tatyana N. Obukhova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Karyology, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Emin L. Salimov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Blood and its Component Banking; Prof., Department of Anesthesiology and Resuscitation, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Moscow, Russia).

Nataliya S. Smetanina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy General Director, Director of Management of scientific and analytical work with regions, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia).

Tatyana A. Tupoleva, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Virological Diagnostics, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Anna G. Turkina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Scientific Advisory Department of Chemotherapy of Myeloproliferative Diseases, National Research Center for Hematology, (Moscow, Russia).

Zalina T. Fidarova, Cand. Sci. (Med.), Head of day hospital for Chemotherapy of Hematological malignancies and Hematopoietic Depressions, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Robin Foa, MD, Professor of Hematology, Head of the Department of Hematology, University of Rome "La Sapienza" (Rome, Italy).

Ekaterina G. Khamaganova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory of Tissue Typing, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Richard M. Hellman, MD, Prof. of Hematology and Medical Oncology, Lawrence Memorial Hospital (New London, USA).

Dieter Hoelzer, MD, PhD, Prof. of Internal Medicine, University of Frankfurt; Vice-President of the European School of Hematology and the European and German Network of Specialists on Leukemia; Coordinator of the European Working Group for Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (Frankfurt, Germany).

Grigoriy A. Tsaury, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology, Sverdlovsk Region Clinical Hospital No. 1 (Ekaterinburg, Russia).

Irina N. Shipunova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Physiology of Hematopoiesis, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia).

Оригинальные статьи

146–155

Беловежец Т.Н., Гладких Д.В., Омельченко В.О., Волкова О.Ю., Таранин А.В., Кулемзин С.В.
NanoLuc/h-целентеразин: эффективная пара для детекции биолуминесценции *in vitro* и *in vivo*

156–164

Ненашева Т.А., Фефелова Е.И., Сердюк Я.В., Сальман Р., Иванова Н.О., Алешина О.А., Боголюбова А.В.
Сравнение функционального и иммунофенотипического профиля анти-CD19 модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор, полученных от здоровых доноров и больных В-клеточным острым лимфобластным лейкозом, при длительной рестимуляции *in vitro*

165–173

Азимова М.Х., Буланов А.Ю., Костин А.И., Виноградов И.А., Камалова А.Р., Макарова Е.С.
Использование донорских тромбоцитов в многопрофильном стационаре скорой и неотложной помощи

174–188

Купряшов А.А., Токмакова К.А., Самуилова Д.Ш., Жемарина И.Б., Хичева Г.А., Хайдаров Г.А.
Особенности генерации тромбина у больных с тромботической микроангиопатией критических состояний

189–199

Ким А.Ю., Зоренко В.Ю., Клясова Г.А.
Возбудители перипротезной инфекции у больных гемофилией

200–207

Кузьминова Ж.А., Рахимова Г.У., Манн С.Г., Сметанина Н.С.
Клинические проявления и спектр генетических мутаций хронической наследственной несфероцитарной гемолитической анемии вследствие дефицита глюкозо-6-фосфатизомеразы

Обзоры

208–228

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

229–244

Лепик К.В., Дергачева Т.Ю., Попова М.О., Андрианов А.Н., Самсонов М.Ю., Моисеев И.С.
Синдром высвобождения цитокинов после терапии Т-клетками с химерным антигенным рецептором: патофизиология, клинические проявления и новые подходы к лечению

Original articles

Belovezhets T.N., Gladkikh D.V., Omelchenko V.O., Volkova O.Y., Taranin A.V., Kulemzin S.V.
NanoLuc/h-coelenterazine: an efficient pair for bioluminescence imaging *in vitro* and *in vivo*

Nenasheva T.A., Fefelova E.I., Serdyuk Y.V., Salman R., Ivanova N.O., Aleshina O.A., Bogolyubova A.V.
Comparison of the functional and immunophenotypical profile of anti-CD19 CAR T-cells derived from healthy donors and patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia during prolonged re-stimulation *in vitro*

Azimova M.H., Bulanov A.Ju., Kostin A.I., Vinogradov I.A., Kamalova A.R., Makarova E.S.
The use of donor platelets in the hospital of emergency medicine

Kupryashov A.A., Tokmakova K.A., Samuilova D.Sh., Zhemarina I.B., Khicheva G.A., Khaidarov G.A.
Thrombin generation in patients with thrombotic microangiopathy in critical illnesses

Kim A.Yu., Zorenko V.Yu., Klyasova G.A.
Pathogens of periprosthetic infection in patients with hemophilia

Kuzminova Z.A., Rakhimova G.U., Mann S.G., Smetanina N.S.
Clinical manifestations and genetic spectrum of chronic hereditary nonspherocytic hemolytic anemia due to glucose-6-phosphate isomerase deficiency

Reviews

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

Lepik K.V., Dergacheva T.Yu., Popova M.O., Andrianov A.N., Samsonov M.Yu., Moiseev I.S.
Cytokine Release Syndrome Following Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Novel Therapeutic Approaches

245–251 Волков Д.В., Габибов А.Г.
**Препараты на основе цитотоксических иммунных
клеток при гемобластозах: индукция ремиссии перед
трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток**

Volkov D.V., Gabibov A.G.
**Cytotoxic immune cell-derived agents in hematologic
neoplasms: pre-transplant remission induction**

252–263 Смольянинова А.К., Алешина О.А., Боголюбова А.В.,
Звонков Е.Е.
**Новые стратегии в лечении рефрактерных форм
и рецидивов фолликулярной лимфомы: терапия
Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором**

Smolyaninova A.K., Aleshina O.A., Bogolyubova A.V.,
Zvonkov E.E., Parovichnikova E.N.
**New strategies in the treatment of refractory forms
and relapses of follicular lymphoma: CAR T-cell therapy**

Клинические наблюдения

Case reports

264–272 Кара В.В., Данилец В.В., Райкина Е.В., Чумак А.А.,
Шрагина О.А., Погонин А.В., Дрозд Т.С., Мартынова Е.А.,
Буланов А.Ю.
**Случай выявления редкого фенотипа Del у донора
крови**

Kara V.V., Danilets V.V., Raykina E.V., Chumak A.A.,
Shragina O.A., Pogonin A.V., Drozd T.S., Martynova E.A.,
Bulanov A.Yu.
A case of rare Del phenotype in a blood donor

NANOLuc/h-ЦЕЛЕНТЕРАЗИН: ЭФФЕКТИВНАЯ ПАРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Беловежец Т.Н.^{1,2}, Гладких Д.В.³, Омельченко В. О.⁴, Волкова О.Ю.², Таранин А.В.², Кулемзин С.В.^{5*}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197341, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация

³Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация

⁴НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация

⁵ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Биоломинесцентное мечение опухолевых клеток становится стандартом при проведении доклинических исследований новых противораковых препаратов. Несмотря на разнообразие люцифераз, многие из них не подходят для прижизненной визуализации.

Цель: сравнить различные субстраты NanoLuc *in vitro*, а также показать возможность использования пары NLuc/h-целентеразин для прижизненной визуализации диссеминированных опухолевых клеток с помощью системы IVIS Spectrum.

Материалы и методы. Получение целевой клеточной линии и Т-клеток, экспрессирующих химерные антигенные рецепторы (Chimeric antigen receptor, CAR), осуществляли методом лентивирусной трансдукции клеток, измерение люминесценции производили планшетным люминометром «Luminoskan™ Microplate Luminometer», для *in vivo* визуализации в экспериментальной модели CAR Т-клеточной терапии на мышах линии NSG использовалась система прижизненной визуализации IVIS Spectrum.

Результаты. Проведено сравнение различных субстратов в тестах *in vitro* по сопоставлению яркости и стабильности люминесценции, а также показана возможность использования h-целентеразина в паре с люциферазой NLuc для прижизненной визуализации клеток в мышах. Получена генетически модифицированная клеточная линия Nalm6-NLuc-copGFP.

Заключение. Полученные результаты сравнения различных субстратов для люциферазы NLuc в тестах *in vitro* и *in vivo* позволили определить оптимальную пару фермент/субстрат, которая может быть востребована в качестве инструмента для исследований эффективности, безопасности и токсичности соединений и клеточных продуктов, разрабатываемых для противоопухолевой терапии. Плазмидная конструкция, кодирующая NLuc, может быть использована для модификации других клеточных линий, необходимых для разработки и характеристики новых генно-терапевтических подходов.

Ключевые слова: CAR Т-клеточная терапия, биоломинесценция, доклинические исследования, фуримазин, h-целентеразин, нативный целентеразин, люцифераза NanoLuc

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории иммуногенетики ИМКБ СО РАН Горчакову Андрею Александровичу и Гусельникову Сергею Владимировичу за помощь в работе над публикацией.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФНИ FWNR-2025-0014 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Для цитирования: Беловежец Т.Н., Гладких Д.В., Омельченко В. О., Волкова О.Ю., Таранин А.В., Кулемзин С.В. NanoLuc/h-целентеразин: эффективная пара для детекции биоломинесценции *in vitro* и *in vivo*. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):146–155. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-146-155>

NANOLuc/h-COELENTERAZINE: AN EFFICIENT PAIR FOR BIOLUMINESCENCE IMAGING *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Belovezhets T.N.^{1,2}, Gladkikh D.V.³, Omelchenko V.O.⁴, Volkova O.Y.², Taranin A.V.², Kulemzin S.V.^{5*}

¹Almazov National Medical Research Centre, 197341, Saint Petersburg, Russian Federation

²Institute of Molecular and Cellular Biology of the SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russian Federation

³Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russian Federation

⁴Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the SB RAS, 630117, Novosibirsk, Russian Federation

⁵Novosibirsk State University, 630090, Novosibirsk, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Bioluminescent labeling of tumor cells is becoming the standard in preclinical studies of novel anti-cancer drugs. Despite the variety of luciferases, many are not suitable for *in vivo* imaging.

Aim: to compare different Nanolux substrates *in vitro* and demonstrate the feasibility of using the NLuc/h-coelenterazine pair for *in vivo* imaging of disseminated tumor cells using the IVIS Spectrum system.

Materials and methods. The target cell line and T-cells expressing chimeric antigen receptors (CAR) were obtained via lentiviral cell transduction. Luminescence was measured with a Luminoskan™ Microplate Luminometer, while *in vivo* imaging in an NSG mouse model of CAR T-cell therapy was performed using the IVIS Spectrum system.

Results. Various substrates were compared *in vitro* for luminescence brightness and stability.

Additionally, the use of h-coelenterazine in combination with Nluc luciferase was demonstrated for *in vivo* cell imaging in mice. A genetically modified Nalm6-NLuc-CopGFP cell line was successfully obtained.

Conclusion. The comparison of various Nluc substrates *in vitro* and *in vivo* identified an optimal enzyme/substrate pair, which can serve as a valuable tool for assessing efficacy, safety and toxicity of compounds and cellular products being developed for antitumor therapy. The plasmid encoding Nluc can also be used to modify other cell lines necessary for the development and characterization of new gene therapy approaches.

Keywords: CAR T therapy, bioluminescence imaging, preclinical study, furimazine, h-coelenterazine, native coelenterazine, NanoLuc luciferase

Acknowledgments. The authors would like to thank Andrey A. Gorchakov and Sergey V. Guselnikov, employees of the Laboratory of Immunogenetics of the Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, for their assistance in preparing this publication.

Conflict of Interests. The authors declare that there is no conflict of interest.

Financial disclosure. The work was supported by the Russian Ministry of Science and Higher Education as part of State Assignment FWNR-2025-0014 (Agreement No. 075-15-2022-301 dated 20.04/2022).

For citation: Belovezhets T.N., Gladkikh D.V., Omelchenko V.O., Volkova O.Y., Taranin A.V., Kulemzin S.V. Nanoluc/h-coelenterazine: an efficient pair for bioluminescence imaging *in vitro* and *in vivo*. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):146–155 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-146-155>

Введение

Проведение доклинических исследований активности противоопухолевой терапии связано с необходимостью неинвазивно оценивать изменения опухолевой нагрузки у одного и того же животного в разное время. В контексте разработки клеточной иммунотерапии также желательно иметь надежные инструменты детекции вводимых терапевтических клеточных продуктов, а значит,

иметь возможность одновременной визуализации и опухолевых, и вводимых эффекторных клеток, поскольку одной лишь информации о динамике опухолевой нагрузки недостаточно для корректной и всесторонней интерпретации ответа на проводимую терапию [1–3].

Введение в клиническую практику терапии, основанной на адоптивном переносе Т-клеток, экспрессирующих

химерные антигенные рецепторы (Chimeric antigen receptor, CAR), для лечения больных различными заболеваниями В-клеточной природы, совершило революцию в иммуноонкологии [4, 5]. Значительные надежды возлагают на адаптацию этого подхода для терапии солидных опухолей и аутоиммунных заболеваний [6–8]. Соответственно корректное проведение доклинических исследований активности и безопасности CAR-клеточных продуктов является ключевым условием успеха этой развивающейся области молекулярной и клеточной медицины и призвано обеспечить минимизацию рисков для здоровья участвующих в таких испытаниях больных.

Самый простой вариант оценки *in vivo* активности CAR Т-клеточной терапии основан на предварительной генетической модификации клеток приживляемых опухолей для того, чтобы они были способны к флуоресценции либо люминесценции. На практике, однако, прижизненная детекция флуоресцентных белков в организме лабораторных животных достаточно затруднительна [9] и стандартом для проведения таких исследований является детекция биолюминесценции. В таком случае опухолевые клетки генетически модифицируют для стабильной экспрессии той или иной люциферазы, прививают мышам, после чего производят регулярное измерение интенсивности люминесценции, которая начинается сразу после введения соответствующего субстрата.

В арсенале исследователей есть целый ряд рекомбинантных вариантов люцифераз, которые в основном были получены из морских обитателей [10, 11]. Субстратами для таких ферментов являются целентеразин [12], варгулин [11] или их аналоги. Целентеразин часто используется для люцифераз Rluc (*Renilla reniformis*) и Gluc (*Gaussia princeps*) [13], при его окислении излучается свет с максимумом эмиссии в синей области (450–485 нм) видимого спектра. Для люциферазы Fluc (*Photinus pyralis*), широко используемой в исследованиях, требующих детекции биолюминесценции, субстратом является D-люциферин, а максимум эмиссии приходится на 565 нм видимого спектра [14, 15]. Распространенными рекомбинантными люциферазами для различных приложений также являются Mluc [16], полученная из *Metridia longa*, Cluc [17], полученная из *Cypridina noctiluca*, а также Vluc [18] и dDL [19]. Однако интенсивность люминесценции таких репортеров часто бывает недостаточной, особенно при необходимости детекции небольшого количества привитых клеток.

В 2012 г. была разработана уникальная фермент-субстратная пара (NanoLuc (=NLuc)/фуримазин) на основе мутированного варианта каталитической субъединицы люциферазы, исходно обнаруженной в глубоководной креветке *Oplophorus gracilirostris* [20]. Такая люцифераза обладает в 150 раз большей удельной активностью, чем широко используемые

люциферазы Fluc или Rluc [21]. Кроме того, NLuc обладает превосходной химической устойчивостью и термостабильностью, сохраняя активность при температуре до 55 °С или при нахождении в культуральной среде при +37 °С в течение 15 часов. Удобно и то, что NLuc является АТФ-независимой и одной из самых маленьких люцифераз по размеру (19 кДа). Диапазон использования NLuc в современных биомедицинских и диагностических приложениях крайне широк, и такая люцифераза является предпочтительным репортером в экспериментах, в которых необходимы высокая интенсивность яркости сигнала, стабильность и низкая интенсивность фоновой люминесценции.

Несмотря на все преимущества NLuc, существуют и данные об определенных сложностях в работе с экспрессирующими ее клетками из-за низкой растворимости и биодоступности ее субстрата, фуримазина [22, 23]. Такие сложности возникают в том числе из-за невозможности увеличения дозы субстрата: максимальная доза для мелких животных составляет 1,3 мкмоль в буфере на основе полиэтиленгликоля [24] и 0,016 мкмоль в фосфатно-солевом буфере [22], что ограничивает чувствительность метода.

Хотя модифицированные варианты фуримазина недавно были вполне успешно опробованы в сравнительных исследованиях и показана возможность повышения чувствительности с их использованием [23], коммерческие источники таких субстратов ограничены. В данной работе в качестве альтернативного и коммерчески доступного варианта было предложено использовать h-целентеразин и сравнить два варианта целентеразина — нативный целентеразин и h-целентеразин — с фуримазином в тесте *in vitro*, а также исследовать возможность использования пары NLuc/h-целентеразин для прижизненной визуализации диссеминированных опухолевых клеток с помощью системы IVIS Spectrum (Perkin-Elmer, США).

Целью настоящей работы было сравнение различных субстратов NanoLuc *in vitro*, а также исследование возможностей использования пары NLuc/h-целентеразин для прижизненной визуализации диссеминированных опухолевых клеток с помощью системы IVIS Spectrum.

Материалы и методы

Получение В-клеточной линии Nalm6 с внутриклеточной экспрессией NLuc

В качестве вектора для клонирования был выбран двухпромоторный вектор CD-511 серии pCDH (System Biosciences, США), структуры CMV-MCS-EF1a-copGFP. Целевая конструкция pCDH-nluc была получена клонированием кодон-оптимизированной последовательности, кодирующей люциферазу NLuc (pNL1.1 [NLuc] (Promega, США)) по уникальным сайтам рестрикции XbaI и BamHI (Thermo Fisher Scientific,

США). Псевдотипированные лентивирусные частицы были получены котрансфекцией клеток-паковщиков линии HEK293T смесью трех плазмид: рCDH-nluc и вспомогательных плазмид psPAX2 и рMD2.G с использованием кальций-фосфатной трансфекции [25]. Супернатант, содержащий псевдовидирусные частицы, собирали через 36 часов и осаждали их центрифугированием в течение 1,5 часов с ускорением 35 000 g. Осадок лентивирусных частиц ресуспендировали в среде, шоково замораживали и хранили в парах жидкого азота не более чем 3 месяца.

В-клеточную линию острого лимфобластного лейкоза человека Nalm6 (ATCC, США), нативно экспрессирующую белок CD19 на своей поверхности, культивировали в среде IMDM (Thermo Fisher Scientific, США) с 10% фетальной бычьей сывороткой (Cargicorn, Германия) при 37 °C в присутствии 5% CO₂. Трансдукцию клеток Nalm6 псевдотипированными лентивирусными частицами проводили методом спинокуляции в течение 40 минут при 32 °C с ускорением 600 g и с соотношением, при котором на каждую клетку приходилось 2 лентивирусные частицы.

Несколько дней спустя, после появления флуоресцентного сигнала сорGFP в популяции трансдуцированных клеток, проводили сортировку единичных сорGFP-позитивных клеток на клеточном сортере «SH800» (Sony, Япония) в режиме Single cell (3 drops). После экспансии сортированных моноклонов в течение 2 недель проверяли отсутствие нетрансдуцированных (сорGFP-негативных) клеток в полученных моноклональных субклинах, используя проточный цитометр «BD CantoII» (Becton Dickinson, США).

Измерение интенсивности люминесценции клеток in vitro

Для определения интенсивности люминесценции клетки полученной таким способом линии Nalm6-Nluc-сорGFP два раза отмывали от культуральной среды стерильным фосфатно-солевым буфером (DPBS, «ПанЭко», Россия), центрифугируя 4 мин. при комнатной температуре с ускорением 400 g. Затем клетки подсчитывали при помощи автоматического счетчика клеток «LunaII» (LogosBio, Южная Корея) и вносили в лунки 96-луночного планшета (SPL, Южная Корея) в диапазоне от 10 до 7290 клеток/50 мкл с трехкратным увеличением количества клеток в соседних лунках. Клетки лизировали добавлением равного объема буфера для лизиса (DPBS, Triton-X до 0,1%) в течение 10 мин. с использованием орбитального шейкера при 700 об./мин. Для каждой точки измерения выполняли в трех повторах. Субстраты разводили до финальной концентрации 30 мкМ в фосфатно-солевом буфере непосредственно перед началом измерения. Дозирование субстрата по 50 мкл/лунку производили автоматически. Таким образом, после смешивания

с лизированными клетками финальная концентрация субстратов составляла 10 мкМ. Детекцию сигнала проводили немедленно после внесения субстрата в течение 0,5 сек. 50 раз при помощи планшетного люминометра Luminoskan™ Microplate Luminometer (Thermo Fisher Scientific, США).

Получение CAR T-клеток

Для получения CAR T-клеточных продуктов мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови здорового донора центрифугированием на градиенте фикола («ПанЭко», Россия), после чего проводили их селекцию и активацию T-клеток магнитными частицами CD3/CD28 Dynabeads (Thermo Fisher Scientific, США). Выделенные T-клетки культивировали в среде TexMACS (Miltenyi Biotec, Германия) в присутствии 50 единиц/мл интерлейкина-2 и 7 нг/мл интерлейкина-15 (Miltenyi Biotec, Германия). Трансдукцию псевдовидирусными лентивирусными частицами, кодирующими CAR второго поколения против белков CD19 и PSMA (см. ниже), проводили через 36 часов после выделения спинокуляцией в присутствии 10 нг/мл протамин сульфата («Синтез», Россия) в течение 40 минут при 32 °C с ускорением 600 g. Оценку трансдукции проводили через двое суток при помощи проточной цитофлуориметрии, окрашивая биотинилированным белком L («Биоспецифика», Россия) и APC-стрептавидином (Biolegend, США).

Проведение in vivo визуализации опухолевых клеток в экспериментальной модели CAR T-клеточной терапии на мышах

Для *in vivo* визуализации 6–8-недельным самцам мышей линии NSG ($n = 14$) в хвостовую вену вводили по 3×10^5 Nalm6-Nluc-сорGFP клеток/животное. Детекцию приживления проводили начиная с 5-х суток после введения, далее оценку опухолевой нагрузки проводили каждые 7 суток. На 6-е сутки животных разделили на две группы и ввели по 1×10^6 CAR T-клеточных продуктов/животное, опытная группа получала CD19-специфические FMC63-CAR T-клетки, идентичные продукту тисагенлеклейсел (Novartis, США) [26], контрольные — терапию J591-CAR (нерелевантный CAR, специфичный к PSMA человека) [27]. Для визуализации опухолевых клеток интраперитонеально вводили по 20 мкг h-целентеразина (Nanolight Technologies, США) в 100 мкл фосфатно-солевого буфера, после чего через 5 мин. животных наркотизировали при помощи изофлурана. Измерение люминесценции проводили в течение 180 сек., используя систему прижизненной визуализации «IVIS Spectrum» (Perkin-Elmer, США). Полученные результаты съемки анализировали при помощи программного обеспечения Living Image (Perkin-Elmer, США). При появлении у животных выраженных болевых синдромов, изменения поведения или высокой опухолевой нагрузки

(по данным визуализации) животное выводили из эксперимента путем декапитации. После вывода животного из эксперимента образцы костного мозга (бедренная кость) и крови анализировали при помощи проточной цитометрии для подтверждения наличия или отсутствия опухолевых клеток в образцах. Работа с животными была одобрена локальным этическим комитетом ИМКБ СО РАН, решение N002 от 09.09.2024.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения «GraphPad Prism» version 6. Был использован метод множественного сравнения с использованием 2-way ANOVA, значимым отличием считалось $P < 0,05$.

Результаты

Получение клеток *Nalm6-Nluc-copGFP*

Для создания целевой клеточной линии использовали плазмидную конструкцию pCDH-nluc, кодирующую люциферазу Nluc под контролем сильного промотора цитомегаловируса человека, и зеленый флуоресцентный белок копеподы *Pontellina plumata* copGFP под контролем сильного конститутивного промотора гена EF1a человека (рис. 1 А). Трансдукция клеток линии Nalm6 с MOI 2 была проведена с использованием pCDH-nluc и паковочных плазмид, обеспечивающих псевдотипирование лентивирусных частиц белком G вируса везикулярного стоматита.

Затем из поликлональной популяции было получено несколько моноклональных сублиний с использо-

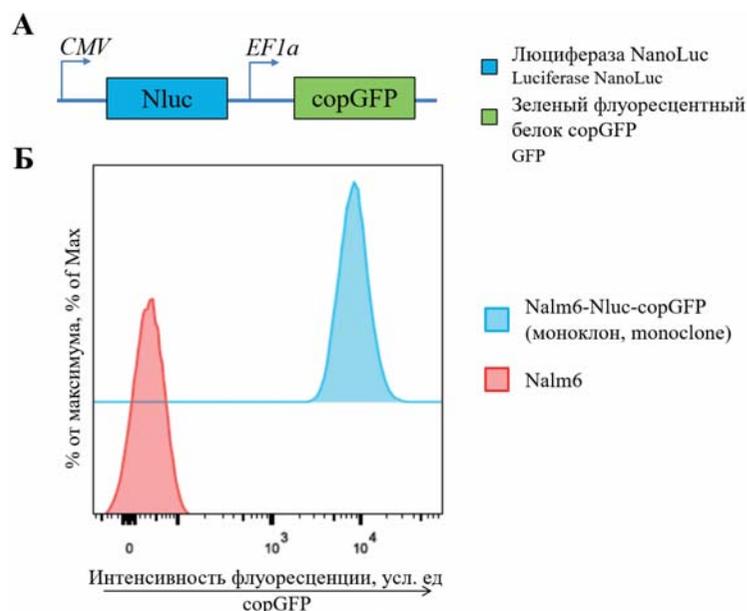


Рисунок 1. Получение и характеристика целевой клеточной линии. А — схематичное изображение структуры кассеты, кодирующей люциферазу Nluc и зеленый флуоресцентный белок copGFP; Б — полученная моноклональная линия Nalm6-Nluc-copGFP экспрессирует copGFP (анализ при помощи проточной цитофлуориметрии)

Figure 1. Development and characterization of the cell line. А — schematic representation of the structure of the cassette encoding Nluc luciferase and the green fluorescent protein copGFP; Б — the resulting monoclonal line Nalm6-Nluc-copGFP expresses copGFP (analyzed by flow cytometry)

ванием клеточного сортера «Sony SH800» и режима сортировки единичных клеток. Моноклональные линии были охарактеризованы при помощи проточной цитометрии с оценкой интенсивности экспрессии copGFP, и выбрана одна — с гомогенно высокой интенсивностью флуоресценции (рис. 1 Б). Данный моноклон был использован для всех дальнейших экспериментов.

Функциональное исследование люминесценции клеток *Nalm6-Nluc-copGFP in vitro*

Для сравнения интенсивности люминесцентного сигнала в зависимости от типа субстрата и количества клеток использовали различное количество клеток (от 10 до 7290/лунку) при фиксированной концентрации субстрата — 10 мкМ. Полученные данные (рис. 2 А) свидетельствовали о достоверно более высокой интенсивности сигнала при использовании h-целентеразина в сравнении с фуримазином. Наблюдалось двукратное превышение интенсивности люминесценции для h-целентеразина по сравнению с фуримазином. Интенсивность сигнала при добавлении нативного целентеразина в качестве субстрата была на порядок ниже, что вынудило исключить его тестирование в дальнейших экспериментах.

Помимо исследования интенсивности люминесценции в зависимости от количества клеток и определения порога чувствительности данного метода *in vitro*, оценили временную динамику угасания сигнала люминесценции с течением времени, зафиксировав концентрацию субстратов в 10 мкМ и плотность в 2430 клеток/лунку. По результатам данного теста (рис. 2 Б) установлено, что, в отличие от фуримазина, обладающего высокой стабильностью излучения, при использовании h-целентеразина происходит резкое усиление, а потом плавное ослабление интенсивности люминесценции. Однако яркость его излучения и последующая стабилизация сигнала, а также большая растворимость и меньшая токсичность делают его перспективным кандидатом для использования в тестах *in vivo*.

Прижизненная визуализация ксенотрансплантированных клеток линии *Nalm6-Nluc-copGFP* при терапии мышей CAR T-клеточными продуктами

Для проверки способности визуализировать ксенотрансплантированные клетки линии Nalm6-Nluc-copGFP в динамике был проведен пилотный эксперимент, схема которого приведена на рисунке 3 А. После внутривенного введения 3×10^5 клеток линии Nalm6-Nluc-copGFP 14 самцам иммунодефицитной линии NSG на 5-й день проводили визуализацию и рандомизацию мышей на две группы. Одним мышам на следующий день вводили терапевтические CAR T-клетки, узнающие CD19 на поверхности опухолевых

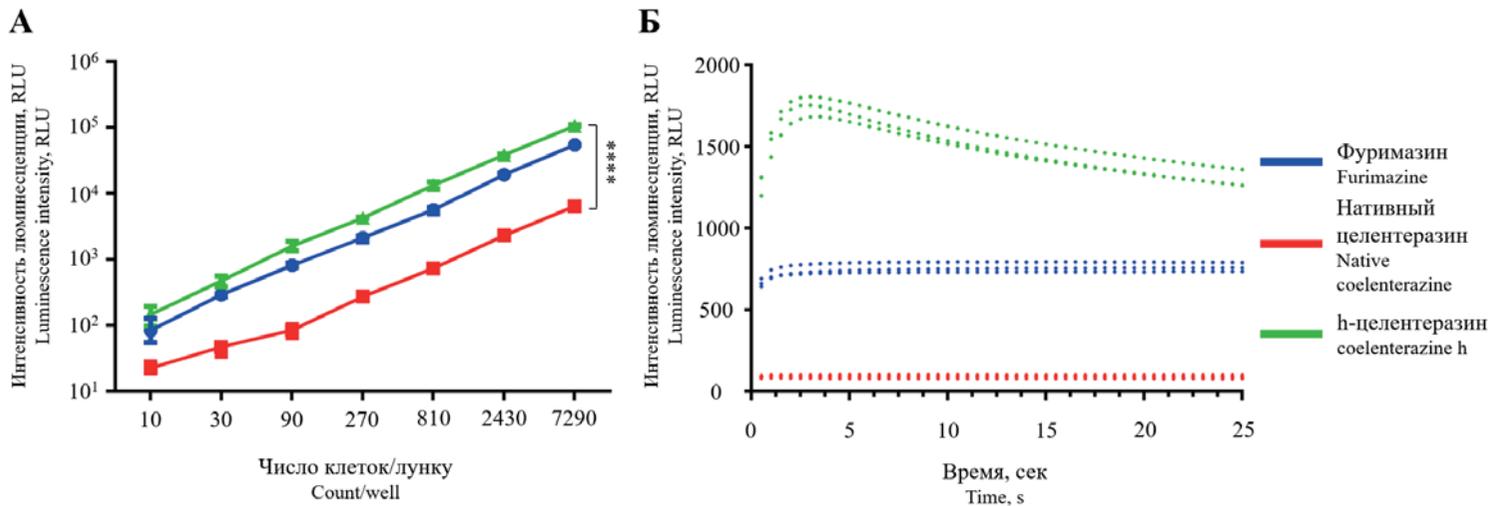


Рисунок 2. Сравнение различных субстратов в тестах *in vitro*. А — сравнение интегральных интенсивностей люминесценции за 25 секунд при использовании различных субстратов (10 мкМ) в зависимости от числа клеток Nalm6-NLuc-copGFP. Статистический анализ трех повторностей был выполнен при помощи множественного сравнения с использованием 2-way ANOVA (GraphPad Prism, v6, $p < 0,001$); Б — средняя интенсивность биолюминесценции с течением времени для каждого из субстратов при концентрации 10 мкМ и числе 2430 клеток Nalm6-NLuc-copGFP/лунку

Figure 2. *In vitro* comparison of different substrates. А — comparison of integrated luminescence intensities over 25 seconds using different substrates (10 μ M) depending on the number of Nalm6-NLuc-copGFP cells. Statistical analysis of three replicates was performed by multiple comparisons using 2-way ANOVA (GraphPad Prism, v6, $p < 0,001$); Б — average bioluminescence intensity over time for each substrate at a concentration of 10 μ M and 2430 Nalm6-NLuc-copGFP cells/well

клеток (группа FMC63-CAR), другим — контрольные CAR T-клетки от того же донора, полученные тем же способом и идентично активированные/культивированные *ex vivo*, со специфичностью к белку PSMA, отсутствующему на поверхности опухолевых клеток. Далее визуализацию проводили еженедельно, на 12, 19, 26, 33, 40 и 47-й дни (рис. 3 Б). Отмечалась дальнейшая прогрессия заболевания у контрольных мышей, а у мышей, которым были введены FMC63-CAR T-клетки, наблюдали стабилизацию интенсивности сигнала, что свидетельствовало об установлении контроля над опухолью.

Суммарные данные по средней интенсивности люминесценции для обеих групп приведены на рисунке 4. Проведенный эксперимент позволил утвердительно ответить на вопрос о том, обладают ли полученные нами CAR T-клетки противоопухолевой активностью *in vivo* в ксенотрансплантированной модели, а также показал возможность прижизненной визуализации и отслеживания динамики опухолевых клеток, экспрессирующих NLuc, при помощи доступного и нетоксичного субстрата, h-целентеразина.

Валидация данных *in vivo* визуализации при помощи проточной цитометрии

Экспрессия клетками Nalm6-NLuc-copGFP помимо NLuc еще и флуоресцентного маркера copGFP позволяет независимо детектировать наличие опухолевых клеток и при необходимости проводить их фенотипирование методом проточной цитометрии. Репрезентативные данные анализа образцов для одного животного из контрольной группы J591-CAR приведены на рисунке 5. Полученные данные свиде-

тельствовало о том, что клетки Nalm6-NLuc-copGFP обнаруживались в костном мозге и периферической крови мышей в полном соответствии с данными *in vivo* визуализации.

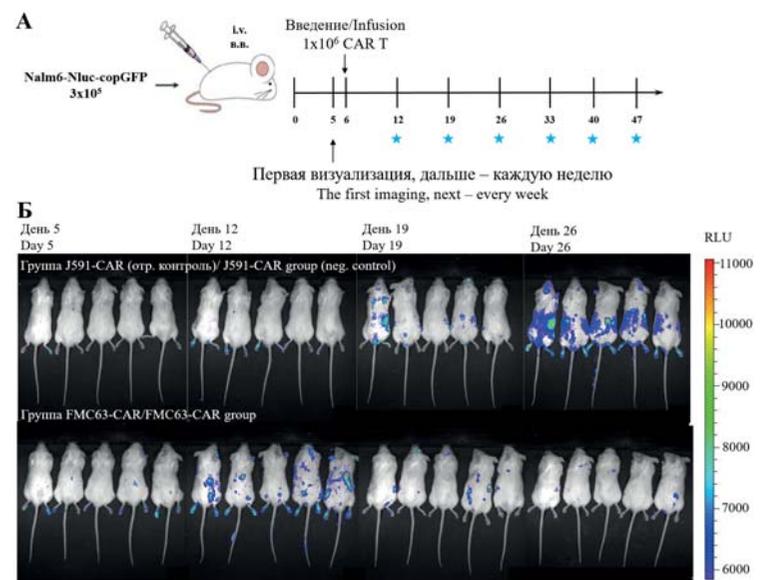


Рисунок 3. Прижизненная визуализация ксенотрансплантированных клеток линии Nalm6-NLuc-copGFP при терапии мышей CAR T-клеточными продуктами. А — схематическое изображение эксперимента; Б — *in vivo* визуализация после интраперитонеального введения 0,491 мкмоль (20 мкг) h-целентеразина в 100 мкл фосфатно-солевого буфера в контрольной группе мышей. Спектральные данные были получены в течение 3 мин, через 5 минут после введения субстрата. Репрезентативные изображения приведены для 5 из 7 мышей в каждой группе с 5-го по 26-й день

Figure 3. Live imaging of xenografted Nalm6-NLuc-copGFP cells during CAR T cell therapy in mice. А — schematic representation of the experiment; Б — *in vivo* imaging after intraperitoneal administration of 0.491 μ mol (20 μ g) h-coelenterazine in 100 μ l phosphate-buffered saline to the control group of mice. Spectral data were acquired for 3 min, 5 min after substrate administration. Representative images are shown for 5 of 7 mice in each group from days 5 to 26

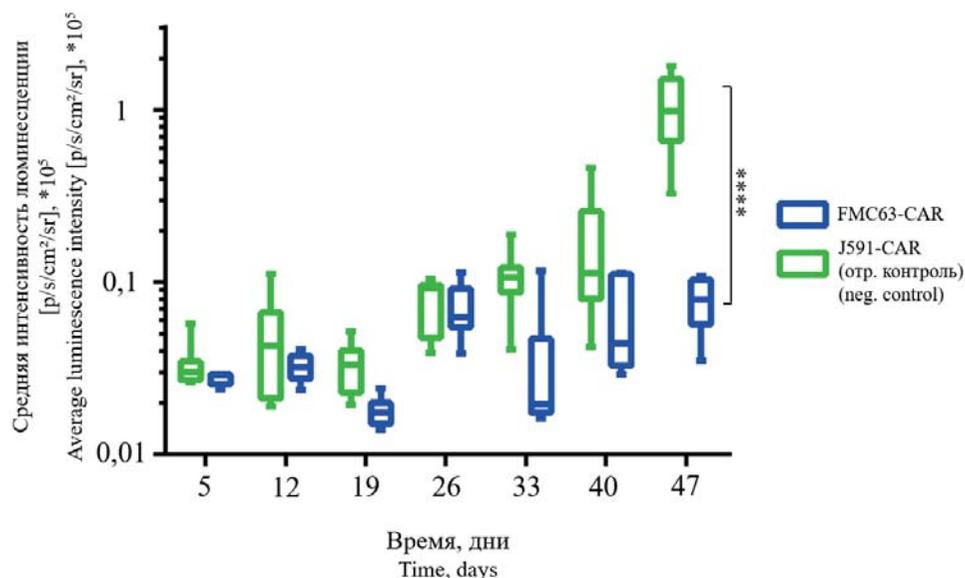


Рисунок 4. Изменения относительной интенсивности люминесценции от времени после введения в каждой группе животных (n = 7). На 47-й день интенсивность флуоресценции отличается достоверно, статистический анализ был выполнен при помощи множественного сравнения с использованием 2-way ANOVA (GraphPad Prism, v6, P < 0,001)
Figure 4. Changes of relative luminescence intensity over time after administration, in each group of animals (n = 7). On day 47, the fluorescence intensity differs significantly, statistical analysis was performed using multiple comparisons with 2-way ANOVA (GraphPad Prism, v6, P < 0,001)

Обсуждение

Одной из причин, побудивших провести это исследование, являлось то, что, согласно литературным данным, специально разработанный для люциферазы NLuc субстрат — фуримазин может быть токсичным при многократных введениях мелким животным, кроме того, он плохо растворим в воде, и оптимальным способом введения для него остается внутривенное введение [28]. При таком способе введения сигнал быстрее разгорается и затухает, что также ограничивает использование фуримазина при более длительных процессах визуализации [23]. Кроме того, известно, что для повторяющихся измерений следует отдавать предпочтение интраперитонеальным инъекциям, учитывая большую воспроизводимость метода и меньшую подверженность ошибкам.

Еще один возможный субстрат для NLuc — нативный целентеразин — широко применялся в различных экспериментах *in vivo*, поскольку он более биологически доступен при внутривенном введении [29], однако в водных растворах он недостаточно стабилен и быстро деградирует. В отличие от нативной формы, различные C2-модифицированные варианты целентеразина обладают более высокой стабильностью в водных растворах [30], кроме того, для h-модификации была показана предпочтительность использования с белком VFP-aq [31]. Сообщений об использовании h-целентеразина в качестве субстрата для NLuc для целей прижизненной визуализации нет.

В данном исследовании провели сравнение *in vitro* трех альтернативных субстратов для люциферазы NLuc — нативного целентеразина, h-целентеразина

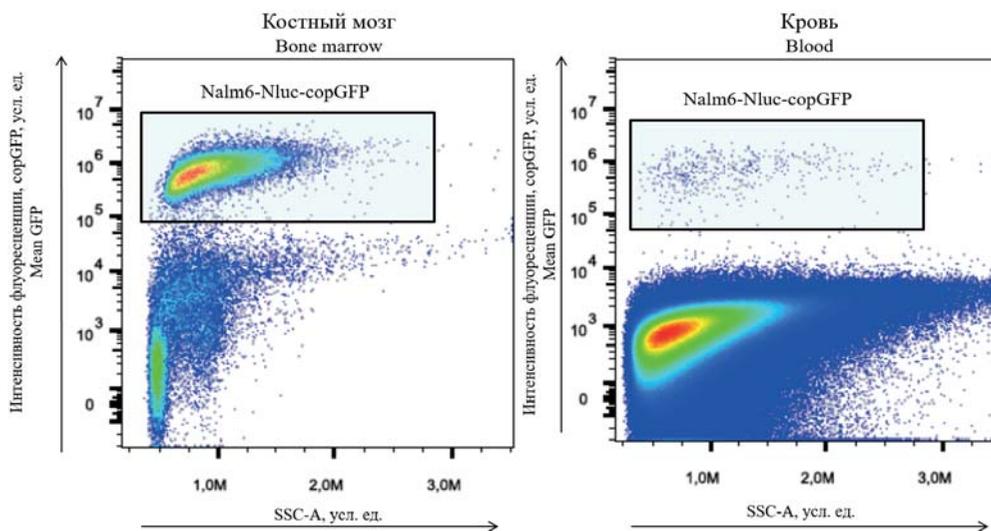


Рисунок 5. Анализ образцов костного мозга и крови животного из контрольной группы (J591-CAR) при помощи проточной цитометрии
Figure 5. Flow cytometry analysis of bone marrow and blood samples from a negative control animal (J591-CAR)

и фуримазина. В экспериментах h-целентеразин показал достоверно более высокую интенсивность люминесценции *in vitro* при эквимолярном количестве субстрата.

Помимо суммарной интенсивности сигнала важным параметром при детекции люминесценции является его стабильность с течением времени. Фуримазин и его аналоги демонстрируют крайне стабильный сигнал вплоть до 30 мин. после начала измерения [23]. Согласно полученным данным, в контексте использования *in vitro* в паре с NLuc h-целентеразин является менее предпочтительным субстратом, чем фуримазин, ввиду большей динамики развития сигнала в первые 5–7 сек. после добавления. Тем не менее впоследствии сигнал от пары NLuc/h-целентеразин стабилизируется, что делает использование h-целентеразина привлекательным для *in vivo* имиджинга, где детекция начинается значительно позже, как правило, спустя 3–5 мин. после введения.

Длина волны испускаемого NLuc свечения почти на 100 нм меньше, чем длина волны излучения широко используемой люциферазы Fluc. Потенциально это может приводить к более интенсивному поглощению люминесцентного сигнала от NLuc тканями, что теоретически может маскировать люминесценцию из глубоколежащих органов. В настоящей работе не было замечено принципиального искажения паттернов люминесценции по сравнению с литературными данными для люциферазы Fluc [15]. Возможно

также, что большее поглощение сигнала компенсируется в случае NLuc заметно более сильной интенсивностью излучения. Существующие исследования в этой области по сравнению возможности визуализации при помощи как NLuc, так и Fluc в одном эксперименте в контексте ксенотрансплантации клеток линии U87 с одновременной экспрессией этих двух ферментов в бицистронной конструкции также показали более высокую интенсивность люминесценции NLuc. В этом же эксперименте была показана токсичность фуримазина для клеток и необходимость подбора альтернативного субстрата для прижизненной визуализации [15].

В результате работы был получен не только принципиально новый результат, свидетельствующий о возможности использования h-целентеразина в паре с люциферазой NLuc для прижизненной визуализации клеток в мышах, но и генетически модифицированная клеточная линия Nalm6-NLuc-copGFP, которая может быть востребована в качестве инструмента для исследований эффективности, безопасности и токсичности соединений и клеточных продуктов, разрабатываемых для противоопухолевой терапии острого лимфобластного лейкоза. Полученная плазмидная конструкция также потенциально может быть использована для модификации любых других клеточных линий, необходимых для разработки и корректной характеристики новых генно-терапевтических подходов.

Литература / References

- Emami-Shahri N., Foster J., Kashani R., et al. Clinically compliant spatial and temporal imaging of chimeric antigen receptor T-cells. *Nat. Commun.* 2018;9:1081. DOI: 10.1038/s41467-018-03524-1.
- Sakemura R., Can I., Siegler E.L., Kenderian S.S. In vivo CART cell imaging: Paving the way for success in CART cell therapy. *Mol Ther Oncolytics.* 2021;20:625–33. DOI: 10.1016/j.omto.2021.03.003.
- Skovgard M.S., Hocine H.R., Saini J.K., et al. Imaging CAR T-cell kinetics in solid tumors: Translational implications. *Mol Ther Oncolytics.* 2021;22:355–67. DOI: 10.1016/j.omto.2021.06.006.
- 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.
- Joy R., Phair K., O'Hara R., Brady D. Recent advances and current challenges in CAR-T cell therapy. *Biotechnol Lett.* 2024;46:115–26. DOI: 10.1007/s10529-023-03461-0.
- Müller F., Boeltz S., Knitz J., et al. CD19-targeted CAR T cells in refractory antisynthetase syndrome. *Lancet.* 2023;401:815–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)00023-5.
- Bergmann C., Müller F., Distler J.H.W., et al. Treatment of a patient with severe systemic sclerosis (SSc) using CD19-targeted CAR T cells. *Ann Rheum Dis.* 2023;82:1117–20. DOI: 10.1136/ard-2023-223952.
- Uslu U., June C.H. Beyond the blood: expanding CAR T cell therapy to solid tumors. *Nat Biotechnol.* 2025; 43:506–515. DOI:10.1038/s41587-024-02446-2.
- Li Y., Liu M., Cui J., et al. Hepa1-6-Fluc cell line with the stable expression of firefly luciferase retains its primary properties with promising bioluminescence imaging ability. *Oncol Lett.* 2018;15:6203–10. DOI: 10.3892/ol.2018.8132.
- Shimomura O. *Bioluminescence: chemical principles and methods*; WORLD SCIENTIFIC, 2006., ISBN 978-981-256-801-4.
- Martini S., Haddock S.H.D. Quantification of bioluminescence from the surface to the deep sea demonstrates its predominance as an ecological trait. *Sci Rep.* 2017;7:45750. DOI: 10.1038/srep45750.
- Frank L.A., Krasitskaya V.V. Coelenterazine-Dependent Luciferases: Properties and Application in Molecular Analysis. *Moscow Univ Chem Bull.* 2024;79:203–10. DOI: 10.3103/S0027131424700184.
- Tannous B.A., Kim D.-E., Fernandez J.L., et al. Codon-optimized Gaussia luciferase cDNA for mammalian gene expression in culture and in vivo. *Mol Ther.* 2005;11:435–43. DOI: 10.1016/j.yithe.2004.10.016.
- Contag P.R., Olomu I.N., Stevenson D.K., Contag C.H. Bioluminescent indicators in living mammals. *Nat. Med.* 1998;4:245–7. DOI: 10.1038/nm0298-245.
- Germain-Genevois C., Garandeau O., Couillaud F. Detection of brain tumors and systemic metastases using nanoluc and fluc for dual reporter imaging. *Mol Imaging Biol.* 2016;18:62–9. DOI: 10.1007/s11307-015-0864-2.
- Markova S.V., Golz S., Frank L.A., et al. Cloning and expression of cDNA for a luciferase from the marine copepod *Metridia longa*. A novel secreted bioluminescent reporter enzyme. *J. Biol. Chem.* 2004;279:3212–7. DOI: 10.1074/jbc.M309639200.
- Nakajima Y., Kobayashi K., Yamagishi K., et al. cDNA cloning and characterization of a secreted luciferase from the luminous Japanese ostracod, *Cypridina noctiluca*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004;68:565–70. DOI: 10.1271/bbb.68.565.
- Thompson E.M., Nagata S., Tsuji F.I. Cloning and expression of cDNA for the luciferase from the marine ostracod *Vargula hilgendorffii*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:6567–71. DOI: 10.1073/pnas.86.17.6567.

19. Suzuki C., Nakajima Y., Akimoto H., et al. A new additional reporter enzyme, dinoflagellate luciferase, for monitoring of gene expression in mammalian cells. *Gene*. 2005;344:61–6. DOI: 10.1016/j.gene.2004.09.028.
20. Shimomura, O. Masugi T., Johnson F.H., Haneda Y. Properties and reaction mechanism of the bioluminescence system of the deep-sea shrimp *Oplophorus gracilorostri*. *Biochemistry*. 1978;17:994–8. DOI: 10.1021/bi00599a008.
21. Hall M.P., Unch J., Binkowski B.F., et al. Engineered luciferase reporter from a deep sea shrimp utilizing a novel imidazopyrazinone substrate. *ACS Chem. Biol.* 2012;7:1848–57. DOI: 10.1021/cb3002478.
22. Stacer A.C., Nyati S., Moudgil P., et al. NanoLuc reporter for dual luciferase imaging in living animals. *Mol. Imaging*. 2013;12:1–13. DOI: 10.2310/7290.2013.00062.
23. Gaspar N., Walker J.R., Zambito G., et al. Evaluation of NanoLuc substrates for bioluminescence imaging of transferred cells in mice. *J Photochem Photobiol B*. 2021;216:112128. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112128.
24. Chu J., Oh Y., Sens A., et al. A bright cyan-excitable orange fluorescent protein facilitates dual-emission microscopy and enhances bioluminescence imaging in vivo. *Nat Biotechnol*. 2016;34:760–7. DOI: 10.1038/nbt.3550.
25. Kutner R.H., Zhang X.-Y., Reiser J. Production, concentration and titration of pseudotyped HIV-1-based lentiviral vectors. *Nat Protoc*. 2009;4:495–505. DOI: 10.1038/nprot.2009.22.

Информация об авторах

Беловежец Татьяна Николаевна, научный сотрудник лаборатории инженерии антител ИМКБ СО РАН; младший научный сотрудник НИО иммуноонкологии НИЦ персонализированной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», e-mail: ochotanya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0147-4078>

Гладких Даниил Викторович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: medulla35@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3736-0803>

Омельченко Виталий Олегович, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патологии соединительной ткани НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: v.o.omelchenko@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6606-7185>

Волкова Ольга Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН ИМКБ СО РАН, e-mail: volkova@mcb.nsc.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-7182>

Таранин Александр Владимирович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией иммуногенетики Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН ИМКБ СО РАН, e-mail: taranin@mcb.nsc.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9184-4238>

26. Brentjens R.J., Riviere I., Park J.H., et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood*. 2011;118:4817–28. DOI: 10.1182/blood-2011-04-348540.
27. Belovezhets T., Kulemzin S., Volkova O., et al. Comparative Pre-Clinical Analysis of CD20-Specific CAR T Cells Encompassing 1F5-, Leu16-, and 2F2-Based Antigen-Recognition Moieties *Int J Mol. Sci.* 2023;24:3698. DOI: 10.3390/ijms24043698.
28. Shipunova V.O., Shilova O.N., Shramova E.I., et al. A Highly Specific Substrate for NanoLuc Luciferase Furimazine Is Toxic in vitro and in vivo. *Russ J Bioorg Chem*. 2018;44:225–8. DOI: 10.1134/S1068162018020085.
29. Taylor A., Sharkey J., Plagge A., et al. Multicolour In Vivo Bioluminescence Imaging Using a NanoLuc-Based BRET Reporter in Combination with Firefly Luciferase. *Contrast Media Mol Imaging*. 2018;2018:2514796. DOI: 10.1155/2018/2514796.
30. Inouye S., Sahara-Miura Y., Sato J., et al. Expression, purification and luminescence properties of coelenterazine-utilizing luciferases from *Renilla*, *Oplophorus* and *Gaussia*: comparison of substrate specificity for C2-modified coelenterazines. *Protein Expr Purif*. 2013;88:150–6. DOI:10.1016/j.pep.2012.12.006.
31. Inouye S., Sasaki S. Blue fluorescent protein from the calcium-sensitive photo-protein aequorin: catalytic properties for the oxidation of coelenterazine as an oxygenase. *FEBS Lett*. 2006;580:1977–82. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.02.065.

Information about the authors

Tatyana N. Belovezhets, Research Fellow Laboratory of Antibody Engineering Institute of Molecular and Cellular Biology of the SB RAS; Junior Researcher Research Department of Immuno-Oncology of Research Centre Personalized Oncology Almazov National Medical Research Centre, e-mail: ochotanya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0147-4078>

Daniil V. Gladkikh, Cand. Sci. (Biol.), junior researcher Laboratory of Nucleic Acids Biochemistry Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS, e-mail: medulla35@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3736-0803>

Vitaliy O. Omelchenko, Cand. Sci. (Med.), Research fellow Laboratory of Connective tissue disease Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the SB RAS, e-mail: v.o.omelchenko@gmail.com,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6606-7185>

Olga Y. Volkova, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Fellow Laboratory of Immunogenetics Institute of Molecular and Cellular Biology of the SB RAS, e-mail: volkova@mcb.nsc.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-7182>

Alexander V. Taranin, Dr. Sci. (Biol.), head Laboratory of Immunogenetics Institute of Molecular and Cellular Biology of the SB RAS, e-mail: taranin@mcb.nsc.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9184-4238>

Кулемзин Сергей Викторович*, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биосенсорных технологий, Институт медицины и медицинских технологий ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»,
e-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4706-623X>

Sergey V. Kulemzin*, Cand. Sci.(Biol.), Head of Laboratory of Biosensor Technologies of Institute of Medicine and Medical Technologies Novosibirsk State University, 630090, Novosibirsk, Russian Federation,
e-mail: skulemzin@mcb.nsc.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4706-623X>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 29.04.2025

Принята к печати: 10.06.2025

*** Corresponding author**

Received 29 Apr 2025

Accepted 10 Jun 2025

СРАВНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И ИММУНОФЕНОТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ АНТИ-CD19 МОДИФИЦИРОВАННЫХ Т-КЛЕТОК, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ, ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ РЕСТИМУЛЯЦИИ *IN VITRO*

Ненашева Т.А., Фефелова Е.И., Сердюк Я.В., Сальман Р., Иванова Н.О., Алешина О.А., Боголюбова А.В.*

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Важной характеристикой терапии модифицированными Т-клетками, экспрессирующими химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor, CAR), является продолжительность персистенции CAR Т-клеток в организме больного. Длительная рестимуляция CAR Т-клеточного продукта *in vitro* с последующим анализом его субпопуляционного состава и цитотоксической активности является одним из способов моделирования поведения клеток в организме больных.

Цель: изучить иммунофенотип, показатели истощения и функциональные характеристики анти-CD19 CAR Т-клеточных продуктов, полученных из клеток здоровых доноров и больных В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (В-ОЛЛ), в условиях длительной рестимуляции *in vitro*.

Материалы и методы. Анти-CD19 CAR Т-клеточный продукт получили из клеток 5 здоровых доноров и 3 больных В-ОЛЛ. Проведено изучение иммунофенотипа полученных клеточных продуктов в условиях повторяющейся антигенной рестимуляции *in vitro* с использованием таргетной клеточной линии NALM6, несущей антиген CD19, в течение 7–10 дней. В каждой точке эксперимента были оценены пролиферативная и цитотоксическая активность, экспрессия маркеров истощения и динамика изменения субпопуляционного состава CAR-Т-клеток памяти (иммунофенотип).

Результаты. Анти-CD19 CAR Т-лимфоциты обладали выраженной цитотоксической активностью вне зависимости от источника лимфоцитов (здоровые доноры/больные). В процессе длительной антигенной рестимуляции всех клеточных продуктов наблюдалось уменьшение доли наивных (TN) и эффекторных (TE) CAR Т-клеток и увеличение доли клеток центральной (TCM) и эффекторной памяти (TEM). CAR Т-клетки демонстрировали повышение экспрессии маркеров истощения (PD1, TIM3) вне зависимости от происхождения клеток и соотношения эффектор : таргет.

Заключение. Анализ цитотоксической активности и иммунофенотипического состава CAR Т-клеточных продуктов в условиях длительной рестимуляции выявил тенденцию к снижению цитотоксической активности и отличия в динамике пролиферации и популяционного состава между клеточными продуктами, полученными от больных В-ОЛЛ и здоровых доноров.

Ключевые слова: анти-CD19 CAR Т, CAR Т-клеточная терапия, иммунофенотип, истощение, цитотоксичность

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 на выполнение научных исследований ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Для цитирования: Ненашева Т.А., Фефелова Е.И., Сердюк Я.В., Сальман Р., Иванова Н.О., Алешина О.А., Боголюбова А.В. Сравнение функционального и иммунофенотипического профиля анти-CD19 модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор, полученных от здоровых доноров и больных В-клеточным острым лимфобластным лейкозом, при длительной рестимуляции *in vitro*. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):156–164. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-156-164>

COMPARISON OF THE FUNCTIONAL AND IMMUNOPHENOTYPICAL PROFILE OF ANTI-CD19 CAR T-CELLS DERIVED FROM HEALTHY DONORS AND PATIENTS WITH B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA DURING PROLONGED RE-STIMULATION *IN VITRO*

Nenasheva T.A., Fefelova E.I., Serdyuk Y.V., Salman R., Ivanova N.O., Aleshina O.A., Bogolyubova A.V.*

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

ABSTRACT

Introduction. An important characteristic of therapy with modified T-cells expressing the chimeric antigen receptor (CAR) is the duration of CAR T-cell persistence in the patient's body. Prolonged re-stimulation of CAR T-cell product *in vitro* with further analysis of its subpopulation composition and cytotoxic activity is one of the approaches to model cell behavior in patients.

Aim: to study the immunophenotype, exhaustion and functional characteristics of anti-CD19 CAR T-cell products derived from healthy donors and patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) at prolonged re-stimulation conditions *in vitro*.

Materials and methods. Anti-CD19 CAR T-cell products were generated from 5 healthy donors and 3 patients with B-ALL. The immunophenotype of the obtained cell products was studied under conditions of repeated antigenic re-stimulation *in vitro* using the target cell line NALM6 carrying the CD19 antigen over 7-10 days. At each experimental timepoint, the following parameters were assessed: proliferative and cytotoxic activity, expression of exhaustion markers, and changes in the subpopulation composition of CAR T-memory cells (immunophenotype).

Results. Anti-CD19 CAR T-cells had significant cytotoxic activity regardless of the lymphocyte source (healthy donors/patients). During prolonged antigenic re-stimulation of all products, a decrease in the proportion of naive (TN) and effector (TE) CAR T-cells, and an increase in the proportion of central (TCM) and effector memory (TEM) cells was observed. CAR T-cells showed increased expression of exhaustion markers (PD1, TIM3) irrespective of the origin of the cell and E:T ratio.

Conclusion. Analysis of cytotoxic activity and immunophenotypic composition of CAR T-cell products under conditions of prolonged re-stimulation revealed a trend toward decreased cytotoxicity, as well as differences in proliferation dynamics and population composition between cell products obtained from B-ALL patients and healthy donors.

Keywords: anti-CD19 CAR T, CAR T-cell therapy, immunophenotype, exhaustion, cytotoxicity

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

Financial disclosure: the study was performed in accordance with the State Assignment "Development of anti-BCMA CAR T-cell drug for the needs of onco-hematology" RK № 125030703310-3 for the performance of scientific research of the National Medical Research Center for Hematology.

For citation: Nenasheva T.A., Fefelova E.I., Serdyuk Ya.V., Salman R., Ivanova N.O., Aleshina O.A., Bogolyubova A.V. Comparison of the functional and immunophenotypical profile of anti-CD19 CAR T-cells derived from healthy donors and patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia during prolonged restimulation *in vitro*. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):156–164. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-156-164>

Введение

Терапия модифицированными Т-клетками, экспрессирующими химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor) — CAR Т терапия против CD19, является эффективным методом лечения В-клеточных злокачественных новообразований, в частности В-клеточного острого лимфобластного лейкоза

(В-ОЛЛ). CAR Т-клетки — это генетически модифицированные Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор, который обеспечивает функцию распознавания антигена на поверхности клеток и их специфический лизис. Несмотря на высокую частоту полного ответа на CAR Т терапию у больных В-ОЛЛ,

у многих из них возникает ранний рецидив в течение первых трех лет после терапии [1, 2], поэтому в настоящее время исследования направлены на изучение влияния различных параметров CAR Т-клеток на исход терапии и поиск возможных путей увеличения эффективности терапии в долгосрочной перспективе [3].

Показано, что долгосрочная ремиссия возможна при длительной персистенции CAR Т-клеток в организме больного, поэтому субпопуляционный состав и функциональная активность CAR Т-клеток могут быть важнейшими параметрами для предсказания эффективности терапии с использованием клеточных продуктов. С этой целью возможно проведение исследований таких параметров клеточных продуктов, как иммунофенотип, степень экспрессии маркеров истощения (таких, как PD1, TIM3, LAG3, FASL, CTLA4, TIGIT), величина продукции цитокинов, цитотоксические функции в формате *in vitro* [4–7].

Целью данного исследования являлся сравнительный анализ иммунофенотипа, степени истощения и цитотоксической активности анти-CD19 CAR Т-клеточных продуктов, полученных из клеток здоровых доноров и больных В-ОЛЛ, в условиях длительной антигенной рестимуляции *in vitro*.

Материалы и методы

Получение CAR Т-клеток. Образцы мононуклеарных клеток периферической крови (МПК) были получены от 5 здоровых доноров и 3 больных В-ОЛЛ (табл. 1). Из МПК методом магнитной сепарации на колонке с использованием магнитных бус CytoSinct™

CD3 Nanobeads (GenScript, США) были выделены CD3⁺ клетки, после чего их активировали с помощью CD3/CD28 наночастиц Eneceed™ T Cell Activation (GenScript, США). Подсчет CD3⁺ клеток проводили на автоматическом клеточном счетчике «LUNA II™» (Logos Biosystems, Южная Корея) и трансдуцировали лентивирусными частицами (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России), содержащими анти-CD19 CAR конструкцию второго поколения. Далее клетки культивировали в среде ImmunoCult™-XF T Cell Expansion Medium (STEMCELL Technologies, Канада) в присутствии интерлейкина (ИЛ)-7 и ИЛ-15 (Miltenyi Biotec, Германия). Эффективность трансдукции CAR Т-клеток оценивали методом проточной цитофлуориметрии путем окрашивания клеток рекомбинантным белком CD19-Fc, конъюгированным с красителем AF647 (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России).

Линии клеток. В качестве мишени, экспрессирующей В-лимфоцитарный антиген CD19, использовали линию клеток острого лимфобластного лейкоза NALM6 и NALM6-GFP, экспрессирующую зеленый флуоресцентный белок (GFP, NALM6-GFP). Необходимость использовать параллельно две клеточные линии, отличные только по экспрессии флуоресцентного белка, была продиктована спецификой составления многоцветной цитофлуориметрической панели в эксперименте по оценке иммунофенотипа. Клеточную линию NALM6-GFP использовали для оценки цитотоксичности CAR Т-клеток, а линию NALM6 — для оценки иммунофе-

Таблица 1. Клинико-патологические характеристики больных В-ОЛЛ и здоровых доноров
Table 1. Clinicopathological characteristics of patients with B-ALL and healthy donors

Идентификационный номер <i>Identification number</i>	Пол <i>Gender</i>	Возраст <i>Age</i>	Диагноз <i>Diagnosis</i>	Вариант заболевания <i>Type of diagnosis</i>	Количество линий терапии <i>Number of therapy lines</i>
Больной 1 <i>Patient 1</i>	Ж/Ф	38	В-ОЛЛ <i>B-ALL</i>	В-II, 46 XX	1 (ОЛЛ-2016) <i>1 (RALL-2016)</i>
Больной 2 <i>Patient 2</i>	Ж/Ф	27	В-ОЛЛ <i>B-ALL</i>	В-I, t (4;11) (q21; q23)	1 (ОЛЛ-2016) <i>1 (RALL-2016)</i>
Больной 3 <i>Patient 3</i>	Ж/Ф	44	В-ОЛЛ <i>B-ALL</i>	В-I, t (4;11) (q21; q23)	1 (ОЛЛ-2016) <i>1 (RALL-2016)</i>
Донор 1 <i>Donor 1</i>	Ж/Ф	25	здоровый доброволец <i>healthy donor</i>	-	-
Донор 2 <i>Donor 2</i>	Ж/Ф	25	здоровый доброволец <i>healthy donor</i>	-	-
Донор 3 <i>Donor 3</i>	Ж/Ф	31	здоровый доброволец <i>healthy donor</i>	-	-
Донор 4 <i>Donor 4</i>	Ж/Ф	57	здоровый доброволец <i>healthy donor</i>	-	-
Донор 5 <i>Donor 5</i>	М/М	26	здоровый доброволец <i>healthy donor</i>	-	-

нотипа и степени истощения. Клетки культивировали в среде IMDM (Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (Cargicorн, Германия), 100×10³ мг/л пенициллина/стрептомицина (Thermo Fisher Scientific, США), при температуре 37 °С и 5% CO₂.

Длительная антигенная рестимуляция CAR T-клеток. 0,1×10⁶ CAR+ T-клеток культивировали совместно с клеточной линией NALM6-GFP, несущей на своей поверхности антиген CD19, и параллельно 0,1×10⁶ CAR+ T-клеток с NALM6 в соотношениях эффектор: таргет (Э:Т), равных 1:1 и 1:3, в среде ImmunoCult™-XF T Cell Expansion Medium (STEMCELL Technologies, Канада), содержащей 0,01 мг/ИЛ-7 и 0,01 мг/л ИЛ-15 (Miltenyi, Германия) в 500 мкл в лунке 48-луночного планшета. Каждые 3–4 дня проводили подсчет общего количества живых клеток в лунке с использованием клеточного счетчика LUNA. Методом проточной цитометрии оценивали процентное содержание CAR+ T-клеток и NALM6-GFP. Для этого в каждой точке анализа отбирали 0,1×10⁶ клеток, после чего планшет центрифугировали при 350 g, 5 минут, 22 °С, из лунок отбирали 200 мкл супернатанта для последующей оценки продукции интерферона (ИФН)-γ методом иммуноферментного анализа (ИФА). В лунки вносили необходимое количество NALM6-GFP для восстановления соотношений Э:Т, доводили объем в лунке до 500 мкл свежей культуральной средой. На 7-й день клетки пересаживали в 1 мл культуральной среды в лунку 24-луночного планшета (Wuxi NEST Biotechnology Co., Китай). Общая схема эксперимента представлена на рисунке 1.

Анализ цитотоксической активности CAR+ T-клеток. Количество CAR+ клеток и клеток NALM6-GFP определяли методом проточной цитометрии; CAR+ клетки окрашивали рекомбинантным белком CD19-Fc, конъюгированным с красителем AF647 (ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Россия), клетки NALM6-GFP детектировали по экспрессии флуорес-

центного белка GFP, результаты анализировали с использованием программ «FlowJo 10.8.1» и «Graphpad Prism 10.2.3.»

Анализ истощения и субпопуляционного состава CAR+ T-клеток. В каждой точке анализа клетки окрашивали смесью антител: CD3-AF700 (Clone OKT3, Sony), CD4-FITC (Clone RPA-T4, Sony), CD8a-PerCP-Cy5.5 (Clone RPA-T8, Sony), CD19-PE-Cy7 (Clone H1B19, Sony), CD19-Fc (AF-647, ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России) и делили каждую пробу на 2 равные части. Для анализа маркеров истощения в пробу добавляли антитела PD1-BV421 (Clone EH12.2H7, Sony) и TIM-3-PE-Cy7 (CloneF38–2E2, Sony), для анализа субпопуляций клеток памяти добавляли CD45RO-PE-Cy7 (Clone UCHL1, Sony), CD197-PE-Dazzle594 (Clone G043H7, Sony). Анализ проводили с помощью BD FACSAria III (BD Biosciences), данные обрабатывали с использованием программы FlowJo 10.8.1.

Анализ секреции ИФН-γ. Концентрацию ИФН-γ в образцах определяли методом ИФА с использованием набора «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» («Вектор Бест», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. В каждой контрольной точке эксперимента по антигенной рестимуляции CAR T-клеток отбирали 200 мкл супернатанта из каждого образца, замораживали, хранили при –20 °С, размораживали непосредственно перед анализом. Значения измеряли на спектрофотометре «Multiskan FC Microplate Photometer» (Thermo Fisher Scientific, США). Результаты учитывали как разницу (Δ) между антиген-стимулированной и спонтанной продукцией ИФН-γ нетрансдуцированными клетками и представляли в виде медианы (Me) и межквартильного диапазона [Q1–Q3]. В качестве порогового значения концентрации ИФН-γ использовали 50 пг/мл (среднее значение различий между концентрациями ИФН-γ при определении величины неспецифической продукции ИФН-γ нетрансдуцированными лимфоцитами).

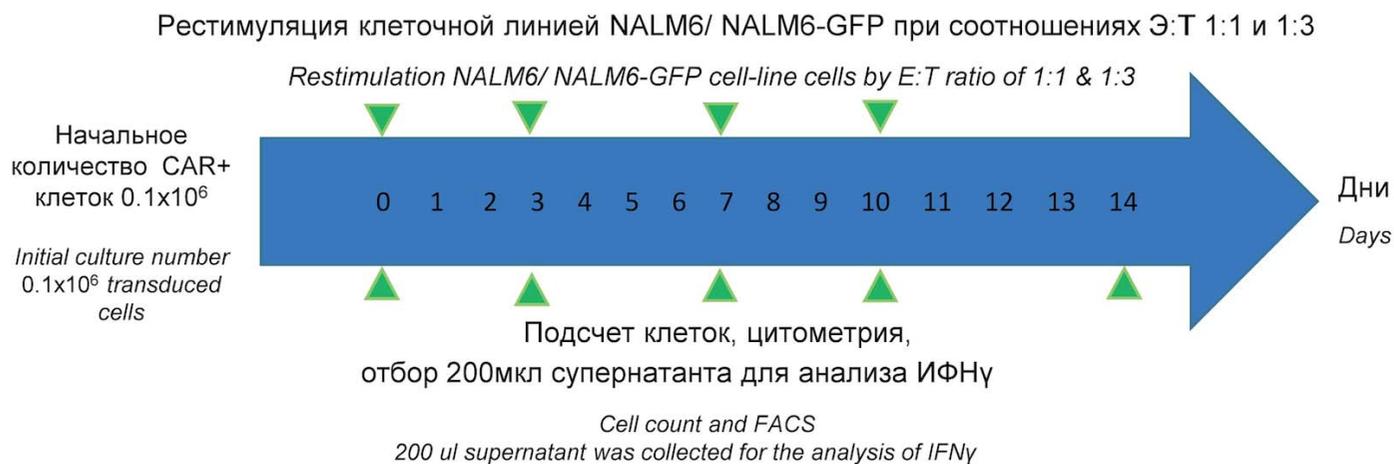


Рисунок 1. Схема эксперимента. Стрелками обозначены дни подсчета клеток.

Figure 1. Experimental scheme. The arrows indicate the cell count days.

Статистический анализ. Для проверки гипотез о различиях распределений количественных признаков в группах сравнения использовали критерий Манна — Уитни. Различия признавали значимыми при $p < 0,05$. Анализ проводили с использованием программы «Graphpad Prism 10.2.3».

Результаты

Характеристика CAR T-клеточного продукта. Получили анти-CD19 CAR T-клеточные продукты из МПК пяти здоровых доноров и 3 больных В-ОЛЛ, у доноров медиана трансдукции составила 31,5%, у больных 18,9%, однако эти различия не были статистически достоверны. Полученные CAR T-клеточные продукты больных и доноров отличались по субпопуляционному составу, но эти различия также не были статистически значимы. Продукты больных содержали меньшее количество наивных Т-лимфоцитов (TN) и лимфоцитов центральной памяти (TCM), а содержание популяций эффекторных (TE) и терминальных эффекторов (TEM) было больше. (рис. 2А, Б, В).

Динамика экспансии CAR T-клеток в условиях длительной антигенной рестимуляции различалась у больных В-ОЛЛ и здоровых доноров. В ходе эксперимента в каждой временной точке была оценена общая клеточность популяции CAR+ клеток. Она показала, что все CAR T-клеточные продукты демонстрировали высокий потенциал к экспансии в ответ на антигенный стимул независимо от источника клеток и соотношения Э:Т. Индекс пролиферации (соотношение количества CAR+ клеток в лунке в каждой точке анализа и количества CAR+ клеток в предшествующей точке анализа) варьировал в пределах от 1,5 до 10,4 в зависимости от временной точки и соотношения Э:Т. Пик пролиферации CAR+ клеток, полученных из клеток здоровых доноров, приходился на 3 день, тогда как CAR T-клетки, полученные из МПК больного, демонстрировали отложенный во времени пик пролиферации,

соответствующий 7-му дню эксперимента. После пика экспансии показатели индекса пролиферации уменьшались у всех групп клеточных продуктов, что, по-видимому, может быть связано с клональным истощением репертуара Т-лимфоцитов, вызванным длительной антигенной рестимуляцией [8]. На рисунках 3 А и 3 Г приведены данные по пролиферации для групп доноров и больных. Каждая точка представляет собой среднее значение со стандартной ошибкой среднего.

CAR T-клеточные продукты обладали выраженными цитотоксическими свойствами вне зависимости от источника клеток. Для исследования цитотоксической активности CAR T-клеточных препаратов в каждой точке исследования определяли процент лизиса таргетных клеток NALM6-GFP. Процент лизиса определяли по формуле:

$$L = 100 - (n/m \times 100),$$

где L — процент лизиса, n — количество оставшихся клеток NALM6-GFP на день С, m — количество добавленных клеток NALM6-GFP на день С-1.

В день 3 медиана лизиса для доноров и больных при соотношении Э:Т 1:1 составила 95,5 и 75%, при соотношении Э:Т 1:3 98,8 и 91% соответственно. К 10-му дню у больных лизис достигал 99%, а у доноров наблюдалось незначительное снижение до 94%. Таким образом, при длительной рестимуляции CAR T-клеточные препараты здоровых доноров и больных были одинаково эффективны по отношению к NALM6-GFP в двух соотношениях Э:Т 1:1 и 1:3, при этом пик пролиферации CAR T-клеток соответствовал высокому проценту лизиса опухолевых клеток NALM6-GFP (см. рис. 3 А–Д).

Анализ концентрации провоспалительного цитокина ИФН- γ в культуральной среде после культивирования CAR T-клеток больных и доноров с таргетными клетками NALM6 показал высокое содержание ИФН- γ в культуральной среде на всем протяжении

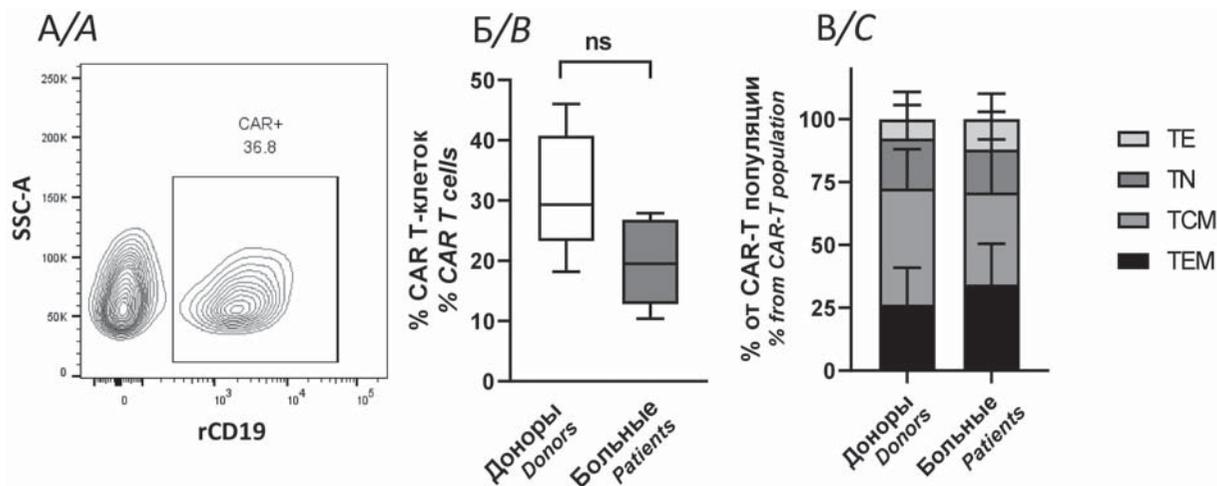


Рисунок 2. Характеристика CAR T-клеточных продуктов, полученных из МПК доноров и больных: А — репрезентативный график доли трансдукции МПК донора 1, Б — процент трансдукции, В — субпопуляционный состав CAR T-клеток

Figure 2. Characterization of CAR T cell products derived from donor and patient PBMCs: А — representative graph of the transduction percentage of donor 1's PBMC, В — transduction percentage, С — CAR T cell subpopulation composition

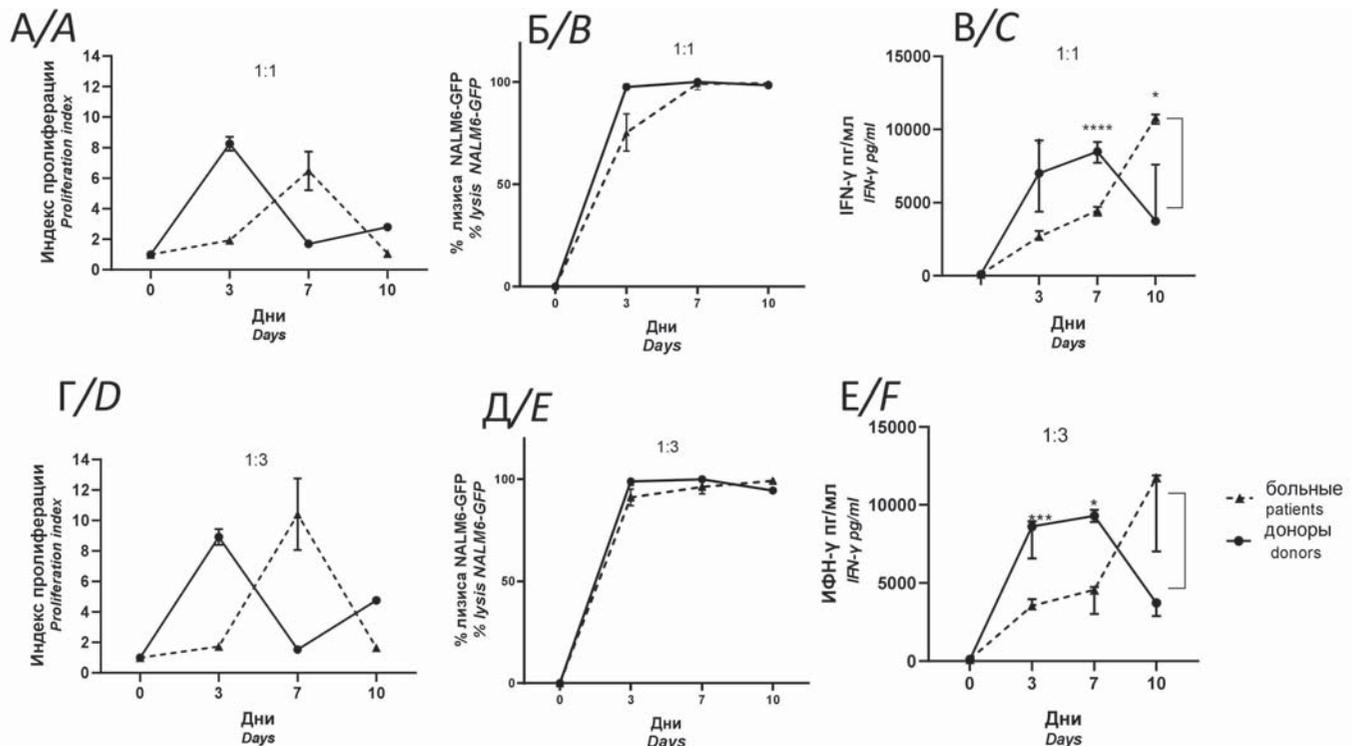


Рисунок 3. Анти-CD19 CAR Т-клетки, полученные из МПК доноров и больных, рестимулированные целевой линией NALM6-GFP в дни 0, 3, 7 в соотношениях Э:Т 1:1 и 1:3, демонстрировали высокую степень пролиферации и цитотоксичность: А, Г — кратность пролиферации CAR-Т-клеток, полученных от доноров и больных, во время хронической рестимуляции линией опухолевых клеток, экспрессирующих CD19 (NALM6), в условиях Э:Т (А — 1:1, Г — 1:3); Б, Д — процент лизиса целевых клеток NALM6-GFP в лунке при разных соотношениях Э:Т, для CAR-Т, полученных из МПК доноров и больных; В, Е — динамика концентрации ИФН-γ, секретируемого CAR Т-клетками, в различных временных точках. * означает $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$. Количество экспериментов $n = 2$, доноров $n = 5$, больных $n = 3$

Figure 3. Anti-CD19 CAR T cells derived from donor and patient PBMC and s restimulated with the NALM6-GFP target cell line on days 0, 3 and 7 at E:T ratios of 1:1 and 1:3 demonstrated a high degree of proliferation and cytotoxicity: A, D — proliferation rate of donor- and patient-derived CAR T cells during chronic restimulation with the CD19-expressing tumor cell line (NALM6) under E:T conditions (A — 1:1 and G — 1:3); B, E — percentage of lysis of NALM6-GFP target cells in a well at different E:T ratios for donor- and patient-derived CAR-T cells; C, F — dynamics of IFN-γ concentration secreted by CAR T cells at different time points. * means $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$. Number of experiments $n = 2$, donors $n = 5$, patients $n = 3$

эксперимента. Между образцами супернатантов от CAR Т-клеток доноров и больных при соотношении Э:Т 1:1 наблюдалось статистически значимое различие в величине секреции ИФН-γ в день 7 и 10 рестимуляции (рис. 3 В), при соотношении Э:Т 1:3 наблюдалось статистически достоверное различие в величине секреции ИФН-γ в день 3 и 7 рестимуляции (рис. 3 Е), что соответствовало более позднему росту цитотоксичности CAR Т-клеток больных в день 7 (рис. 3 Б, Д).

Более поздняя пролиферация и цитотоксический ответ клеток больных на стимуляцию NALM6 в сравнении с клетками доноров могут быть связаны с изначально более дифференцированным фенотипом, что следует из данных С. Е. Graham и соавт. [9], однако в приведенных экспериментах на маленькой выборке статистически значимых иммунофенотипических отличий не обнаружили.

Имунофенотипические особенности CAR Т-клеток, полученных от доноров и больных. Оценили влияние длительной антигенной рестимуляции на субпопуляционный состав CAR-Т-клеточного продукта. В каждой точке исследования определяли содержание в продукте следующих популяций: наивных клеток — TN (CD45RO-CCR7+), эффекторных клеток памяти — TEM (CD45RO+CCR7-), клеток центральной памяти — TCM (CD45RO+CCR7+) и эффекторных клеток — TE (CD45RO-CCR7+). В день 0 субпопуляционный состав CAR+ Т-клеток, полученных из МПК клеток больных и доноров, достоверно не отличался (рис. 4 А-Г). У больных на 7-й и 10-й день содержание клеток центральной памяти (TCM) в продукте было достоверно ниже, а содержание эффекторных клеток памяти (TEM) достоверно возрастало. Описанные изменения были характерны только для соотношения Э:Т 1:3, для соотношения Э:Т 1:1 достоверных различий выявлено не было (данные не показаны).

Статистически значимым было уменьшение содержания в CAR+ Т-клеточных продуктах доноров и больных популяций TN и TE клеток, что можно объяснить быстрой дифференцировкой наивных клеток и постоянной гибелью эффекторных клеток при повторной стимуляции целевой линией NALM6 (рис. 4 В, Г). Различия наблюдались только при соотношении Э:Т 1:3.

Для оценки динамики истощения CAR Т-клеток было проанализировано изменение доли истощенных PD-1+TIM-3+CD3+CAR+ Т-лимфоцитов в ответ на длительную рестимуляцию целевыми клетками. У доноров и больных в CAR-Т продукте до начала рестимуляции

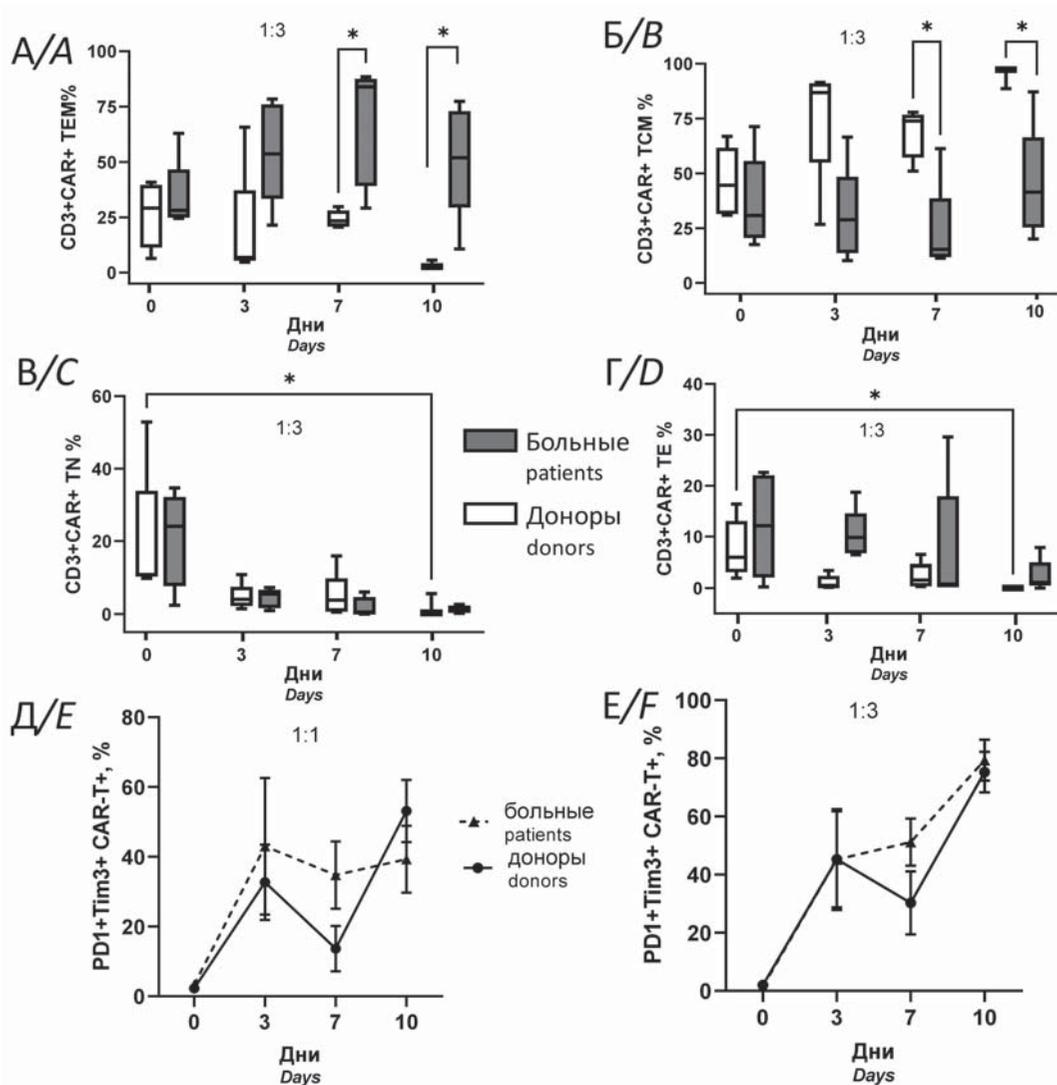


Рисунок 4. Иммунофенотип и истощение CAR+ Т-лимфоцитов изменяются в процессе антигенной рестимуляции линией NALM6: А–Г — популяционный состав CAR+ Т-лимфоцитов в разные дни рестимуляции при соотношении Э:Т 1:3, А — TCM, Б — TEM, В — TN, Г — TE; Д, Е — динамика истощения (коэкспрессия маркеров PD-1 и TIM-3) CAR+ клеток, полученных от доноров и больных, во время антигенной рестимуляции клетками линии NALM6 в соотношении Э:Т, равном 1:1 (Д) и 1:3 (Е) *in vitro*. * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

Figure 4. Immunophenotype and exhaustion of CAR+ T lymphocytes change during antigen restimulation with the NALM6 line: A–D — CAR+ T lymphocytes population composition on different days of restimulation at an E:T ratio of 1:3, А — TCM, Б — TEM, С — TN, D — TE; E, F — dynamics of exhaustion (coexpression of PD-1 and TIM-3) of CAR+ cells obtained from donors and patients during *in vitro* restimulation with NALM6 cells at an E:T ratio of 1:1 (E) and 1:3 (F). * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001

антигеном доля популяции клеток, экспрессирующей маркеры истощения PD-1+TIM3+, была низкой (1–3%). К 3-му дню наблюдалось увеличение исследуемой популяции клеток до 40%, а к 10-му — до 60–79%. Статистически достоверной разницы степени истощения CAR+ Т-лимфоцитов между донорами и больными при соотношениях 1:1 и 1:3 обнаружено не было, динамика истощения была характерна для всех продуктов, независимо от источника клеток (рис. 4 Д, Е).

Обсуждение

Применение аутологичных CAR Т-клеточных продуктов является прорывом в персонализированной терапии В-клеточных злокачественных новообразований крови. В то же время важной проблемой остается влияние исходного клеточного материала на качество CAR Т продукта и его эффекторные функции [9].

В этой работе показана тенденция к снижению доли трансдукции вирусными частицами Т-лимфоцитов у больных В-ОЛЛ, что означает уменьшение содержания CAR Т-клеток в готовом продукте больных. В то же время влияния исходного субпопуляционного состава МПК на качество CAR Т продукта не обнаружено. Тем не менее в работах на больших выборках было показано, что иммунофенотип МПК может быть использован в качестве предиктивного маркера эффективности терапии. J. A. Fraietta и соавт. [10] показали, что длительная ремиссия у больных хроническим лимфолейкозом после проведения CAR Т терапии была связана с наличием субпопуляции слабодифференцированных CD27+CD45RO–CD8+ Т-лимфоцитов среди МПК. В другой работе [11] была показана связь между низкой эффективностью CAR Т терапии и дефицитом субпопуляции наивных

Т-лимфоцитов в периферической крови педиатрических больных.

В рамках настоящей работы также оценили функциональные и иммунофенотипические различия CAR T клеточных продуктов, полученных от здоровых доноров и больных. Анализ цитотоксической активности CAR T-клеток по отношению к клеткам-мишеням NALM6 показал, что CAR T-клеточные продукты обладали выраженным эффекторным действием независимо от происхождения клеток, однако отличались по пролиферативному потенциалу. Максимальную экспансию клеточного продукта доноров наблюдали в 3-й день, а у больных — в 7-й день эксперимента. Схожие данные были получены и другими исследователями. В работе D. K. Y. Zhang и соавт. [12] был проведен анализ экспансии CAR T-клеток в ответ на стимуляцию активационными частицами CD3/CD28, клетки больных продемонстрировали более низкую скорость экспансии при более высоких концентрациях частиц CD3/CD28.

Оценили динамику изменения субпопуляционного состава CAR T-клеточных продуктов доноров и больных при длительной рестимуляции опухолевыми клетками. К 10-му дню у доноров и больных наблюдали уменьшение доли субпопуляции наивных (TN) Т-лимфоцитов, что соответствовало уменьшению индекса пролиферации. Одновременно доля субпопуляции Т-лимфоцитов эффекторного фенотипа (TE) увеличивалась во всех клеточных продуктах. Похожие данные были получены другими исследователями в экспериментах на мышинной модели, в которых пока-

зано, что доля субпопуляции стволовых клеток памяти (TSCM (CD45RA+CD62L+CD95+)) в конечном CAR T-клеточном продукте больных В-ОЛЛ положительно коррелировала с экспансией CAR T-клеток *in vivo*. Напротив, высокая доля субпопуляции TEM в конечном продукте отрицательно влияла на экспансию CAR T-клеток *in vivo* [13].

Доля экспрессии маркеров истощения PD1 и TIM3 на CAR T-клетках больных и доноров при увеличенной опухолевой нагрузке была выше при соотношении Э:Т 1:3. Повышенные значения экспрессии маркеров истощения, таких как PD1 и TIGIT, соответствуют более дифференцированному фенотипу Т-клеток [14] и их функциональной несостоятельности [15]. Повышение экспрессии маркеров PD1 и TIM3 при повторяющейся антигенной рестимуляции подчеркивает риск функционального истощения CAR T-клеток, что требует дальнейшего изучения для оптимизации их терапевтического применения.

Несмотря на различия в кинетике пролиферации, цитотоксическая активность CAR T-клеток оставалась высокой во всех клеточных продуктах, полученных как из клеток доноров, так и из клеток больных. Это подтверждает перспективность использования CAR T терапии даже у больных с исходно измененным иммунным статусом. Дальнейшие исследования должны быть направлены на выявление молекулярных механизмов, лежащих в основе этих различий, и разработку персонализированных подходов к производству CAR T-клеточных продуктов.

Литература / References

1. Maude S.L., Frey N., Shaw P.A., et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *N Engl J Med.* 2014;371(16):1507–17. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222.
2. Xu X., Sun Q., Liang X., et al. Mechanisms of Relapse After CD19 CAR T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Prevention and Treatment Strategies. *Front Immunol.* 2019;10:2664. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02664.
3. Garfall A.L., Dancy E.K., Cohen A.D., et al. T-cell phenotypes associated with effective CAR T-cell therapy in postinduction vs relapsed multiple myeloma. *Blood Adv.* 2019;3(19):2812–5. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000600.
4. Si X., Xiao L., Brown C.E., et al. Preclinical Evaluation of CAR T Cell Function: In Vitro and In Vivo Models. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6):3154. DOI: 10.3390/ijms23063154.
5. García-Calderón C.B., Sierro-Martínez B., García-Guerrero E., et al. Monitoring of kinetics and exhaustion markers of circulating CAR T cells as early predictive factors in patients with B-cell malignancies. *Front Immunol.* 2023;1–14. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1152498.
6. Haradhvala N.J., Leick M.B., Maurer K., et al. Distinct cellular dynamics associated with response to CAR T therapy for refractory B cell lymphoma. *Nat Med.* 2022;28(9):1848–59. DOI: 10.1038/s41591-022-01959-0.
7. Deng Q., Han G., Puebla-Osorio N., et al. Characteristics of anti-CD19 CAR T cell infusion products associated with efficacy and toxicity in patients with large B cell lymphomas. *Nat Med.* 2020;26(12):1878–87. DOI: 10.1038/s41591-020-1061-7.
8. Schober K., Voit F., Grassmann S., et al. Reverse TCR repertoire evolution toward dominant low-affinity clones during chronic CMV infection. *Nat Immunol.* 2020;21(4):434–41. DOI: 10.1038/s41590-020-0628-2.
9. Graham C.E., Jozwik A., Quartey-Papafio R., et al. Gene-edited healthy donor CAR T cells show superior anti-tumour activity compared to CAR T cells derived from patients with lymphoma in an in vivo model of high-grade lymphoma. *Leukemia.* 2021;35(12):3581–4. DOI: 10.1038/s41375-021-01324-z.
10. Fraietta J.A., Lacey S.F., Orlando E.J., et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med.* 2018;24(5):563–71. DOI: 10.1038/s41591-018-0010-1.
11. Das R.K., Vernau L., Grupp S.A., et al. Naïve 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.
12. Zhang D.K.Y., Adu-Berchie K., Iyer S., et al. Enhancing CAR T cell functionality in a patient-specific manner. *Nat Commun.* 2023;14(1):506. DOI: 10.1038/s41467-023-36126-7.
13. Arcangeli S., Falcone L., Camisa B., et al. Next-Generation Manufacturing Protocols Enriching TSCM CAR T Cells Can Overcome Disease-Specific T Cell Defects in Cancer Patients. *Front Immunol.* 2020;1–11. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01217.
14. Ren H., Cao K., Wang M. A Correlation Between Differentiation Phenotypes of Infused T Cells and Anti-Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2021;1–12. DOI: 10.3389/fimmu.2021.745109.
15. Jackson Z., Hong C., Schauner R., et al. Sequential Single-Cell Transcriptional and Protein Marker Profiling Reveals TIGIT as a Marker of CD19 CAR T Cell Dysfunction in Patients with Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Discov.* 2022;12(8):1886–903. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1586.

Информация об авторах

Ненасева Татьяна Анатольевна, старший научный сотрудник лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dreminat@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1669-5244>

Фефелова Екатерина Игоревна, стажер-исследователь лаборатории трансплантационной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: eifefelova27@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3296-503X>

Сердюк Яна Викторовна, научный сотрудник лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: serdyuk.ya.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1573-7614>

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, врач-гематолог ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dr.gavrilina@mail.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Салман Рэнд, лаборант лаборатории трансляционной иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: randsalman1@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1842-4498>

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: 27.05.2025

Принята к печати: 10.06.2025

Information about the authors

Tatiana A. Nenasheva, Senior researcher, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: dreminat@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1669-5244>

Ekaterina I. Fefelova, Assistant researcher, Laboratory of Transplantation Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: eifefelova27@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3296-503X>

Yana V. Serdyuk, Researcher, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: serdyuk.ya.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1573-7614>

Rand Salman, Laboratory assistant, Laboratory of Translational Immunology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: randsalman1@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1842-4498>

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 Cellular 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>

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 27 May 2025

Accepted 10 Jun 2025

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-165-173>

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОНОРСКИХ ТРОМБОЦИТОВ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ СКОРОЙ И НЕОТЛОЖНОЙ ПОМОЩИ

Азимова М.Х.¹, Буланов А.Ю.^{1,2*}, Костин А.И.¹, Виноградов И.А.¹, Камалова А.Р.¹, Макарова Е.С.¹

¹ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы», 129090, г. Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Многопрофильный стационар скорой помощи является значимым потребителем концентратов тромбоцитов (КТ). Специфичность требований, особенности логистики и клинического использования КТ в многопрофильных стационарах могут влиять на стратегию заготовки данного компонента крови.

Цель: анализ практики применения КТ в многопрофильном стационаре, оказывающем скорую и неотложную помощь населению.

Материалы и методы. В ретроспективном обсервационном исследовании изучили 7049 трансфузий КТ в многопрофильном стационаре скорой помощи, выполненных за 5-летний период. Анализировали показания для трансфузий КТ, эффективность КТ, трансфузионную нагрузку на реципиента, экстренность выполнения трансфузий КТ, групповую идентичность использованных КТ, тип КТ, сравнили скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ) через 24 ч после трансфузии различных видов КТ.

Результаты. От 23 до 29 % всех КТ были перелиты больным, поступившим с политравмой и массивной кровопотерей, 18–27 % КТ перелили больным с септическими осложнениями, 8–13 % — больным в период подготовки и послеоперационного ведения при трансплантации печени, 21 % — больным, которым проводили ЭКМО. По экстренным показаниям выполняли 31,8–40,7 % трансфузий КТ. В 61,5 % случаев показанием был геморрагический синдром в сочетании с тромбоцитопенией. АВ0-идентичные трансфузии были выполнены в 4723 (67,1 %) случаях. Не было достоверных различий в величине СПТ при применении аферезных, пулированных и криоконсервированных КТ.

Заключение. При планировании работы стационаров, оказывающих неотложную медицинскую помощь больным хирургического и травматологического профилей, следует учитывать потребность в трансфузии КТ 1,5–2 % больных, возможности экстренного обеспечения с применением инструментов «менеджмента тромбоцитов»: резерва КТ универсального донора — заготовленных на добавочном растворе или методом афереза от доноров группы АВ или методом пулирования от доноров группы О, криоконсервированных КТ.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов, неотложная медицина, тромбоцитопения, политравма, массивная кровопотеря, сепсис, ЭКМО

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Азимова М.Х., Буланов А.Ю., Костин А.И., Виноградов И.А., Камалова А.Р., Макарова Е.С. Использование донорских тромбоцитов в многопрофильном стационаре скорой и неотложной помощи. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):165–173. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-165-173>

THE USE OF DONOR PLATELETS IN THE HOSPITAL OF EMERGENCY MEDICINE

Azimova M.H.¹, Bulanov A.Ju.^{1,2*}, Kostin A.I.¹, Vinogradov I.A.¹, Kamalova A.R.¹, Makarova E.S.¹

¹ Sklifosovsky Emergency Medicine Research Institute, 129090, Moscow, Russian Federation

² Moscow State Medical and Dental University, 127473, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. A multidisciplinary emergency hospital is a significant consumer of platelet concentrates (PCs). The specificity of requirements, logistics, and clinical use of PCs in multidisciplinary hospitals may affect the strategy for procuring this blood component.

Aim: to analyze the practice of PC transfusion in a multidisciplinary hospital providing emergency and urgent care to the population.

Materials and methods. In a retrospective observational study spanning over a 5-year period, 7,049 PC transfusions were examined in an emergency care multidisciplinary hospital. The study analyzed the indications for PC transfusion, PC efficacy, transfusion load on the recipient, urgency of performing PC transfusion, group compatibility of used PCs, PC type, and compared the corrected count increment (CCI) 24 hours after transfusion of various PC types.

Results. Between 23 % and 29 % of all PCs were transfused to patients who were admitted with polytrauma and massive blood loss, 18–27% were transfused to patients with septic complications, 8–13 % to patients during preparation and postoperative management for liver transplantation, 21 % to patients who underwent ECMO. Emergency indications accounted for 31.8–40.7% of PC transfusions. In 61.5 % of cases, the indication was hemorrhagic syndrome in combination with thrombocytopenia. ABO-identical transfusions were performed in 4,723 (67.1 %) cases. There were no significant differences in CCI when using apheresis, pooled or cryopreserved PCs.

Conclusion. When planning the work of hospitals providing emergency medical care to patients with surgical and traumatological profiles, the need for PC transfusions in 1.5–2 % of patients should be considered. Emergency supply can be facilitated using the “platelet management” tools: a reserve of universal donor PCs-prepared in additive solution or obtained apheresis from AB-group donors or via pooling from O-group donors- and cryopreserved PCs.

Keywords: platelet concentrate, emergency medicine, thrombocytopenia, polytrauma, massive blood loss, sepsis, ECMO

Conflict of interest: authors declare that there is no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Azimova M.H., Bulanov A.Ju., Kostin A.I., Vinogradov I.A., Kamalova A.R., Makarova E.S. The use of donor platelets in the hospital of emergency medicine. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2025; 70(2):165–173 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-165-173>

Введение

Концентрат тромбоцитов (КТ) — компонент крови, являющийся неотъемлемой частью профилактики и лечения геморрагического синдрома обусловленного тромбоцитопениями и тромбоцитопатиями [1]. В Российской Федерации за период с 2003 по 2011 гг. отмечено увеличение потребления КТ в 3,5 раза [2]. Основным потребителем КТ являются онкогематоло-

гические стационары, на долю которых приходится, по данным разных авторов [1, 3, 4], до 67–77 % всех производимых КТ. Кроме того, трансфузии КТ используют при кардиохирургических вмешательствах, массивных кровотечениях различной этиологии, у больных в критических состояниях [5]. В Великобритании 10 % произведенных КТ используют при кардиохирур-

гических операциях, 8% — в отделениях интенсивной терапии [1]. Таким образом, многопрофильный гематологический стационар является значимым потребителем донорских тромбоцитов. Специфичность требований, особенности логистики и клинического использования КТ в многопрофильных стационарах могут существенно влиять на стратегию заготовки данного компонента крови.

Цель работы — анализ практики применения КТ в многопрофильном стационаре, оказывающем скорую и неотложную помощь населению.

Материалы и методы

Ретроспективное обсервационное исследование проведено на базе НИИ Скорой помощи им. Н. В. Склифосовского. Медицинская организация оказывает экстренную и неотложную помощь больным по направлениям: кардиология и кардиохирургия, травматология, нейрохирургия, абдоминальная травма. В состав стационара не входят отделения онкологического или онкогематологического профилей, однако данных больных госпитализируют при необходимости экстренной помощи в связи с развитием других заболеваний и состояний. Около 20% коечного фонда стационара составляют реанимационные койки. С 2020 по 2022 г. часть коек была перепрофилирована для оказания помощи больным COVID-19.

Исследование выполнено на основе изучения медицинской документации, в том числе данных Единой Медицинской Информационной Автоматизированной Системы (ЕМИАС) и Автоматической Информационной Системы Трансфузиолога (АИСТ). В исследование включены данные всех больных, получивших трансфузии КТ в период с 1 января 2019 по 31 декабря 2023 г. За исследуемый период стационаром пролечено 212 775 больных.

Оценивали профиль больных, получивших трансфузии КТ, показания для трансфузий, эффективность трансфузионной терапии, трансфузионную нагрузку на одного реципиента, экстренность выполнения трансфузии, групповую идентичность использованного КТ, тип применяемого КТ.

Использовали КТ, полученные методом афереза на аппаратах «Trima» (Terumo BCT), «Amicus» (Fresenius), «MCS+» (Haemonetics) и пулированные КТ, полученные на аппарате автоматического фракционирования крови «Reveos» (Terumo BCT). Кроме того, использовали КТ, криоконсервированные с помощью оригинальной методики [6]. Для редукции патогенов использовали технологию амтосален/облучение ультрафиолетом спектра А (INTERCEPT Blood System, Cerus, США).

В рамках отдельной выборки больных ($n = 60$), получивших трансфузии аферезного, пулированного или криоконсервированного КТ в 2023 г. вне про-

должающегося кровотечения, проведено сравнение скорректированного прироста тромбоцитов (СПТ) через 24 ч после трансфузии.

Статистический анализ. Статистический анализ проводили с использованием статистического пакета «BioStat Pro 5.9.8», программ «MedCalc v. 11.3.3» (MedCalc Software), Statistica версии 8 (StatSoft, Inc.) и статистических возможностей Microsoft Office Excel 2007. Проверку нормальности распределения количественных признаков проводили с использованием критерия Шапиро — Уилка. Выполнен тест Краскела — Уоллиса для межгруппового анализа количественных показателей в трех и более группах. Данные представлены в виде среднее \pm стандартное отклонение либо медиана и процентиля. Уровень статистической значимости p принят равным 0,05.

Результаты

Всего выполнено 7049 трансфузий тромбоцитов 3127 больным. Отмечен рост потребления донорских тромбоцитов на 11% (табл. 1). Пиковый подъем потребления был в 2022 г.

Основными и постоянными потребителями КТ стали больные, поступившие с политравмой и массивной кровопотерей, им было перелито от 23 до 29% всех КТ, и больные с септическими осложнениями, которым было перелито от 18 до 27% всех КТ (рис. 1). Несколько меньшая, но постоянная потребность была отмечена у больных в период подготовки и послеоперационного ведения при трансплантации печени (8–13%). Как значимый потребитель сформировалась группа больных, которым проводили экстракорпоральную мембранную оксигенацию (ЭКМО). На пике пандемии COVID-19 эта категория больных потребляла 21% всех используемых КТ, в дальнейшем — 12–14%. Потребность кардиохирургических больных составила от 3 до 5% всех КТ.

От 31,8 до 40,7% трансфузий выполняли по экстренным показаниям в рамках протокола массивных трансфузий, при продолжающихся кровотечениях и для обеспечения экстренных оперативных вмешательств у больных с тромбоцитопенией.

Показанием к трансфузии в 4307 (61,5%) случаев было наличие геморрагических проявлений в сочетании с тромбоцитопенией. На втором месте — необходимость обеспечения гемостаза при инвазивных вмешательствах у больных с тромбоцитопенией — 1420 (20%) трансфузий. В 1332 (18,9%) случаях трансфузии выполняли при выявлении выраженной тромбоцитопении по данным лабораторного обследования.

Количество тромбоцитов в периферической крови на момент трансфузии КТ у большинства больных было менее $50 \times 10^9/\text{л}$ (табл. 2). Из общего тренда выделялись онкогематологические больные, у которых исходное количество тромбоцитов было ниже, чем у других категорий больных, и кардиохирургические

Таблица 1. Динамика использования концентратов тромбоцитов
Table 1. Dynamics of the use of platelet concentrates

Виды КТ Types of PC	Годы / Years				
	2019	2020	2021	2022	2023
Общее количество перелитых КТ Total number of platelet concentrates transfused	1165	1140	1820	1330	1294
В том числе полученных методом афереза, абс. (%) Including apheresis platelet concentrate	1165 (100)	1140 (100)	1820 (100)	1227 (92,3)	1147 (88,9)
В том числе пулированных, абс. (%) Including pooled platelet concentrate	-	-	-	103 (7,7)	147 (11,1)
В том числе в добавочном растворе, абс. (%) Including platelet concentrate in additive solution	110 (9,4)	619 (54,3)	490 (26,9)	754 (56,7)	658 (51,0)
В том числе криоконсервированных, абс. (%) Including cryopreserved platelet concentrate	283 (24,2)	220 (19,3)	267 (14,7)	74 (5,6%)	109 (8,5)
В том числе патогенредуцированных, абс. (%) Including pathogen-reduced platelet concentrate	-	-	-	120 (9,1)	229 (17,7)

Примечание: * процент от общего количества КТ, использованных в данном году.

Note: The percentage of the total number of CTs used in a given year.

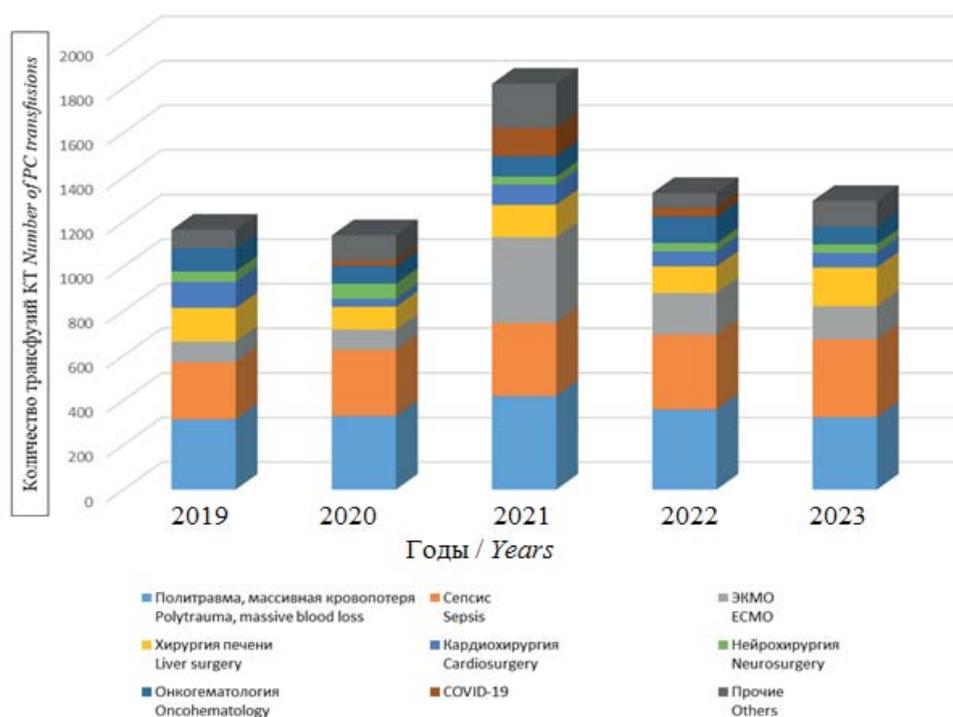


Рисунок 1. Динамика использования концентратов тромбоцитов
Figure 1. Dynamics of the use of platelet concentrates

больные, у которых исходное количество тромбоцитов было, напротив, больше других категорий реципиентов КТ. Трое кардиохирургических больных получили трансфузию КТ для реверсии эффекта антиагрегантов при нормальном количестве тромбоцитов.

Большинство больных получили одну трансфузию КТ (табл. 2). Значимой потребностью в повторных трансфузиях донорских КТ отличались больные, которым проводили ЭКМО. В данной категории у 674 (74,6%) больных потребовались повторные трансфузии КТ. Максимальная трансфузионная нагрузка у них составила 8 трансфузий КТ за период госпитализации. Более 50% больных сепсисом, онкогематологическими заболеваниями и больных, которым выпол-

няли операции на печени, также требовали повторных трансфузий КТ.

АВ0-идентичные трансфузии были выполнены в 4723 (67,1%) случаях. Иногруппные КТ, заготовленные в добавочном растворе, использовались при 1621 (23%) трансфузии. Аферезные КТ группы крови АВ (IV) перелиты в 635 случаях (9%), и при 70 (0,9%) трансфузиях были выбраны пулированные КТ группы крови 0 (I).

СПТ при переливании аферезных КТ, пулированных КТ и криоконсервированных КТ составил 10,7 (5,5; 16,8)×10⁹/л, 10,5 (2,6; 17,7)×10⁹/л и 8,7 (5; 16)×10⁹/л соответственно. Статистически значимых различий между группами по показателю СПТ не выявлено (тест Краскела — Уоллиса: H (Df = 2, N = 60) = 0,17, p = 0,92).

Таблица 2. Особенности назначения КТ в различных группах больных
Table 2. Specifics of Platelet Concentrate Administration in Different Patient Groups

Патология	Количество трансфузий КТ на 1 больного, Ме (Q1; Q3) <i>Transfusion count per patient</i>	Исходное количество тромбоцитов в крови, Ср ± σ <i>Initial platelet count in blood</i>
Политравма, массивная кровопотеря <i>Polytrauma, massive blood loss</i>	1 (1; 2)	45,2 ± 23,1
Сепсис / <i>Sepsis</i>	2 (1; 6)	35,9 ± 22,1
ЭКМО / <i>ECMO</i>	3 (1; 6)	45,8 ± 22,6
COVID-19	1 (1; 2)	31,7 ± 18,9
Хирургия печени / <i>Liver surgery</i>	2 (1; 3)	32,2 ± 17,8
Кардиохирургия / <i>Cardiosurgery</i>	1 (1; 2)	63,8 ± 31,1
Нейрохирургия / <i>Neurosurgery</i>	1 (1; 2)	44,9 ± 24,7
Онкогематология / <i>Oncohematology</i>	2 (1; 3)	25,1 ± 17,4

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что КТ является важным компонентом донорской крови в многопрофильном стационаре, оказывающем скорую и неотложную помощь при травмах и острой хирургической патологии. Трансфузии КТ потребовались 1,46% госпитализированных больных. Средняя потребность стационара составила 1 КТ на 30 больных, получавших помощь по основным профилям лечебного учреждения. Отмечено увеличение объема потребления КТ в исследуемом периоде. Пик потребления в 2022 г. объясним поступлением больных с тяжелым течением коронавирусной инфекции. Он не имел продолжения, но в целом за пятилетний период наблюдения отмечается стабильный прирост потребности в КТ. В литературе приведены сходные данные [1, 2, 7]. Выявленная динамика может быть обусловлена, с одной стороны, повышением доступности КТ как компонента крови, с другой стороны, повышением интенсивности медикаментозного и хирургического лечения. Увеличением доступности и качества КТ объясняют увеличение количества трансфузий этого компонента крови и ряд других исследователей [7, 8].

Преимущественным методом заготовки использованных КТ (до 2021 г. — 100%, позднее около 90%) был аферез. Половина КТ с 2020 г. заготавливают в добавочном растворе. Более широкое использование КТ в добавочном растворе в производственной и клинической трансфузиологии объясняется большим сроком хранения КТ, возможностью не учитывать групповую принадлежность донора и реципиента, меньшим риском развития трансфузионных осложнений, в первую очередь гипертермических реакций и обусловленных трансфузиями острых легочных повреждений [8, 9].

С 2022 г. в стационаре было внедрено использование пулированных КТ. Хотя доля их на момент окончания анализируемого периода составила немногим больше 10% общего объема используемых донорских КТ, пулированные КТ следует признать перспективным

компонентом крови. Данные литературы свидетельствуют об их большей эффективности при кровотечениях [10] и лучшей переносимости [11] по сравнению с аферезными КТ. Кроме того, пулирование тромбоцитов из цельной донорской крови способствует более экономному использованию донорского ресурса. В настоящем исследовании не выявлено отличий между трансфузиями аферезных и пулированных КТ по СПТ через 24 ч.

Более трети трансфузий КТ были экстренными. Несмотря на большой общий объем трансфузий, потребность в КТ была неравномерной, и это — одна из особенностей трансфузионной логистики скоромощного стационара. Основные инструменты для обеспечения управления запасами компонентов крови в условиях неравномерной потребности клиники применительно к донорским тромбоцитам — это использование КТ, полученных от универсального донора, в первую очередь — КТ в добавочном растворе, и криоконсервированных КТ. Показана эффективность размороженных тромбоцитов в гематологическом стационаре [12] и в неотложной медицине [6]. В рамках анализируемого периода работы в среднем данный вид КТ использовали при каждой десятой трансфузии. При наблюдении прослеживается логичная закономерность: чем меньше объем использования КТ в стационаре, тем более востребованными оказались криоконсервированные КТ.

Подавляющее большинство экстренных трансфузий КТ выполняли больным, поступившим в стационар с множественной и/или сочетанной травмой и массивной кровопотерей. Эта категория больных была самым большим потребителем КТ в скоромощном стационаре. Различные варианты протокола массивной трансфузии включают КТ как обязательный компонент [13, 14]. В большинстве случаев в этой группе больных показания к трансфузии КТ определяли исходя из клинической ситуации, однако при ретроспективном контроле среднее количество тромбоцитов перед трансфузией

было менее $50 \times 10^9/\text{л}$, что определено как рекомендуемое триггерное значение у больных с геморрагическим шоком [15]. Количество тромбоцитов выше триггерного значения было у 30,8% больных, поступивших с травмой и кровопотерей. Большинству больных было достаточно трансфузии одного КТ, и в остром периоде повторных переливаний не потребовалось.

Не менее значимыми потребителями КТ в многопрофильном неотложном стационаре были больные отделений реанимации, основной причиной тяжести состояния которых являлись септические осложнения. Следует оговориться, что в данном случае не анализировалась правомочность диагноза «сепсис» с точки зрения принятых критериев и не ставилось задачи оценить вклад полиорганной недостаточности в генез тромбоцитопении. По данным литературы [16, 18], тромбоцитопения развивается при сепсисе у 55% больных и ассоциируется с ухудшением прогноза заболевания. При этом трансфузии донорских КТ выполняют у 15% больных сепсисом [17]. Отношение к трансфузии КТ при сепсисе неоднозначное. По данным S. Wu и соавт. [19], трансфузия КТ больным сепсисом ассоциирована с увеличением внутригоспитальной смертности. В исследованиях китайских авторов получены данные об увеличении 28-дневной и 90-дневной смертности при трансфузиях КТ больным сепсисом до $50 \times 10^9/\text{л}$ сопровождалась значительно лучшими исходами, чем трансфузия при глубокой тромбоцитопении [20, 21]. Возможно, не следует привязывать исходы трансфузии КТ к нозологической форме, в частности сепсису, а следует рассматривать их в рамках конкретных показаний у конкретного больного.

Тройку лидеров по использованию КТ замыкали больные, которым проводили ЭКМО. Потребность в повторных трансфузиях КТ у них была наибольшей. Тромбоцитопения характерна для этой категории больных и развивается в первую очередь за счет механического повреждения клеток при прохождении экстракорпорального контура и потребления при тромбировании его элементов [22]. Существенный вклад в развитие тромбоцитопении вносили и критические осложнения, характерные для больных в отделениях реанимации [5]. Рекомендации по подходам к коррекции тромбоцитопении при проведении ЭКМО отличаются широким диапазоном. В качестве целевых значений обсуждаются показатели от $50 \times 10^9/\text{л}$ до $100 \times 10^9/\text{л}$ [22, 23], а при наличии активного кровотечения — и до $150 \times 10^9/\text{л}$ [23]. В рамках настоящей работы при оказании неотложной медицинской помощи в качестве трансфузионного триггера принимались минимальные значения указанного диапазона.

В 38,9% случаев трансфузии КТ носили профилактический характер для обеспечения оперативных вмешательств и инвазивных процедур. Имеется немало рекомендаций по профилактическим трансфузиям КТ при тромбоцитопении в различных клинических ситуациях, основанных на оценке количества тромбоци-

тов в периферической крови [24, 25]. Однако уровни доказательств в этих рекомендациях низкие или очень низкие [24]. Это имеет патофизиологическое обоснование. При различных патологических состояниях функция тромбоцитов может значительно страдать за счет потери функциональных свойств тромбоцитов (рецепторов на поверхности, гранул, клеточной мембраны), что не отражается на количестве клеток. Решением проблемы может быть использование тромбоэластографии (ТЭГ) для оценки функции тромбоцитов. В рамках обсуждаемой практики в обсуждаемый период наблюдения ТЭГ не использовали как рутинную технологию для оценки показаний при трансфузиях КТ. Стратегию определения показаний для профилактических трансфузий тромбоцитов в анализируемой практике следует признать либеральной, так как 25,7% профилактических трансфузий КТ были выполнены при количестве тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$, а у нейрохирургических больных — более $100 \times 10^9/\text{л}$. С учетом экстренности, имевшихся рисков, основной патологии такую стратегию следует признать правомочной.

Дозы КТ, необходимые для трансфузии, соответствовали рекомендациям Федерации анестезиологов и реаниматологов по периоперационному ведению больных с нарушениями системы гемостаза [25]. Выполнялась стартовая трансфузия аферезного или пулированного КТ с последующей оценкой эффективности по клиническим и лабораторным данным. Одномоментное назначение двух КТ носило единичный характер (менее 1% больных).

Условия оказания медицинской помощи и, соответственно, трансфузионная логистика различных регионов, конкретных медицинских организаций различаются между собой. Описанный опыт не во всем возможно перенести на широкую медицинскую практику. Однако анализ собственного опыта и литературы позволяет сделать несколько выводов.

КТ — важный элемент неотложной медицины. При планировании работы стационаров, оказывающих неотложную медицинскую помощь по хирургическим и травматологическим профилям, следует учитывать возможную потребность в трансфузии КТ у 1,5–2% больных. Необходимо предусмотреть возможности экстренного обеспечения с применением инструментов «менеджмента тромбоцитов»: резерва КТ универсального донора — заготовленных на добавочном растворе или методом афереза от доноров группы АВ или методом пулирования от доноров группы 0, криоконсервированных КТ.

Необходимо проведение исследований, позволяющих оптимизировать критерии определения показаний для трансфузии КТ, в частности в рамках септической коагулопатии, при проведении ЭКМО, как и других длительных экстракорпоральных процедур, выбора компонентов, оценке эффективности трансфузий.

Литература

1. Estcourt LJ. Why has demand for platelet components increased? *Transfus Med.* 2014;24:260–8. DOI: 10.1111/tme.12155.
2. Губанова М.Н., Аюпова Р.Ф., Жибурт Е.Б. Полиморфизм заготовки, применения и эффективности концентратов донорских тромбоцитов. *Анестезиология и реаниматология.* 2017;62(1):77–9. DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-1-77-79.
3. Liker M., Bojanic I., Plenkovc F., et al. Platelet transfusion practice and related transfusion reactions in a large teaching hospital. *Transfus Clin Biol.* 2022;29:37–43. DOI: 10.1016/j.tracli.2021.08.004.
4. Программное лечение лейкозов. Под ред. В. Г. Савченко. Гематологический научный центр РАМН. М., 2002. Вып. ИПФ Фолиан. 238 с.
5. Буланова Е.Л., Работинский С.Е., Дегтярев П.А. и др. Тромбоцитопения в ОРИТ до и во время пандемии COVID-19: ретроспективное когортное исследование. *Вестник интенсивной терапии.* 2022;4:66–72. DOI: 10.21320/1818-474X-2022-4-66-73.
6. Хубутия М.Ш., Высочин И.В., Кобзева Е.Н. и др. Производство и клиническое применение криоконсервированных тромбоцитов и тромбоцитных концентратов. *Вестник Службы крови России.* 2015;3:45–51.
7. Stanworth S.J., Shah A. How I use platelet transfusions. *Blood.* 2022;140(18):1925–36. DOI: 10.1182/blood.2022016558.
8. Van der Meer P.F., de Korte D. Platelet Additive Solutions: A Review of the Latest Developments and Their Clinical Implications. *Transfus Med Hemother.* 2018;45:98–102. DOI: 10.1159/000487513.
9. De Wit Y.E.S., Vlaar R., Gouwerok E. Platelet concentrates in platelet additive solutions generate less complement activation products during storage than platelets stored in plasma. *Blood Transfus.* 2023;21:157–67. DOI: 10.2450/2022.0323-21.
10. Kumar R., Dhawan H.K., Sharma R.R., Kaur J. Buffy coat pooled platelet concentrate: A new age platelet component. *Asian J. Transfus. Sci.* 2021;15:125–32. DOI: 10.4103/ajts.AJTS_72_19.
11. Daurat A., Roger C., Gris J.C., et al. Apheresis platelets are more frequently associated with adverse reactions than pooled platelets both in recipients and in donors: a study from French hemovigilance data. *Transfusion.* 2016;56:1295–303. DOI: 10.1111/trf.13475.
12. Шерстнев Ф.С., Костяева А.В., Утемов С.В. и др. Эффективность трансфузии нативных и криоконсервированных тромбоцитов у больных гемобластозами. *Вестник Службы крови России.* 2013;3:31–4.
13. Жибурт Е.Б. Менеджмент крови пациента при критическом кровотечении и массивной трансфузии. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова.* 2013;8:71–7.
14. Meneses E., Boneva D., McKenney M., Elkbuli A. Massive transfusion protocol in adult trauma population. *Am J Emerg Med.* 2020;38:2661–6. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.07.041.
15. Клинические рекомендации ФАР «Гиповолемический шок у взрослых», 2024. https://faronline.ru/api/static/cms-files/779e57fc-cc06-4c05-b77c-11729dadclteeKP_Гиповолемический_шок.pdf
16. Sharma B., Sharma M., Majumder M., et al. Thrombocytopenia in septic shock patients—a prospective observational study of incidence, risk factors and correlation with clinical outcome. *Anaesth Intensive Care.* 2007;35:874–80. DOI: 10.1177/0310057X0703500604.
17. Jonsson A.B., Rygard S.L., Hildebrandt T., et al. Thrombocytopenia in intensive care unit patients: a scoping review. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2021;65:2–14. DOI: 10.1111/aas.13699.
18. Cox D. Sepsis — it is about platelets. *Front. Immunol.* 2023;14:1210219. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1210219.

References

1. Estcourt LJ. Why has demand for platelet components increased? *Transfus Med.* 2014;24:260–8. DOI: 10.1111/tme.12155.
2. Gubanova M.N., Ayupova R.F., Zhiburt E.B. Polymorphism of harvesting, application and effectiveness of donor platelet concentrates. *Anesthesiologiya i Reanimatologiya.* 2017;62(1):77–9 (In Russian). DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-1-77-79.
3. Liker M., Bojanic I., Plenkovc F., et al. Platelet transfusion practice and related transfusion reactions in a large teaching hospital. *Transfus Clin Biol.* 2022;29:37–43. DOI: 10.1016/j.tracli.2021.08.004.
4. Programme treatment of leukaemia. Ed. Savchenko V.G. National H Research Cenetr for Hematology. Moscow, 2002. IPF Folian. 238 p. (In Russian).
5. Bulanova E.L., Rabotinsky S.E., Degtyarev P.A., et al. Thrombocytopenia in the ICU before and during the pandemic of the new coronavirus infection COVID-19: a comparative retrospective cohort study. *Vestnik intensivnoy terapii.* 2022;4:66–73 (In Russian). DOI: 10.21320/1818-474X-2022-4-66-73.
6. Khubutia M.Sh., Vysochin I.V., Kobzeva E.N., et al. Production and clinical use of cryopreserved platelets and platelet concentrates. *Vestnik Slugbi Krovi Rossii.* 2015;3:45–51 (In Russian).
7. Stanworth S.J., Shah A. How I use platelet transfusions. *Blood.* 2022;140(18):1925–36. DOI: 10.1182/blood.2022016558.
8. Van der Meer P.F., de Korte D. Platelet Additive Solutions: A Review of the Latest Developments and Their Clinical Implications. *Transfus Med Hemother.* 2018;45:98–102. DOI: 10.1159/000487513.
9. De Wit Y.E.S., Vlaar R., Gouwerok E. Platelet concentrates in platelet additive solutions generate less complement activation products during storage than platelets stored in plasma. *Blood Transfus.* 2023;21:157–67. DOI: 10.2450/2022.0323-21.
10. Kumar R., Dhawan H.K., Sharma R.R., Kaur J. Buffy coat pooled platelet concentrate: A new age platelet component. *Asian J. Transfus. Sci.* 2021;15:125–32. DOI: 10.4103/ajts.AJTS_72_19.
11. Daurat A., Roger C., Gris J.C., et al. Apheresis platelets are more frequently associated with adverse reactions than pooled platelets both in recipients and in donors: a study from French hemovigilance data. *Transfusion.* 2016;56:1295–303. DOI: 10.1111/trf.13475.
12. Sherstnev F.S., Kostyaeva A.V., Utemov S.V., et al. The effectiveness of transfusion of native and cryopreserved platelets in patients with hemoblastosis. *Vestnik Slugbi Krovi Rossii.* 2013;3:31–4 (In Russian).
13. Zhiburt E.B. Management of patient’s blood in case of critical bleeding and massive transfusion. *Vestnik Nacionalnogo mediko-hyurgicheskogj centra N.N. Pirogova.* 2013;8:71–7 (In Russian).
14. Meneses E., Boneva D., McKenney M., Elkbuli A. Massive transfusion protocol in adult trauma population. *Am J Emerg Med.* 2020; 38: 2661–6. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.07.041.
15. Clinical guidelines “Hypovolaemic shock in adults”, 2024 (In Russian). https://faronline.ru/api/static/cms-files/779e57fc-cc06-4c05-b77c-11729dadclteeKP_Гиповолемический_шок.pdf
16. Sharma B., Sharma M., Majumder M., et al. Thrombocytopenia in septic shock patients—a prospective observational study of incidence, risk factors and correlation with clinical outcome. *Anaesth Intensive Care.* 2007; 35: 874–80. DOI: 10.1177/0310057X0703500604.
17. Jonsson A.B., Rygard S.L., Hildebrandt T., et al. Thrombocytopenia in intensive care unit patients: a scoping review. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2021;65:2–14. DOI: 10.1111/aas.13699.
18. Cox D. Sepsis — it is about platelets. *Front. Immunol.* 2023;14:1210219. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1210219.

19. Wu S., Chen Q., Pan J., Zhou A. Platelet transfusion and mortality in patients with sepsis-induced thrombocytopenia: A propensity score matching analysis. *Vox Sang.* 2022;117:1187–94. DOI: 10.1111/vox.13335.
20. Zhou W., Fan Ch., He S., et al. Impact of platelet transfusion on outcomes with sepsis: analysis of the MIMIC-IV database. *Shock.* 2022;57:486–93. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001898.
21. He S., Fan Ch., Ma J., et al. Platelet transfusion in patients with sepsis and thrombocytopenia: a propensity Score-Matched analysis using a large ICU database. *Front. Med.* 2022;9:art 830177. DOI: 10.3389/fmed.2022.830177.
22. Бахарев С.А., Попугаев К.А., Киселев К.В. и др. Механизмы развития геморрагических осложнений при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации. Пилотное исследование. *Анестезиология и реаниматология.* 2020;1:25–34. DOI: 10/17116/anaesthesiology202001125.
23. Thomas J., Kostousov V., Teruya J. Bleeding and Thrombotic Complications in the Use of Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Semin Thromb Hemost.* 2018;44(01):20–9. DOI: 10.1055/s-0037-1606179.
24. Thiele T., Greinacher A. Platelet transfusion in perioperative medicine. *Semin Thromb Hemost.* 2020;46:50–61. DOI: 10.1055/s-0039-1697951.
25. Заболотских И.Б., Синьков С.В., Лебединский К.М. и др. Периоперационное ведение пациентов с нарушениями системы гемостаза. *Анестезиология и реаниматология.* 2018;1–2:58–81. DOI: 10.17116/anaesthesiology201801-02158.
19. Wu S., Chen Q., Pan J., Zhou A. Platelet transfusion and mortality in patients with sepsis-induced thrombocytopenia: A propensity score matching analysis. *Vox Sang.* 2022;117:1187–94. DOI: 10.1111/vox.13335.
20. Zhou W., Fan Ch., He S., et al. Impact of platelet transfusion on outcomes with sepsis: analysis of the MIMIC-IV database. *Shock.* 2022;57:486–93. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001898.
21. He S., Fan Ch., Ma J., et al. Platelet transfusion in patients with sepsis and thrombocytopenia: a propensity Score-Matched analysis using a large ICU database. *Front. Med.* 2022;9:art 830177. DOI: 10.3389/fmed.2022.830177.
22. Bakharev S.A., Popugaev K.A., Kiselev K.V. et al. Mechanisms of hemorrhagic complication during extracorporeal membrane oxygenation. A pilot study. *Anesthesiology I Reanimatologiya.* 2020;1:25–34 (In Russian). DOI: 10/17116/anaesthesiology202001125.
23. Thomas J., Kostousov V., Teruya J. Bleeding and Thrombotic Complications in the Use of Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Semin Thromb Hemost.* 2018;44(01):20–9. DOI: 10.1055/s-0037-1606179.
24. Thiele T., Greinacher A. Platelet transfusion in perioperative medicine. *Semin Thromb Hemost.* 2020;46:50–61. DOI: 10.1055/s-0039-1697951.
25. Zabolotskikh I.B., Sinkov S.V., Lebedinsky K.M., et al. Perioperative management of patients with hemostatic disorders. *Anesthesiology I Reanimatologiya.* 2018;1–2:58–81 (In Russian). DOI: 10.17116/anaesthesiology201801-02158.

Информация об авторах

Азимова Майя Ходжаевна, кандидат медицинских наук, трансфузиолог отделения клинической и производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»,
e-mail: maya-azim@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4453-7187>

Буланов Андрей Юльевич*, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»; главный внештатный специалист трансфузиолог Департамента здравоохранения Москвы; профессор кафедры анестезиологии, реаниматологии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: buldoc68@mail.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

Костин Александр Игоревич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением клинической и производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»,
e-mail: KostinAI@sklif.mos.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-851X>

Information about the authors

Maya H. Azimova, Cand. Sci. (Med.), Transfusiologist, Department of Clinical and Industrial Transfusiology and Gravitational Blood Surgery, Sklifosovsky Research Institute For Emergency Medicine,
e-mail: maya-azim@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4453-7187>

Andrey Ju. Bulanov*, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, Sklifosovsky Research Institute For Emergency Medicine; Chief Non-Staff Transfusion Medicine Specialist, Moscow Healthcare Department; Professor, Department of Anesthesiology, Critical Care, and Emergency Medicine, Institution of Higher Education Russian University Of Medicine,
e-mail: buldoc68@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

Alexander I. Kostin, Cand. Sci. (Med.), Head of the Dept. of Clinical and Industrial Transfusiology and Gravitational Blood Surgery, Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
e-mail: KostinAI@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7542-851X>

Виноградов Илья Антонович, трансфузиолог отделения клинической и производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»,
e-mail: vinogradovia@sklif.mos.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2996-0018>

Камалова Алина Рустемовна, гематолог отделения клинической и производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»,
e-mail: KamalovaAR@sklif.mos.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8022-8491>

Макарова Елизавета Сергеевна, гематолог отделения клинической и производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»,
e-mail: makarovaes@sklif.mos.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0705-9635>

* **Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 22.11.2024

Принята к печати: 10.06.2025

Ilya A. Vinogradov, Transfusiologist, Dept. of Clinical and Industrial Transfusiology and Gravitational Blood Surgery, Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
e-mail: vinogradovia@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2996-0018>

Alina R. Kamalova, Hematologist, Department of Clinical and Industrial Transfusiology and Gravitational Blood Surgery, Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
e-mail: KamalovaAR@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8022-8491>

Elizabeth S. Makarova, Hematologist, Department of Clinical and Industrial Transfusiology and Gravitational Blood Surgery, Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,
e-mail: makarovaes@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0705-9635>

* **Corresponding author**

Received 22 Nov 2024

Accepted 10 Jun 2025

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОТИЧЕСКОЙ МИКРОАНГИОПАТИЕЙ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Купряшов А.А.* , Токмакова К.А., Самуилова Д.Ш., Жемарина И.Б., Хичева Г.А., Хайдаров Г.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 121552, г. Москва, Российская Федерация.

РЕЗЮМЕ

Введение. Развитие тромботической микроангиопатии критических состояний — синдрома, подобного тромботической тромбоцитопенической пурпуре (ТТП-подобный синдром), — рассматривается с позиций дисбаланса в системе фактора Виллебранда — ADAMTS13, при этом мало изучены коагуляционные нарушения.

Цель: изучить динамику образования фибринового сгустка и генерации тромбина у больных с ТТП-подобным синдромом, а также сопоставить их с активацией/повреждением эндотелия, активностью естественных антикоагулянтов и комплемента.

Материалы и методы. В проспективное обсервационное когортное исследование включены 76 больных, перенесших хирургическое лечение порока сердца, у которых течение послеоперационного периода осложнилось ТТП-подобным синдромом. Критерии включения больных в исследование: полиорганная недостаточность, тромбоцитопения $<100 \times 10^9/\text{л}$ через 3 суток после операции, шистоцитоз $>1\%$. Образование фибрина и генерацию тромбина оценивали тестом «Тромбодинамика», определяли концентрации естественных антикоагулянтов, маркеры эндотелиального повреждения, активность компонентов системы комплемента.

Результаты. Летальность составила 40,8% (31 больной). В результате анализа трех моделей установлено: 1) генерация тромбина определяется активностью системы комплемента; 2) увеличение концентрации естественных антикоагулянтов, прежде всего тромбомодулина, угнетает генерацию тромбина на активаторе и распространение волны его активации; 3) концентрация антикоагулянтов зависит от глубины повреждения эндотелия, начинающегося с десквамации его гликокаликса (отражается в повышении плазменной концентрации синдекана-1 и гепарансульфата) и заканчивающегося разрушением межклеточных контактов и некрозом эндотелиоцитов с высвобождением PECAM и VE-кадгерина; 4) эндотелиопатия обуславливает активацию и потребление тромбоцитов, а также гипоксию тканей.

Заключение. ТТП-подобный синдром характеризуется угнетением генерации тромбина, степень которого зависит от глубины повреждения эндотелия. Это обусловлено активацией систем естественных антикоагулянтов. Устойчивость эндотелия к мембран-атакующему комплексу снижается по мере увеличения десквамации его гликокаликса, что сопровождается углублением разрушения эндотелия. Параллельно происходит комплемент-опосредованная активация тромбоцитов. Повреждение эндотелия, развитие артериальных микротромбозов, несмотря на низкую генерацию тромбина, приводят к нарастанию гипоксического повреждения органов, ухудшению результатов лечения.

Ключевые слова: ТТП-подобный синдром, повреждение эндотелия, тромбоцитопения, тромботическая микроангиопатия, генерация тромбина, комплемент

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках прикладного научного исследования «Разработка и внедрение персонализированных алгоритмов периоперационного ведения больных с патологией системы крови с целью повышения безопасности кардиохирургического лечения».

Для цитирования: Купряшов А.А., Токмакова К.А., Самуилова Д.Ш., Жемарина И.Б., Хичева Г.А., Хайдаров Г.А. Особенности генерации тромбина у больных с тромботической микроангиопатией критических состояний. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):174–188. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-174-188>

THROMBIN GENERATION IN PATIENTS WITH THROMBOTIC MICROANGIOPATHY IN CRITICAL ILLNESSES

Kupryashov A.A.*, Tokmakova K.A., Samuilova D.Sh., Zhemarina I.B., Khicheva G.A., Khaidarov G.A.

Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery, 121552, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The development of thrombotic microangiopathy of critical illnesses (TTP-like syndrome) is traditionally considered from the standpoint of imbalance in the von Willebrand factor system — ADAMTS-13, while coagulation disorders remain poorly studied.

Aim: to study the dynamics of fibrin clot formation and thrombin generation in patients with TTP-like syndrome, as well as their relationship with the severity of endothelial activation/damage, the activity of natural anticoagulant systems and complement systems.

Materials and methods. A prospective observational cohort study included 76 patients who underwent surgical treatment for heart disease and developed TTP-like syndrome as a postoperative complication. Inclusion criteria: multiple organ failure, thrombocytopenia $<100 \times 10^9/l$ three days after surgery, schistocytosis $>1\%$. The dynamics of fibrin formation and thrombin generation were assessed using the Thrombodynamics test; concentrations of natural anticoagulants, markers of endothelial damage, and the activity of complement system components were also evaluated.

Results. The mortality rate was 40.8% (31 patients). The analysis of three models revealed: 1) the complement system determines thrombin generation; 2) an increase in the concentration of natural anticoagulants, primarily thrombomodulin, inhibits the generation of thrombin on the activator and the propagation of its activation wave; 3) the degree of endothelial damage, starting with desquamation of the glycocalyx (reflected in an increase in plasma concentrations of syndecan-1 and heparan sulfate) and ending with the destruction of intercellular contacts and necrosis of endothelial cells with the release of PECAM и VE-cadherin; 4) endotheliopathy leads to platelet activation and consumption, as well as tissue hypoxia.

Conclusion. TTP-like syndrome is characterized by inhibition of thrombin generation, the degree of which depends on the severity of endothelial damage. This is due to the activation of natural anticoagulant systems. Desquamation of the endothelial glycocalyx reduces its resistance to the terminal complement complex which increases endothelial damage. In parallel, complement-mediated activation of platelets occurs. Deep endothelial damage, as well as the development of arterial microthrombosis, despite low thrombin generation, lead to an increase in hypoxic organ damage and poorer treatment outcomes.

Keywords: TTP-like syndrome, endothelial damage, thrombocytopenia, thrombotic microangiopathy, thrombin generation, complement

Conflict of Interests. The authors declare that there is no conflict of interest.

Financial disclosure. The work was performed within the framework of applied scientific research «Development and implementation of personalized algorithms of perioperative management of patients with blood system pathology in order to improve the safety of cardiac surgical treatment»

For citation: Kupryashov A.A., Tokmakova K.A., Samuilova D.Sh., Zhemarina I.B., Khicheva G.A., Khaidarov G.A. Thrombin generation in patients with thrombotic microangiopathy in critical illnesses. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2025; 70(2):174–188 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-174-188>

Введение

Развитие тромбоцитопении у больных в критических состояниях нередко предопределяет возникновение лечебно-диагностического тупика: из всех возможных причин диагностируется либо гепарин-индуцированная тромбоцитопения, либо ДВС-синдром; терапия сводится к замене гепаринов на иные антитромботические препараты, к увеличению доз антикоагулянтов или к переливанию концентрата тромбоцитов, поскольку тромбоцитопения рассматривается не как проявление тромбоза, а как ситуация высокого риска кровотечения, т.е. как второстепенный лабораторный симптом, а не как тревожный признак ухудшения клинического состояния больного. При этом концепция тромботической микроангиопатии критических состояний — синдрома, подобного тромботической тромбоцитопенической пурпуре (ТТП-подобного синдрома), для которого характерна тромбоцитопения, а также риск повреждения органов, сформулированы и обсуждаются на протяжении ряда лет [1]. Патогенез ТТП-подобного синдрома [1] обычно рассматривается через призму активации тромбоцитов и баланса фактора фон Виллебранда (von Willebrand factor, vWF) с ADAMTS13 [2, 3]. Признается участие в ее развитии комплемента, одной из мишеней для которого выступает эндотелий [4–6]. Однако изменение в системе свертывания крови, интенсивности генерации тромбина, баланс прокоагулянтов и антикоагулянтов обычно остаются вне поля внимания.

Развитие тромбоцитопении нередко трактуется как проявление синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), ключевым звеном которого является лавинообразное нарастание генерации тромбина [7]. Нередко, не проводя дифференциальной диагностики ДВС-синдрома и ТТП-подобного синдрома, в ответ на развитие тромбоцитопении производится усиление антитромботической терапии [8]. Для ответа на вопрос о ее целесообразности, о выборе ее оптимальной тактики необходимо понимание изменений системы свертывания крови, которые характерны именно для ТТП-подобного синдрома, без экстраполяции феноменов, характерных для ДВС-синдрома. Мы предположили, что у больных с ТТП-подобным синдромом в ответ на активацию тромбоцитов следует ожидать усиления генерации тромбина и нарастания динамики образования фибринового сгустка.

Целью исследования явилось изучение особенностей динамики образования фибринового сгустка и генерации тромбина у больных с ТТП-подобным синдромом, а также их сопоставление с выраженностью активации/повреждения эндотелия, активностью систем естественных антикоагулянтов и комплемента.

Материалы и методы

Дизайн исследования. В проспективное обсервационное когортное исследование были включены больные, которым было выполнено хирургическое лечение порока сердца, в том числе в условиях искусственного кровообращения (ИК), течение послеоперационного периода у которых осложнилось развитием ТТП-подобного синдрома, характеризующегося полиорганной недостаточностью в сочетании с тромбоцитопенией при наличии первичных повреждающих факторов (инфекция, шок, операция и т.д.). Анемия является низкоспецифичным признаком ТТП-подобного синдрома, поскольку трудно установить ее исключительно гемолитическую природу. Синдром полиорганной недостаточности в отсутствие гемолиза может характеризоваться низкой концентрацией гаптоглобина (негативный белок острой фазы) и высокой активностью лактатдегидрогеназы. Кроме того, для ТТП-подобного синдрома характерен широкий разброс значений количества шистоцитов, в том числе их отсутствие [1]. Критериями включения больных в исследование являлось развитие полиорганной недостаточности в сочетании с тромбоцитопенией менее $100 \times 10^9/\text{л}$ через 3 суток после вмешательства и доля шистоцитов более 1%. В исследование не включали больных, у которых тромбоцитопения была следствием ДВС-синдрома или гепарин-индуцированной тромбоцитопении, а также больных с тромбоцитопенией, возникшей в первые трое суток после операции, которую рассматривали как дилуционную.

Клоттинговые, иммуноферментные лабораторные исследования, а также изучение пространственно-временной динамики роста фибринового сгустка и выполнение теста генерации тромбина проводили в момент диагностики тромбоцитопении. Все исследования выполнены после получения информированного согласия больных или их законных представителей в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации.

Характеристика больных. В исследование включены 76 больных, возраст которых варьировал от 3 мес. до 83 лет (медиана — 4,5 года). Патология сердечно-сосудистой системы включала врожденные пороки сердца — 41 (53,9%) и приобретенную патологию — 35 (46,1%) больных. Врожденные пороки сердца были представлены коарктацией аорты 7 (9,2%) больных, дефектом межжелудочковой перегородки — 2 (2,7%), частичным открытым атрио-вентрикулярным каналом — 2 (2,7%), общим открытым атрио-вентрикулярным каналом — 4 (5,3%), тотальным аномальным дренажом легочных вен — 3 (3,9%), двойным отхождением магистральных сосудов от правого желудочка — 3 (3,9%), атрезией легочной артерии — 1 (1,3%), транспозицией магистральных сосудов — 3 (3,9%), аномальным отхождением коронарной артерии от ле-

гочной артерии — 1 (1,3%), синдромом гипоплазии левых отделов сердца — 11 (14,5%), единственным желудочком сердца — 4 (5,3%) больных. Приобретенные пороки аортального клапана были у 12 (15,8%), митрального клапана 17 (22,4%), ишемическая болезнь сердца — у 6 (7,8%) больных. Операции в условиях ИК выполнены у 63 (82,9%) больных. Время ИК составило 170,0 [119,0; 232,0] мин., время ишемии миокарда — 74,5 [31,3; 125,2] мин.

Методы исследования. Гематологическое исследование проводили на анализаторе «CELL-DYN Ruby» (Abbott, США), биохимические — на анализаторе «Architect 8000» (Abbott, США), концентрации лактата — на анализаторе «ABL800 FLEX» (Radiometer Medical Aps, Дания), исследования системы гемостаза — на анализаторе «ACL TOP 750» (Werfen, Испания).

Концентрации в плазме крови Clq (тест-система «Human Clq НК356», Hucult Biotech, Нидерланды), С3а (тест-система «Human С3а НК354», Hucult Biotech, Нидерланды), С5а (тест-система «Human С5а НК349», Hucult Biotech, Нидерланды), фактора Н (тест-система «Complement Factor Н НК 342», Hucult Biotech, Нидерланды), маннозосвязывающего лектина (тест-система «MBL НК 323», Hucult Biotech, Нидерланды), мембраноатакующего комплекса (МАК) (тест-система «Terminal Complement Complex НК 328», Hucult Biotech, Нидерланды), Р-селектина (тест-система «Human sP-selectin», Invitrogen, США), Е-селектина (тест-система «Human sE-selectin», Invitrogen, США), PECAM-1 (тест-система «Human sPECAM-1», Invitrogen, США), VE-кадгерина (тест-система «Human VE-Cadherin Immunoassay», R&D Systems, США), синдекана-1 (тест-система «Human Syndecan 1», RayBiotech, США), гепарансульфата (тест-система «Human HSPG», Could-Clone, США), тромбомодулина (тест-система «Human sThrombomodulin», HucultBiotech, США), и ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) (тест-система «TFPI ELISA Kit», AssayMax, США) определяли с помощью иммуноферментного анализа. Исследования проводились по мере накопления образцов, образцы хранили при температуре –80 °С не более 4 мес.

Оценку динамики образования фибрина и генерации тромбина проводили с использованием анализаторов «Регистратор тромбодинамики Т2» и «Регистратор тромбодинамики Т2-Т» («Гемакор», Россия) соответственно в вариантах «Тромбодинамика» и «Тромбодинамика 4D» в лишенной тромбоцитов плазме (PLS).

Статистический анализ. Статистическую обработку проводили с помощью программы «IBM SPSS Statistics 26». Оценку на нормальность проводили при помощи критерия Колмогорова — Смирнова. Количественные величины представлены в виде медианы (*Me*) и межквартильного интервала (*Q25; Q75*), качественные — абсолютного количества наблюдений и доли. Сравнение количественных переменных

между двумя несвязанными выборками проводили при помощи критерия Манна — Уитни, между *k* несвязанными выборками — при помощи критерия Краскела — Уоллиса. Для сравнения качественных переменных использовали критерий χ^2 . Выявление связей между количественными переменными производили при помощи ранговой корреляции Спирмена, прогноз из значений — при помощи линейного регрессионного анализа. Задачи классификации решали путем кластеризации методом *k*-средних. Статистические различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Среди включенных в обследование летальность составила 40,8% (31 больной).

Результаты лабораторных исследований представлены в таблице 1. Медианы стационарной скорости роста сгустка, размера сгустка через 30 мин., активаторного тромбинового потенциала, пика тромбина и времени до достижения пика тромбина были меньше нижней границы референсного интервала.

Корреляционный анализ. Размер сгустка через 30 мин. положительно коррелировал с концентрацией компонента С3 а, МАК и фактора Н (табл. 2). Плотность фибринового сгустка характеризовалась умеренной положительной корреляционной связью с фактором Н и отрицательной — с концентрацией PECAM и тромбомодулина. Активаторный тромбиновый потенциал положительно коррелировал с концентрацией фактора Н и активностью антитромбина, отрицательно — с концентрацией PECAM. Пик тромбина находился в положительной связи с активностью антитромбина и в отрицательной — с концентрацией PECAM и тромбомодулина. Время до достижения пика тромбина положительно коррелировало с концентрацией синдекана-1, а стационарная амплитуда пика тромбина — с концентрацией TFPI.

В рамках многовариантной линейной регрессионной модели прогностическими факторами активаторного тромбинового потенциала являлись концентрации PECAM и МАК:

$$\begin{aligned} \text{ETP_ATG} &= 863,085 - 3,822 \times \\ &\times [\text{PECAM}] + 0,024 \times [\text{sМАК}]. \end{aligned} \quad (1)$$

Аналогично

$$\text{Stmax_ATG} = 221,041 - 0,761 \times [\text{PECAM}]. \quad (2)$$

У больных со спонтанными сгустками отмечена тенденция к большей концентрации PECAM ($114,4 \pm 50,5$ vs $94,4 \pm 39,1$ нг/мл, $p = 0,06$).

Кластерный анализ. С целью выделения однородных групп и выявления взаимосвязи между эндогенным потенциалом тромбина и эндогенными антикоагулянтами (модель № 1) и компонентами гликокаликса эндотелия (модель № 2), а также стационарной амплитудой

Таблица 1. Результаты лабораторных исследований у больных с поздней послеоперационной тромбоцитопенией
Table 1. Laboratory test results in patients with late postoperative thrombocytopenia

Показатели/Parameters	Ме [Q25; Q75]
Тромбоциты, дебу́т тромбоцитопении, ×10⁹/л Platelet count, debut ×10 ⁹ /L	79 [61; 91]
Тромбоциты, минимальные, ×10⁹/л Platelet count, nadir, ×10 ⁹ /L	58 [35; 83]
Эритроциты, ×10¹²/л/RBC, ×10¹²/L	3,5 [2,9; 4,2]
Моноциты/Monocytes, %	6,6 [4,0; 9,7]
Шистоциты/Schistocytes, %	1,8 [1,1; 2,7]
Мочевина, ммоль/л/Urea, mmol/l	10,0 [5,6; 14,0]
Лактат, ммоль/л/Lactate, mmol/L	2,8 [1,8; 6,8]
Креатинин, мкмоль/л/Creatinine, μmol/L	78 [58; 125]
Прокальцитонин, нг/мл/Procalcitonin, ng/mL	2,7 [0,7; 12,9]
АЧТВ, сек./aPTT, sec	44,0 [36,0; 62,7]
ПВ, сек./PT, sec.	16,3 [13,1; 18,9]
Фибриноген, г/л/Fibrinogen, g/L	3,2 [2,0; 4,5]
Д-димер, мкг/л/D-dimer, μg/L	627 [237; 1643]
Компонент С1q, нг/мл/Component C1q, ng/mL	8800 [6435; 11 294]
Компонент С3а, нг/мл/Component C3a, ng/mL	3371 [986; 8748]
Компонент С5а, нг/мл/Component C5a, ng/mL	5,8 [1,5; 12,1]
Фактор Н, нг/мл/Factor H, ng/mL	0,6 [0,4; 0,8]
МВЛ, нг/мл/MBL, ng/mL	614 [193; 1619]
МАК, мАЕ/мл/TCC, mAE/mL	6590 [4869; 9781]
РЕСАМ, нг/мл/ng/mL	101 [73; 129]
Синдекан-1, нг/мл/Syndecan-1, ng/mL	7,7 [3,7; 18,9]
Е-селектин, нг/мл/E-selectin, ng/mL	54,6 [35,2; 87,9]
Р-селектин, нг/мл/P-selectin, ng/mL	105,3 [76,2; 155,0]
Гепарансульфат, пг/мл/Heparansulfate, ng/mL	6015 [3133; 12 169]
VE-кадгерин, нг/мл/VE-Cadherin, ng/mL	3003 [2493; 4293]
Антитромбин, %/Antithrombin, %	55 [41; 77]
TFPI, нг/мл/TFPI, ng/mL	167 [121; 295]
Тромбомодулин, нг/мл/Thrombomodulin, pg/mL	4,1 [2,4; 6,1]
Тромбодинамика/Thrombodynamics	
Tlag, мин./min	1,4 [1,0; 1,9]
Vi, мкм/мин./μm/min	39,4 [20,4; 59,9]
Vst, мкм/мин./μm/min	12,1 [5,1; 29,7]
CS, мкм/CS, μm	663,5 [401,3; 1122,5]
D, усл. ед./D, units	24 446,0 [19 140,0; 29 045,0]
Тромбодинамика 4D/Thrombodynamics 4D	
Lag_ATG, мин./min	0,2 [0,1; 0,5]
EPT_ATG, ед. акт./мин./л/U/min/L	633,9 [339,9; 1007,0]
Stax_ATG, ед. акт./л/U/L	119,6 [70,9; 200,3]
Tmax_ATG, мин./min	1,6 [1,6; 2,1]
Ast, ед. акт./мин./U/min	38,8 [25,4; 80,0]
Vt, мкм/мин./μm/min	30,0 [20,0; 71,5]

Таблица 2. Связь показателей фибринообразования, генерации тромбина с активацией системы комплемента, плазменным содержанием компонентов гликокаликса, молекул клеточной адгезии и эндотенных антикоагулянтов
Table 2. Relationship between fibrin formation indices, thrombin generation with activation of the complement system, plasma content of glycoscalyx components, cell adhesion molecules and endogenous anticoagulants

Показатель Indicator	Динамика роста фибринового сгустка Dynamics of fibrin clot growth					Динамика генерации тромбина Dynamics of fibrin clot growth					
	Tlog	Vi	Vst	CS	D	Log_ATG	EPT_ATG	Smax_ATG	Tmax_ATG	Ast	Vt
Компоненты комплемента/Complement components											
C1q	$\rho = -0,138$ $\rho = 0,298$	$\rho = 0,027$ $\rho = 0,842$	$\rho = 0,060$ $\rho = 0,652$	$\rho = 0,135$ $\rho = 0,325$	$\rho = -0,057$ $\rho = 0,668$	$\rho = -0,064$ $\rho = 0,610$	$\rho = 0,189$ $\rho = 0,126$	$\rho = 0,095$ $\rho = 0,446$	$\rho = 0,173$ $\rho = 0,163$	$\rho = 0,144$ $\rho = 0,244$	$\rho = 0,010$ $\rho = 0,935$
C3a	$\rho = -0,048$ $\rho = 0,717$	$\rho = 0,153$ $\rho = 0,247$	$\rho = 0,159$ $\rho = 0,229$	$\rho = 0,313$ $\rho = 0,020$	$\rho = -0,251$ $\rho = 0,055$	$\rho = -0,199$ $\rho = 0,112$	$\rho = 0,161$ $\rho = 0,192$	$\rho = 0,137$ $\rho = 0,270$	$\rho = -0,103$ $\rho = 0,408$	$\rho = 0,049$ $\rho = 0,692$	$\rho = 0,030$ $\rho = 0,811$
C5a	$\rho = 0,049$ $\rho = 0,714$	$\rho = 0,143$ $\rho = 0,281$	$\rho = 0,103$ $\rho = 0,437$	$\rho = 0,151$ $\rho = 0,272$	$\rho = 0,001$ $\rho = 1,000$	$\rho = -0,078$ $\rho = 0,536$	$\rho = 0,037$ $\rho = 0,768$	$\rho = -0,005$ $\rho = 0,967$	$\rho = -0,205$ $\rho = 0,096$	$\rho = 0,121$ $\rho = 0,329$	$\rho = 0,082$ $\rho = 0,510$
Фактор H Factor H	$\rho = 0,028$ $\rho = 0,839$	$\rho = 0,073$ $\rho = 0,585$	$\rho = 0,047$ $\rho = 0,721$	$\rho = 0,299$ $\rho = 0,027$	$\rho = 0,352$ $\rho = 0,006$	$\rho = 0,025$ $\rho = 0,842$	$\rho = 0,257$ $\rho = 0,036$	$\rho = 0,228$ $\rho = 0,064$	$\rho = 0,120$ $\rho = 0,333$	$\rho = 0,008$ $\rho = 0,949$	$\rho = -0,021$ $\rho = 0,867$
MBL	$\rho = 0,051$ $\rho = 0,701$	$\rho = 0,209$ $\rho = 0,112$	$\rho = 0,109$ $\rho = 0,441$	$\rho = 0,157$ $\rho = 0,251$	$\rho = 0,004$ $\rho = 0,770$	$\rho = -0,034$ $\rho = 0,787$	$\rho = 0,137$ $\rho = 0,269$	$\rho = 0,178$ $\rho = 0,149$	$\rho = 0,157$ $\rho = 0,205$	$\rho = 0,061$ $\rho = 0,625$	$\rho = 0,093$ $\rho = 0,453$
МАК TCC	$\rho = -0,194$ $\rho = 0,142$	$\rho = 0,195$ $\rho = 0,139$	$\rho = 0,250$ $\rho = 0,056$	$\rho = 0,400$ $\rho = 0,003$	$\rho = 0,071$ $\rho = 0,594$	$\rho = -0,085$ $\rho = 0,500$	$\rho = 0,192$ $\rho = 0,120$	$\rho = 0,156$ $\rho = 0,208$	$\rho = -0,205$ $\rho = 0,096$	$\rho = 0,225$ $\rho = 0,068$	$\rho = 0,101$ $\rho = 0,415$
Маркеры активации/повреждения эндотелия/Endothelial activation/damage markers											
Синдекан-1 Syndecan-1	$\rho = -0,133$ $\rho = 0,316$	$\rho = -0,138$ $\rho = 0,296$	$\rho = 0,091$ $\rho = 0,493$	$\rho = -0,190$ $\rho = 0,166$	$\rho = -0,179$ $\rho = 0,175$	$\rho = 0,085$ $\rho = 0,502$	$\rho = 0,055$ $\rho = 0,656$	$\rho = -0,125$ $\rho = 0,315$	$\rho = 0,305$ $\rho = 0,012$	$\rho = 0,134$ $\rho = 0,280$	$\rho = 0,067$ $\rho = 0,589$
Гепарансульфат Heparansulfate	$\rho = -0,133$ $\rho = 0,314$	$\rho = -0,108$ $\rho = 0,417$	$\rho = 0,196$ $\rho = 0,137$	$\rho = -0,111$ $\rho = 0,421$	$\rho = -0,179$ $\rho = 0,176$	$\rho = 0,057$ $\rho = 0,650$	$\rho = -0,226$ $\rho = 0,066$	$\rho = -0,156$ $\rho = 0,206$	$\rho = 0,196$ $\rho = 0,112$	$\rho = -0,106$ $\rho = 0,393$	$\rho = 0,096$ $\rho = 0,468$
РЕСАМ	$\rho = 0,088$ $\rho = 0,507$	$\rho = -0,060$ $\rho = 0,652$	$\rho = 0,091$ $\rho = 0,494$	$\rho = -0,142$ $\rho = 0,301$	$\rho = -0,260$ $\rho = 0,046$	$\rho = 0,155$ $\rho = 0,217$	$\rho = -0,383$ $\rho = 0,001$	$\rho = -0,387$ $\rho = 0,001$	$\rho = -0,116$ $\rho = 0,349$	$\rho = -0,037$ $\rho = 0,769$	$\rho = 0,005$ $\rho = 0,967$
Е-селектин E-selectin	$\rho = 0,120$ $\rho = 0,365$	$\rho = 0,088$ $\rho = 0,508$	$\rho = -0,148$ $\rho = 0,263$	$\rho = 0,074$ $\rho = 0,590$	$\rho = -0,168$ $\rho = 0,204$	$\rho = -0,116$ $\rho = 0,358$	$\rho = 0,059$ $\rho = 0,637$	$\rho = 0,022$ $\rho = 0,860$	$\rho = -0,028$ $\rho = 0,821$	$\rho = 0,175$ $\rho = 0,157$	$\rho = 0,187$ $\rho = 0,130$
Р-селектин P-selectin	$\rho = -0,850$ $\rho = 0,520$	$\rho = -0,015$ $\rho = 0,912$	$\rho = 0,163$ $\rho = 0,216$	$\rho = 0,017$ $\rho = 0,901$	$\rho = -0,196$ $\rho = 0,136$	$\rho = -0,173$ $\rho = 0,168$	$\rho = 0,021$ $\rho = 0,868$	$\rho = -0,004$ $\rho = 0,973$	$\rho = -0,208$ $\rho = 0,091$	$\rho = 0,066$ $\rho = 0,632$	$\rho = 0,198$ $\rho = 0,107$
VE-кадгерин VE-cadherin	$\rho = -0,142$ $\rho = 0,285$	$\rho = -0,097$ $\rho = 0,466$	$\rho = 0,174$ $\rho = 0,188$	$\rho = -0,129$ $\rho = 0,349$	$\rho = -0,218$ $\rho = 0,098$	$\rho = -0,081$ $\rho = 0,520$	$\rho = -0,088$ $\rho = 0,478$	$\rho = -0,113$ $\rho = 0,362$	$\rho = -0,044$ $\rho = 0,724$	$\rho = -0,154$ $\rho = 0,213$	$\rho = -0,069$ $\rho = 0,581$
Эндотенные антикоагулянты/Endogenous anticoagulants											
TFPI	$\rho = -0,133$ $\rho = 0,316$	$\rho = -0,101$ $\rho = 0,446$	$\rho = 0,099$ $\rho = 0,455$	$\rho = -0,042$ $\rho = 0,761$	$\rho = 0,030$ $\rho = 0,822$	$\rho = 0,089$ $\rho = 0,478$	$\rho = 0,030$ $\rho = 0,809$	$\rho = -0,001$ $\rho = 0,996$	$\rho = 0,167$ $\rho = 0,178$	$\rho = 0,245$ $\rho = 0,046$	$\rho = 0,001$ $\rho = 0,997$
Тромбомодулин Thrombomodulin	$\rho = -0,134$ $\rho = 0,313$	$\rho = -0,099$ $\rho = 0,455$	$\rho = 0,057$ $\rho = 0,666$	$\rho = -0,115$ $\rho = 0,405$	$\rho = -0,389$ $\rho = 0,002$	$\rho = 0,058$ $\rho = 0,644$	$\rho = -0,230$ $\rho = 0,061$	$\rho = -0,252$ $\rho = 0,040$	$\rho = 0,104$ $\rho = 0,402$	$\rho = 0,014$ $\rho = 0,910$	$\rho = 0,016$ $\rho = 0,901$
Антитромбин Antithrombin	$\rho = -0,094$ $\rho = 0,592$	$\rho = -0,158$ $\rho = 0,364$	$\rho = 0,139$ $\rho = 0,427$	$\rho = 0,120$ $\rho = 0,511$	$\rho = 0,100$ $\rho = 0,567$	$\rho = -0,130$ $\rho = 0,432$	$\rho = 0,431$ $\rho = 0,005$	$\rho = 0,371$ $\rho = 0,017$	$\rho = 0,089$ $\rho = 0,579$	$\rho = 0,189$ $\rho = 0,238$	$\rho = 0,094$ $\rho = 0,561$

Таблица 3. Кластеризация методом *k*-средних: конечные центры кластеров
Table 3. *K*-means clustering: final cluster centers

Переменные/ <i>Variables</i>	Кластеры/ <i>Clusters</i>		
	1	2	3
Модель № 1/Model no. 1			
ЕРТ_АТГ, ед. акт./мин./л/ <i>U/min/L</i>	970,00	317,89	1849,00
Антитромбин, % <i>Antithrombin, %</i>	75,42	48,76	79,33
TFPI, нг/мл/ <i>ng/mL</i>	257,27	226,83	123,47
Тромбомодулин, нг/мл <i>Thrombomodulin, ng/mL</i>	2,88	5,61	2,88
Модель № 2/Model no. 2			
ЕРТ_АТГ, ед. акт./мин./л/ <i>U/min/L</i>	383,15	677,16	683,29
TFPI, нг/мл/ <i>ng/mL</i>	360,8	195,59	244,63
Синдекан, нг/мл <i>Syndecan-1, ng/mL</i>	22,04	8,61	16,74
Гепарансульфат, пг/мл <i>Heparansulfate, pg/mL</i>	22527,24	3672,18	12047,77
Модель № 3/Model no. 3			
Ast, ед. акт./мин./ <i>U/min</i>	35,22	39,55	26,30
Кадгерин, нг/мл/ <i>VE-Cadherin, ng/mL</i>	4561,96	2382,18	9122,57
P-селектин, нг/мл/ <i>P-selectin, ng/mL</i>	135,9	100,36	168,50
РЕСАМ, нг/мл/ <i>ng/mL</i>	114,7	89,58	135,56

пика тромбина и молекулами клеточной адгезии (модель № 3) проведена кластеризация методом *k*-средних (табл. 3). Проведено сравнение результатов лабораторных исследований между полученными кластерами для каждой модели (табл. 4–6).

В модели № 1 кластер 1.3 характеризовался максимальной величиной активаторного тромбинового потенциала и минимальной — концентрацией TFPI (табл. 3). Кластер 1.1 был близок к предыдущему, отличаясь меньшим ЕРТ_АТГ на фоне большей концентрации TFPI. Кластер 1.2 объединял больных с высокими концентрациями тромбомодулина и TFPI, низкой активностью антитромбина на фоне низкой ЕРТ_АТГ. По сравнению с кластером 1.1 он характеризовался более выраженной тромбоцитопенией и гипоксией, отличался большей концентрацией РЕСАМ и гепарансульфата, меньшими концентрациями фактора Н и МАК (табл. 4). В нем отмечалось торможение образования фибрина и тромбина на активаторе. Для больных кластера 1.1 была характерна наибольшая концентрация С1q.

В модели № 2 минимальная генерация тромбина (кластер 2.1) была характерна для больных с максимальной концентрацией TFPI, тромбомодулина и компонентов эндотелиального гликокаликса (табл. 3). Эти же больные находились в состоянии более глубокой гипоксии. Кластер 2.2 объединял больных с высоким ЕРТ_АТГ в сочетании с минимальными концентрациями компонентов гликокаликса (табл. 3) и наименьшей концентрацией VE-кадгерина, тромбомодулина и креатинина (табл. 5). Кластер 2.3 был близок к предыдущему кластеру по величине ЕРТ_АТГ, но характеризовался

более высокими концентрациями синдекана, гепарансульфата, VE-кадгерина и TFPI.

Кластер 3.2 модели № 3 характеризовался нормальной стационарной амплитудой пика тромбина на фоне минимальных концентраций VE-кадгерина, РЕСАМ, P-селектина (табл. 3), E-селектина, тромбомодулина, гепарансульфата, С3 а компонента комплемента и МАК (табл. 6). В кластере 3.1 на фоне сопоставимых значений Ast отмечался тренд к увеличению концентрации молекул клеточной адгезии. В кластере 3.3 на фоне максимальных концентраций молекул клеточной адгезии, С3 а компонента комплемента и МАК, тромбомодулина и гепарансульфата отмечалось угнетение распространения волны тромбина.

Обсуждение

У больных с ТТП-подобным синдромом отмечалось угнетение генерации тромбина и уменьшение скорости образования фибрина. Величина эндогенного тромбинового потенциала плазмы оказалась прямо пропорциональна величине растворимого МАК и обратно пропорциональна концентрации РЕСАМ, т.е. была тем ниже, чем более выраженным было повреждение эндотелия.

Критическое состояние больного представляет собой сложную, нелинейную модель для изучения состояния системы свертывания крови. Послеоперационная тромбоцитопения, нередко воспринимаемая как фактор риска развития геморрагических осложнений [9] и рассматриваемая как следствие кровопотери и дилуции, в реальности может быть отражением тромботических состояний, обуславливающих нарушение

Таблица 4. Сравнение больных в зависимости от принадлежности к кластерам в модели № 1
Table 4. Comparison of patients depending on cluster membership in model no. 1

Переменные Variables	Кластеры/Clusters			P ₁₋₂ **
	1.1 (n = 12)	1.2 (n = 29)	1.3 (n = 3)*	
РЕСАМ, нг/мл/ng/ml	77,8 [55,8; 104,0]	118,6 [98,6; 160,0]	84,3 [78,6;]	0,009
Синдекан, нг/мл Syndecan-1, ng/ml	9,5 [5,8; 20,3]	8,8 [3,6; 25,2]	4,7 [4,0;]	0,989
Е-селектин, нг/мл E-selectin, ng/ml	68,8 [40,0; 68,8]	54,8 [38,8; 87,8]	49,7 [22,2;]	0,436
Р-селектин, нг/мл P-selectin ng/ml	103,7 [76,9; 219,1]	118,2 [81,1; 167,2]	135,0 [105,7;]	0,944
Гепарансульфат, пг/мл Heparansulfate, pg/ml	3308 [2942; 8659]	10722 [2955; 19345]	3268 [3187;]	0,078
Кадгерин, нг/мл VE-Cadherin, ng/ml	2791 [1997; 4678]	3275 [2612; 5080]	2565 [2544;]	0,357
Компонент С1q, нг/мл Component C1q, ng/ml	10806 [8045; 12934]	6942 [4064; 10494]	8818 [6182;]	0,008
Компонент С3 α, нг/мл Component C3α, ng/ml	2501 [690; 8748]	2366 [930; 6328]	7814 [5909;]	0,810
Компонент С5 α, нг/мл Component C5α, ng/ml	3,68 [1,47; 10,29]	5,48 [1,54; 10,36]	14,48 [13,12;]	0,562
Фактор Н, нг/мл Factor H, ng/ml	0,69 [0,56; 1,00]	0,55 [0,33; 0,75]	0,91 [0,50;]	0,049
МВЛ, нг/мл/ng/ml	668 [181; 1528]	604 [189; 1284]	1988 [1959;]	0,832
МАК, мАЕ/мл TCC, mAE/mL	7062 [5319; 14004]	5440 [4411; 7330]	13404 [6158;]	0,06
Tlag, мин./Tlag, min	0,9 [0,8; 1,3]	1,2 [1,0; 2,3]	1,0 [1,0; 1,0]	0,014
Vi, мкм/мин./µm/min	60,5 [50,1; 70,6]	30,3 [12,1; 64,1]	76,3 [75,4;]	0,052
Vst, мкм/мин./µm/min	32,4 [15,8; 46,0]	14,4 [8,1; 35,3]	56,8 [48,8;]	0,093
CS, мкм/µm	1117 [843; 1475]	633 [239; 1210]	1772 [1772;]	0,058
D, усл. ед./D, units	24498 [15287; 25478]	21504 [11004; 26488]	28536 [23891;]	0,428
Lag_ATG, мин./min	0,15 [0,10; 0,20]	0,40 [0,20; 0,70]	0,10 [0,10; 0,10]	0,006
Stax_ATG, ед. акт./л/U/L	221 [164; 253]	80,3 [29,9; 119,6]	365,0 [307,7;]	<0,0001
Tmax_ATG, мин./min	1,6 [1,6; 1,6]	1,6 [1,4; 2,1]	1,6 [1,6; 1,6]	0,703
Ast, ед. акт./мин./U/min	43,0 [23,7; 73,5]	30,0 [15,6; 54,0]	50,0 [28,0;]	0,142
Vt, мкм/мин./µm/min	64,5 [24,5; 89,0]	40,0 [17,0; 72,5]	50,0 [38,0;]	0,300
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	10,3 [7,9; 17,8]	11,0 [5,6; 15,2]	14,3 [5,9;]	0,682
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	1,95 [1,36; 6,30]	3,5 [2,1; 11,5]	2,2 [1,3;]	0,021
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, µmol/L	71 [49; 141]	94 [67; 146]	73 [51;]	0,262
Прокальцитонин, нг/мл Procalcitonin, ng/mL	3,15 [0,96; 17,43]	4,58 [1,17; 18,49]	2,51 [0,08;]	0,631
Моноциты, % Monocytes, %	8,2 [4,5; 11,0]	5,7 [4,0; 9,1]	3,9 [1,9;]	0,342
Тромбоциты, дебют ×10⁹/л Platelets, debut ×10 ⁹ /L	84,5 [73,0; 96,5]	70,0 [54,0; 88,0]	99,0 [41,0;]	0,064
Тромбоциты, надир ×10⁹/л Platelets, nadir ×10 ⁹ /L	63,5 [35,8; 88,3]	47,0 [25,0; 65,5]	99,0 [38,0;]	0,262
Эритроциты, ×10¹²/л RBC, ×10 ¹² /L	3,7 [3,3; 4,2]	3,7 [2,9; 4,3]	3,9 [2,3;]	0,899
Фибриноген, г/л/Fibrinogen, g/L	3,75 [1,84; 4,93]	2,40 [1,50; 3,34]	4,95 [3,30;]	0,158
D-димер, мкг/л/D-dimer, µg/L	540 [223; 1859]	372 [194; 1305]	330 [230;]	0,715

Примечание: * расчет Q75 невозможен из-за n = 3, кроме переменных с одинаковыми значениями во всех наблюдениях; ** учитывая малое число наблюдений в кластере 1.3, сравнение производилось только между 1.1 и 1.2.

Note: * calculation of Q75 is not possible due to n = 3, excluding variables with the same values in all observations; ** given the small number of observations in cluster 1.3, comparison was made only between 1.1 and 1.2.

Таблица 5. Сравнение больных в зависимости от принадлежности к кластерам в модели № 2
Table 5. Comparison of patients depending on cluster membership in model no. 2

Переменные Variables	Кластеры/Clusters			P
	2.1 (n = 11)	2.2 (n = 46)	2.3 (n = 19)	
РЕСАМ, нг/мл/ng/mL	110,0 [92,9; 154,7]	94,3 [61,1; 121,8]	107,1 [78,6; 134,3]	0,198
Е-селектин, нг/мл E-selectin, ng/mL	74,3 [44,6; 114,6]	49,8 [31,3; 81,1]	67,1 [41,6; 92,2]	0,122
Р-селектин, нг/мл P-selectin, ng/mL	133,4 [98,1; 156,2]	96,3 [69,5; 135,4]	112,6 [76,6; 192,0]	0,175
Кадгерин, нг/мл VE-Cadherin, ng/mL	3696 [2627; 6571]	2762 [2455; 3619]	3664 [2700; 5505]	0,033
Компонент С1q, нг/мл Component C1q, ng/mL	7714 [4296; 13 288]	9187 [6813; 11 102]	7824 [6462; 11 212]	0,727
Компонент С3 α, нг/мл Component C3α, ng/mL	4929 [1109; 9571]	2340 [774; 7833]	4564 [2509; 9598]	0,240
Компонент С5 α, нг/мл Component C5α, ng/mL	4,12 [1,56; 6,76]	7,84 [1,59; 13,23]	3,08 [1,32; 9,68]	0,254
Фактор Н, нг/мл Factor H, ng/mL	0,54 [0,33; 0,76]	0,58 [0,45; 0,89]	0,56 [0,46; 0,72]	0,621
МВЛ, нг/мл/ng/mL	1352 [686; 1749]	660 [183; 1757]	479 [151; 1461]	0,186
МАК, мАЕ/мл TCC, mAE/mL	5440 [4774; 7594]	6275 [4956; 9591]	7455 [4558; 8408]	0,745
Тромбомодулин, нг/мл Thrombomodulin, ng/mL	7,6 [5,6; 10,2]	2,9 [2,0; 4,8]	5,6 [3,5; 8,0]	<0,0001
Антитромбин, % Antithrombin, %	51 [35; 77]	51 [40; 77]	56 [40; 79]	0,853
Тlag, мин./min	1,2 [0,9; 4,0]	1,0 [0,9; 1,9]	1,5 [1,0; 2,7]	0,407
Vi, мкм/мин./μm/min	26,9 [7,8; 47,0]	42,1 [20,7; 65,9]	43,2 [27,8; 59,7]	0,179
Vst, мкм/мин./μm/min	13,9 [7,5; 15,7]	17,7 [10,9; 36,0]	21,1 [13,8; 31,3]	0,220
CS, мкм/CS, μm	651 [454; 866]	782 [484; 1241]	901 [576; 1196]	0,537
D, усл. ед./units	22 416 [10 332; 27 828]	23 502 [17 983; 27 095]	21 909 [9257; 24 749]	0,497
Lag_ATG, мин./min	0,40 [0,10; 0,83]	0,20 [0,10; 0,60]	0,25 [0,10; 0,50]	0,709
Stax_ATG, ед. акт./л/U/l	123 [26; 145]	123 [77; 210]	110 [78; 227]	0,346
Tmax_ATG, мин./min	2,1 [1,6; 3,1]	1,6 [1,6; 1,6]	1,6 [1,6; 2,1]	0,131
Ast, ед. акт./мин./U/min	30,0 [15,4; 63,0]	30,0 [18,5; 50,0]	25,0 [17,0; 40,0]	0,557
Vt, мкм/мин./μm/min	27,0 [10,0; 80,0]	44,0 [13,5; 76,3]	30,0 [15,0; 75,0]	0,956
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	12,0 [9,5; 15,8]	7,6 [5,2; 11,1]	11,8 [8,5; 15,8]	0,013
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	9,00 [3,36; 15,25]	2,05 [1,70; 5,00]	2,95 [2,0; 9,48]	0,002
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/l	127 [75; 266]	70 [52; 105]	123 [70; 193]	0,002
Прокальцитонин, нг/мл Procalcitonin, ng/mL	5,80 [2,67; 15,17]	2,33 [0,32; 12,13]	2,87 [0,85; 9,64]	0,213
Моноциты/Monocytes, %	5,3 [2,8; 8,9]	6,5 [4,3; 9,0]	8,9 [4,0; 13,0]	0,280
Тромбоциты, дебют ×10 ⁹ /л Platelets, debut ×10 ⁹ /L	69,0 [62,0; 75,8]	80,0 [61,0; 85,5]	86,0 [51,0; 94,0]	0,503
Тромбоциты, надир, ×10 ⁹ /л Platelets, nadir, ×10 ⁹ /L	42,5 [31,3; 51,5]	61,5 [41,8; 85,5]	49,0 [27,0; 84,0]	0,157
Эритроциты, ×10 ¹² /л RBC, ×10 ¹² /L	3,3 [2,7; 4,3]	3,4 [2,7; 4,0]	3,7 [3,1; 4,0]	0,523
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/L	2,45 [1,676; 3,81]	3,27 [2,14; 4,69]	3,19 [1,90; 3,79]	0,439
Д-димер, мкг/л D-dimer, μg/L	361 [211; 2018]	477 [253; 1397]	746 [206; 1545]	0,976

Таблица 6. Сравнение больных в зависимости от принадлежности к кластерам в модели № 3
Table 6. Comparison of patients depending on cluster membership in model no. 3

Переменные Variables	Кластеры/Clusters			P
	3.1 (n = 25)	3.2 (n = 44)	3.3 (n = 7)	
TFPI, нг/мл/ng/mL	159 [134; 295]	198 [126; 309]	155 [86; 253]	0,510
Тромбомодулин, нг/мл Thrombomodulin, ng/mL	5,1 [3,1; 7,4]	3,0 [2,0; 5,0]	7,5 [6,0; 9,0]	0,001
Антитромбин, % Antithrombin, %	49 [33; 81]	50 [41; 72]	60 [47; 76]	0,953
Синдекан, нг/мл Syndecan-1, ng/mL	10,3 [8,2; 14,8]	8,3 [4,2; 15,1]	5,4 [3,5; 15,0]	0,786
Гепарансульфат, пг/мл Heparansulfate, pg/mL	10 174 [3278; 15 274]	5126 [2507; 7500]	12 445 [4581; 17 878]	0,028
Е-селектин, нг/мл E-selectin, ng/mL	74,3 [40,1; 103,9]	49,8 [30,2; 69,1]	87,7 [57,3; 114,6]	0,023
Компонент С1q, нг/мл Component C1q, ng/mL	8634 [5647; 15 361]	9371 [6435; 11 249]	7272 [4728; 8304]	0,308
Компонент С3а, нг/мл Component C3a, ng/mL	4976 [1963; 9740]	1961 [538; 6000]	7280 [4970; 10 138]	0,002
Компонент С5а, нг/мл Component C5a, ng/mL	6,20 [1,64; 11,20]	3,56 [1,26; 12,39]	8,76 [8,00; 12,32]	0,154
Фактор Н, нг/мл Factor H, ng/mL	0,56 [0,34; 0,76]	0,54 [0,44; 0,79]	0,76 [0,53; 0,92]	0,229
МВЛ, нг/мл/ng/mL	623 [228; 1748]	743 [210; 1722]	346 [169; 1630]	0,615
МАК, мАЕ/мл TCC, mAE/mL	7222 [4350; 9686]	6162 [4781; 7527]	11 885 [5440; 22 351]	0,048
Тlag, мин./min	1,3 [1,0; 3,6]	1,1 [0,9; 1,8]	1,6 [0,9; 2,0]	0,467
Vi, мкм/мин./µm/min	40,8 [16,2; 57,2]	44,1 [21,0; 65,8]	39,4 [23,4; 61,1]	0,716
Vst, мкм/мин./µm/min	15,2 [8,3; 30,4]	17,7 [10,9; 36,7]	19,7 [13,4; 27,8]	0,686
CS, мкм/µm	712 [216; 1094]	803 [516; 1200]	850 [585; 1847]	0,360
D, усл. ед./units	18 693 [10 909; 26 920]	23 970 [18 302; 27 343]	21 504 [20 660; 24 215]	0,241
Lag_ATG, мин./min.	0,20 [0,10; 0,50]	0,25 [0,10; 0,60]	0,30 [0,20; 0,50]	0,428
Сmax_ATG, ед. акт./л Сmax_ATG, U/l	577 [240; 905]	539 [324; 931]	376 [252; 798]	0,673
Tmax_ATG, мин./min	126 [32; 202]	123 [83; 208]	78 [65; 162]	0,592
Ast, ед. акт./мин./U/min	1,6 [1,6; 2,1]	1,6 [1,6; 2,1]	1,6 [1,6; 2,1]	0,798
Vt, мкм/мин./µm/min	50,0 [14,0; 75,0]	35,0 [15,8; 73,8]	24,0 [15,0; 100,0]	0,992
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	10,4 [6,7; 14,9]	10,1 [5,9; 14,0]	4,6 [4,1; 8,0]	0,046
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	3,85 [1,93; 13,45]	2,50 [1,80; 6,00]	2,90 [2,10; 5,00]	0,439
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, µmol/L	104 [59; 137]	74 [59; 147]	67 [59; 70]	0,181
Прокальцитонин, нг/мл Procalcitonin, ng/mL	3,05 [0,89; 16,75]	2,60 [0,68; 8,56]	0,87 [0,24; 14,0]	0,602
Моноциты, % Monocytes, %	7,5 [5,0; 11,0]	5,9 [4,0; 8,5]	14,0 [7,6; 15,0]	0,033
Тромбоциты, дебют ×10 ⁹ /л Platelets, debut ×10 ⁹ /L	84,5 [64,8; 89,8]	73,0 [57,3; 88,8]	87,0 [66,0; 95,0]	0,508
Тромбоциты, надир, ×10 ⁹ /л Platelets, nadir, ×10 ⁹ /L	60,0 [31,5; 87,8]	52,0 [34,0; 72,5]	61,0 [33,0; 150,0]	0,328
Эритроциты, ×10 ¹² /л RBC, ×10 ¹² /L	3,7 [3,1; 4,3]	3,1 [2,7; 4,0]	4,3 [3,6; 5,3]	0,015
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/L	2,54 [1,79; 3,58]	3,28 [2,09; 5,05]	3,44 [2,28; 5,67]	0,199
D-димер, мкг/л D-dimer, µg/L	611 [68; 1829]	560 [277; 1565]	211 [72; 670]	0,268

перфузии тканей, возникновение и прогрессирование полиорганной недостаточности. ТТП-подобный синдром, характеризующийся активацией и повреждением эндотелия, предполагает угнетение образования тромбина вблизи активатора и уменьшение скорости образования фибринового сгустка ввиду большей концентрации растворимых компонентов гликокаликса в плазме с увеличением ее антикоагулянтного потенциала [10,11]. Таким образом, механизмы развития тромбоцитопении в рамках ТТП-подобного синдрома принципиально отличаются от потребления тромбоцитов при ДВС.

Генерация тромбина — автоволновой процесс. Вблизи активатора его интенсивность зависит от концентрации активатора. По мере удаления от активатора эта зависимость исчезает, амплитуда волны активности тромбина снижается и становится постоянной [12]. Можно полагать, что стационарная амплитуда пика тромбина и скорость распространения пика тромбина определяются соотношением про- и антикоагулянтов на разном удалении от активатора. При этом если факторы свертывания — преимущественно составные элементы плазмы крови, то антикоагулянты — элементы эндотелия [13].

Как следует из представленного исследования, тромбообразование представляет собой функцию от активности естественных антикоагулянтов, которая сопряжена с глубиной повреждения эндотелия (рис. 1). Модель № 1 демонстрирует угнетение генерации тромбина на активаторе и образование фибрина на фоне

максимальных значений тромбомодулина в кластере 1.2, характеризующемся более выраженным повреждением эндотелия. Если в модели № 1 роль ТФРІ не столь очевидна, то в модели № 2 минимальный эндогенный потенциал тромбина отмечен у больных с наибольшими концентрациями ТФРІ, синдекана-1 и гепарансульфата (кластер 2.1). Роль антитромбина в контроле генерации тромбина не до конца ясна [14]. Отмечены отчетливые положительные корреляции между образованием тромбина на активаторе и активностью антитромбина в плазме. Можно полагать, что высвобождение антитромбина из связи с гликозаминогликанами эндотелия при его повреждении увеличивает его плазменный пул и повышает антикоагулянтный потенциал плазмы. С другой стороны, снижение его активности в плазме может быть связано с высокой концентрацией свободных гликозаминогликанов, образующих комплекс с антитромбином [15], а также с образованием комплексов «тромбин — антитромбин», т.е. с фактом реализации данного потенциала. Таким образом, если высокие концентрации тромбомодулина и ТФРІ отражают нарастание потенциала антикоагулянтов, то изменение активности антитромбина не может интерпретироваться однозначно [16].

На основании модели № 1 и уравнения регрессии (1) можно утверждать, что ведущим повреждающим фактором при ТТП-подобном синдроме выступает компонент (рис. 1). Несмотря на то что кластер 1.1 отличаются более высокие концентрации С1q и МАК, более выраженное повреждение отмечается в кластере 1.2.

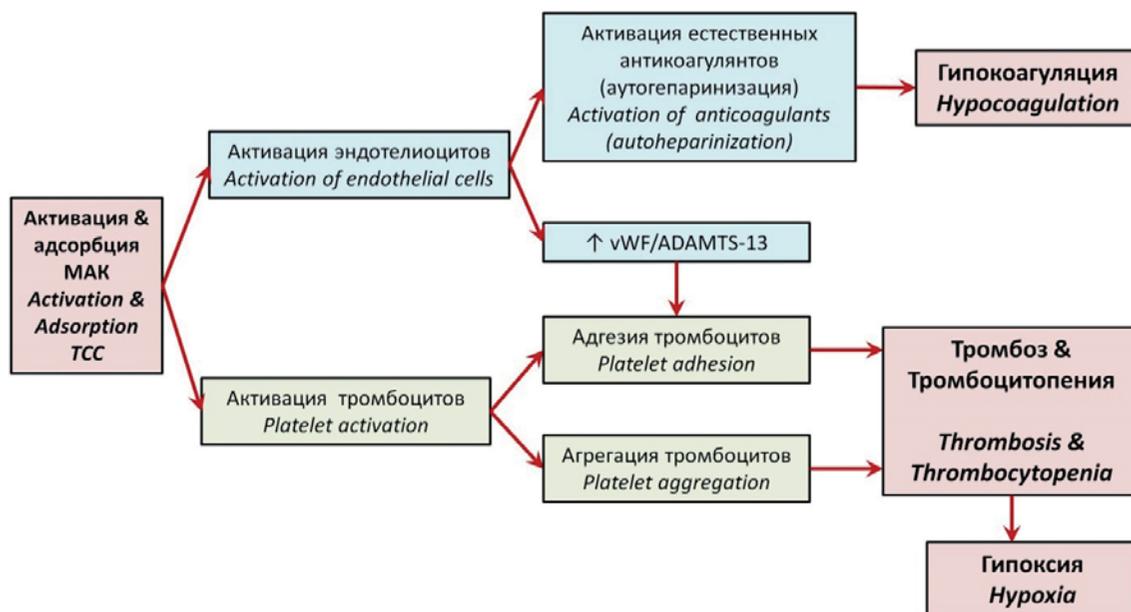


Рисунок 1. Патогенез тромбозов при ТТП-подобном синдроме. Активация комплемента и образование МАК приводят к активации тромбоцитов и эндотелиоцитов. На этом фоне увеличивается секреция vWF и потребление ADAMTS-13, а также высвобождение естественных антикоагулянтов. Последние тормозят генерацию тромбина и образование фибринового сгустка. Адгезия и активация тромбоцитов, обусловленная вышеуказанными факторами, приводит к развитию микротромбозов с развитием гипоксии органов

Figure 1. Pathogenesis of thrombosis in TTP-like syndrome. Activation of complement and formation of Terminal Complement Complex (TCC) leads to activation of platelets and endothelial cells. Against this background, secretion of vWF and consumption of ADAMTS-13 increases, as well as the release of natural anticoagulants. The latter inhibit the generation of thrombin and the formation of a fibrin clot. Adhesion and activation of platelets, caused by the above factors, leads to the development of microthrombosis with the development of organ hypoxia

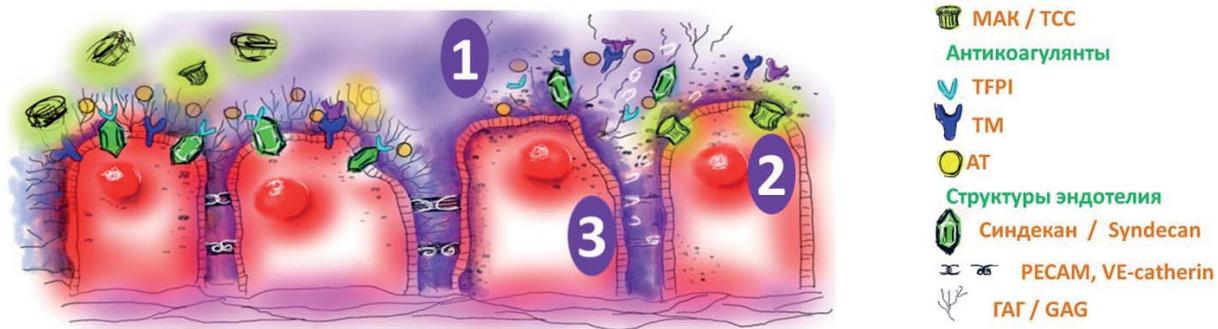


Рисунок 2. Этапы комплементарно-тромбоцитарно-эндотелиоцитарных взаимодействий при ТТП-подобном синдроме: 1 — десквамация гликокаликса эндотелия, аутогепаринизация; 2 — адсорбция мембран-атакующего комплекса, возрастающая по мере утраты гликокаликса; 3 — разрушение плотных контактов, некроз эндотелиоцитов (МАК-мембраноатакующий комплекс, TFPI — ингибитор пути тканевого фактора, TM — тромбомодулин, AT — антитромбин; ГАГ — гликозаминогликаны)
Figure 2. Stages of complement-platelet-endothelial cell interactions in TTP-like syndrome: 1 — desquamation of the endothelial glycocalyx, autoheparinization, 2 — adsorption of the membrane attack complex, 3 — destruction of tight junctions, necrosis of endothelial cells (TCC — Terminal complement complex, TFPI- Tissue factor pathway inhibitor, TM — Thrombomodulin, AT — Antithrombin; GAG — Glycosaminoglycans)

Десквамация гликокаликса эндотелия обеспечивает облегченные условия для осаждения МАК на эндотелиоцитах (рис. 2) [17] со снижением концентрации его растворенных форм, вызывая некроз эндотелиоцитов и разрушение межклеточных контактов, приводя к увеличению концентрации PECAM и тромбомодулина. Последний же является фактором, ограничивающим генерацию тромбина и образование фибрина [18]. Кроме эндотелия, мишенью для МАК являются и тромбоциты (рис. 1) [19]. Ситуация усугубляется дефицитом эндотелий-зависимого ингибитора комплемента — фактора Н [20], а также влиянием тромбина на альтернативный путь активации комплемента. Подтверждением глубоких нарушений у больных кластера 1.2 является более выраженные у них гипоксия и тромбоцитопения.

Модель № 2, а также приведенные уравнения регрессии (1) и (2) демонстрируют динамику повреждения гликокаликса эндотелия (рис. 2) и связанное с ним угнетение генерации тромбина на активаторе (рис. 1). Наименьшую степень повреждения эндотелия имели больные кластера 2.2, для которых отмечены наименьшие концентрации синдекана-1, гепарансульфата, VE-кадгерина, а также тромбомодулина и TFPI. В этом же кластере отмечались в наибольшей степени сохраненный потенциал генерации тромбина, наименьшие проявления гипоксии и почечного повреждения, а также наименьшая летальность (30,4%). По мере нарастания глубины повреждения от кластера 2.3 к кластеру 2.1 отмечалось увеличение концентраций синдекана-1, гепарансульфата, тромбомодулина с одновременным истощением потенциала для генерации тромбина и ухудшением прогноза для больного (летальность в кластере 2.3 достигала 60%). На преимущественное повреждение гликокаликса указывают отсутствие различий в концентрации PECAM, селектинов и VE-кадгерина. Разрушение гликокаликса вызывает нарушение не только в системе свертывания крови, но также и иных функций эндотелия [21].

Также, как эндогенный тромбиновый потенциал, стационарная амплитуда пика тромбина находилась

в сильной связи с тяжестью повреждения эндотелия. Минимальная активность тромбина на удалении от активатора (кластер 3.3) отмечена при максимальной степени повреждения эндотелия, выходящей за рамки гликокаликса и сопровождающейся как минимум разрушением межклеточных контактов, как максимум — некрозом эндотелиоцитов. При такой степени разрушения МАК все больше утрачивает свой субстрат.

Десквамация гликокаликса, с одной стороны, угнетает рекрутинг тромбоцитов, с другой же, в том числе на фоне увеличения экспрессии Р-селектина, вызывает адгезию тромбоцитов [22]. Наряду с селектинами и PECAM существенное значение в адгезии тромбоцитов может иметь баланс между vWF и АМАМТS-13 (рис. 1). Секрция первого возрастает на фоне активации эндотелия и дегрануляции тромбоцитов. Фиксации vWF к эндотелию способствует увеличенная экспрессия Р-селектина [23]. Активность ADAMTS13 возрастает по мере активации vWF [24], но в условиях шока может быстро истощаться, обуславливая рост активности vWF. Активация тромбоцитов и повреждение эндотелиоцитов, в том числе за счет образования микровезикул [25], сопровождается увеличением площади поверхности фосфолипидных мембран, что может на определенном этапе снижать концентрацию факторов свертывания на них и скорость реакций коагуляционного каскада [26].

В данных условиях стандартные клоттинговые тесты утрачивают должную репрезентативность, так как оценивают отдельные реакции коагуляционного каскада, не учитывают пространственную неоднородность процесса свертывания крови и степени активации клеточных элементов, что может приводить к ошибкам их интерпретации.

Исходя из полученных результатов можно предполагать, что рутинная тромбопрофилактика (препараты гепарина) у больных в критическом состоянии с ТТП-подобным синдромом не обеспечивает предупреждения прогрессии тромбозов. У больных с синдромом полиорганной недостаточности и тромбоцитопенией целесообразно определение баланса vWF

и ADAMTS13. Увеличение их отношения указывает на наличие ТТП-подобного синдрома.

Разработка терапии ТТП-подобного синдрома может вестись по следующим направлениям: применение антител к GPIb, применение антикомплементарных препаратов (в дебюте заболевания), ингибирование vWF или применение рекомбинантного ADAMTS13. Все вышепредставленные предположения обоснованы только теоретически и требуют дополнительных клинических исследований.

Таким образом, ТТП-подобный синдром характеризуется угнетением генерации тромбина, степень кото-

рого зависит от глубины повреждения эндотелия. Это обусловлено активацией систем естественных антикоагулянтов. Устойчивость эндотелия к мембран-атакующему комплексу снижается по мере увеличения десквамации его гликокаликса, что сопровождается углублением разрушения эндотелия. Параллельно происходит комплемент-опосредованная активация тромбоцитов. Глубокое повреждение эндотелия, а также развитие артериальных микротромбозов, несмотря на низкую генерацию тромбина, приводят к нарастающей гипоксического повреждения органов и ухудшению результатов лечения.

Литература

1. Chang J.C. TTP-like syndrome: novel concept and molecular pathogenesis of endotheliopathy-associated vascular microthrombotic disease. *Thromb J.* 2018;16:20. DOI: 10.1186/s12959-018-0174-4.
2. Schneider S.W., Nuschele S., Wixforth A., et al. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(19):7899–903. DOI: 10.1073/pnas.0608422104.
3. Li L., Wang S., Han K., et al. Quantifying shear-induced margination and adhesion of platelets in microvascular blood flow. *J Mol Biol.* 2023;435(1):167824. DOI: 10.1016/j.jmb.2022.167824.
4. Rawish E., Sauter M., Sauter R., et al. Complement, inflammation and thrombosis. *Br. J Pharmacol.* 2021;178(14):2892–904. DOI: 10.1111/bph.15476.
5. Pągowska-Klimek I., Swierzek A.S., Michalski M., et al. Mannose-binding lectin (MBL) insufficiency protects against the development of systemic inflammatory response after pediatric cardiac surgery. *Immunobiology.* 2016;221(2):175–81. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.09.010.
6. Weitz I.C. Complement the hemostatic system: an intimate relationship. *Thromb Res.* 2014;133 Suppl 2:S117–21. DOI: 10.1016/S0049-3848(14)50020-5.
7. Должикова А.С., Бедров А.Я., Моисеев А.А. и др. Синдром хронического диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, ассоциированный с аневризмой аорты. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.* 2021;63(3):208–15.
8. Bartoszko J., Karkouti K. Managing the coagulopathy associated with cardiopulmonary bypass. *J Thromb Haemost.* 2021;19:617–32. DOI: 10.1111/jth.15195.
9. Bartoszko J., Li H., Fitzgerald J., et al. The association of thrombin generation with bleeding outcomes in cardiac surgery: a prospective observational study. *Can J Anaesth.* 2022;69:311–22. DOI: 10.1007/s12630-021-02165-1.
10. Pesonen E., Passov A., Andersson S., et al. Glycocalyx degradation and inflammation in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019;33:341–5. DOI: 10.1053/j.jvca.2018.04.007.
11. Passov A., Schramko A., Salminen U.S., et al. Endothelial glycocalyx during early reperfusion in patients undergoing cardiac surgery. *PLoS one.* 2021;16:e0251747. DOI: 10.1371/journal.pone.0251747.
12. Ermakova E.A., Panteleev M.A., Shnol E.E. Blood coagulation and propagation of autowaves in flow. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2005;34:135–42. DOI: 10.1159/000089933.
13. Hunt B.J., Jurd K.M. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process. *BMJ.* 1998;316:1328–9. DOI: 10.1136/bmj.316.7141.1328.
14. Карахалис Н.Б. Эффективность интраоперационной гепаринизации у пациентов с врожденными пороками сердца: возможные факторы риска гепаринорезистентности. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.* 2022;64:86–93. DOI: 10.24022/0236-2791-2022-64-1-86-93.

References

1. Chang J.C. TTP-like syndrome: novel concept and molecular pathogenesis of endotheliopathy-associated vascular microthrombotic disease. *Thromb J.* 2018;16:20. DOI: 10.1186/s12959-018-0174-4.
2. Schneider S.W., Nuschele S., Wixforth A., et al. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(19):7899–903. DOI: 10.1073/pnas.0608422104.
3. Li L., Wang S., Han K., et al. Quantifying shear-induced margination and adhesion of platelets in microvascular blood flow. *J Mol Biol.* 2023;435(1):167824. DOI: 10.1016/j.jmb.2022.167824.
4. Rawish E., Sauter M., Sauter R., et al. Complement, inflammation and thrombosis. *Br. J Pharmacol.* 2021;178(14):2892–904. DOI: 10.1111/bph.15476.
5. Pągowska-Klimek I., Swierzek A.S., Michalski M., et al. Mannose-binding lectin (MBL) insufficiency protects against the development of systemic inflammatory response after pediatric cardiac surgery. *Immunobiology.* 2016;221(2):175–81. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.09.010.
6. Weitz I.C. Complement the hemostatic system: an intimate relationship. *Thromb Res.* 2014;133 Suppl 2:S117–21. DOI: 10.1016/S0049-3848(14)50020-5.
7. Dolzhikova A.S., Bedrov A.Ya., Moiseev A.A., et al. Management of chronic disseminated intravascular coagulation associated with aortic aneurysm. *Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya.* 2021;63(3):208–15 (In Russian). DOI: 10.24022/0236-2791-2021-63-3-208-215.
8. Bartoszko J., Karkouti K. Managing the coagulopathy associated with cardiopulmonary bypass. *J Thromb Haemost.* 2021;19:617–32. DOI: 10.1111/jth.15195.
9. Bartoszko J., Li H., Fitzgerald J., et al. The association of thrombin generation with bleeding outcomes in cardiac surgery: a prospective observational study. *Can J Anaesth.* 2022;69:311–22. DOI: 10.1007/s12630-021-02165-1.
10. Pesonen E., Passov A., Andersson S., et al. Glycocalyx degradation and inflammation in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019;33:341–45. DOI: 10.1053/j.jvca.2018.04.007.
11. Passov A., Schramko A., Salminen U.S., et al. Endothelial glycocalyx during early reperfusion in patients undergoing cardiac surgery. *PLoS one.* 2021;16:e0251747. DOI: 10.1371/journal.pone.0251747.
12. Ermakova E.A., Panteleev M.A., Shnol E.E. Blood coagulation and propagation of autowaves in flow. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2005;34:135–42. DOI: 10.1159/000089933.
13. Hunt B.J., Jurd K.M. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process. *BMJ.* 1998;316:1328–9. DOI: 10.1136/bmj.316.7141.1328.
14. Karakhalis N.B. Effectiveness of intraoperative heparinization in patients with congenital heart diseases: possible risk factors for heparin resistance. *Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya.* 2022;64:86–93 (In Russian). DOI: 10.24022/0236-2791-2022-64-1-86-93.

15. Selim J., Hamzaoui M., Boukhalifa I., et al. Cardiopulmonary bypass increases endothelial dysfunction after pulmonary ischaemia-reperfusion in an animal model. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2021;59:1037–47. DOI: 10.1093/ejcts/ezaa412.
16. Бокерия Л.А., Абдулгасанов Р.А., Гасымов Э.Г., Абдулгасанова М.Р. Роль маркеров дисфункции эндотелия в патогенезе сепсиса и острого респираторного дистресс-синдрома. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.* 2021;63:20–9. DOI: 10.24022/0236-2791-2021-63-1-20-29.
17. Lukoyanova N., Hoogenboom B.W., Saibil H.R. The membrane attack complex, perforin and cholesterol-dependent cytolysin superfamily of pore-forming proteins. *J Cell Sci.* 2016;129:2125–33. DOI: 10.1242/jcs.182741.
18. Pasma J.J., Posthuma J.J., Spronk H.M. Coagulation and non-coagulation effects of thrombin. *J Thromb Haemost.* 2016;14:1908–16. DOI: 10.1111/jth.13441.
19. Valencia C.M., Hersh A.R., Burwick R.M., et al. Soluble concentrations of the terminal complement complex C5b-9 correlate with end-organ injury in preeclampsia. *Pregnancy hypertens.* 2022;29:92–7. DOI: 10.1016/j.preghy.2022.07.001.
20. Buhe V., Loisel S., Pers J.O., et al. Updating the physiology, exploration and disease relevance of complement factor H. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23:397–404. DOI: 10.1177/039463201002300202.
21. Garcia J.G. Molecular mechanisms of thrombin-induced human and bovine endothelial cell activation. *J Lab Clin Med.* 1992;120:513–9. PMID: 1402326.
22. Bangalore H., Carter M.J., Parmar K., et al. Degradation of the endothelial glycocalyx contributes to metabolic acidosis in children following cardiopulmonary bypass surgery. *Pediatr Crit Care Med.* 2021;22:e571–81. DOI: 10.1097/PCC.0000000000002746.
23. Беляева Е.Л., Колосков А.В., Дивакова Ю.В. и др. Изменения уровня Р-селектина при эндотелиальной дисфункции у пациентов с острыми сердечно-сосудистыми событиями и сепсисом. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2024;2:54–9. DOI: 10.25555/THR.2024.2.1099.
24. Muia J., Zhu J., Gupta G. et al. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:18584–9. DOI: 10.1073/pnas.1413282112.
25. Пантелеев М.А., Шибекко А.М., Нечипуренко Д.Ю. и др. Гемостаз и тромбоз. Пространственная организация биохимических процессов на микроуровне. *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии.* 2022;39:163–71. DOI: 10.31857/S0233475522030094.
26. Матвиенко О.Ю., Смирнова О.А., Головина О.Г. Роль микрочастиц плазмы крови в развитии прокоагулянтных изменений у пациентов. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2024;2:48–53. DOI: 10.25555/THR.2024.2.1098.
15. Selim J., Hamzaoui M., Boukhalifa I., et al. Cardiopulmonary bypass increases endothelial dysfunction after pulmonary ischaemia-reperfusion in an animal model. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2021;59:1037–47. DOI: 10.1093/ejcts/ezaa412.
16. Bockeria L.A., Abdulgasanov R.A., Gasymov E.G., Abdulgasanova M.R. Role of endothelial dysfunction markers in sepsis and acute respiratory distress syndrome pathogenesis. *Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya.* 2021;63:20–9 (In Russian). DOI: 10.24022/0236-2791-2021-63-1-20-29.
17. Lukoyanova N., Hoogenboom B.W., Saibil H.R. The membrane attack complex, perforin and cholesterol-dependent cytolysin superfamily of pore-forming proteins. *J Cell Sci.* 2016;129:2125–33. DOI: 10.1242/jcs.182741.
18. Pasma J.J., Posthuma J.J., Spronk H.M. Coagulation and non-coagulation effects of thrombin. *J Thromb Haemost.* 2016;14:1908–16. DOI: 10.1111/jth.13441.
19. Valencia C.M., Hersh A.R., Burwick R.M., et al. Soluble concentrations of the terminal complement complex C5b-9 correlate with end-organ injury in preeclampsia. *Pregnancy hypertens.* 2022;29:92–7. DOI: 10.1016/j.preghy.2022.07.001.
20. Buhe V., Loisel S., Pers J.O., et al. Updating the physiology, exploration and disease relevance of complement factor H. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23:397–404. DOI: 10.1177/039463201002300202.
21. Garcia J.G. Molecular mechanisms of thrombin-induced human and bovine endothelial cell activation. *J Lab Clin Med.* 1992;120:513–9. PMID: 1402326.
22. Bangalore H., Carter M.J., Parmar K., et al. Degradation of the endothelial glycocalyx contributes to metabolic acidosis in children following cardiopulmonary bypass surgery. *Pediatr Crit Care Med.* 2021;22:e571–81. DOI: 10.1097/PCC.0000000000002746.
23. Beliaeva E.L., Koloskov A.V., Divakova YU.V. et al. Changes of P-selectin level in endothelial dysfunction in patients with acute cardiovascular events and sepsis. *Tromboz, gemostaz i reologiya.* 2024;2:54–9 (In Russian). DOI: 10.25555/THR.2024.2.1099.
24. Muia J., Zhu J., Gupta G. et al. Allosteric activation of ADAMTS13 by von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:18584–9. DOI: 10.1073/pnas.1413282112.
25. Panteleev M.A., Shibeko A.M., Nechipurenko D.Y., et al. Hemostasis and thrombosis. Spatial organization of the biochemical processes at microscale. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* 2022;39:163–71 (In Russian). DOI: 10.31857/S0233475522030094.
26. Matvienko O.Yu., Smirnova O.A., Golovina O.G. The role of blood plasma microparticles in the development of procoagulant changes in patients. *Thrombosis, hemostasis and rheology.* 2024;2:48–53 (In Russian). DOI: 10.25555/THR.2024.2.1098.

Информация об авторах

Купряшов Алексей Анатольевич*, доктор медицинских наук, заведующий отделом патологических состояний системы крови в кардиохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail kupriashov2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7673-4762>

Information about the authors

Aleksey A. Kupryashov*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathological Conditions of the Blood System in Cardiac Surgery, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail kupriashov2007@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7673-4762>;

Токмакова Ксения Александровна, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник отдела патологических состояний системы крови в кардиохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail katokmakova@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5874-1803>.

Самуилова Дания Шавкетовна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела патологических состояний системы крови в кардиохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail d.samuilova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4116>

Жемарина Ирина Борисовна, врач клинико-диагностической лаборатории № 1 отделения трансфузиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail ibzhemarina@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7162-4628>

Хичева Галина Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела патологических состояний системы крови в кардиохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail gakhicheva@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6081-643X4>

Хайдаров Голиб Абдукабирович, младший научный сотрудник отдела патологических состояний системы крови в кардиохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail gakhaydarov@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1350-4809>.

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 22.12.2024

Принята к печати: 10.06.2025

Ksenia A. Tokmakova, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Department of Pathological Conditions of the Blood System in Cardiac Surgery, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail katokmakova@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5874-1803>

Daniya Sh. Samuilova, Dr. Sci. (Biol.), Chief Researcher of the Department of Pathological Conditions of the Blood System in Cardiac Surgery, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail d.samuilova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4116>

Irina B. Zhemarina, physician of the Clinical Diagnostic Laborator, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail ibzhemarina@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7162-4628>

Galina A. Khicheva, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Dept. of Pathological Conditions of the Blood System in Cardiac Surgery, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail gakhicheva@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6081-643X4>

Golib A. Khaidarov, Junior Researcher, Department of Pathological Conditions of the Blood System in Cardiac Surgery, Bakoulev's Center for Cardiovascular Surgery,
e-mail gakhaydarov@bakulev.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1350-4809>

* Corresponding author

Received 22 Dec 2024

Accepted 10 Jun 2025

ВОЗБУДИТЕЛИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Ким А.Ю.*, Зоренко В.Ю., Клясова Г.А.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Эндопротезирование является единственным методом лечения терминальной стадии артропатии у больных гемофилией. Вместе с увеличением количества эндопротезирований растет и количество перипротезных инфекций (ППИ).

Цель: определить наиболее частых возбудителей и их чувствительность к антимикробным препаратам, а также факторы риска развития ППИ у больных гемофилией после эндопротезирования крупных суставов.

Материалы и методы. В ретроспективном исследовании проанализированы случаи ППИ у больных гемофилией, которым в период с 2015 по 2022 гг. было выполнено эндопротезирование крупных суставов, и возбудители данного осложнения

Результаты. Выявлены 80 случаев ППИ: у 61 (76,0%) больного гемофилией А и у 19 (24%) больных гемофилией В. Было 38 (47,5%) случаев первичной инфекции, рецидив инфекции выявлен в 42 (52,5%) эпизодах. Промывную систему с диоксидином или полигексадином использовали в 9 (11,2%) случаях первичной инфекции, во всех остальных случаях применяли тактику двухэтапной ревизии. Выявлено 20 различных возбудителей: 58 (65,0%) грамположительных патогенов, 13 (14,0%) грамотрицательных патогенов, 3 (3,0%) эпизода грибкового поражения. Установить возбудитель в 16 (18,0%) случаях не удалось. Наиболее частыми возбудителями явились *S. aureus* (21,1%) и *S. epidermidis* (21,1%), *E. faecalis* (7,3%). Среди изолятов *S. aureus* было обнаружено 18,8% метициллин-резистентных штаммов. Среди грамотрицательных бактерий выделены *P. aeruginosa* в 6 (7,3%) случаях, все они имели множественную антибиотикорезистентность. Количество случаев ППИ, возникших в первый месяц или первый год, незначительно отличалось от эпизодов, когда инфекционные осложнения возникли в период от года и более. ППИ после ревизионного эндопротезирования чаще всего дебютировали в период от оперативного вмешательства до 12 мес.

Заключение. Наибольший риск возникновения ППИ у больных гемофилией после ревизионного эндопротезирования в течение года после операции. ППИ у больных гемофилией возникает чаще, чем в общей популяции, что обусловлено большим количеством факторов риска у больных гемофилией в сравнении с общей популяцией больных.

Ключевые слова: гемофилия, гемофилическая артропатия, эндопротезирование суставов, перипротезная инфекция, имплант-ассоциированная инфекция

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Ким А.Ю., Зоренко В.Ю., Клясова Г.А. Возбудители перипротезной инфекции у больных гемофилией. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):189–199. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-189-199>

PATHOGENS OF PERIPROSTHETIC INFECTION IN PATIENTS WITH HEMOPHILIA

Kim A.Yu.*, Zorenko V.Yu., Klyasova G.A.

National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Endoprosthetics remains the only method of treating end-stage arthropathy in patients with hemophilia. Along with the increase in the number of endoprosthetics, the number of periprosthetic infections is also on the rise.

Objective. to determine the most common pathogens and their sensitivity to antimicrobial drugs, as well as risk factors for the development of periprosthetic infections in patients with hemophilia after endoprosthetics of large joints.

Materials and methods. A retrospective study analyzed cases of PJI of large joints in patients with hemophilia between 2015 and 2022, along with the causative agents of this complication.

Results. A total of 80 cases of PJI were identified. In patients with hemophilia A, PJI occurred in 76.0% of cases (61 patients), in patients with hemophilia B in 24.0% of cases (19 patients). Primary infection was detected in 47.5% of cases (38 PJI). Relapse of infection was detected in 42 episodes (52.5%). A washing system with dioxidine or polyhexadine was used in 9 cases (11.2%) of primary infection, in all other cases a two-stage revision tactic was used. 20 different pathogens were identified: 58 (65.0%) episodes of gram-positive flora, 13 (14.0%) cases of gram-negative flora, 3 (3.0%) episodes of fungal infection. It was not possible to identify the pathogen in 16 (18.0%) cases. The most common pathogens were *S. aureus* (21.1%) and *S. epidermidis* (21.1%), *E. faecalis* (7.3%). Among *Staphylococcus aureus* isolates, 18.8% were methicillin-resistant strains. Among gram-negative bacteria, *P. aeruginosa* was detected in 6 cases (7.3%), all of which exhibited multiple antibiotic resistance. The number of cases of PJI that arose in the first month or first year did not differ significantly from episodes when infectious complications arose in the period of a year or more. PJI after revision endoprosthetics most often debuted within 12 months after surgery.

Conclusion. The highest risk of PJI in patients with hemophilia occurs within the first year after revision endoprosthetics. PJI develops more frequently in patients with hemophilia than the general population, which is attributed to a greater number of risk factors in patients with hemophilia compared to the general patient population.

Keywords: hemophilia, hemophilic arthropathy, joint replacement, periprosthetic infection, implant-associated infection

Conflict of interest: the authors declare that there is no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Kim A.Yu., Zorenko V.Yu., Klyasova G.A. Pathogens of periprosthetic infection in patients with hemophilia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):189–199 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-189-199>

Введение

Гемофилия — это редкое врожденное нарушение системы свертывания крови, характеризующееся недостаточностью фактора свертывания VIII (FVIII) при гемофилии А или фактора IX (FIX) при гемофилии В. Это генетическое заболевание обусловлено мутациями в гене *FVIII* (*Xq28*) или гене *FIX* (*Xq27*) [1, 2]. Гемофилия наследуется с X-хромосомой по рецессивному прин-

ципу, но до 50,0% больных, у которых впервые диагностирована тяжелая форма гемофилии, не имели семейного анамнеза [1]. Распространенность гемофилии среди населения оценивается как 17,1 на 100 000 мужчин. Распространенность гемофилии А значительно больше, чем гемофилии В, составляя 80–85,0% от всех случаев гемофилии. Гемофилия в подавляющем боль-

шинстве развивается у мужчин, так как для развития проявления данной патологии у женщин необходимо, чтобы обе X-хромосомы имели мутацию, что встречается крайне редко. Женщина с одной пораженной X-хромосомой является носителем гемофилии [2].

Основное проявление гемофилии — спонтанные или развившиеся вследствие травмы кровотечения/кровотечения в мягкие ткани (гематомы и гемартрозы, кровотечения иной локализации встречаются реже). Рецидивирующие кровоизлияния в органы опоры и движения без должной терапии приводят к выраженным грубым деформациям и развитию гемофилической артропатии. Профилактика развития гемофилической артропатии основана на постоянной адекватной профилактической терапии препаратами дефицитных факторов свертывания [1].

При терминальной гемофилической артропатии самым эффективным способом лечения является эндопротезирование суставов, которое широко применяется для лечения деформирующего артроза у больных без коагулопатий [2]. В настоящее время в США выполняется в среднем 527 операций артропластики на 100 000 человек. Согласно прогнозам, к 2030 г. количество таких операций увеличится: для тазобедренного сустава с 572 000 до 633 000, а для коленного сустава — с 1,16 миллиона до 3,48 миллиона [3]. Аналогичные тенденции ожидаются и в Европе, в частности в Англии, Уэльсе и Германии [4, 5], где также предсказывают рост количества подобных вмешательств. С увеличением количества эндопротезирований возрастает и количество ревизионных операций. По оценкам некоторых авторов [6], их частота составит около 10,0% от общего количества первичных вмешательств, что соответствует примерно 400 000 случаев в год. Одной из ключевых причин проведения ревизионных операций является перипротезная инфекция (ППИ). По данным А. М. Schwartz и соавт. [6], к 2030 г. ППИ станет ведущей причиной ревизионных вмешательств. В настоящее время частота ППИ после эндопротезирования тазобедренного сустава в мире варьирует от 0,2 до 2,2% [7], а в онкоортопедии этот показатель достигает 8,5–10,0% [8].

Наиболее частым возбудителем ППИ являются стафилококки: *S. aureus* и *S. epidermidis*. Высокая частота встречаемости данных инфекций объясняется распространением метициллин-резистентных *S. aureus* и *S. epidermidis*, а также тем, что они являются условно-патогенной флорой. Прочие возбудители встречаются значительно реже [9]. В 2019 г. в РФ было выполнено 83 311 операций первичного эндопротезирования тазобедренного сустава, 63 750 операций первичного эндопротезирования коленного сустава, 5197 ревизионных эндопротезирований тазобедренного сустава и 2573 — коленного сустава [10].

Развитие ППИ является грозным осложнением, которое приводит к глубокой инвалидизации больных.

За последние десятилетия частота ППИ у больных гемофилией уменьшилась, но все равно ППИ встречается чаще, чем в общей популяции [1]. Поскольку популяция больных гемофилией небольшая, изучение причин развития ППИ и структуры возбудителей вызывает сложности. Исследования глубоких ППИ у больных гемофилией провели D. L. Powell и соавт. в США [11], но целью исследования был анализ ВИЧ-положительных больных гемофилией, что еще сильнее ограничило когорту исследуемых больных. Прочие исследования проводятся как анализ опыта эндопротезирования больных гемофилией и долгосрочных результатов лечения, поэтому ППИ в этих исследованиях фигурирует как осложнение [12, 13].

По данным отделения травматологии и реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России [14], в период с 1992 по 2014 гг. из 675 эндопротезирований 59 (8,8%) больным потребовалось ревизионное эндопротезирование, у 18 (3,0%) больных развились инфекционные осложнения, у 9 (50,0%) из этих больных после ревизионного эндопротезирования (второго этапа лечения ППИ) возник рецидив инфекции. Среди больных с ингибитором FVIII частота инфекционных осложнений была выше и составила 11,0%.

Таким образом, частота инфекционных осложнений у больных гемофилией после тотального эндопротезирования, требующих ревизионного эндопротезирования, больше, чем в общей популяции. ППИ у больных гемофилией чаще развиваются и рецидивируют. Причины развития такого осложнения требуют дальнейшего исследования с целью профилактики и улучшения результатов лечения.

Цель настоящей работы — определить наиболее частых возбудителей и их чувствительность к антимикробным препаратам, а также факторы риска развития ППИ у больных гемофилией после эндопротезирования крупных суставов.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ 80 случаев ППИ у 41 больного, получавшего лечение в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2015 по 2022 г. Критериями включения в исследование были: диагноз гемофилии А или гемофилии В; диагностированная в условиях стационара ППИ. Для анализа использовали протоколы операций, результаты микробиологических исследований и данные историй болезней.

ППИ диагностировали у больных возрастом от 29 до 66 лет, медиана возраста — 48 лет. Гемофилия А была у 61 (76,0%) больного, гемофилия В — у 19 больных (24,0%). Коленные суставы были поражены в 64 (80,0%) случаях, тазобедренные — в 8 (10,0%) случаях. У 10,0% больных отмечалось инфицирование двух суставов. Среди 80 случаев первичная ППИ выявлена

в 38 (47,5%) эпизодах. В 42 (52,5%) случаях были рецидивы ППИ, которые подразделили по предшествующему анамнезу:

- рецидивы после ревизионного эндопротезирования на том же суставе — 16 (20,0%) эпизодов, причины ревизий различались: от асептической нестабильности до второго этапа лечения ППИ;
- рецидивы ППИ после установки артикулирующего/цементного спейсера — 13 (16,2%) случаев;
- неудовлетворительная заживляемость (расхождение краев раны или появление свищевых ходов), по поводу которой произведена некрэктомия, — 13 (16,2%) случаев.

Промывную систему с диоксином или полигексадином установили в 14 (17,5%) случаях, из которых при неудовлетворительной заживляемости установка произведена совместно с цементным спейсером 5 раз. У 3 больных (7,5%) рецидивирующее течение ППИ привело к ампутации. В 31 (38,8%) случае была свищевая форма инфекции, а также в 31 (38,8%) случае во время операции выявили гнойное отделяемое.

Для классификации полученных данных использовали классификацию ППИ D. T. Tsukayama и соавт. [15], согласно которой ППИ подразделяли на 4 типа, основываясь на времени возникновения после операции и возможного пути инфицирования:

- первый тип — ранняя послеоперационная ППИ, возникшая в течение 30 дней от момента оперативного вмешательства;
- второй тип — поздняя ППИ, возникшая от 1 мес. до года после операции;

- третий тип — острая гематогенная инфекция, возникшая более чем через 1 год с момента операции;
- четвертый тип — случаи, при которых положительные интраоперационные культуры были выявлены при реэндопротезировании по поводу предполагаемой асептической нестабильности.

Первые два типа относили к экзогенной инфекции, полученной в условиях стационара. Этап лечения, на котором производили взятие материалов, и вид материалов представлены в таблице 1.

Количество случаев ППИ, включенных в исследование, значительно превышало число больных, поскольку при некоторых эпизодах инфекционный процесс носил рецидивирующий характер, в том числе ППИ первого типа по классификации D. T. Tsukayama и соавт. [15].

Посев полученного материала производили на питательные среды (кровяной/шоколадный агар и пр.) с последующей инкубацией. При росте колоний проводились макроскопическая, микроскопическая и биохимическая идентификации возбудителей с дальнейшим определением категории антибиотикорезистентности возбудителей в соответствии с актуальными на момент исследования критериями Института клинических и лабораторных стандартов США и Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам методом минимальной подавляющей концентрации (мг/л). В исследовании анализировали только полную резистентность (категория R) к антибиотикам, так как промежуточная чувствительность (I) не позволяла сделать однозначный

Таблица 1. Методика взятия биоматериала на разных этапах лечения
Table 1. Methodology of Biomaterial Collection at Different Stages of Treatment

Этап лечения <i>Treatment stage</i>	Материал для исследования <i>Research material</i>	Методика <i>Methodology</i>
До операции <i>Before surgery</i>	Раневое отделяемое <i>Wound Exudate</i>	Для исследования брали отделяемое из свища при его наличии или суставную жидкость после пункции* <i>Exudate from the fistula if present, or joint fluid after puncture* were used for the study</i>
Во время операции <i>Intraoperative</i>	Биоптат или раневое отделяемое <i>Wound exudate or biopsy specimen</i>	Проводили взятие наиболее измененных тканей области прилегания цемента к костной ткани в местах нестабильности компонентов эндопротеза, на фоне антибактериальной терапии <i>The most altered tissue samples were taken from the area where the cement adjoins the bone tissue in areas of instability of the endoprosthesis components, against the background of antibacterial therapy</i>
После операции <i>Postoperative</i>	Раневое отделяемое <i>Wound Exudate</i>	При наличии отделяемого из области послеоперационной раны производили взятие материала на исследование во время проведения антимикробной терапии <i>In cases where there was discharge from the area of the postoperative wound, material was collected for examination during antimicrobial therapy</i>
Рецидив <i>Relapse</i>	Раневое отделяемое <i>Wound Exudate</i>	При несостоятельности послеоперационной раны или появления свищевых ходов производили взятие материалов во время проведения прежней или эскалированной антимикробной терапии <i>In cases of postoperative wound failure or the appearance of fistulas, material was collected during previous or escalated antimicrobial therapy</i>

Примечание: * при наличии локальной гиперемии и увеличения сустава, лихорадки, болевого синдрома в основном антибактериальная терапия не проводилась, но при переводе из другого стационара терапия могла проводиться.

Note: * in the presence of local hyperemia and enlargement of the joint, fever, pain syndrome, antibacterial therapy was generally not administered, but when transferred from another hospital, therapy could be administered.

вывод об эффективности терапии и требовал индивидуальной клинической оценки, что затруднительно выполнить в рамках ретроспективного исследования. В 9 (11,2%) случаях первичной ППИ, симптомы которой возникли в течение 30 дней после операции, использовали промывную систему с диоксидином или полигексадином. В остальных случаях выполняли двухэтапную ревизию с использованием артикулирующего или цементного спейсера с костным цементом с добавлением гентамицина.

Статистический анализ. Использовали методы описательной статистики. Данные представлены в виде абсолютных значений, процентов.

Результаты

Взятие материалов на микробиологические исследования при ППИ у больных гемофилией было выполнено в 273 случаях. Из 224 посевов раневого отделяемого в 129 (58,1%) случаев патогены не выявлены. Из взятых 39 биоптатов мягких тканей области сустава отрицательные результаты посевов были получены в 24 (61,5%) случаях. Распределение выявленных возбудителей представлено на рисунках 1–3 и таблице 2. Преобладали грамположительные патогены, нередко выявляли грамотрицательные патогены, редко выявляли грибы *Candida parapsilosis*. ППИ с невыявленным возбудителем составили 20,0% от всех случаев.

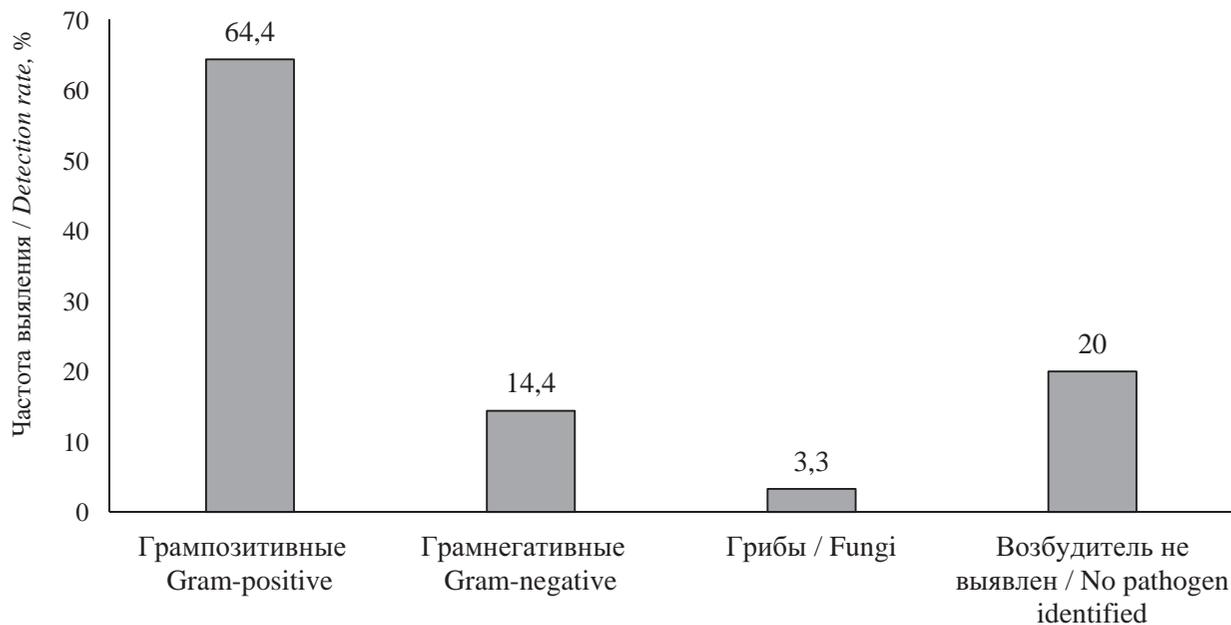


Рисунок 1. Распределение выявленных возбудителей по частоте встречаемости (с учетом микробных ассоциаций как независимых наблюдений)

Figure 1. Distribution of Identified Pathogens by Frequency of Occurrence (Considering Microbial Associations as independent observations)

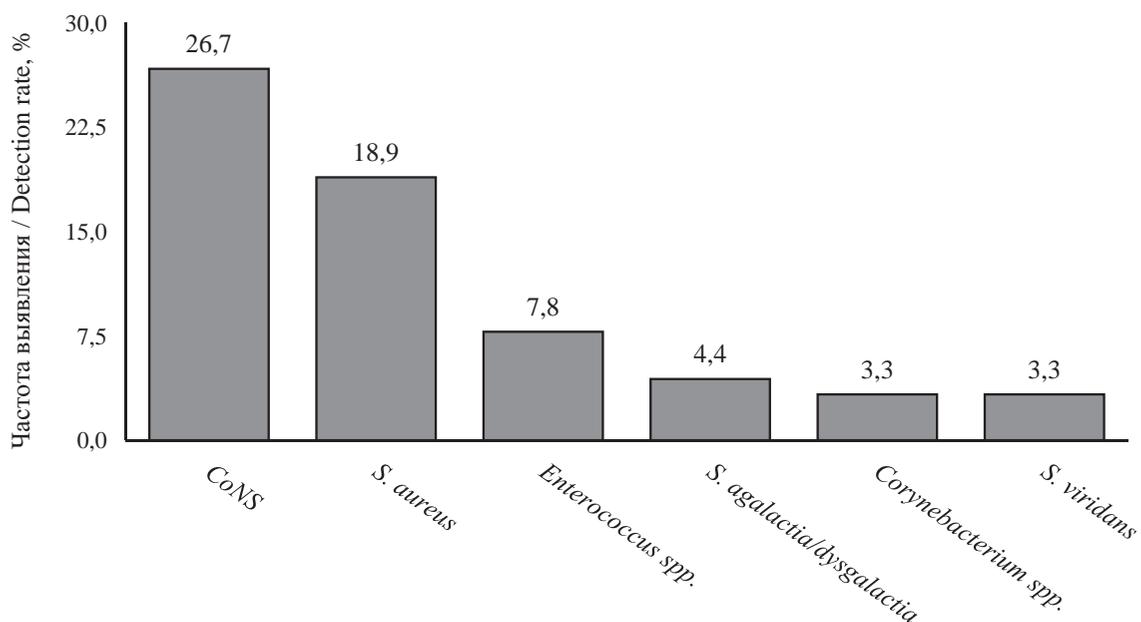


Рисунок 2. Распределение выявленных грамположительных возбудителей. CoNS — коагулазонегативные стафилококки

Figure 2. Distribution of Identified Gram-Positive Pathogens. CoNS — Coagulase-Negative Staphylococci

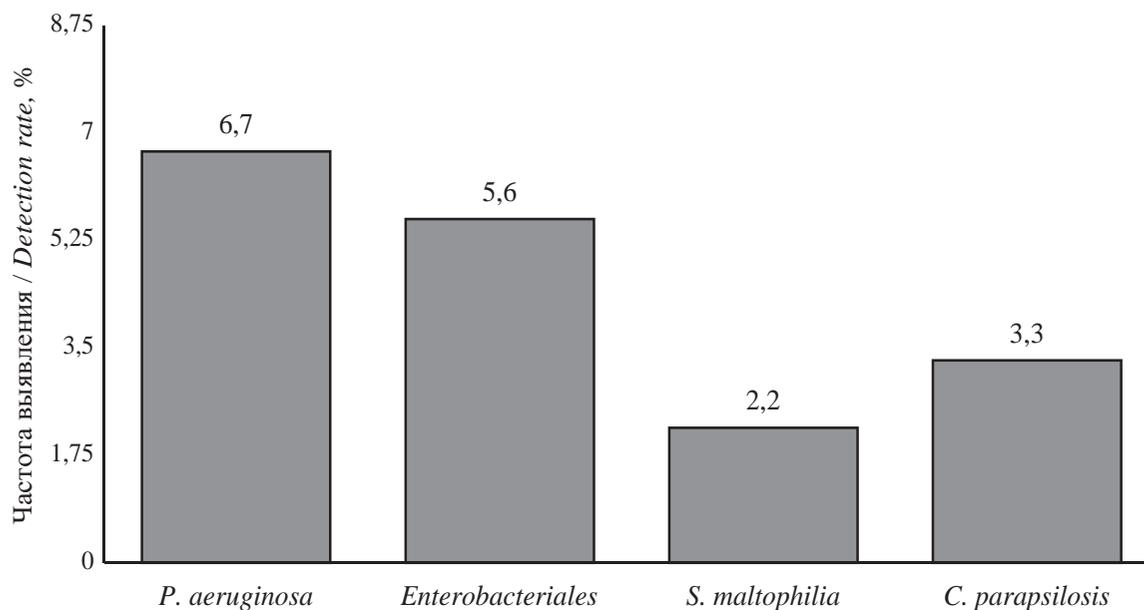


Рисунок 3. Распределение выявленных грамотрицательных возбудителей и *C. parapsilosis*
Figure 3. Distribution of Identified Gram-Negative Pathogens and *C. parapsilosis*

Таблица 2. Возбудители ППИ у больных гемофилией
Table 2. Pathogens of PJI in Hemophilia Patients

Группы	Возбудитель / Pathogen	Количество ППИ* / Number of PJI*
Грамположительные бактерии <i>Gram-positive bacteria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	17 (21,5 %)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	17 (21,5 %)
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3 (3,75 %)
	<i>Staphylococcus hominis</i>	3 (3,75 %)
	<i>Staphylococcus capitis</i>	1 (1,25 %)
	<i>Enterococcus faecalis</i>	6 (7,25 %)
	<i>Enterococcus raffinosus</i>	1 (1,25 %)
	<i>Streptococcus dysagalactiae</i>	3 (3,75 %)
	<i>Streptococcus oralis</i>	2 (2,5 %)
	<i>Streptococcus agalactia</i>	1 (1,25 %)
	<i>Streptococcus mitis</i>	1 (1,25 %)
	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2 (2,5 %)
	<i>Corynebacterium striatum</i>	1 (1,25 %)
Грамотрицательные бактерии <i>Gram-negative bacteria</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (7,25 %)
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (2,5 %)
	<i>Proteus mirabilis</i>	2 (2,5 %)
	<i>Pantnoea calida</i>	1 (1,25 %)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (1,25 %)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (1,25 %)
Грибы / <i>Fungi</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	3 (3,75 %)

Примечание: процентные значения в таблице рассчитаны относительно общего числа эпизодов ППИ, в отличие от представленных в диаграмме данных, где микробные ассоциации учитывались как независимые наблюдения.

Note: the percentages in the table are calculated relative to the total number of PJI episodes, unlike the data presented in the diagram, where microbial associations were considered as independent observations.

Одним возбудителем был вызван 31 (38,8%) эпизод ППИ, остальные случаи (41,2%) представлены микробными ассоциациями. Выявленные виды возбудителей представлены в таблице 2.

Среди грамотрицательных возбудителей с наибольшей частотой выявляли *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 3).

Среди грамположительных бактерий чаще всего встречались *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Из 17 случаев ППИ, вызванных *S. epidermidis*, только 4 были получены в 2 и более образцах. Только *S. aureus* относится к коагулазопозитивным возбудителям, все остальные представители рода — коагулазо-негативные возбудители (рис. 2).

Антибиотикорезистентность полученных возбудителей представлена в таблице 3. Полученные данные скорректированы в соответствии с актуальной ожидаемой резистентностью возбудителя в соответствии с российскими рекомендациями определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [16].

Используя приведенную выше классификацию ППИ [15], в настоящем исследовании, были получены следующие результаты (рис. 4).

К первому типу отнесены 8,8% эпизодов ППИ, все случаи возникли после ревизионного эндопротези-

рования по поводу асептической нестабильности, и у каждого из этих больных имелись маркеры вирусных гепатитов. Ко второму типу ППИ отнесено 42,9% эпизода. У одного больного из сопутствующих заболеваний имелся сахарный диабет, у всех остальных выявлены маркеры вирусных гепатитов. Инфекционные осложнения после артропластики у 48,8% больных относились к третьему типу. Без сопутствующих заболеваний ППИ возникла у 2 больных, у одного больного диагностирован сахарный диабет 2 типа, все остальные больные имели маркеры вирусных гепатитов. ППИ четвертого типа выявлено не было.

Таблица 4. Количество выявленных возбудителей, резистентных к антибиотикам
Table 4. Number of detected antibiotic-resistant pathogens

Антибиотик <i>Antibiotic</i>	<i>Pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. agalactia</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Амикацин <i>Amikacin</i>	R – 1/1 (100%)*					
Меропенем <i>Meropenem</i>	R – 1/1 (100%)					
Цефтазидим <i>Ceftazidime</i>					R – 1/6 (16,7%)	
Оксациллин <i>Oxacillin</i>						R – 3/17 (17,6%)
Колистин <i>Colistin</i>		R – 2/2 (100%)				
Цефепим <i>Cefepime</i>					R – 1/6 (16,7%)	
Цефтаролин <i>Ceftaroline</i>						R – 2/17 (11,8%)
Триметоприм-сульфаметоксазол <i>Trimethoprim-sulfamethoxazole</i>		R – 2/2 (100%)		R – 1/6 (16,7%)		
Пиперацилин-тазобактам <i>Piperacillin-tazobactam</i>					R – 1/6 (16,7%)	
Ципрофлоксацин <i>Ciprofloxacin</i>	R – 1/1 (100%)	R – 2/2 (100%)		R – 1/6 (16,7%)	R – 6/6 (100%)	R – 2/17 (11,8%)
Левифлоксацин <i>Levofloxacin</i>		R – 2/2 (100%)	R – 1/1 (100%)	R – 2/6 (33,3%)	R – 1/6 (16,7%)	R – 4/17 (23,54%)
Норфлоксацин <i>Norfloxacin</i>		R – 2/2 (100%)				
Моксифлоксацин <i>Moxifloxacin</i>						R – 2/17 (11,8%)
Гентамицин <i>Gentamicin</i>		R – 2/2 (100%)				R – 1/17 (5,9%)
Тетрациклин <i>Tetracycline</i>						R – 1/17 (5,9%)
Нитрофурантоин <i>Nitrofurantoin</i>		R – 2/2 (100%)				
Тигециклин <i>Tigecycline</i>		R – 2/2 (100%)				

Примечание: процентные значения в таблице рассчитаны относительно общего числа эпизодов ППИ, вызванных исследуемым возбудителем. R – устойчивые изоляты при минимальной подавляющей концентрации антибиотика.

Note: the percentage values in the table are calculated relative to the total number of PJI episodes caused by the pathogen under study. R – resistant isolates at minimum inhibitory concentration of antibiotic.

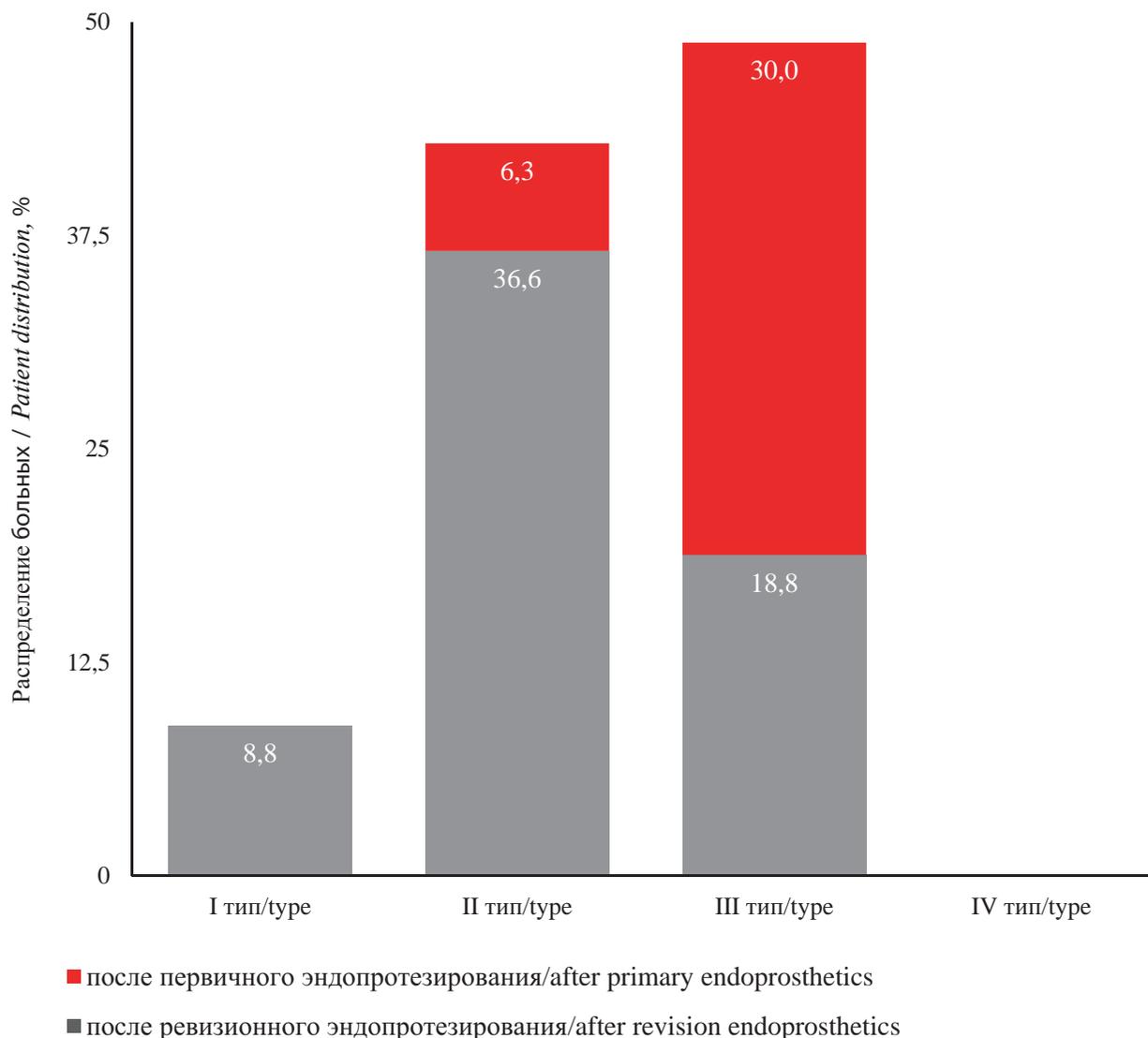


Рисунок 4. Распределение случаев ППИ по времени возникновения (типу) после эндопротезирования
Figure 4. Distribution of PJI cases by time of occurrence (type) after endoprosthetic surgery

Обсуждение

Медиана возраста больных гемофилией, у которых возникла ППИ, была ниже возраста больных ППИ в российских исследованиях [17]. Коленные суставы поражались в большинстве случаев, что обусловлено специфическим повреждением именно этих суставов, характерным для гемофилической артропатии: частота поражения коленных суставов — до 45%, тазобедренных — 3–5% [1]. Схожее соотношение изолированного поражения коленных (80 случаев) и тазобедренных (10 случаев) суставов отмечено и в настоящем исследовании.

Наиболее частым возбудителем ППИ у больных гемофилией являлись *S. epidermidis* и *S. aureus*, что соответствует результатам отечественных исследований [17]. Увеличение доли *S. epidermidis* в качестве возбудителя ППИ у больных гемофилией может быть объяснено дополнительным риском, характерным для больных гемофилией: большинство больных получают заместительную гемостатическую терапию препаратами факторов свертывания в до-

машних условиях, где соблюдение правил асептики и антисептики может быть осложнено, из-за чего происходит транслокация кожной микрофлоры в кровеносное русло с последующим оседанием их на металлических компонентах эндопротеза. Важна роль коагулазонегативных стафилококков, самой многочисленной группы патогенов в настоящем исследовании, которые характерны для имплант-ассоциированной инфекции [18].

При оценке результатов резистентности обращает внимание появление значительной доли (17,7%) метициллин-резистентного штамма среди изолятов *S. aureus* и штамм *K. pneumoniae*, продуцирующий карбапенемазы, что осложняло диагностику и терапию данного осложнения. Однако все штаммы *S. epidermidis* были чувствительны к ванкомицину, все изоляты *E. faecalis* сохраняли чувствительность к ампициллину и ванкомицину, а штаммы *P. aeruginosa* — к меропенему и имипенему, что соответствует российским рекомендациям определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [16].

Важно время, через которое возникала инфекция после протезирования, и кратность протезирования. Наибольший риск возникновения ППИ у больных гемофилией был в случаях ревизионного эндопротезирования в течение года после операции. При гематогенной инфекции, возникшей на более позднем сроке, частота возникновения после ревизионного эндопротезирования заметно снижалась (85,29% против 62,16% соответственно). Данные, полученные в настоящем исследовании, отличаются от результатов, полученных в исследовании А. В. Цискарашвили и соавт. [17], согласно которому превалировала ранняя инфекция после первичного протезирования. Однако данные настоящего исследования соответствуют результатам Н. Venito и соавт. [19], в которых превалировала третья группа, но все еще доля острой гематогенной инфекции через год и более после протезирования была мала. Такие расхождения можно объяснить малой группой больных, наличием у подавляющего большинства маркеров перенесенного вирусного гепатита, перенесенными трансфузиями компонентов донорской крови, а также предыдущими многократными вмешательствами на нескольких суставах, так

как именно органы опоры и движения наиболее часто страдают при гемофилии.

Ревизионное эндопротезирование, вирусные гепатиты В и С, сахарный диабет, гемотрансфузии, коагулопатия, мужской пол — все это признанные факторы риска ППИ [20], которые выявлены и у больных гемофилией.

Таким образом, больные гемофилией, которым выполнялась артропластика суставов, имели дополнительные факторы риска, которые повышали вероятность возникновения ППИ. Количество случаев ППИ, возникших в первый месяц или первый год после эндопротезирования, незначительно отличалось от эпизодов, при которых инфекционные осложнения возникли в период от года и более. Количество ППИ, возникших после ревизионного вмешательства в I и II типах инфекции, по классификации Д. Т. Tsukaуама и соавт. [15], — подавляющее большинство. Результаты классификации эпизодов развития ППИ не соответствуют данным литературы, что можно объяснить большим количеством факторов риска у больных гемофилией по сравнению с общей популяцией больных, которым выполняли эндопротезирование.

Литература

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020;26(6):1–158. DOI: 10.1111/hae.14046.
2. Клинические рекомендации «Гемофилия». 2023». https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_327537/
3. Sloan M., Premkumar A., Sheth N.P. Future Demand for Total Joint Arthroplasty Drives Renewed Interest in Arthroplasty Fellowship. HSS J. 2020;16(2):210–5. DOI: 10.1007/s11420-019-09678-y.
4. Patel A., Pavlou G., Mujica-Mota R.E., et al. The epidemiology of revision total knee and hip arthroplasty in England and Wales: a comparative analysis with projections for the United States. A study using the National Joint Registry dataset. Bone Joint J. 2015;97-B(8):1076–81. DOI: 10.1302/0301-620X.97B8.35170.
5. Pilz V., Hanstein T., Skripitz R. Projections of primary hip arthroplasty in Germany until 2040. Acta Orthop. 2018;89(3):308–3. DOI: 10.1080/17453674.2018.1446463.
6. Schwartz A.M., Farley K.X., Guild G.N., et al. Projections and Epidemiology of Revision Hip and Knee Arthroplasty in the United States to 2030. J Arthroplasty. 2020;35(6S):S79–85. DOI: 10.1016/j.arth.2020.02.030.
7. Flurin L., Greenwood-Quaintance K.E., Patel R. Microbiology of polymicrobial prosthetic joint infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2019;94(3):255–9. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.01.006.
8. Петухова И.Н., Соколовский А.В., Григорьевская З.В. и др. Инфекции, связанные с установкой инородных материалов (протезы, сетки, импланты). Злокачественные опухоли. 2017;7;57–60. DOI: 10.18027/2224-5057-2017-7-3s1-57-60.
9. Клинические рекомендации «Инфекция, ассоциированная с ортопедическими имплантатами». 2020. https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/oslozhneniya-svyazannye-s-vnutrennimi-ortopedicheskimi-proteznymi-ustrojstvami_14114/

References

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020;26(6):1–158. DOI: 10.1111/hae.14046.
2. Clinical Guidelines “Hemophilia”. 2023 (In Russian). https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_327537/
3. Sloan M., Premkumar A., Sheth N.P. Future Demand for Total Joint Arthroplasty Drives Renewed Interest in Arthroplasty Fellowship. HSS J. 2020;16(2):210–5. DOI: 10.1007/s11420-019-09678-y.
4. Patel A., Pavlou G., Mujica-Mota R.E., et al. The epidemiology of revision total knee and hip arthroplasty in England and Wales: a comparative analysis with projections for the United States. A study using the National Joint Registry dataset. Bone Joint J. 2015;97-B(8):1076–81. DOI: 10.1302/0301-620X.97B8.35170.
5. Pilz V., Hanstein T., Skripitz R. Projections of primary hip arthroplasty in Germany until 2040. Acta Orthop. 2018;89(3):308–13. DOI: 10.1080/17453674.2018.1446463.
6. Schwartz A.M., Farley K.X., Guild G.N., et al. Projections and Epidemiology of Revision Hip and Knee Arthroplasty in the United States to 2030. J Arthroplasty. 2020;35(6S):S79–85. DOI: 10.1016/j.arth.2020.02.030.
7. Flurin L., Greenwood-Quaintance K.E., Patel R. Microbiology of polymicrobial prosthetic joint infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2019;94(3):255–9. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.01.006.
8. Petukhova I.N., Sokolovskii A.V., Grigorievskaya Z.V., et al. Infections associated with the implantation of foreign materials (prostheses, meshes, implants). Zlokachestvennye opukholi. 2017;7;57–60 (In Russian). DOI: 10.18027/2224-5057-2017-7-3s1-57-60.
9. Clinical Guidelines “Infections Associated with Orthopedic Implants”. 2020 (In Russian). https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/oslozhneniya-svyazannye-s-vnutrennimi-ortopedicheskimi-proteznymi-ustrojstvami_14114/

10. Середина А.П., Кочиш А.А., Черный А.А. и др. Эпидемиология эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов и перипротезной инфекции в Российской Федерации. *Травматология и ортопедия России*. 2021;27(3):84–93. DOI: 10.21823/2311-2905-2021-27-3-84-93.
11. Powell D.L., Whitener C.J., Dye C.E., et al. Knee and hip arthroplasty infection rates in persons with haemophilia: a 27 year single center experience during the HIV epidemic. *USA Haemophilia*. 2005;11:233–9. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2005.01081.x
12. Song S.J., Bae J.K., Park C.H., et al. Mid-term outcomes and complications of total knee arthroplasty in haemophilic arthropathy: A review of consecutive 131 knees between 2006 and 2015 in a single institute. *Haemophilia*. 2018;24:299–306. DOI: 10.1111/hae.1338313652516.
13. Beeton K., Rodriguez-Merchan E. C., Alltree J. Total joint arthroplasty in haemophilia *Haemophilia*. 2000;6:474–81. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2000.00443.x.
14. Зоренко В.Ю., Полянская Т.Ю., Карпов Е.Е. и др. Опыт эндопротезирования в лечении гемофилической артропатии. *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(2):70–74. DOI: 10.18821/0234-5730/2017-62-2-70-74.
15. Tsukayama D.T., Estrada R., Gustilo R.B. Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. *The Journal of bone and joint surgery*. 1996;78(4):512–23.
16. Российские рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». 2024. 192 с. ISBN 978-5-91812-253-2
17. Цискарашвили А.В., Меликова Р.Э., Новожилова Е.А. Анализ шестилетнего мониторинга основных возбудителей перипротезной инфекции крупных суставов и их тенденция к резистентности. *Гений ортопедии*. 2022;28(2):179–88. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-2-179-188.
18. Бабушкина И.В., Бондаренко А.С., Мамонова И.А., Ульянов В.Ю. Образование биопленок штаммами стафилококка, выделенными из различного биологического материала при инфекционных осложнениях тотального эндопротезирования коленного сустава. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2019;15(2):261–6.
19. Benito N., Mur I., Ribera A., et al. The Different Microbial Etiology of Prosthetic Joint Infections according to Route of Acquisition and Time after Prosthesis Implantation, Including the Role of Multidrug-Resistant Organisms. *REIPI Group for the Study of Prosthetic Joint Infections; GEIO, SEIMC. J. Clin. Med.* 2019;8(5):673. DOI: 10.3390/jcm8050673.
20. Schwarz E.M., Parvizi J., Gehrke T., et al. 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection: Research Priorities from the General Assembly Questions. *J Orthop Res*. 2019;37:997–1006. DOI: 10.1002/jor.24293.
10. Sereda A.P., Kochish A.A., Cherny A.A., et al. Epidemiology of Hip And Knee Arthroplasty and Periprosthetic Joint Infection in Russian Federation. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2021;27(3):84–93 (In Russian). DOI: 10.21823/2311-2905-2021-27-3-84-93.
11. Powell D.L., Whitener C.J., Dye C.E. et al. Knee and hip arthroplasty infection rates in persons with haemophilia: a 27 year single center experience during the HIV epidemic. *USA Haemophilia*. 2005;11:233–9. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2005.01081.x.
12. Song S.J., Bae J.K., Park C.H., et al. Mid-term outcomes and complications of total knee arthroplasty in haemophilic arthropathy: A review of consecutive 131 knees between 2006 and 2015 in a single institute. *Haemophilia*. 2018;24:299–306. DOI: 10.1111/hae.1338313652516.
13. Beeton K., Rodriguez-Merchan E.C., Alltree J. Total joint arthroplasty in haemophilia *Haemophilia*. 2000;6:474–81. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2000.00443.x.
14. Zorenko V.Yu., Polyanskaya T.Yu., Karpov E.E. Experience of joint replacement in the management of hemophilic arthropathy. *Gematologiya i transfusiologiya*. 2017;62(2):70–4 (In Russian). DOI: 10.18821/0234-5730/2017-62-2-70-74.
15. Tsukayama D.T., Estrada R., Gustilo R.B. Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. *The Journal of bone and joint surgery*. 1996;78(4):512–23.
16. Russian Clinical Guidelines: “Determination of Microorganism Susceptibility to Antimicrobial Agents.”. 2024. 192 с. (In Russian). ISBN 978-5-91812-253-2
17. Tsiskarashvili A.V., Melikova R.E., Novozhilova E.A. Analysis of six-year monitoring of common pathogens causing periprosthetic joint infection of major joints and the tendency to resistance. *Genij Ortopedii*. 2022;28(2):179–88 (In Russian). DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-2-179-188.
18. Babushkina I.V., Bondarenko A.S., Mamonova I.A., Ulyanov V.Yu. Formation of biofilms by Staphylococcus strains isolated from various biological materials in infectious complications of total knee arthroplasty. *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal*. 2019;15(2):261–6 (In Russian).
19. Benito N., Mur I., Ribera A., et al. The Different Microbial Etiology of Prosthetic Joint Infections according to Route of Acquisition and Time after Prosthesis Implantation, Including the Role of Multidrug-Resistant Organisms. *REIPI Group for the Study of Prosthetic Joint Infections; GEIO, SEIMC. J. Clin. Med.* 2019;8(5):673. DOI: 10.3390/jcm8050673.
20. Schwarz E.M., Parvizi J., Gehrke T., et al. 2018 International Consensus Meeting on Musculoskeletal Infection: Research Priorities from the General Assembly Questions. *J Orthop Res*. 2019;37:997–1006. DOI: 10.1002/jor.24293.

Информация об авторах

Ким Александр Юрьевич*, научный сотрудник отделения травматологии и реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: lex.kim05@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8626-9351>

Зоренко Владимир Юрьевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением травматологии и реконструктивно-восстановительно ортопедии для больных гемофилией ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: v.zorenko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2049-850X>

Information about the authors

Alexander Yu. Kim*, Researcher, Department of Traumatology and Reconstructive Orthopedics for Patients with Hemophilia, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: lex.kim05@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8626-9351>

Vladimir Yu. Zorenko, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Traumatology and Reconstructive-Restorative Orthopedics for Patients with Hemophilia of the National Medical Research Center for Hematology, e-mail: v.zorenko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2049-850X>

Клясова Галина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы клинической фармакологии антимикробных препаратов, заведующая отделом микробиологии и антимикробной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: klyasova.g@blood.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Galina A. Klyasova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Group of Clinical Pharmacology of Antimicrobial Drugs, Head of the Department of Microbiology and Antimicrobial Therapy, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: klyasova.g@blood.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 27.01.2025
Принята к печати: 10.06.2025

*** Corresponding author**

Received 27 Jan 2025
Accepted 10 Jun 2025

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И СПЕКТР ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕСФЕРОЦИТАРНОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ ВСЛЕДСТВИЕ ДЕФИЦИТА ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТИЗОМЕРАЗЫ

Кузьмина Ж.А.* , Рахимова Г.У., Манн С.Г., Сметанина Н.С.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Дефицит глюкозо-6-фосфатизомеразы (ГФИ) относится к наследственным несфероцитарным гемолитическим анемиям, имеющим аутосомно-рецессивный тип наследования.

Цель: изучить клинические и генетические данные больных с дефицитом ГФИ.

Больные и методы. В одноцентровом ретроспективном исследовании проанализированы данные медицинской документации больных до 18 лет, которые обращались в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» Минздрава России в период с 2018 по 2024 г. В анализ включены 13 больных из 12 семей, среди них 2 девочки и 11 мальчиков, медиана возраста постановки диагноза — 3,5 года.

Результаты. Все больные имели различной степени тяжести гемолитическую анемию и двое больных из одной семьи имели неврологические симптомы (эпилепсия, тетрапарез, задержка психомоторного развития). Троице больным была выполнена спленэктомия в связи с высокой трансфузионной зависимостью, после чего у них наблюдалось улучшение, однако полного прекращения гемолиза не произошло. Среди больных были идентифицированы 14 различных мутаций в гене GPI, 8 из которых ранее не были описаны. Их патогенность была определена различными алгоритмами.

Заключение. Дефицит ГФИ характеризуется высокой вариабельностью клинических проявлений, требующей индивидуализированного подхода к диагностике и терапии. Полученные результаты подтверждают значимость комплексного обследования, включающего лабораторные и молекулярно-генетические методы.

Ключевые слова: несфероцитарная гемолитическая анемия, гликолиз, гемолиз, анемия, ферментопатия, дефицит глюкозофосфатизомеразы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Кузьмина Ж.А., Рахимова Г.У., Манн С.Г., Сметанина Н.С. Клинические проявления и спектр генетических мутаций хронической наследственной несфероцитарной гемолитической анемии вследствие дефицита глюкозо-6-фосфатизомеразы. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):200–207. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-200-207>

CLINICAL MANIFESTATIONS AND GENETIC SPECTRUM OF CHRONIC HEREDITARY NONSPHEROCYTIC HEMOLYTIC ANEMIA DUE TO GLUCOSE-6-PHOSPHATE ISOMERASE DEFICIENCY

Kuzminova Z.A.* , Rakhimova G.U., Mann S.G., Smetanina N.S.

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction: Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) deficiency is a hereditary nonspherocytic hemolytic anemia with an autosomal recessive inheritance pattern.

Aim: to study the clinical and genetic data of patients with GPI deficiency.

Patients and methods: A single-center retrospective study analyzed medical records of patients under 18 years of age who were admitted to the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology in the period between 2018 to 2024. The analysis included 13 patients from 12 families, 2 girls and 11 boys, with a median age at diagnosis of 3.5 years.

Results: All patients had hemolytic anemia of different verity and 2 patients from the same family had neurological symptoms (epilepsy, tetraparesis, psychomotor retardation). Three patients underwent splenectomy due to high transfusion dependence, after which they showed improvement, but hemolysis was not completely stopped. A total of 14 different mutations in the GPI gene were identified, 8 of which had not been previously described. Their pathogenicity was determined using various algorithms.

Conclusion: GPI deficiency is characterized by high clinical variability, requiring an individualized approach to diagnosis and therapy. The obtained results confirm the importance of a comprehensive examination, including laboratory and genetic testing.

Keywords: nonspherocytic hemolytic anemia, glycolysis, hemolysis, anemia, enzymopathy, glucose phosphate isomerase deficiency

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

Financial disclosure: this study had no sponsorship.

For citation: Kuzminova Z.A., Rakhimova G.U., Mann S.G., Smetanina N.S. Clinical manifestations and genetic spectrum of chronic hereditary nonspherocytic hemolytic anemia due to glucose-6-phosphate isomerase deficiency. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2025; 70(2):200–207 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-200-207>

Введение

Дефицит глюкозо-6-фосфатизомеразы (ГФИ), впервые описанный М. А. Vaughan в 1968 г. [1], проявляется наследственной несфероцитарной гемолитической анемией. Заболевание имеет аутосомно-рецессивный тип наследования. Ген *GPI* расположен на 19-й хромосоме в локусе 13.1 и состоит из 18 экзонов [2, 3]. Точная распространенность и заболеваемость неизвестны. Описано более 90 случаев дефицита ГФИ и 57 мутаций, которые представлены, в основном, миссенс-, нонсенс-, сплайсинг-мутациями и мутациями со сдвигом рамки считывания [3]. Большинство мутаций выяв-

ляются в единичных случаях. Тип или локализация мутаций не коррелируют с тяжестью заболевания [3].

Дефицит ГФИ является третьей по распространенности среди наследственных ферментопатий эритроцитов после дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД) и дефицита пируваткиназы. Фермент ГФИ — это димерный фермент, катализирующий обратимую реакцию изомеризации на втором этапе гликолиза, в результате которой глюкозо-6-фосфат превращается во фруктозо-6-фосфат [4]. Снижение активности ГФИ приводит к энергетической недостаточности клеток,

повышенной хрупкости эритроцитов и их преждевременному разрушению, что объясняет хронический характер анемии [5, 6]. ГФИ экспрессируется во всех тканях организма. Помимо каталитической функции, мономерная форма ГФИ является также цитокином, который действует как аутокринный фактор подвижности опухолевых клеток, ингибитор сериновых протеаз, связанных с миофибриллами, фактор созревания, а также нейротрофический фактор роста), отвечающий за дифференцировку и выживание эмбриональных спинномозговых нейронов, двигательных нейронов скелета и сенсорных нейронов [2, 7].

Дефицит ГФИ проявляется хронической несфероцитарной гемолитической анемией, протекающей от легкой формы до тяжелой степени. В редких случаях могут быть проявления умственной отсталости или нервно-мышечной гипотонии [8]. В литературе описано несколько случаев внутриутробной смерти плода и смерти детей после рождения [9–11].

Цель настоящей работы — изучить клинические и генетические данные больных с дефицитом ГФИ.

Больные и методы

В одноцентровом ретроспективном исследовании проанализированы данные медицинской документации больных до 18 лет, которые обратились в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» Минздрава России в период с 2018 по 2024 г. Исследование не требовало одобрения этическим комитетом, так как были использованы обобщенные ретроспективные деперсонифицированные данные, полученные в рутинной клинической практике.

Дефицит ГФИ был диагностирован у 13 больных из 12 семей, близкородственные браки в семьях отсутствовали.

Проводили стандартные лабораторные исследования, которые включали клинический анализ крови с определением гемоглобина, эритроцитов, эритроцитарных индексов, количества ретикулоцитов, биохимический анализ крови с определением в сыворотке крови активности печеночных трансаминаз, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентраций билирубина, ферритина. С целью диагностики других возможных причин гемолитических анемий, при возможности, оценивали прямую и непрямую пробы Кумбса, проводили морфологическое исследование эритроцитов, тест с эозин-5-малеимидом (ЭМА-тест), оценивали осмотическую резистентность эритроцитов, определяли активность ферментов пируваткиназы и Г-6-ФД.

Генетическое исследование проводили методом высокопроизводительного секвенирования ДНК при использовании таргетных панелей и/или полногеномного секвенирования. Определение активности ГФИ в крови было выполнено только одному больному.

Результаты

В период с 2018 по 2024 гг. в Центре дефицит ГФИ был диагностирован у 13 больных из 12 семей. В таблице 1 представлены основные клинико-лабораторные данные больных.

Отмечено преобладание мальчиков над девочками среди больных, соотношение составило 5,5:1 (11 мальчиков и 2 девочки). Несмотря на то что заболевание манифестировало с рождения или на первом году жизни, медиана возраста установки диагноза составила 3,5 года (рис. 1).

Анемия носила в основном макроцитарный характер с медианой MCV 102,5 фл (диапазон 85,1–122,5 фл.) и варьировала от легкой до тяжелой степени, медиана концентрации гемоглобина в период криза составила 69 г/л (43–94 г/л). У всех больных наблюдались лабораторные признаки гемолиза в виде ретикулоцитоза (медиана 12,44 %, диапазон 3,5–26,8 %), повышение активности ЛДГ (медиана 572 ед/л, диапазон 209–2320 ед/л) и гипербилирубинемия за счет непрямой фракции (медиана общего билирубина 89 мкмоль/л, диапазон 33,6–192 мкмоль/л). У 10 из 13 больных исследовали обмен железа, отмечено повышение концентрации ферритина сыворотки с медианой значения 881 мкг/л (диапазон 190–1620 мкг/л). Двоим больным потребовалось проведение хелаторной терапии.

Только у 2 (15,4 %) из 13 больных, которые являлись сиблингами, наблюдалась неврологическая симптоматика в виде криптогенной фокальной эпилепсии, спастического тетрапареза, выраженной задержки психомоторного развития.

Троим больным была проведена спленэктомия. До оперативного лечения двое детей имели неуточненный диагноз и были высоко трансфузионно зависимыми. После спленэктомии отмечено снижение лабораторных признаков активности гемолиза за счет уменьшения концентрации общего билирубина, нормализации концентрации ЛДГ, уменьшение потребности в заместительных трансфузиях, однако полного прекращения гемолиза не произошло. У одного больного спустя неделю после операции развился неокклюзивный тромбоз ствола воротной вены и левой ветви воротной вены. В результате проведения антикоагулянтной терапии произошло полное разрешение тромбоза через 1 месяц. Четверем больным в связи с осложнением хронического гемолиза в виде желчнокаменной болезни выполнена холецистэктомия.

В таблице 2 представлены данные молекулярно-генетического обследования больных с дефицитом ГФИ.

В настоящем исследовании обнаружено 14 различных мутаций, которые были представлены в основном миссенс-мутациями. В 35 % случаев встречалась мутация с.1039C>T p.(Arg347Cys). У 2 больных выявлена мутация со сдвигом рамки считывания, у одного больного — акцепторный сайт сплайсинга, у больно-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика больных с дефицитом ГФИ
Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients with GPI deficiency

№	Пол Sex	Возраст установки диагноза Age of diagnosis,	Неонатальная желтуха Neonatal jaundice	Спленомегалия Spleno-megaly	СЭ/ХЭ SE/ChE	Нб г/л g/L	Rt %	MCV фл fl	Tbil мкмоль/л μmol/l	ЛДГ ед./л LDG, U/L
1	М	4 мес. 4 months	+	++	-	75	24,7	102,5	33,6	474
2	Ж F	16,5 г. 16.5 years	-	-	+/+	75	8,0	120,0	173,3	338
3	М	2 г. 2 years	+	-	-	61	7,1	122,5	85,1	569
4	М	2,5 г. 2.5 years	+	++	-	43	14,7	90,0	40,9	1810
5	М	9 мес. 9 months	+	-	-	70	3,5	85,1	45,4	614
6	М	6,5 г. 6.5 years	+	+	-/+	45	10,2	110,0	192,0	-
7	Ж F	11 г. 11 years	+	+++	+/+	60	20,0	101,3	89,0	1265
8	М	3,5 г. 3.5 years	-	+	-	51	26,8	100,4	114,2	-
9	М	3,5 г. 3.5 years	-	+	-	69	-	-	90,0	-
10	М	7,5 г. 7.5 years	+	+++	-	72	10,0	102,9	134,9	513
11	М	8,5 г. 8.5 years	+	+	+/+	94	18,38	111,1	87,6	209
12	М	3 г. 3 years	+	+	-	71	-	-	137	575
13	М	1 г 3 мес. 1 year 3 months	-	++	-	64	-	102	75,5	2320

Примечание. М – мужской пол, Ж – женский пол, СЭ/ХЭ – спленэктомия/холецистэктомия, Нб – гемоглобин, Rt – ретикулоциты, MCV (Mean Corpuscular Volume) – средний объем эритроцитов, TBil (Total Bilirubin) – общий билирубин, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.

Note. M – male, F – female, SE/ChE – splenectomy/cholecystectomy, Hb – hemoglobin, Rt – reticulocytes, MCV – Mean Corpuscular Volume, TBil – Total Bilirubin, LDH – Lactate dehydrogenase.

го № 13 – делеция и инсерция в интроне 2 в области полипиримидинового тракта. Гомозиготную мутацию имели 2 из 13 (16,6 %) больных, из разных семей, все остальные являлись компаунд-гетерозиготами. Выявлено 8 новых мутаций, ранее не описанных в литературе (p.Gln551Ter, c.1108C>G p.(Arg370Gly), c.283-1G>A, c.268A>T p.I90F, c.1139G>C p.Trp380Ser, c.1516G>T p.Asp506Tyr, 2), c.1612 C>A p.(His538Asn), c.214-8_214-3delinsG). Для данных мутаций применялись программы предсказания патогенности (SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, UMD Predictor, Human Splicing Finder, NNSplice).

У одного больного с наличием двух ранее не описанных мутаций было проведено исследование активности фермента ГФИ в крови, которая составила 14,6 % от нормы. Таким образом, патогенность мутаций была подтверждена функционально. Также у данного больного были обследованы родители, выявлено, что оба родителя являются гетерозиготными носителями.

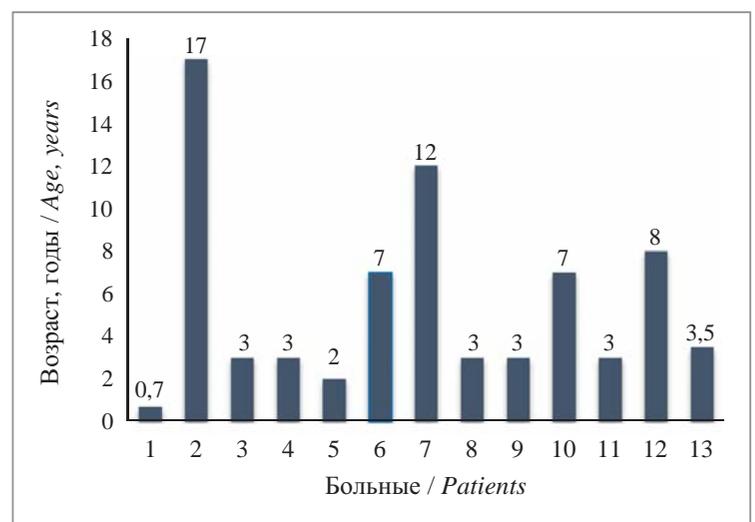


Рисунок 1. Распределение возраста установления диагноза по больным
Figure 1. The age of diagnosis distribution

Таблица 2. Генетическая характеристика больных с дефицитом ГФИ
Table 2. Genetic characteristics of patients with GPI deficiency

№	Ген / Gene	Зиготность / Zygosity	Мутации / Mutations
1	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1039C>T (p.Arg347Cys) 2) Gln551Ter
2	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1039C>T p.(Arg347Cys) 2) c.1066G>A p.(Asp356Asn)
3	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1108C>G p.(Arg370Gly) 2) c.283-1G>A
4	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.268A>T (p.I90F) 2) c.1660delG (p.E554Rfs*82)
5	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.268A>T (p.I90F) 2) c.1660delG (p.E554Rfs*82)
6	GPI	Гомозигота Homozygote	c.1028A>G (p.Q343R)
7	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1039C>T (p.Arg347Cys) 2) c.1139G>C (p.Trp380Ser)
8	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.572A>G p.(His191Arg) 2) c.1028A>G p.(Gln343Arg)
9	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1028A>G (p.Q343R) 2) c.1039C>T (p.Arg347Cys)
10	GPI	Гомозигота Homozygote	c.1028A>G (p.Q343R)
11	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.259G>T (p.Gly87Cys) 2) c.1516G>T (p.Asp506Tyr)
12	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1039C>T p.(Arg347Cys) 2) c.1612 C>A p.(His538Asn)
13	GPI	Компаунд-гетерозигота Compound heterozygote	1) c.1028A>G p.(Q343R) 2) c.214-8_214-3delinsG

Обсуждение

Дефицит ГФИ проявляется редкой формой хронической наследственной несфероцитарной гемолитической анемии, которая имеет значительное клиническое и генетическое разнообразие. Полученные в настоящей работе данные подтверждают, что дефицит ГФИ может иметь широкий спектр клинических проявлений: от легкой анемии до тяжелых трансфузионно зависимых состояний, различные неврологические симптомы. Часто больным устанавливают диагноз поздно из-за сложности диагностики и недостаточной доступности проведения генетического анализа [3, 12].

У всех больных клинически имела место хроническая гемолитическая несфероцитарная анемия, и только 2 больных (15,4%), сиблинги из одной семьи, имели неврологические проявления, что может быть связано с функцией ГФИ как нейроексцитина [13]. Подобные наблюдения ранее были описаны в литературе, в них дефицит ГФИ ассоциировался с нейродегенеративными изменениями [4, 6, 8].

У больных выявлено 14 различных мутаций, из которых 8 ранее не описаны, что подтверждает молекулярную гетерогенность заболевания и необходимость расширенной генетической диагностики. Среди наиболее частых выявленных мутаций:

1. *c.1028A>G (p.Q343R)* — обнаружена у 5 больных, включая двух гомозиготных носителей. Данная мутация приводит к замене глутамина на аргинин в позиции 343, что может нарушать стабильность белка и его каталитическую активность. Эта мутация ранее была описана как патогенная [14, 15].

2. *c.1039C>T (p.Arg347Cys)* — обнаружена у нескольких больных, преимущественно в составе компаунд-гетерозиготных комбинаций. Замена аргинина на цистеин в позиции 347, вероятно, изменяет структурную целостность фермента, снижая его функциональную активность. Данная мутация широко представлена в различных популяциях и ассоциирована с умеренной или тяжелой гемолитической анемией. Выявление высокой частоты мутации p.Arg347Cys в нашей выборке согласуется с литературными данными, согласно которым эта замена является одной из наиболее распространенных причин дефицита ГФИ [4].

Специфического лечения дефицита ГФИ не существует. Применяется симптоматическая терапия в виде заместительных трансфузий эритроцитсодержащими компонентами крови, профилактика инфекций, мониторинг желчнокаменной болезни, ограничение окислительного воздействия, дотация фолиевой кислоты [16]. Трансфузионно-зависимым больным может быть выполнена спленэктомия [12]. Удаление селезенки позволяет снизить скорость раз-

рушения эритроцитов, что приводит к уменьшению потребности в переливаниях эритроцитсодержащих компонентов крови, однако данный метод лечения не является универсальным. Как отметили W. Kugler и M. Lakomek [2], спленэктомия эффективна только у больных с выраженной спленомегалией, у остальных ее эффективность ограничена. В настоящем исследовании у 3 больных была проведена спленэктомия, что привело к снижению частоты трансфузий, однако не обеспечило полной независимости от переливаний крови. E. Fermo и соавт. [4] сообщили о схожих результатах: потребность в переливании крови значительно снизилась после спленэктомии. Это подтверждает необходимость тщательной оценки целесообразности данной процедуры.

У 1 из 13 больных после спленэктомии развился неокклюзивный тромбоз воротной вены в раннем послеоперационном периоде. Это согласуется с данными о том, что больные после спленэктомии подвержены гиперкоагуляционным состояниям и требуют длительного наблюдения [16]. Более того, после спленэктомии повышается риск инфекций, вызванных инкап-

сулированными бактериями (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*), что требует обязательной вакцинации перед операцией и антибиотикопрофилактики [17].

Перегрузка железом часто развивается у больных из-за частых заместительных трансфузий эритроцитсодержащих компонентов крови, в связи с чем необходимо мониторировать у них обмен железа для своевременного назначения хелаторной терапии [16].

Таким образом, настоящее исследование подтвердило, что дефицит ГФИ является редким, но клинически значимым заболеванием с высокой молекулярной гетерогенностью. Генетическое тестирование играет ключевую роль в диагностике, однако терапия дефицита ГФИ остается симптоматической. Выявление неврологических симптомов у части больных подчеркивает важность изучения роли нейротрофического фактора в патогенезе заболевания. Спленэктомия может быть эффективной в отдельных случаях и требует индивидуального подхода. Необходимы дальнейшие исследования для разработки новых методов лечения и улучшения качества жизни больных.

Литература

1. Baughan M.A., Valentine W.N., Paglia D.E., et al. Hereditary hemolytic anemia associated with glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency — a new enzyme defect of human erythrocytes. *Blood*. 1968;32(2):236–49.
2. Kugler W., Lakomek M. Glucose-6-phosphate isomerase deficiency. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13(1):89–101. DOI: 10.1053/beha.1999.0059.
3. Dhankar M., Mandal P., Singh R. Unusual cause of haemolytic anaemia: Glucose phosphate isomerase (GPI) deficiency. *Pediatr Hematol Oncol J*. 2024;9(4):283–6. DOI: 10.1016/j.phoj.2024.08.001.
4. Kedar P.S., Dongerdiye R., Chilwirwar P., et al. Glucose Phosphate Isomerase Deficiency: High Prevalence of p.Arg347His Mutation in Indian Population Associated with Severe Hereditary Non-Spherocytic Hemolytic Anemia Coupled with Neurological Dysfunction. *Indian J Pediatr*. 2019;86:692–9. DOI: 10.1007/s12098-019-02928-1.
5. Chaplin D.D. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):S3–23. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.980.
6. Watanabe H., Takehira Y., Date M. Neuroprotective properties of neuroleukin against ischemic brain injury. *J Neurochem*. 2019;150(6):751–64. DOI: 10.1111/jnc.14760.
7. Manco L., Bento C., Victor B.L. Hereditary nonspherocytic hemolytic anemia caused by red cell glucose-6-phosphate isomerase (GPI) deficiency in two Portuguese patients: Clinical features and molecular study. *Blood Cells Mol Dis*. 2016;60:18–23. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.002.
8. Wang Y., Liu T., Liu J.Y., et al. The novel compound heterozygous variants identified in a Chinese family with glucosephosphate isomerase deficiency and pathogenicity analysis. *BMC Med Genomics*. 2023;16:162. DOI: 10.1186/s12920-023-01603-x
9. Eber S.W., Gahr M., Lakomek M., et al. Clinical symptoms and biochemical properties of three new glucosephosphate isomerase variants. *Blut*. 1986;53:21–8.
10. Schröter W., Eber S.W., Bardosi A., et al. Generalised glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency causing haemolytic anaemia, neuromuscular symp-

References

1. Baughan M.A., Valentine W.N., Paglia D.E., et al. Hereditary hemolytic anemia associated with glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency — a new enzyme defect of human erythrocytes. *Blood*. 1968;32(2):236–49.
2. Kugler W., Lakomek M. Glucose-6-phosphate isomerase deficiency. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13(1):89–101. DOI: 10.1053/beha.1999.0059.
3. Dhankar M., Mandal P., Singh R. Unusual cause of haemolytic anaemia: Glucose phosphate isomerase (GPI) deficiency. *Pediatr Hematol Oncol J*. 2024;9(4):283–6. DOI: 10.1016/j.phoj.2024.08.001.
4. Kedar P.S., Dongerdiye R., Chilwirwar P., et al. Glucose Phosphate Isomerase Deficiency: High Prevalence of p.Arg347His Mutation in Indian Population Associated with Severe Hereditary Non-Spherocytic Hemolytic Anemia Coupled with Neurological Dysfunction. *Indian J Pediatr*. 2019;86:692–9. DOI: 10.1007/s12098-019-02928-1.
5. Chaplin D.D. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):S3–23. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.980.
6. Watanabe H., Takehira Y., Date M. Neuroprotective properties of neuroleukin against ischemic brain injury. *J Neurochem*. 2019;150(6):751–64. DOI: 10.1111/jnc.14760.
7. Manco L., Bento C., Victor B.L. Hereditary nonspherocytic hemolytic anemia caused by red cell glucose-6-phosphate isomerase (GPI) deficiency in two Portuguese patients: Clinical features and molecular study. *Blood Cells Mol Dis*. 2016;60:18–23. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.002.
8. Wang Y., Liu T., Liu J.Y., et al. The novel compound heterozygous variants identified in a Chinese family with glucosephosphate isomerase deficiency and pathogenicity analysis. *BMC Med Genomics*. 2023;16:162. DOI: 10.1186/s12920-023-01603-x
9. Eber S.W., Gahr M., Lakomek M., et al. Clinical symptoms and biochemical properties of three new glucosephosphate isomerase variants. *Blut*. 1986;53:21–8.
10. Schröter W., Eber S.W., Bardosi A., et al. Generalised glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency causing haemolytic anaemia, neuromuscular symp-

toms and impairment of granulocytic function: a new syndrome due to a new stable GPI variant with diminished specific activity (GPI Homburg). *Eur J Pediatr.* 1985;144:301–5.

11. Ravindranath Y., Paglia D.E., Warriar I., et al. Glucose phosphate isomerase deficiency as a cause of hydrops fetalis. *N Engl J Med* 1987;316:258–61.

12. Fermo E., Vercellati C., Marcello A.P. Clinical and Molecular Spectrum of Glucose-6-Phosphate Isomerase Deficiency. Report of 12 New Cases. *Front Physiol.* 2019;10:467. DOI: 10.3389/fphys.2019.00467.

13. Нечаевских В.И., Попова Е.В. Два случая редкой наследственной гемолитической анемии, вызванной дефицитом глюкозофосфатизомеразы в одной семье. *Здравоохранение Югры: опыт и инновации.* 2019;4(21):68–73.

14. Kanno H., Fujii H., Hirono A., et al. Molecular analysis of glucose phosphate isomerase deficiency associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood.* 1996;88(6):2321–5.

15. Baronciani L., Zanella A., Bianchi P., et al. Study of the molecular defects in glucose phosphate isomerase-deficient patients affected by chronic hemolytic anemia. *Blood.* 1996;88(6):2306–10.

16. Choi S.W., Kim G.H., Lee J.H. Long-term outcomes of splenectomy in patients with hereditary hemolytic anemia: A single-center retrospective study. *Int J Hematol.* 2022;115(4):552–61. DOI: 10.1007/s12185-021-03258-4.

17. Bowen Huang, Zuyi Ma, Tiange Xie, et al. Glucose-6-phosphate isomerase deficiency hemolysis. *Quant Imaging Med Surg.* 2023;13(12):8869–72. DOI: 10.21037/qims-22-1154.

Информация об авторах

Кузьмина Жанна Андреевна*, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела оптимизации лечения гематологических заболеваний (группа изучения анемий и миелопролифераций); гематолог консультативного отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: kuzminova_hematolog@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8586-8586>

Рахимова Гузель Ураловна, гематолог консультативного отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: guzel.rakhimova@dgoi.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3918-6670>

Манн Светлана Геннадьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: svetlana.mann@dgoi.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>

toms and impairment of granulocytic function: a new syndrome due to a new stable GPI variant with diminished specific activity (GPI Homburg). *Eur J Pediatr.* 1985;144:301–5.

11. Ravindranath Y., Paglia D.E., Warriar I., et al. Glucose phosphate isomerase deficiency as a cause of hydrops fetalis. *N Engl J Med* 1987;316:258–61.

12. Fermo E., Vercellati C., Marcello A.P. Clinical and Molecular Spectrum of Glucose-6-Phosphate Isomerase Deficiency. Report of 12 New Cases. *Front Physiol.* 2019;10:467. DOI: 10.3389/fphys.2019.00467.

13. Nechaevskikh V.I., Popova E.V. Two cases of rare hereditary hemolytic anemia caused by glucose phosphate isomerase deficiency in one family. *Zdravochranenie Yugry: opyt I innivatsii.* 2019;4(21):68–73 (In Russian).

14. Kanno H., Fujii H., Hirono A., et al. Molecular analysis of glucose phosphate isomerase deficiency associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood.* 1996;88(6):2321–5.

15. Baronciani L., Zanella A., Bianchi P., et al. Study of the molecular defects in glucose phosphate isomerase-deficient patients affected by chronic hemolytic anemia. *Blood.* 1996;88(6):2306–10.

16. Choi S.W., Kim G.H., Lee J.H. Long-term outcomes of splenectomy in patients with hereditary hemolytic anemia: A single-center retrospective study. *Int J Hematol.* 2022;115(4):552–61. DOI: 10.1007/s12185-021-03258-4.

17. Bowen Huang, Zuyi Ma, Tiange Xie, et al. Glucose-6-phosphate isomerase deficiency hemolysis. *Quant Imaging Med Surg.* 2023;13(12):8869–72. DOI: 10.21037/qims-22-1154.

Information about the authors

Zhanna A. Kuzminova, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Dept of Hematological Diseases treatment optimization (anemia and myeloproliferation study group); Hematologist of Advisory Dept, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology
e-mail: kuzminova_hematolog@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8586-8586>

Guzel U. Rakhimova, hematologist, Advisory Dept, Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
e-mail: guzel.rakhimova@dgoi.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3918-6670>

Svetlana G. Mann, Researcher of the laboratory of molecular biology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,

e-mail: svetlana.mann@dgoi.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1014-5196>

Сметанина Наталья Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора института гематологии, иммунологии и клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: nataliya.smetanina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>

Natalya S. Smetanina, Dr. Sci. (Med.), professor, deputy director of Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
e-mail: nataliya.smetanina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 06.03.2025

Принята к печати: 10.06.2025

*** Corresponding author**

Received 06 Mar 2025

Accepted 10 Jun 2025

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» ПК № 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 переменных 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. Одобренные 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] Drug: INN, Commercial name [Reference]	Таргетный антиген Target antigen	Антигенраспознающий домен Antigen-binding domain	Костимуляторный домен Costimulatory domain	Показания к терапии Indications	Больные Patients	Год одобрения Initial approval
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> ABESMA [13]	BCMA	ьb2121	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.

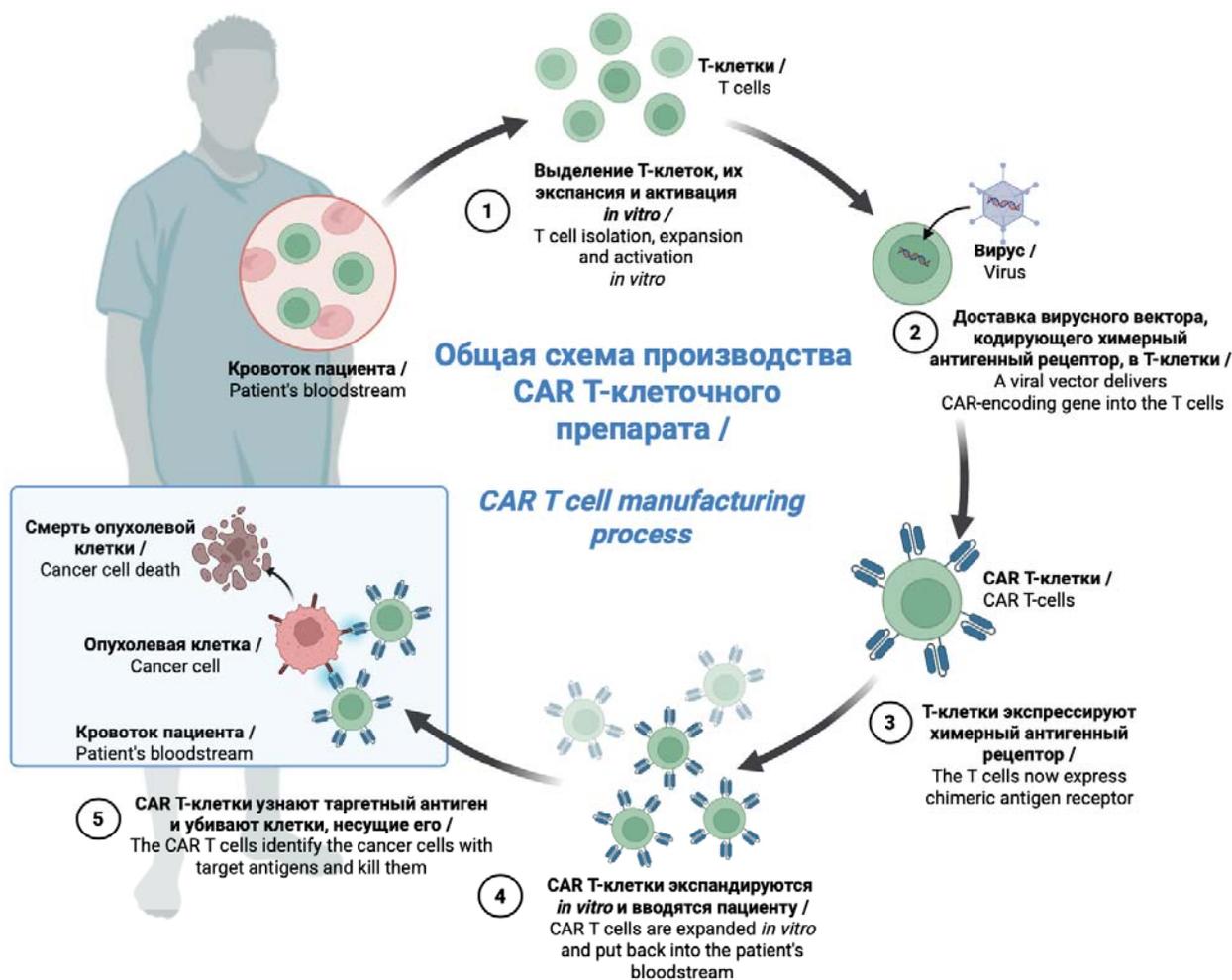


Рисунок 1. Общая схема производства CAR T-клеточного препарата (рисунок создан с помощью сервиса BioRender.com)
Figure 1. General scheme of CAR T-cells manufacturing (the figure created using BioRender.com service)

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 $0,2 \times 10^9$ /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 $(0,5-0,6) \times 10^9$ /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 $0,107 \times 10^9$ /л, тогда как для аллогенного клеточного препарата — $0,057 \times 10^9$ /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 конструкта 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 (транзиентный). 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 мышинового 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 тисагенлейклейцел (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-положительные 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 TТАА, случайно распределенные в геноме. Приблизительная частота TТАА 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 TТАА [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 лисокаптаген 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 T 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 T 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 T-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 T 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 T-клеток

По завершении всех этапов производства проводят инфузию CAR T-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 T-клеточных препаратов

Table 2. Dosage system of FDA-approved anti-CD19 CAR T-cells

Препарат [ссылка] Drug [Reference]	Доза Dosage	Больные Patients
Аксикаптаген цилолеусел <i>Axicaptagene ciloleucel</i> [9]	2×10 ⁶ клеток/кг массы тела 2×10 ⁶ cells/kg of body weight	Взрослые Adults
Брексукаптаген аутолеусел <i>Brexucaptagene autoleucel</i> [11]	(1–2)×10 ⁶ клеток/кг массы тела (1–2)×10 ⁶ cells/kg of body weight	Взрослые Adults
Тисагенлейклецел [10] <i>Tisagenlecleucel</i> [10]	(60–600)×10 ⁶ клеток (60–600)×10 ⁶ cells totally	Взрослые Adults
Тисагенлейклецел [10] <i>Tisagenlecleucel</i> [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] <i>Lisocaptagene maraleucel</i> [12]	(50–110)×10 ⁶ клеток totally (50–110)×10 ⁶ cells totally	Взрослые Adults
Обекаптаген аутолеусел [15] <i>Obecaptagene autoleucel</i> [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 СВЦ, 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 T-клеток наступает между 1-й и 2-й неделями после введения препарата [86].

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

Развитие CAR T-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 CD3 ζ . Ранее были показаны низкие экспансия и персистенция в организме больного после введения таких CAR T-клеточных препаратов [84]. Однако исследования показали длительную персистенцию анти-GD2-CAR T-клеток в течение 18 лет в организме больного, получившего CAR T-клетки для лечения глиобластомы [87].

Дальнейшие исследования механизмов T-клеточной активации, реализующейся через T-клеточный рецептор, показали вклад костимуляторных молекул, таких как CD28 и 4-1BB, в процесс активации T-клеток. Это послужило основанием для использования костимуляторных доменов в конструктах CAR, что привело к созданию CAR T препаратов второго поколения, обладающих выраженной противоопухолевой эффективностью и длительной персистенцией в организме [6]. Именно CAR T-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 T-клеточной терапии [86]. Следующим этапом развития CAR T 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 T-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 T-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 T-клеток, что приводит к активации транскрипционных факторов. 4-1BB активирует транскрипционные факторы NF- κ B и AP-1, а CD28 — NF- κ B, NFAT и AP-1.

CAR T-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 T-клеток, несущих костимуляторный домен CD28, характерна сильная активация, и, как следствие, они быстрее достигают пика экспансии по сравнению с CAR T-клетками, несущими 4-1BB-CAR, также им присуща быстрая элиминация опухолевых клеток [103]. Такие преимущества CD28-CAR T 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 [91] <i>Tisagenlecleucel</i>	Аксикабтаген цилолеусел [92] <i>Axicabtagene ciloleucel</i>	Брексукабтаген аутолеусел [93] <i>Brexucabtagene autoleucel</i>	Лизокабтаген маралеусел [94] <i>Lisocabtagene maraleucel</i>	Обекабтаген аутолеусел [95] <i>Obecabtagene autoleucel</i>	Идекабтаген виклеусел [96] <i>Idecabtagene vicleucel</i>	Цилтакабтаген аутолеусел [97] <i>Ciltacabtagene autoleucel</i>	
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>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>	Лентивирус <i>Lentivirus</i>
Тип промотора <i>Promotor type</i>	EF1α	MSCV	MSCV	И/Н N/A	И/Н N/A	И/Н N/A	И/Н N/A	И/Н N/A
Трансмембранный домен <i>Transmembrane domain</i>	CD8α	CD28	CD28	CD28	CD8α	CD8α	CD8α	CD8α
Антиген-распознающий домен <i>Antigen-binding domain</i>	FMC63	FMC63	FMC63	FMC63	CAT19	bb2121	bb2121	Собственный клон анти-BCMA <i>Private clone of anti-BCMA</i>
Сигнальный домен <i>Signaling domain</i>	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ	CD3ζ
Костимуляторный домен <i>Costimulatory domain</i>	4-1BB	CD28	CD28	4-1BB	4-1BB	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]	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 перicyтами цитокинов ИЛ-6 и ФНО. Кроме того, проникая через гематоэнцефалический барьер, CAR T-клетки начинают атаковать муральные клетки или перicyты 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 — KYMRIA. 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 (PBMT) 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 Cryopreserved 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 — KYMRIA. 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 (PBMT) 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 Cryopreserved 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.ymthe.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.ymthe.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. Atsavaprane 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., Solkiewicz 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., Métails 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., Solkiewicz 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., Métails 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 – KYMRIA. H.
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 – KYMRIA. H.
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., Bieleorai 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., Bieleorai 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.

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>

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.

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

СИНДРОМ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЦИТОКИНОВ ПОСЛЕ ТЕРАПИИ Т-КЛЕТКАМИ С ХИМЕРНЫМ АНТИГЕННЫМ РЕЦЕПТОРОМ: ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ

Лепик К.В.^{1*}, Дергачева Т.Ю.², Попова М.О.¹, Андрианов А.Н.², Самсонов М.Ю.², Моисеев И.С.¹

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197022, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

² АО «Р-Фарм», 123154, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Внедрение терапии Т-клетками с химерным антигенным рецептором (Chimeric antigen receptor, CAR T) в клиническую практику изменило международные стандарты лечения В-клеточных лейкозов, лимфом и множественной миеломы. Наряду с высокой противоопухолевой активностью CAR T-терапия сопровождается нежелательными явлениями: синдром высвобождения цитокинов (СВЦ), с иммунными клетками ассоциированный нейротоксический синдром (ИКАНС), синдром активации макрофагов (САМ).

Цель — представить данные о механизмах иммунной токсичности CAR T-терапии, ее клинических проявлениях, а также стратегиях профилактики и лечения.

Основные сведения. СВЦ — гипервоспалительное состояние, в основе клинических проявлений которого лежат активация и нарушение проницаемости эндотелия. Генетическая предрасположенность к СВЦ связана с полиморфизмом генов адгезии и активации иммунных клеток. В патогенезе играют роль гиперпродукция цитокинов интерлейкинов 1 β , 6, 8, 10, интерферона- γ , снижение экспрессии молекул адгезии эндотелием, гиперпродукция факторов проницаемости, интерстициальный отек органов и их дисфункция. Другие осложнения: ИКАНС и САМ. Терапия СВЦ основывается на применении глюкокортикоидов и антицитокиновой терапии. Значительная доля негативных исходов связана с ИКАНС и САМ. Перспективным направлением лечения является применение антагонистов интерлейкина-1.

Ключевые слова: CAR T, синдром высвобождения цитокинов, синдром активации макрофагов, вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, синдром нейротоксичности, ассоциированный с иммунными эффекторными клетками, антицитокиновая терапия, гофликицепт

Конфликт интересов: Андрианов А. Н., Дергачева Т.Ю., Самсонов М.Ю. являются сотрудниками компании, производящей биологические препараты, остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Лепик К.В., Дергачева Т.Ю., Попова М.О., Андрианов А.Н., Самсонов М.Ю., Моисеев И.С. Синдром высвобождения цитокинов после терапии Т-клетками с химерным антигенным рецептором: патофизиология, клинические проявления и новые подходы к лечению. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):229–244. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-229-244>

CYTOKINE RELEASE SYNDROME FOLLOWING CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR T-CELL THERAPY: PATHOPHYSIOLOGY, CLINICAL MANIFESTATIONS, AND NOVEL THERAPEUTIC APPROACHES

Lepik K.V.,^{1*}, Dergacheva T.Yu.², Popova M.O.¹, Andrianov A.N.², Samsonov M.Yu.², Moiseev I.S.¹

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 197022, Saint Petersburg, Russian Federation

² JSC R-Pharm, 123154, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The introduction of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy into clinical practice has transformed international treatment standards for B-cell leukemias, lymphomas, and multiple myeloma. Alongside its high antitumor activity, CAR T-cell therapy is associated with a unique profile of adverse events, including cytokine release syndrome (CRS), immune cell-associated neurotoxic syndrome (ICANS), and macrophage activation syndrome (MAS).

Aim: To present data on the mechanisms of immune toxicity of CAR T-cell therapy, its clinical manifestations, as well as prevention and treatment strategies.

Basic information. CRS is a self-sustaining hyperinflammatory condition with a specific spectrum of clinical manifestations, driven by endothelial activation and increased permeability. Genetic predisposition to CRS is associated with polymorphisms in genes involved in immune cell adhesion and activation. Key stages of pathogenesis include hyperproduction of cytokines, particularly interleukins (IL)-1 β , 6, 8, 10, and interferon- γ , reduced expression of endothelial adhesion molecules, overproduction of permeability factors, and consequent interstitial organ edema and dysfunction. Conditions closely associated with CRS include immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS) and macrophage activation syndrome/secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis (MAS). Treatment of CRS is based on the use of glucocorticosteroids and anti-cytokine monoclonal antibodies targeting the IL-6 receptor, IL-6 itself, IL-1, and interferon- γ . However, a significant proportion of adverse outcomes are driven by ICANS and MAS. The most promising treatment approach for these conditions currently involves the use of interleukin-1 antagonists, which may mitigate these severe immune toxicities.

Keywords: CAR T, cytokine release syndrome, macrophage activation syndrome, secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis, immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, anti-cytokine therapy

Conflict of interest: A.N. Andrianov, T.Yu. Dergacheva, M.Yu. Samsonov are employees of a company manufacturing therapeutical proteins, the other authors declare that there is no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Lepik K.V., Dergacheva T.Yu., Popova M.O., Andrianov A.N., Samsonov M.Yu., Moiseev I.S. Cytokine release syndrome following chimeric antigen receptor T-cell therapy: Pathophysiology, clinical manifestations, and novel therapeutic approaches. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):229–244. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-229-244>

Введение

Внедрение терапии Т-клетками с химерным антигенным рецептором (Chimeric antigen receptor, CAR) в клиническую практику изменило международные стандарты лечения В-клеточных лейкозов, лимфом и множественной миеломы. В настоящее время в мире одобрено для клинического применения 8 продуктов анти-CD19 CAR Т и 4 продукта анти-BCMA (B-cell

maturation antigen, BCMA) CAR Т [1–12]. Более чем в тысяче клинических исследований испытывают новые CAR Т продукты, нацеленные на широкий спектр антигенов, среди которых можно выделить CD20, CD22 для неходжкинских лимфом, GPRC5D для множественной миеломы, CD30, CD2, CD5 и CD7 для Т-клеточных лейкозов и лимфом, GD2 и CLDN18.2 для

солидных опухолей [6, 13, 14]. CAR T-терапия демонстрирует потенциал и за пределами онкологии, в частности в лечении тяжелых форм аутоиммунных заболеваний [15, 16].

Вместе с противоопухолевым эффектом CAR T-терапия сопровождается серьезными нежелательными явлениями, ключевыми среди которых являются инфекции, синдром высвобождения цитокинов (СВЦ), с иммунными клетками ассоциированный нейротоксический синдром (ИКАНС), продолжительная цитопения и вторичные новообразования [17, 18]. Иммуноопосредованная токсичность является характерной особенностью CAR T-терапии и диктует направление активных исследований ведущих научных и клинических центров.

Цель данного обзора — представить данные о механизмах иммунной токсичности CAR T-терапии, ее клинических проявлениях, а также стратегиях профилактики и лечения.

СВЦ

СВЦ — гипервоспалительное самоподдерживающееся состояние с определенным спектром клинических проявлений, в основе которых лежат активация и нарушение проницаемости эндотелия. СВЦ является одним из наиболее частых нежелательных явлений, ассоциированных с CAR T-клеточной терапией, и характеризуется симптомами, варьирующими от легких до жизнеугрожающих [19]. СВЦ может прогрессировать от лихорадки в качестве единственного симптома до системных проявлений, включая гипотензию, капиллярную утечку и полиорганную недостаточность. В клинических исследованиях применялись несколько систем оценки токсичности, что затрудняло сравнение данных между различными работами; однако последние рекомендации Американского общества трансплантации и клеточной терапии помогли установить единые критерии градации тяжести СВЦ и ИКАНС [20–24]. Терапия СВЦ является важной задачей, выбор тактики лечения зависит от степени выраженности СВЦ. Американское общество клинической онкологии в 2019 г. опубликовало обновленные рекомендации по ведению иммуноопосредованных нежелательных явлений у больных, получающих CAR T-терапию. Оценку тяжести СВЦ проводят согласно консенсусным критериям, разработанным Американским обществом трансплантации и клеточной терапии:

Степень 1 характеризуется повышением температуры $\geq 38^\circ\text{C}$ без гипотензии и гипоксии. Лечение включает поддерживающую терапию, применение антипиретиков, гидратацию, а также назначение антибиотиков широкого спектра при наличии признаков инфекции.

Степень 2 включает лихорадку, гипотензию, не требующую применения вазопрессоров, и/или гипоксию, требующую ингаляции низкопоточным кислородом. Лечение включает оксигенотерапию, введение тоци-

лизумаба наряду с поддерживающей терапией, рекомендованной для степени 1. При затяжном и рефрактерном СВЦ могут быть назначены глюкокортикоиды.

Степень 3 характеризуется лихорадкой, гипотензией, требующей назначения вазопрессоров, и/или гипоксией, требующей ингаляции высокопоточным кислородом. Лечение включает также терапевтические меры, рекомендованные для степени 2.

Степень 4 сопровождается лихорадкой, гипотензией, требующей применения нескольких вазопрессоров, и/или гипоксией, требующей искусственной вентиляции легких (ИВЛ). В дополнение к лечению, предусмотренному для степени 3, при необходимости проводят ИВЛ.

Степень 5 определяется как летальный исход, связанный с СВЦ, при отсутствии другой основной причины смерти [20, 25].

Патофизиология СВЦ

СВЦ обусловлен активацией T-клеток при взаимодействии CAR с антигеном, что приводит к их пролиферации и высвобождению ряда цитокинов, продуцируемых как CAR T-клетками, так и другими иммунными клетками: интерлейкин (ИЛ) -6, ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-10, интерферон (ИФН)- γ , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), макрофагальный воспалительный белок-1 β и моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 [26–28]. Помимо T-клеток ключевыми клеточными популяциями в патогенезе СВЦ являются миелоидные клетки и эндотелий. Макрофаги и эндотелиоциты под воздействием секретируемых CAR T-лимфоцитами цитокинов высвобождают большое количество ИЛ-6 и других провоспалительных сигнальных молекул, создавая петли положительной обратной связи между перечисленными популяциями клеток, что определяет самоподдерживающийся характер СВЦ и необходимость терапевтической интервенции [29]. В результате этой взаимной стимуляции высвобождаются ИФН- γ , фактор некроза опухоли (ФНО), ГМ-КСФ и катехоламины. Инициация сигнального каскада и активация положительных обратных связей реализуется в первые 2–5 дней после инфузии CAR T-клеток [30, 31].

Локальный воспалительный ответ усиливается за счет инфильтрации опухоли макрофагами и дендритными клетками. Паттерн-распознающие рецепторы (PRRs) на макрофагах идентифицируют молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMPs), на пиропототических опухолевых клетках, что усиливает активацию моноцитов/макрофагов через взаимодействие CD40 (экспрессируемый на макрофагах) и CD40L (экспрессируемый на CAR T-клетках). Активация макрофагов приводит к высвобождению ИЛ-6, ИЛ-1 и оксида азота, способствуя развитию СВЦ. В периферической крови отмечается пролиферация CAR T-клеток

и повышение концентраций циркулирующих цитокинов. Системная воспалительная реакция приводит к повреждению эндотелия и сосудистой утечке в различных органах, что ведет к полиорганной недостаточности. Концентрация цитокинов и CAR T-клеток в крови продолжает расти до достижения пика через 1–2 недели после инфузии. В дальнейшем проникновение T-клеток, цитокинов и активированных моноцитов в ЦНС через поврежденный гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) может привести к развитию ИКАНС. Через 3 недели после инфузии CAR T-клеток уничтожение популяции опухолевых клеток уменьшает антигенную стимуляцию, что приводит к уменьшению количества CAR T-клеток и цитокинов в периферической крови [30–35].

Повышение содержания цитокинов определяет появление лихорадки после введения CAR T-клеток, в то же время основные клинические симптомы СВЦ обусловлены увеличением проницаемости эндотелия. Увеличение проницаемости связано со снижением экспрессии E- и P-кадгерина, повышением экспрессии E- и P-селектина и рекрутингом моноцитов, повышением секреции фактора роста эндотелия сосудов [36–38]. Повышение экспрессии молекул адгезии VCAM-1 и ICAM-1 в свою очередь способствует усилению вос-

паления и проницаемости за счет привлечения макрофагов и секреции ими хемокинов [39]. Конечным этапом патогенеза является развитие интерстициального отека органов-мишеней. Наиболее хорошо явления вазогенного отека описаны при ИКАНС [40]. Также активация эндотелия может запускать диссеминированное внутрисосудистое свертывание, которое способно усугублять нарушения микроциркуляции и дисфункцию органов, развивается сердечно-сосудистая, дыхательная или иная органная дисфункция [41]. Многообразие клинической картины обусловлено генетическим полиморфизмом генов, вовлеченных в механизмы адгезии, активации T-клеток, макрофагов и антиген-презентирующих клеток. Таким образом, СВЦ можно отнести к полигенным заболеваниям [42] (рис. 1).

CAR T продукты даже при направленности на одну и ту же мишень обладают своим профилем токсичности. По данным исследования JULIET, тисаген-леклейсел вызывает вариант СВЦ с превалирующей гипотензией у 29% больных [43]. В то же время, по данным исследования ZUMA-1, аксикабтаген цилолейсел является более токсичным и вызывает гипотензию у 46% больных [44]. По данным исследования ZUMA-3, применение продукта брексукабтаген ци-

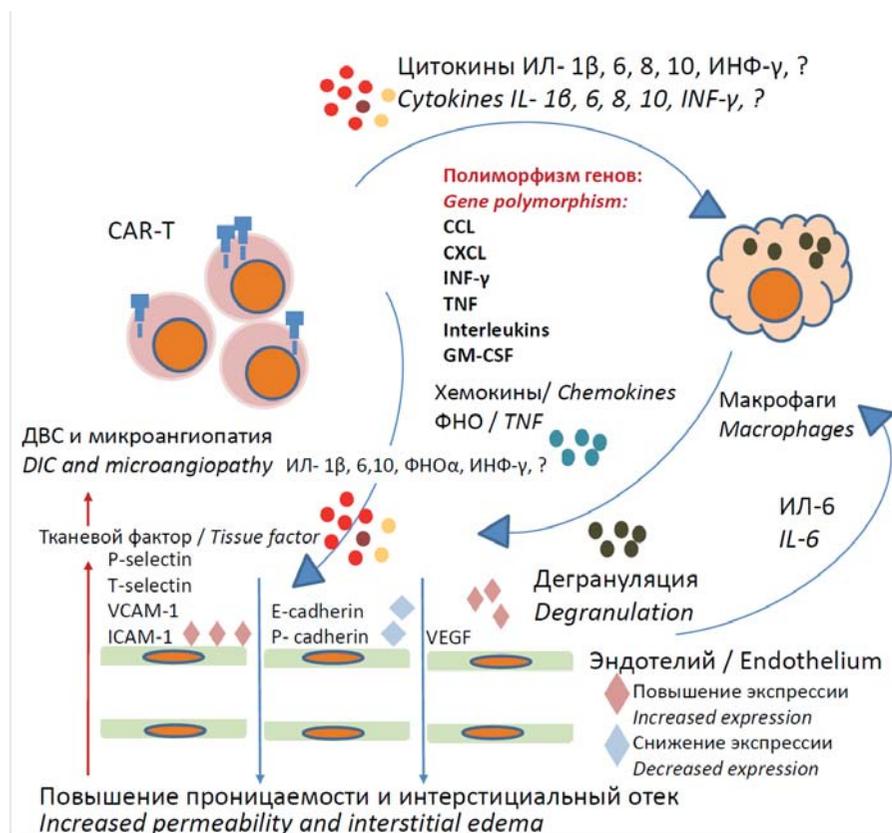


Рисунок 1. Текущее представление о патогенезе синдрома выброса цитокинов. ИЛ-1β – интерлейкин 1β, ИЛ-6 – интерлейкин 6, ИЛ-8 – интерлейкин 8, ИЛ-10 – интерлейкин 10, ИНФ-γ – интерлейкин γ, CCL – хемокины семейства CC (CC-chemokines), CXCL – хемокины семейства CXC (CXC-chemokines), ФНО – фактор некроза опухоли, GM-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, VCAM-1 – сосудисто-клеточная молекула адгезии 1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 – межклеточная молекула адгезии 1 (intercellular adhesion molecule-1), VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor) **Figure 1.** Current understanding of cytokine release syndrome (CRS) pathogenesis. IL-1β – interleukin-1β, IL-6 – interleukin-6, IL-8 – interleukin-8, IL-10 – interleukin-10, INF-γ – interleukin-γ, CCL – CC-chemokines (chemokines of the CC family), CXCL – CXC-chemokines (chemokines of the CXC family), TNF – tumor necrosis factor, GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule-1, ICAM-1 – intercellular adhesion molecule-1, VEGF – vascular endothelial growth factor

лолейцел сопровождалось СВЦ и нейротоксичностью ≥ 3 степени тяжести в 31 и 38 % случаев соответственно [45]. Академический CAR T CAR19.8, который нашел наибольшее распространение в России, характеризуется частотой развития тяжелого СВЦ или ИКАНС в 20 % случаев [46]. Введение бекаптагена аутолейцела, особенностью которого является модифицированная структура антигенсвязывающего фрагмента CAR, сопровождалось тяжелым СВЦ в 2,4 % и ИКАНС в 7,1 % случаев [47]. Иммунологические механизмы, приводящие к различным проявлениям СВЦ у разных CAR T продуктов, до конца не изучены. К предикторам СВЦ относят высокую опухолевую нагрузку, тромбоцитопению перед лимфодеплецией, дозу введенных CAR T-клеток, соотношение CD4/CD8 CAR T-клеток, пиковую экспансию CAR T-клеток *in vivo*, вид лимфодеплеции и концентрацию сывороточных цитокинов после инфузии CAR T-клеток [19, 23, 48–51]. Однако, помимо признанной роли опухолевой нагрузки, клиническое значение установленных корреляций перечисленных факторов с риском и тяжестью СВЦ требует дальнейшего изучения и подтверждения.

Диагностика СВЦ

Диагноз СВЦ устанавливают на основании совокупности клинических и лабораторных данных. Используют принцип гипердиагностики, т.е. все состояния, укладывающиеся в клинические проявления СВЦ во временном интервале 2–14 дней, рассматривают как СВЦ. Дифференциальный диагноз включает исключение инфекционных осложнений и включает бактериологическое исследование крови при лихорадке, исследование концентраций прокальцитонина и С-реактивного белка (СРБ), выполнение компьютерной томографии грудной клетки и пазух при лихорадке более 2 сут. [52]. Ряд авторов предлагает использовать алгоритмы исследования цитокинов, в частности ИФН- γ и ИЛ-1 β [53], однако сложность таких подходов заключается в отсутствии стандартизации результатов исследования цитокинов и невозможности получать результаты в течение часов от появления лихорадки. При диагностике СВЦ предлагают определять концентрации нейтрофилов, прокальцитонина и СРБ, однако такие параметры имеют низкую предсказательную силу (AUC 0,62) [54]. Для упрощения принятия решений при назначении антицитокиновой терапии принято понятие «требующего вмешательства» СВЦ. К таким характеристикам относятся лихорадка более 2 дней, стойкое повышение систолического артериального давления >140 мм рт. ст. и снижение <90 мм рт. ст, тахикардия более 120 уд. в мин. или брадикардия менее 60 уд. в мин., тахипное более 25 в минуту или брадипное менее 12 в минуту, сатурация кислорода <92 %, олигурия <60 мл. в час, повышение креатинина или тран-

саминаз, тремор, судороги или изменение ментального статуса [55].

ИКАНС

Спектр нейротоксичности, возникающей после CAR T-клеточной терапии, варьирует от энцефалопатии до судорог, оглушения и летального исхода [56]. К атипичным проявлениям относятся транзиторная афазия, парез лицевого нерва, миоклонус и гемифациальные спазмы. Патофизиология ИКАНС недостаточно изучена, и неврологические осложнения могут возникать независимо от СВЦ, что указывает на существование определенных патофизиологических различий между этими состояниями [57]. Значительную роль в развитии ИКАНС играет активация эндотелия, приводящая к увеличению проницаемости гематоэнцефалического барьера. Это позволяет проникать в ЦНС провоспалительным цитокинам, таким как ИФН- γ , а также самим CAR T-клеткам [58, 59].

К факторам риска развития ИКАНС относят пожилой возраст, высокую опухолевую нагрузку в костном мозге, лимфодеплецию флударабином и циклофосфамидом, предшествующие неврологические заболевания, наличие и степень выраженности СВЦ [59, 60]. Ранняя диагностика ИКАНС требует тщательного клинического обследования, включая оценку внимания и выявление нарушений речи.

ИКАНС диагностируют на основании шкал изменения ментального статуса и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Наиболее широко распространен тест по шкале ICE (Immune Cell Encephalopathy — энцефалопатия, связанная с иммунными эффекторными клетками), которая включает опрос больного с оценкой ориентации во времени, пространстве и выполнение простых логических манипуляций. Альтернативно используется шкала CARTOX с очень близкими параметрами оценки (табл. 1) [61, 62]. В некоторых клиниках используются более сложные системы оценки, такие как Монреальская шкала оценки когнитивных функций, которая также применяется для диагностики деменции и болезни Альцгеймера у пожилых. Преимущества этой шкалы заключаются в возможности оценивать когнитивное ухудшение на фоне ИКАНС у больных с изначальным снижением когнитивных функций до CAR T [63]. Магнитно-резонансная томография головного мозга показана всем больным перед введением CAR T-клеток для получения исходной картины и оценки изменений в динамике. Типичным изменением при ИКАНС является сосудистый отек вещества головного мозга перивентрикулярно, в затылочных долях или мозжечке [64]. Дифференциальный диагноз необходимо проводить с флударабин-ассоциированной лейкоэнцефалопатией, периферической полинейропатией, паркинсоно-подобным синдромом [65, 66].

Терапия СВЦ и ИКАНС

Ключевым медиатором СВЦ является ИЛ-6, что послужило основой для терапии СВЦ с применением тоцилизумаба — моноклонального антитела, блокирующего рецептор ИЛ-6, а также анти-ИЛ-6 антител [67–69] (табл. 3) [22]).

Порог тяжести СВЦ, при котором показано назначение тоцилизумаба, варьирует, но чаще всего его назначают при проявлениях 2-й или более высокой степени тяжести [71]. Основой терапии у больных с СВЦ, рефрактерным к тоцилизумабу, или 3–4-й степени, являются глюкокортикоиды [72]. При ИКАНС тоцилизумаб неэффективен, что связано с его плохим проникновением через ГЭБ [73]. При исследовании профилактического назначения тоцилизумаба отмечалось относительное повышение риска возникновения ИКАНС в связи с повышением сывороточной концентрации свободного ИЛ-6 в крови в результате блокады рецептора ИЛ-6. Лечение ИКАНС включает назначение системных глюкокортикоидов и противоэпилептических препаратов при необходимости. Из-за высокой проникающей способности в ЦНС наиболее часто применяют дексаметазон [74, 75]. Использование профилактического назначения глюкокортикоидов и тоцилизумаба также изучали, однако в настоящее время это не является стандартной клинической практикой [76]. Схема лечения ИКАНС представлена в таблице 4 [22]. Изучается целесообразность стартовой анти-ИЛ-1 терапии при тяжелом ИКАНС вместе с использованием глюкокортикоидов [77].

Оценку ответа на стартовую антицитокиновую терапию проводят в течение 8–24 ч, в случае неэффективности переходят на вторую линию терапии. Другие препараты, роль которых исследуются, резервируют для лечения рефрактерного СВЦ, список включает силтуксимаб, олокизумаб (анти-ИЛ-6), этанерцепт (анти-ФНО), инфликсимаб (анти-ФНО), руксолитиниб и анакинру [78–82].

Анакинра, антагонист рецептора ИЛ-1, — препарат резерва для лечения и профилактики СВЦ и ИКАНС. Хотя эффективность препарата при профилактике СВЦ неоднозначна, J. H. Park и соавт [83] наблюдали уменьшение частоты возникновения СВЦ у больных, получавших анакинру при применении аксикабтагена цилолеусела, по сравнению с больными из исследования ZUMA-1 (74% против 93%), а также значимое снижение частоты всех степеней ИКАНС (22% против 53%) и ИКАНС ≥ 3 степени (9% против 28%). Проблемой, ограничивающей применение анакинры, является ее фармакокинетика. Препарат имеет короткий период полувыведения, что требует введения до 4 раз в день для поддержания терапевтической концентрации. Оптимальные дозы и продолжительность лечения анакинрой для профилактики СВЦ и ИКАНС не установлены [84].

В настоящее время ведутся исследования по таргетному ингибированию ГМ-КСФ, [27, 85, 86]. Лензилумаб — это гуманизированное моноклональное антитело, нейтрализующее ГМ-КСФ [27]. Проводится исследование ZUMA-19 (NCT04314843), направленное на оценку эффективности лензилумаба в повышении безопасности CAR T-клеточной терапии [87].

Таблица 1. Шкалы CARTOX и ICE [61, 62]

Table 1. CARTOX and ICE scales [61, 62]

CARTOX-10	ICE
Ориентация: Время (год, месяц), место (город, больница), президент/премьер-министр страны проживания: 5 баллов <i>Orientation: Time (year, month), place (city, hospital), president/prime minister of the country of residence: 5 points</i>	Ориентация: Время (год, месяц), место (город, больница): 4 балла <i>Orientation: Time (year, month), place (city, hospital): 4 points</i>
Наименование: Способность назвать три объекта (например, указать на часы, ручку, кнопку): 3 балла <i>Naming: Ability to name three objects (e. g., point to a watch, pen, button): 3 points</i>	Наименование: Способность назвать 3 объекта (например, указать на часы, ручку, стул): 3 балла <i>Naming: Ability to name three objects (e. g., point to a watch, pen, chair): 3 points</i>
Письмо: Способность написать стандартное предложение: 1 балл <i>Writing: Ability to write a standard sentence: 1 point</i>	Письмо: Способность написать стандартное предложение: 1 балл <i>Writing: Ability to write a standard sentence: 1 point</i>
Внимание: Способность считать в обратном порядке от 100 с шагом 10: 1 балл <i>Attention: Ability to count backwards from 100 by 10s: 1 point</i>	Внимание: Способность считать в обратном порядке от 100 с шагом 10: 1 балл <i>Attention: Ability to count backwards from 100 by 10s: 1 point</i>
	Выполнение команд: Способность выполнять простые команды (например, «Покажи мне 2 пальца» или «Закрой глаза и высунь язык»): 1 балл <i>Command execution: Ability to follow simple commands (e. g., “Show me two fingers” or “Close your eyes and stick out your tongue”): 1 point</i>
Итого: 10 баллов — норма, отсутствие признаков ИКАНС. <i>Total: 10 points — normal, no signs of ICANS.</i>	

Таблица 2. Стадирование ИКАНС [61, 62]
Table 2. Grading of ICANS [61, 62]

Стадирование ИКАНС с учетом клинических и инструментальных проявлений ICANS Grading Based on Clinical and Instrumental Findings				
Проявления Manifestation	Степень 1 Grade 1	Степень 2 Grade 2	Степень 3 Grade 3	Степень 4 Grade 4
Оценка ICE/ CARTOX ICE/CARTOX Score	7–9	3–6	0–2	0, больной не пробуждается и не может выполнить ICE 0, patient does not awaken and cannot complete ICE
Угнетение уровня сознания Depressed level of consciousness	Пробуждается самостоятельно Awakens spontaneously	Пробуждается на голос Awakens to voice	Пробуждается только на тактильный стимул Awakens only to tactile stimulus	Больной не пробуждается или требует интенсивных или повторяющихся тактильных стимулов для пробуждения; сопор или кома Does not awaken or requires vigorous or repeated tactile stimulation; sopor or coma
Судороги Seizures	Не применимо Not applicable	Не применимо Not applicable	Любые клинические судороги, фокальные или генерализованные, которые быстро разрешаются, или неконвульсивные судороги на ЭЭГ, которые разрешаются при вмешательстве Any clinical seizures, focal or generalized, resolving rapidly; or nonconvulsive seizures on EEG resolved with intervention	Угрожающие жизни продолжительные судороги (>5 мин.) или повторяющиеся судороги без возврата к исходному состоянию между приступами Life-threatening prolonged seizures (>5 min); or repetitive seizures without return to baseline between episodes
Моторные нарушения Motor disorders	Не применимо Not applicable	Не применимо Not applicable	Не применимо Not applicable	Глубокие фокальные моторные нарушения, такие как гемипарез или парепарез Severe focal motor disorders such as hemiparesis or paraparesis
Отек головного мозга Cerebral edema	Не применимо Not applicable	Не применимо Not applicable	Фокальный/локальный отек при нейровизуализации Focal/localized edema on neuroimaging	Диффузный церебральный отек при нейровизуализации; децеребрационная или декортикационная поза; или паралич VI черепного нерва; или отек диска зрительного нерва; или триада Кушинга Diffuse cerebral edema on imaging; decerebrate or decorticate posturing; or cranial nerve VI palsy; or papilledema; or Cushing's triad

Другим потенциальным подходом к терапии является применение анти-ИФН антитела, эмапалумаба, однако в настоящий момент клинический опыт его применения ограничен [88, 89].

Синдром активации макрофагов, или вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз

Синдром активации макрофагов (САМ) после анти-CD19 CAR-T является редким осложнением, развивающимся у 1–3% больных [90]. Однако при использовании анти-CD22 CAR-T-клеток частота этого осложнения достигает 36% [91]. Клинико-лабораторные проявления САМ после CAR-T-терапии включают гиперферритинемию, повышение активно-

сти лактатдегидрогеназы и других печеночных функциональных тестов, развитие полисерозита, гипоксии, гепатоспленомегалии, повышение содержания триглицеридов и острое почечное повреждение. В отличие от СВЦ, развитие САМ ассоциировано со значительной летальностью, рефрактерностью к стандартной антицитокиновой терапии [92]. Были сформулированы предложения по критериям диагностики САМ, которые еще требуют валидации. Обязательным критерием установки диагноза САМ является наличие предшествующего СВЦ. По длительности клинического дебюта эти два синдрома могут быть разделены часами или даже неделями. Перечень диагностических критериев представлен в таблице 5 [77]. Случаи успешного лечения САМ после CAR-T-терапии описаны

Таблица 3. Терапия СВЦ

Table 3. Management of cytokine release syndrome (CRS)

СВЦ 2-й степени/CRS Grade 2
Антиинтерлейкин-6 терапия/Anti-IL-6 therapy — блокада рецепторов ИЛ-6/IL6 receptor inhibitors Тоцилизумаб 8 мг/кг каждые 8 ч до 3 доз [69] <i>Tocilizumab 8 mg/kg every 8 h, up to 3 doses [69]</i> Левелимаб 162 мг однократно [70]/Levilimab 162 mg single dose [70] — прямое блокирование ИЛ-6/direct IL6 ligand inhibition Силтуксимаб 11 мг/кг однократно [22]/Siltuximab 11 mg/kg single dose [22] Олокизумаб 112 мг однократно [82]/Olokizumab 112 mg single dose [82]
Любой вариант СВЦ 3-й степени/Any CRS Grade 3
Анти-интерлейкин-6 терапия + дексаметазон 10 мг каждые 6 часов [20, 22, 72] <i>Anti-IL-6 therapy + Dexamethasone 10 mg every 6 hours [20, 22, 72]</i>
Любой вариант СВЦ 4-й степени/Any CRS Grade 4
Анти-ИЛ-6 терапия + дексаметазон 20 мг каждые 6 часов [20, 22, 72] <i>Anti-IL-6 therapy + Dexamethasone 20 mg every 6 hours [20, 22, 72]</i>
2-я линия терапии/Second-line therapy
Анакинра 300–2400 мг п/к или внутривенно [81]/Anakinra 300–2400 mg SC or IV [81]
Руксолитиниб 10–15 мг 2 р/д [96]/Ruxolitinib 10–15 mg twice daily [96]
Циклофосфамид 1500 мг/м² однократно/Cyclophosphamide 1500 mg/m² single dose [79]
Метилпреднизолон 1000 мг 3 дня/Methylprednisolone 1000 mg for 3 days [22]

Таблица 4. Принципы лечения ИКАНС

Table 4. Principles of ICANS management

ИКАНС 1-й степени/ICANS Grade 1
Дексаметазон 10 мг однократно, повторная оценка через ± анти-ИЛ-6 терапия при наличии СВЦ [20] <i>Dexamethasone 10 mg single dose, re-evaluate ± anti-IL-6 therapy if CRS is present [20]</i>
ИКАНС 2-й степени/ICANS Grade 2
Дексаметазон 10 мг 2 раза в сутки ± анти-ИЛ-6 терапия при наличии СВЦ, ступенчатое снижение дозы при степени 0–1 [20] <i>Dexamethasone 10 mg twice daily ± anti-IL-6 therapy if CRS is present; taper dose when improved to Grade 0–1 [20]</i>
ИКАНС 3-й степени без судорог/ICANS Grade 3 without seizures
Дексаметазон 10 мг 4 раза в сутки ± анти-ИЛ-6 терапия при наличии СВЦ, ступенчатое снижение дозы при степени 0–1, если 3-я степень персистирует больше 24 ч, увеличение дозы до 20 мг 4 раза в сутки [20] <i>Dexamethasone 10 mg four times daily ± anti-IL-6 therapy if CRS is present; taper dose when improved to Grade 0–1; if Grade 3 persists >24 hours, increase dose to 20 mg four times daily [20]</i>
ИКАНС 3 степени с судорогами/ICANS Grade 3 with seizures
Дексаметазон 20 мг 4 раза в сутки ± анти-ИЛ-6 терапия при наличии СВЦ, ступенчатое снижение дозы при степени 0–1 [20] <i>Dexamethasone 20 mg four times daily ± anti-IL-6 therapy if CRS is present; taper dose when improved to Grade 0–1 [20]</i>
Вторая линия/Second-line therapy
Метилпреднизолон 300–1000 мг 3 дня [22]/Methylprednisolone 300–1000 mg for 3 days [22]
Анакинра 100–2400 мг п/к или в/в [81]/Anakinra 100–2400 mg SC or IV [81]
Циклофосфамид 1500 мг/м² однократно [79]/Cyclophosphamide 1500 mg/m² single dose [79]

с применением высоких доз анакинры [93], эмапалу-маба [94], пульс-терапии глюкокортикоидами [95], а также руксолитиниба у ревматологических больных [96]. Стандартного подхода к выбору терапии среди этих опций не существует.

Перспективные отечественные разработки

Компания «ООО Р-Фарм Интернейшнл» ведет разработку препарата RPH-104. RPH-104 — это таргетный биологический препарат, селективно связывающий

и инактивирующий интерлейкин-1β (ИЛ-1β). Он изначально разрабатывался для лечения аутовоспалительных заболеваний, связанных с гиперактивацией ИЛ-1β, таких как семейная средиземноморская лихорадка, острый подагрический артрит и идиопатический рецидивирующий перикардит [97, 98]. В дополнение к этим показаниям RPH-104 также рассматривается как потенциальное средство для контроля СВЦ при COVID-19 и воспалительных реакций, сопровождающих острый инфаркт миокарда. Доклинические исследования показали высокую селективность RPH-104 в отношении

Таблица 5. Диагностические критерии САМ после CAR T-терапии [77]
Table 5. Diagnostic criteria for sHLH after CAR T therapy [77]

Обязательные критерии <i>Mandatory Criteria</i>	Примечания <i>Comments</i>
Ферритин <i>Ferritin</i>	Больше 2 норм или повышение в 2 раза <i>Greater than 2-fold upper limit of normal, or 2-fold increase from baseline</i>
Новые или персистирующие цитопении <i>New or persistent cytopenias</i>	
Подтверждающие критерии <i>Supporting Criteria</i>	Примечания <i>Comments</i>
Другие клинико-лабораторные проявления <i>Other Clinical or Laboratory Findings</i>	ЛДГ > нормы / <i>Elevated LDH</i>
	Нарушения коагуляции (удлинение ПВ/АЧТВ) <i>Coagulation abnormalities (e. g., PT/APTT)</i>
	Гипербилирубинемия / <i>Hyperbilirubinemia</i>
	Спленомегалия / <i>Splenomegaly</i>
	Лихорадка / <i>Fever</i>
	Нейротоксичность / <i>Neurotoxicity</i>
	Гипоксия и/или полисерозит <i>Hypoxia and/or polyserositis</i>
Острое повреждение почек / <i>Acute kidney injury</i>	
Триглицериды >265 мг/дл <i>Triglycerides >265 mg/dl</i>	

ИЛ-1 β без значительных антителозависимых или компонентзависимых цитотоксических эффектов.

В фармакокинетических исследованиях на яванских макаках и грызунах установлено двухфазное распределение препарата с длительным периодом полувыведения (от 28 до 87 ч) [99]. Дозозависимое увеличение концентрации препарата в сыворотке крови свидетельствует об отсутствии насыщения путей метаболизма и элиминации.

Клинические исследования подтвердили противовоспалительное действие RPH-104 у больных подагрическим артритом и рецидивирующим перикардитом, демонстрируя снижение концентраций СРБ, ИЛ-6 и других маркеров воспаления [98]. Показано, что препарат значительно снижает риск рецидивов у больных рецидивирующим перикардитом. Однако исследования по его применению при COVID-19 не выявили значимых различий в клинической эффективности по сравнению с плацебо. С учетом того, что ИЛ-1 β играет ключевую роль в развитии СВЦ, RPH-104 может рассматриваться как потенциальный кандидат для терапии СВЦ, ассоциированного с CAR T-клеточной терапией, с показателями фармакокинетики, оптимальными по сравнению с анакинрой [98].

Таким образом, CAR T-клеточная терапия представляет собой прорыв в лечении злокачественных новообразований, демонстрируя высокую эффектив-

ность у больных рецидивирующими и рефрактерными формами онкогематологических заболеваний. Одним из ограничений широкого внедрения терапии CAR T-клетками является ее токсичность, связанная с развитием СВЦ и ИКАНС. Современные стратегии ведения этих осложнений включают применение ингибиторов ИЛ-6, глюкокортикоидов, а также препаратов резерва, важнейшим из которых является антагонист ИЛ-1 анакинра. Однако существующие методы терапии СВЦ обладают ограниченной эффективностью, особенно в отношении тяжелых форм синдрома.

Перспективными направлениями являются разработка новых препаратов с более удобным режимом введения и улучшенным профилем безопасности. Перспективной отечественной разработкой является препарат RPH-104, селективный ингибитор ИЛ-1 β , который продемонстрировал хорошие результаты при лечении аутовоспалительных состояний. Продолжаются исследования новых препаратов, таких как ленизилумаб и эмапалумаб, направленных на ингибирование других цитокинов (ГМ-КСФ, ИФН- γ). Интеграция новых терапевтических подходов, направленных на патогенетические механизмы осложнений CAR T-терапии, позволит снизить риск тяжелых токсических реакций, улучшить прогноз больных и расширить возможности применения данной технологии в онкогематологии.

Литература

1. Cancer TODAY | IARC. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
2. June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med*. 2018;379(1):64–73.
3. 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.
4. Almasbak H., Aarvak T., Vemuri M.C. CAR T cell therapy: a game changer in cancer treatment. *J Immunol Res*. 2016;2016:5474602. DOI: 10.1155/2016/5474602.
5. Sterner R.C., Sterner R.M. CAR T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11:69. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
6. Guedan S., Calderon H., Posey A.D. Jr., Maus M.V. Engineering and design of chimeric antigen receptors. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019;12:145–56. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.12.009.
7. Zhao J., Lin Q., Song Y., Liu D. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells. *J Hematol Oncol*. 2018;11:132. DOI: 10.1186/s13045-018-0677-2.
8. Cappell K.M., Kochenderfer J.N. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: What we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20:359–71. DOI: 10.1038/s41571-023-00754-1.
9. Ying Z., Yang H., Guo Y., et al. Relmacabtagene autoleucl (relma-cel) CD19 CAR T therapy for adults with heavily pretreated relapsed/refractory large B-cell lymphoma in China. *Cancer Med*. 2021;10:999–1011. DOI: 10.1002/cam4.3686.
10. India's First Homegrown CAR T-Cell Therapy Has Roots in NCI Collaboration. National Cancer Institute; 2024. Available from: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2024/nexcar19-CAR-T-cell-therapy-india-nci-collaboration>
11. Попова М.О. Маркелов В.В. CAR T: от идеи до применения. *Онкогематология*. 2024;19(3):185–98. DOI: 10.17650/1818-8346-2024-19-3-185-198.
12. Roddie C., Sandhu K.S., Tholouli E., et al. Obecabtagene autoleucl in adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2024;391(23):2219–30. DOI: 10.1056/NEJMoa2406526.
13. Depil S., Duchateau P., Grupp S.A., et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19:185–99. DOI: 10.1038/s41573-019-0051-2.
14. Qi C., Zhang Y., Liu D., et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results. *Nat Med*. 2022;28(6):1189–98. DOI: 10.1038/s41591-022-01800-8.
15. Brudno J.N., Kochenderfer J.N. Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host disease. *J Clin Oncol*. 2016;34(10):1112–21. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.5929.
16. Rampotas A., Richter J., Isenberg D., et al. CAR T cell therapy embarks on autoimmune disease. *Bone Marrow Transplant*. 2025;60:6–9. DOI: 10.1038/s41409-024-02429-6.
17. Weinkove R., George P., Dasyam N., McLellan A.D. Selecting costimulatory domains for chimeric antigen receptors: functional and clinical considerations. *Clin Transl Immunol*. 2019;8:e1049. DOI: 10.1002/cti2.1049.
18. Brudno J.N., Kochenderfer J.N. Current understanding and management of CAR T cell-associated toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*. 2024;21:501–21. DOI: 10.1038/s41571-024-00903-0.

References

1. Cancer TODAY | IARC. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
2. June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med*. 2018;379(1):64–73.
3. Kaprin AD, Starinskiy VV, Shakhzadova AO. Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Ros-sii*. Moscow. National Medical Research Radiological Centre. 2024 (In Russian).
4. Almasbak H., Aarvak T., Vemuri M.C. CAR T cell therapy: a game changer in cancer treatment. *J Immunol Res*. 2016;2016:5474602. DOI: 10.1155/2016/5474602.
5. Sterner R.C., Sterner R.M. CAR T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11:69. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
6. Guedan S., Calderon H., Posey A.D. Jr., Maus M.V. Engineering and design of chimeric antigen receptors. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019;12:145–56. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.12.009.
7. Zhao J., Lin Q., Song Y., Liu D. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells. *J Hematol Oncol*. 2018;11:132. DOI: 10.1186/s13045-018-0677-2.
8. Cappell K.M., Kochenderfer J.N. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: What we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20:359–71. DOI: 10.1038/s41571-023-00754-1.
9. Ying Z., Yang H., Guo Y., et al. Relmacabtagene autoleucl (relma-cel) CD19 CAR T therapy for adults with heavily pretreated relapsed/refractory large B-cell lymphoma in China. *Cancer Med*. 2021;10:999–1011. DOI: 10.1002/cam4.3686.
10. India's First Homegrown CAR T-Cell Therapy Has Roots in NCI Collaboration. National Cancer Institute; 2024. Available from: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2024/nexcar19-CAR-T-cell-therapy-india-nci-collaboration>
11. Popova MO, Markelov VV. CAR T: from concept to clinical practice. *Onkogematologiya*. 2024;19(3):185–98 (In Russian). DOI: 10.17650/1818-8346-2024-19-3-185-198.
12. Roddie C., Sandhu K.S., Tholouli E., et al. Obecabtagene autoleucl in adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2024;391(23):2219–30. DOI: 10.1056/NEJMoa2406526.
13. Depil S., Duchateau P., Grupp S.A., et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19:185–99. DOI: 10.1038/s41573-019-0051-2.
14. Qi C., Zhang Y., Liu D., et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results. *Nat Med*. 2022;28(6):1189–98. DOI: 10.1038/s41591-022-01800-8.
15. Brudno J.N., Kochenderfer J.N. Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host disease. *J Clin Oncol*. 2016;34(10):1112–21. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.5929.
16. Rampotas A., Richter J., Isenberg D., et al. CAR T cell therapy embarks on autoimmune disease. *Bone Marrow Transplant*. 2025;60:6–9. DOI: 10.1038/s41409-024-02429-6.
17. Weinkove R., George P., Dasyam N., McLellan A.D. Selecting costimulatory domains for chimeric antigen receptors: functional and clinical considerations. *Clin Transl Immunol*. 2019;8:e1049. DOI: 10.1002/cti2.1049.
18. Brudno J.N., Kochenderfer J.N. Current understanding and management of CAR T cell-associated toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*. 2024;21:501–21. DOI: 10.1038/s41571-024-00903-0.

19. Hay K.A., Hanafi L.A., Li D., et al. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy. *Blood*. 2017;130(21):2295–306. DOI: 10.1182/blood-2017-06-793141.
20. Lee D.W., Santomaso B.D., Locke F.L., et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(4):625–38. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
21. Pennisi M., Jain T., Santomaso B.D., et al. Comparing CAR T-cell toxicity grading systems: application of the ASTCT grading system and implications for management. *Blood Adv*. 2020;4(4):676–86. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000952.
22. 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.
23. 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.
24. Schuster S.J., Svoboda J., Chong E.A., et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2545–54. DOI: 10.1056/NEJMoa1708566.
25. Santomaso B.D., Nastoupil L.J., Adkins S., et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with chimeric antigen receptor T-cell therapy: ASCO guideline. *J Clin Oncol*. 2021;39(35):3978–92. DOI: 10.1200/JCO.21.01992.
26. Murthy H., Iqbal M., Chavez J.C., Kharfan-Dabaja M.A. Cytokine release syndrome: current perspectives. *Immunotargets Ther*. 2019;8:43–52. DOI: 10.2147/ITT.S202015.
27. Sterner R.M., Sakemura R., Cox M.J., et al. GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR T cell function in xenografts. *Blood*. 2019;133(7):697–709. DOI: 10.1182/blood-2018-10-881722.
28. Maude S.L., Barrett D., Teachey D.T., Grupp S.A. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies. *Cancer J*. 2014;20(2):119–22. DOI: 10.1097/PPO.0000000000000035.
29. Flierl M.A., Rittirsch D., Nadeau B.A., et al. Phagocyte-derived catecholamines enhance acute inflammatory injury. *Nature*. 2007;449(7163):721–5. DOI: 10.1038/nature06185.
30. Wei J., Liu Y., Wang C., et al. The model of cytokine release syndrome in CAR T-cell treatment for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):134. DOI: 10.1038/s41392-020-00256-x.
31. Morris E.C., Neelapu S.S., Giavridis T., Sadelain M. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2022;22(2):85–96. DOI: 10.1038/s41577-021-00547-6.
32. Hao Z., Li R., Meng L., et al. Macrophage, the potential key mediator in CAR T related CRS. *Exp Hematol Oncol*. 2020;9:15. DOI: 10.1186/s40164-020-00171-5.
33. Giavridis T., van der Stegen S.J.C., Eyquem J., et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. *Nat Med*. 2018;24(6):731–8. DOI: 10.1038/s41591-018-0041-7.
34. Norelli M., Camisa B., Barbiera G., et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nat Med*. 2018;24(6):739–48. DOI: 10.1038/s41591-018-0036-4.
35. van der Stegen S.J., Davies D.M., Wilkie S., et al. Preclinical in vivo modeling of cytokine release syndrome induced by ErbB-retargeted human T cells: identifying a window of therapeutic opportunity? *J Immunol*. 2013;191(9):4589–98. DOI: 10.4049/jimmunol.1301523.
19. Hay K.A., Hanafi L.A., Li D., et al. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy. *Blood*. 2017;130(21):2295–306. DOI: 10.1182/blood-2017-06-793141.
20. Lee D.W., Santomaso B.D., Locke F.L., et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(4):625–38. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
21. Pennisi M., Jain T., Santomaso B.D., et al. Comparing CAR T-cell toxicity grading systems: application of the ASTCT grading system and implications for management. *Blood Adv*. 2020;4(4):676–86. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000952.
22. 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.
23. 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.
24. Schuster S.J., Svoboda J., Chong E.A., et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2545–54. DOI: 10.1056/NEJMoa1708566.
25. Santomaso B.D., Nastoupil L.J., Adkins S., et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with chimeric antigen receptor T-cell therapy: ASCO guideline. *J Clin Oncol*. 2021;39(35):3978–92. DOI: 10.1200/JCO.21.01992.
26. Murthy H., Iqbal M., Chavez J.C., Kharfan-Dabaja M.A. Cytokine release syndrome: current perspectives. *Immunotargets Ther*. 2019;8:43–52. DOI: 10.2147/ITT.S202015.
27. Sterner R.M., Sakemura R., Cox M.J., et al. GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR T cell function in xenografts. *Blood*. 2019;133(7):697–709. DOI: 10.1182/blood-2018-10-881722.
28. Maude S.L., Barrett D., Teachey D.T., Grupp S.A. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies. *Cancer J*. 2014;20(2):119–22. DOI: 10.1097/PPO.0000000000000035.
29. Flierl M.A., Rittirsch D., Nadeau B.A., et al. Phagocyte-derived catecholamines enhance acute inflammatory injury. *Nature*. 2007;449(7163):721–5. DOI: 10.1038/nature06185.
30. Wei J., Liu Y., Wang C., et al. The model of cytokine release syndrome in CAR T-cell treatment for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):134. DOI: 10.1038/s41392-020-00256-x.
31. Morris E.C., Neelapu S.S., Giavridis T., Sadelain M. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2022;22(2):85–96. DOI: 10.1038/s41577-021-00547-6.
32. Hao Z., Li R., Meng L., et al. Macrophage, the potential key mediator in CAR T related CRS. *Exp Hematol Oncol*. 2020;9:15. DOI: 10.1186/s40164-020-00171-5.
33. Giavridis T., van der Stegen S.J.C., Eyquem J., et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. *Nat Med*. 2018;24(6):731–8. DOI: 10.1038/s41591-018-0041-7.
34. Norelli M., Camisa B., Barbiera G., et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nat Med*. 2018;24(6):739–48. DOI: 10.1038/s41591-018-0036-4.
35. van der Stegen S.J., Davies D.M., Wilkie S., et al. Preclinical in vivo modeling of cytokine release syndrome induced by ErbB-retargeted human T cells: identifying a window of therapeutic opportunity? *J Immunol*. 2013;191(9):4589–98. DOI: 10.4049/jimmunol.1301523.

36. Chen X., Kamperschroer C., Wong G., Xuan D. A modeling framework to characterize cytokine release upon T-cell-engaging bispecific antibody treatment: methodology and opportunities. *Clin Transl Sci.* 2019;12(6):600–8. DOI: 10.1111/cts.12662.
37. Moore J.B., June C.H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* 2020;368(6490):473–4. DOI: 10.1126/science.abb8925.
38. Tvedt T.H.A., Vo A.K., Bruserud Ø., Reikvam H. Cytokine release syndrome in the immunotherapy of hematological malignancies: the biology behind and possible clinical consequences. *J Clin Med.* 2021;10(21):5190. DOI: 10.3390/jcm10215190.
39. Folco E.J., Mawson T.L., Vromman A., et al. Neutrophil extracellular traps induce endothelial cell activation and tissue factor production through interleukin-1 α and cathepsin G. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(8):1901–12. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311150.
40. Yoon J.G., Smith D.A., Tirumani S.H., et al. CAR T-Cell Therapy: An Update for Radiologists. *AJR Am J Roentgenol.* 2021;217(6):1461–74. DOI: 10.2214/AJR.21.26091.
41. Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M., et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer.* 2018;6(1):56. DOI: 10.1186/s40425-018-0343-9.
42. Sun K, Wang W, Gao L, et al. Transmission heterogeneities, kinetics, and controllability of SARS-CoV-2. *Science.* 2020;371:eabe2424. DOI: 10.1126/science.abe2424.
43. Maude S.L., Laetsch T.W., Buechner J., et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(5):439–48. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866.
44. Neelapu S.S., Locke F.L., Bartlett N.L., et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2531–44. DOI: 10.1056/NEJMoa1707447.
45. Shah B.D., Bishop M.R., Oluwole O.O., et al. KTE-X19 anti-CD19 CAR T-cell therapy in adult relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: ZUMA-3 phase 1 results. *Blood.* 2021;138(1):11–22. DOI: 10.1182/blood.2020009098.
46. Maschan M., Caimi P.F., Reese-Koc J. et al. Multiple site place-of-care manufactured anti-CD19 CAR T cells induce high remission rates in B-cell malignancy patients. *Nat Commun.* 2021;12:7200. DOI: 10.1038/s41467-021-27312-6.
47. 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.
48. Li M., Xue S.L., Tang X., et al. The differential effects of tumor burdens on predicting the net benefits of SSCART-19 cell treatment on R/R B-ALL patients. *Sci Rep.* 2022;12(1):378. DOI: 10.1038/s41598-021-04296-3.
49. Teachey D.T., Lacey S.F., Shaw P.A., et al. Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov.* 2016;6(6):664–79. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0040.
50. Sheth V.S., Gauthier J. Taming the beast: CRS and ICANS after CAR T-cell therapy for all. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(3):552–66. DOI: 10.1038/s41409-020-01080-8.
51. Yan Z., Zhang H., Cao J., et al. Characteristics and risk factors of cytokine release syndrome in chimeric antigen receptor T cell treatment. *Front Immunol.* 2021;12:611366. DOI: 10.3389/fimmu.2021.611366.
52. Sureda A., Corbacioglu S., Greco R., et al. Eds. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies.* 8th ed. Cham (CH): Springer; 2024. PMID: 39437029.
36. Chen X., Kamperschroer C., Wong G., Xuan D. A modeling framework to characterize cytokine release upon T-cell-engaging bispecific antibody treatment: methodology and opportunities. *Clin Transl Sci.* 2019;12(6):600–8. DOI: 10.1111/cts.12662.
37. Moore J.B., June C.H.. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* 2020;368(6490):473–4. DOI: 10.1126/science.abb8925.
38. Tvedt T.H.A., Vo A.K., Bruserud Ø., Reikvam H. Cytokine release syndrome in the immunotherapy of hematological malignancies: the biology behind and possible clinical consequences. *J Clin Med.* 2021;10(21):5190. DOI: 10.3390/jcm10215190.
39. Folco E.J., Mawson T.L., Vromman A., et al. Neutrophil extracellular traps induce endothelial cell activation and tissue factor production through interleukin-1 α and cathepsin G. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(8):1901–12. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311150.
40. Yoon J.G., Smith D.A., Tirumani S.H., et al. CAR T-Cell Therapy: An Update for Radiologists. *AJR Am J Roentgenol.* 2021;217(6):1461–74. DOI: 10.2214/AJR.21.26091.
41. Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M., et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer.* 2018;6(1):56. DOI: 10.1186/s40425-018-0343-9.
42. Sun K, Wang W, Gao L, et al. Transmission heterogeneities, kinetics, and controllability of SARS-CoV-2. *Science.* 2020;371:eabe2424. DOI: 10.1126/science.abe2424.
43. Maude S.L., Laetsch T.W., Buechner J., et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(5):439–48. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866.
44. Neelapu S.S., Locke F.L., Bartlett N.L., et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2531–44. DOI: 10.1056/NEJMoa1707447.
45. Shah B.D., Bishop M.R., Oluwole O.O., et al. KTE-X19 anti-CD19 CAR T-cell therapy in adult relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: ZUMA-3 phase 1 results. *Blood.* 2021;138(1):11–22. DOI: 10.1182/blood.2020009098.
46. Maschan M., Caim, P.F., Reese-Koc J. et al. Multiple site place-of-care manufactured anti-CD19 CAR T cells induce high remission rates in B-cell malignancy patients. *Nat Commun.* 2021;12:7200. DOI: 10.1038/s41467-021-27312-6.
47. 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.
48. Li M., Xue S.L., Tang X., et al. The differential effects of tumor burdens on predicting the net benefits of SSCART-19 cell treatment on R/R B-ALL patients. *Sci Rep.* 2022;12(1):378. DOI: 10.1038/s41598-021-04296-3.
49. Teachey D.T., Lacey S.F., Shaw P.A., et al. Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov.* 2016;6(6):664–79. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0040.
50. Sheth V.S., Gauthier J. Taming the beast: CRS and ICANS after CAR T-cell therapy for all. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(3):552–66. DOI: 10.1038/s41409-020-01080-8.
51. Yan Z., Zhang H., Cao J., et al. Characteristics and risk factors of cytokine release syndrome in chimeric antigen receptor T cell treatment. *Front Immunol.* 2021;12:611366. DOI: 10.3389/fimmu.2021.611366.
52. Sureda A., Corbacioglu S., Greco R., et al. Eds. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies.* 8th ed. Cham (CH): Springer; 2024. PMID: 39437029.

53. Diorio C., Shaw P.A., Pequignot E., et al. Diagnostic biomarkers to differentiate sepsis from cytokine release syndrome in critically ill children. *Blood Adv.* 2020;4(20):5174–83. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002592.
54. Powell M.Z., Mara K.C., Bansal R., et al. Procalcitonin as a biomarker for predicting bacterial infection in chimeric antigen receptor T-cell therapy recipients. *Cancer Med.* 2023;12(8):9228–35. DOI: 10.1002/cam4.5665.
55. Schuster S.J., Maziarz R.T., Rusch E.S., et al. Grading and management of cytokine release syndrome in patients treated with tisagenlecleucel in the JULIET trial. *Blood Adv.* 2020;4(7):1432–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001304.
56. Rubin D.B., Al Jarrah A., Li K., et al. Clinical predictors of neurotoxicity after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *JAMA Neurol.* 2020;77(12):1536–42. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.2816.
57. Curran K.J., Margossian S.P., Kernan N.A., et al. Toxicity and response after CD19-specific CAR T-cell therapy in pediatric/young adult relapsed/refractory B-ALL. *Blood.* 2019;134(26):2361–8. DOI: 10.1182/blood.2019001641.
58. Santomaso B.D., Park J.H., Salloum D., et al. Clinical and biological correlates of neurotoxicity associated with CAR T-cell therapy in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov.* 2018;8(8):958–71. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1319.
59. Gust J., Hay K.A., Hanafi L.A., et al. Endothelial activation and blood-brain barrier disruption in neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CD19 CAR T cells. *Cancer Discov.* 2017;7(12):1404–19. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0698.
60. Grant S.J., Grimshaw A.A., Silberstein J., et al. Clinical presentation, risk factors, and outcomes of immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome following chimeric antigen receptor T cell therapy: a systematic review. *Transplant Cell Ther.* 2022;28(6):294–302. DOI: 10.1016/j.jtct.2022.03.006.
61. Pennisi M., Jain T., Santomaso B.D., et al. Comparing CAR T-cell toxicity grading systems: application of the ASTCT grading system and implications for management. *Blood Adv.* 2020;4(4):676–86. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000952.
62. Herr M.M., Chen G.L., Ross M., et al. Identification of neurotoxicity after chimeric antigen receptor (CAR) T cell infusion without deterioration in the immune effector cell encephalopathy (ICE) score. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(11):e271–4. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.07.031.
63. Möhn N., Bonda V., Grote-Levi L., et al. Neurological management and work-up of neurotoxicity associated with CAR T cell therapy. *Neurol Res Pract.* 2022;4(1):1. DOI: 10.1186/s42466-021-00166-5.
64. Cohen A.D., Parekh S., Santomaso B.D., et al. Incidence and management of CAR T neurotoxicity in patients with multiple myeloma treated with ciltacabtagene autoleucel in CARTITUDE studies. *Blood Cancer J.* 2022;12:32. DOI: 10.1038/s41408-022-00629-1.
65. Van Oekelen O., Aleman A., Upadhyaya B., et al. Neurocognitive and hypokinetic movement disorder with features of parkinsonism after BCMA-targeting CAR T cell therapy. *Nat Med.* 2021;27(12):2099–103. DOI: 10.1038/s41591-021-01564-7.
66. Koch C., Fleischer J., Popov T., et al. Diabetes insipidus and Guillain-Barré-like syndrome following CAR T cell therapy: a case report. *J Immunother Cancer.* 2023;11(1):e006059. DOI: 10.1136/jitc-2022-006059.
67. Gabay C., Emery P., van Vollenhoven R., et al. Tocilizumab monotherapy versus adalimumab monotherapy for treatment of rheumatoid arthritis (ADACTA): a randomised, double-blind, controlled phase 4 trial. *Lancet.* 2013;381(9877):1541–50. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60250-0.
68. Bijlsma J.W.J., Welsing P.M.J., Woodworth T.G., et al. Early rheumatoid arthritis treated with tocilizumab, methotrexate, or their combination (U-Act-Early): a multicentre, randomised, double-blind, double-dummy, strategy trial. *Lancet.* 2016;388(10042):343–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30363-4.
53. Diorio C., Shaw P.A., Pequignot E., et al. Diagnostic biomarkers to differentiate sepsis from cytokine release syndrome in critically ill children. *Blood Adv.* 2020;4(20):5174–83. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002592.
54. Powell M.Z., Mara K.C., Bansal R., et al. Procalcitonin as a biomarker for predicting bacterial infection in chimeric antigen receptor T-cell therapy recipients. *Cancer Med.* 2023;12(8):9228–35. DOI: 10.1002/cam4.5665.
55. Schuster S.J., Maziarz R.T., Rusch E.S., et al. Grading and management of cytokine release syndrome in patients treated with tisagenlecleucel in the JULIET trial. *Blood Adv.* 2020;4(7):1432–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001304.
56. Rubin D.B., Al Jarrah A., Li K., et al. Clinical predictors of neurotoxicity after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *JAMA Neurol.* 2020;77(12):1536–42. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.2816.
57. Curran K.J., Margossian S.P., Kernan N.A., et al. Toxicity and response after CD19-specific CAR T-cell therapy in pediatric/young adult relapsed/refractory B-ALL. *Blood.* 2019;134(26):2361–8. DOI: 10.1182/blood.2019001641.
58. Santomaso B.D., Park J.H., Salloum D., et al. Clinical and biological correlates of neurotoxicity associated with CAR T-cell therapy in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov.* 2018;8(8):958–71. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1319.
59. Gust J., Hay K.A., Hanafi L.A., et al. Endothelial activation and blood-brain barrier disruption in neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CD19 CAR T cells. *Cancer Discov.* 2017;7(12):1404–19. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0698.
60. Grant S.J., Grimshaw A.A., Silberstein J., et al. Clinical presentation, risk factors, and outcomes of immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome following chimeric antigen receptor T cell therapy: a systematic review. *Transplant Cell Ther.* 2022;28(6):294–302. DOI: 10.1016/j.jtct.2022.03.006.
61. Pennisi M., Jain T., Santomaso B.D., et al. Comparing CAR T-cell toxicity grading systems: application of the ASTCT grading system and implications for management. *Blood Adv.* 2020;4(4):676–86. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000952.
62. Herr M.M., Chen G.L., Ross M., et al. Identification of neurotoxicity after chimeric antigen receptor (CAR) T cell infusion without deterioration in the immune effector cell encephalopathy (ICE) score. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(11):e271–4. DOI: 10.1016/j.bbmt.2020.07.031.
63. Möhn N., Bonda V., Grote-Levi L., et al. Neurological management and work-up of neurotoxicity associated with CAR T cell therapy. *Neurol Res Pract.* 2022;4(1):1. DOI: 10.1186/s42466-021-00166-5.
64. Cohen A.D., Parekh S., Santomaso B.D., et al. Incidence and management of CAR T neurotoxicity in patients with multiple myeloma treated with ciltacabtagene autoleucel in CARTITUDE studies. *Blood Cancer J.* 2022;12:32. DOI: 10.1038/s41408-022-00629-1.
65. Van Oekelen O., Aleman A., Upadhyaya B., et al. Neurocognitive and hypokinetic movement disorder with features of parkinsonism after BCMA-targeting CAR T cell therapy. *Nat Med.* 2021;27(12):2099–103. DOI: 10.1038/s41591-021-01564-7.
66. Koch C., Fleischer J., Popov T., et al. Diabetes insipidus and Guillain-Barré-like syndrome following CAR T cell therapy: a case report. *J Immunother Cancer.* 2023;11(1):e006059. DOI: 10.1136/jitc-2022-006059.
67. Gabay C., Emery P., van Vollenhoven R., et al. Tocilizumab monotherapy versus adalimumab monotherapy for treatment of rheumatoid arthritis (ADACTA): a randomised, double-blind, controlled phase 4 trial. *Lancet.* 2013;381(9877):1541–50. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60250-0.
68. Bijlsma J.W.J., Welsing P.M.J., Woodworth T.G., et al. Early rheumatoid arthritis treated with tocilizumab, methotrexate, or their combination (U-Act-Early): a multicentre, randomised, double-blind, double-dummy, strategy trial. *Lancet.* 2016;388(10042):343–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30363-4.

69. Le R.Q., Li L., Yuan W., et al. FDA approval summary: Tocilizumab for treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced severe or life-threatening cytokine release syndrome. *Oncologist*. 2018;23(8):943–7. DOI: 10.1634/theoncologist.2018-0028.
70. Tolstykh D.A., Tsukur A.A., Lomkova E.A., et al. Vodnaya farmatsevticheskaya kompozitsiya levilimaba i ee primeneniye [Aqueous pharmaceutical composition of levilimab and its use]. Patent RF No. 2745814 C1; ZAO "BIOKAD" (patentobladatel'). Zayavl. 05.06.2020; Opubl. 01.04.2021, Byul. No. 10.
71. Schuster S.J., Maziarz R.T., Rusch E.S., et al. Grading and management of cytokine release syndrome in patients treated with tisagenlecleucel in the JULIET trial. *Blood Adv*. 2020;4(7):1432–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001304.
72. Strati P., Ahmed S., Furqan F., et al. Prognostic impact of corticosteroids on efficacy of chimeric antigen receptor T-cell therapy in large B-cell lymphoma. *Blood*. 2021;137(23):3272–6. DOI: 10.1182/blood.2020008865.
73. Nellan A., McCully C.M.L., Cruz Garcia R., et al. Improved CNS exposure to tocilizumab after cerebrospinal fluid compared to intravenous administration in rhesus macaques. *Blood*. 2018;132(6):662–6. DOI: 10.1182/blood-2018-05-846428.
74. Balis F.M., Lester C.M., Chrousos G.P., et al. Differences in cerebrospinal fluid penetration of corticosteroids: possible relationship to the prevention of meningeal leukemia. *J Clin Oncol*. 1987;5(2):202–7. DOI: 10.1200/JCO.1987.5.2.202.
75. Labar B., Suciú S., Willemze R., et al. Dexamethasone compared to prednisolone for adults with acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: final results of the ALL-4 randomized, phase III trial of the EORTC Leukemia Group. *Haematologica*. 2010;95(9):1489–95. DOI: 10.3324/haematol.2009.018580.
76. Gardner R.A., Ceppi F., Rivers J., et al. Preemptive mitigation of CD19 CAR T-cell cytokine release syndrome without attenuation of antileukemic efficacy. *Blood*. 2019;134(24):2149–58. DOI: 10.1182/blood.2019001463.
77. Hines M.R., Knight T.E., McNerney K.O., et al. Immune effector cell-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis-like syndrome. *Transplant Cell Ther*. 2023;29(7):438.e1–e16. DOI: 10.1016/j.tjct.2023.03.006.
78. Chen F., Teachey D.T., Pequignot E., et al. Measuring IL-6 and sIL-6R in serum from patients treated with tocilizumab and/or siltuximab following CAR T cell therapy. *J Immunol Methods*. 2016;434:1–8. DOI: 10.1016/j.jim.2016.03.005.
79. Titov A., Petukhov A., Staliarova A., et al. The biological basis and clinical symptoms of CAR T therapy-associated toxicities. *Cell Death Dis*. 2018;9(9):897. DOI: 10.1038/s41419-018-0918-x.
80. Zhang L., Wang S., Xu J., Zhang R., et al. Etanercept as a new therapeutic option for cytokine release syndrome following chimeric antigen receptor T cell therapy. *Exp Hematol Oncol*. 2021;10(1):16. DOI: 10.1186/s40164-021-00209-2.
81. Strati P., Ahmed S., Kebriaei P., et al. Clinical efficacy of anakinra to mitigate CAR T-cell therapy-associated toxicity in large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020;4(13):3123–7. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002328.
82. Бровко М.Ю., Новиков П.И., Набатчикова Е.А. и др. Сравнительная эффективность олокизумаба и тоцилизумаба в лечении COVID-19 у госпитализированных больных. *Клиническая фармакология и терапия* 2022;31(3):9–15. DOI: 10.32756/0869-5490-2022-3-9-15.
83. Park J.H., Nath K., Devlin S.M., et al. CD19 CAR T-cell therapy and prophylactic anakinra in relapsed or refractory lymphoma: phase 2 trial interim results. *Nat Med*. 2023;29(7):1710–7. DOI: 10.1038/s41591-023-02404-6.
84. Frigault M.J., Yao E., Berger T.R., et al. Single-cell dynamics of breakthrough toxicities following anakinra prophylaxis for axicabtagene ciloleucel in lymphoma. *Blood Adv*. 2025;9(9):2122–35. DOI: 10.1182/bloodadvances.2024015161.
85. Shi Y., Liu C.H., Roberts A.I., et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell Res*. 2006;16(2):126–33. DOI: 10.1038/sj.cr.7310017.
69. Le R.Q., Li L., Yuan W., et al. FDA approval summary: Tocilizumab for treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced severe or life-threatening cytokine release syndrome. *Oncologist*. 2018;23(8):943–7. DOI: 10.1634/theoncologist.2018-0028.
70. Tolstykh D.A., Tsukur A.A., Lomkova E.A., et al. Vodnaya farmatsevticheskaya kompozitsiya levilimaba i ee primeneniye [Aqueous pharmaceutical composition of levilimab and its use]. Patent RF No. 2745814 C1; ZAO "BIOKAD" (patentobladatel'). Zayavl. 05.06.2020; Opubl. 01.04.2021, Byul. No. 10.
71. Schuster S.J., Maziarz R.T., Rusch E.S., et al. Grading and management of cytokine release syndrome in patients treated with tisagenlecleucel in the JULIET trial. *Blood Adv*. 2020;4(7):1432–9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001304.
72. Strati P., Ahmed S., Furqan F., et al. Prognostic impact of corticosteroids on efficacy of chimeric antigen receptor T-cell therapy in large B-cell lymphoma. *Blood*. 2021;137(23):3272–6. DOI: 10.1182/blood.2020008865.
73. Nellan A., McCully C.M.L., Cruz Garcia R., et al. Improved CNS exposure to tocilizumab after cerebrospinal fluid compared to intravenous administration in rhesus macaques. *Blood*. 2018;132(6):662–6. DOI: 10.1182/blood-2018-05-846428.
74. Balis F.M., Lester C.M., Chrousos G.P., et al. Differences in cerebrospinal fluid penetration of corticosteroids: possible relationship to the prevention of meningeal leukemia. *J Clin Oncol*. 1987;5(2):202–7. DOI: 10.1200/JCO.1987.5.2.202.
75. Labar B., Suciú S., Willemze R., et al. Dexamethasone compared to prednisolone for adults with acute lymphoblastic leukemia or lymphoblastic lymphoma: final results of the ALL-4 randomized, phase III trial of the EORTC Leukemia Group. *Haematologica*. 2010;95(9):1489–95. DOI: 10.3324/haematol.2009.018580.
76. Gardner R.A., Ceppi F., Rivers J., et al. Preemptive mitigation of CD19 CAR T-cell cytokine release syndrome without attenuation of antileukemic efficacy. *Blood*. 2019;134(24):2149–58. DOI: 10.1182/blood.2019001463.
77. Hines M.R., Knight T.E., McNerney K.O., et al. Immune effector cell-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis-like syndrome. *Transplant Cell Ther*. 2023;29(7):438.e1–e16. DOI: 10.1016/j.tjct.2023.03.006.
78. Chen F., Teachey D.T., Pequignot E., et al. Measuring IL-6 and sIL-6R in serum from patients treated with tocilizumab and/or siltuximab following CAR T cell therapy. *J Immunol Methods*. 2016;434:1–8. DOI: 10.1016/j.jim.2016.03.005.
79. Titov A., Petukhov A., Staliarova A., et al. The biological basis and clinical symptoms of CAR T therapy-associated toxicities. *Cell Death Dis*. 2018;9(9):897. DOI: 10.1038/s41419-018-0918-x.
80. Zhang L., Wang S., Xu J., Zhang R., et al. Etanercept as a new therapeutic option for cytokine release syndrome following chimeric antigen receptor T cell therapy. *Exp Hematol Oncol*. 2021;10(1):16. DOI: 10.1186/s40164-021-00209-2.
81. Strati P., Ahmed S., Kebriaei P., et al. Clinical efficacy of anakinra to mitigate CAR T-cell therapy-associated toxicity in large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020;4(13):3123–7. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002328.
82. Бровко М.Ю., Новиков П.И., Набатчикова Е.А., et al. Comparative efficacy of olokizumab and tocilizumab in hospitalized patients with COVID-19. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 2022;31(3):9–15 (In Russian). DOI: 10.32756/0869-5490-2022-3-9-15.
83. Park J.H., Nath K., Devlin S.M., et al. CD19 CAR T-cell therapy and prophylactic anakinra in relapsed or refractory lymphoma: phase 2 trial interim results. *Nat Med*. 2023;29(7):1710–7. DOI: 10.1038/s41591-023-02404-6.
84. Frigault M.J., Yao E., Berger T.R., et al. Single-cell dynamics of breakthrough toxicities following anakinra prophylaxis for axicabtagene ciloleucel in lymphoma. *Blood Adv*. 2025;9(9):2122–35. DOI: 10.1182/bloodadvances.2024015161.
85. Shi Y., Liu C.H., Roberts A.I., et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell Res*. 2006;16(2):126–33. DOI: 10.1038/sj.cr.7310017.

86. Yi Y., Chai X., Zheng L., et al. CRISPR-edited CART with GM-CSF knockout and auto secretion of IL6 and IL1 blockers in patients with hematologic malignancy. *Cell Discov.* 2021;7(1):27. DOI: 10.1038/s41421-021-00255-4.
87. Kenderian S.S., Oluwole O.O., McCarthy P.L., et al. ZUMA-19: A phase 1/2 multicenter study of lenzilumab use with axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in patients with relapsed or refractory large B cell lymphoma (R/R LBCL). *Blood.* 2020;136(Suppl 1):6–7.
88. Banerjee R., Marsal J., Huang C.Y., et al. Early time-to-tocilizumab after B cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T cell therapy in myeloma. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(6):477.e1–e7. DOI: 10.1016/j.jct.2021.03.004.
89. Penack O., Peczynski C., Boreland W., et al. Management of complications of chimeric antigen receptor T-cell therapy: a report by the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica.* 2024;109(11):3557–65. DOI: 10.3324/haematol.2023.284810.
90. McNerney K.O., Si Lim S.J., Ishikawa K., et al. HLH-like toxicities predict poor survival after the use of tisagenlecleucel in children and young adults with B-ALL. *Blood Adv.* 2023;7(12):2758–71. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022008893.
91. Lichtenstein D.A., Schischlik F., Shao L., et al. Characterization of HLH-like manifestations as a CRS variant in patients receiving CD22 CAR T cells. *Blood.* 2021;138(24):2469–84. DOI: 10.1182/blood.2021011898.
92. Sandler R.D., Tattersall R.S., Schoemans H., et al. Diagnosis and management of secondary HLH/MAS following HSCT and CAR T cell therapy in adults; a review of the literature and a survey of practice within EBMT centres. *Front Immunol.* 2020;11:524. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00524.
93. Diorio C., Vatsayan A., Talleur A.C., et al. Anakinra utilization in refractory pediatric CAR T-cell associated toxicities. *Blood Adv.* 2022;6(11):3398–403. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022006983.
94. Cai W., Lu Y., He H., et al. Efficacy of emapalumab in the management of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy associated cytokine release syndrome: A report of two cases. *Oncol Lett.* 2024;29(2):71. DOI: 10.3892/ol.2024.14817.
95. Baldo F., Erkens R.G.A., Mizuta M., et al. Current treatment in macrophage activation syndrome worldwide: a systematic literature review to inform the METAPHOR project. *Rheumatology (Oxford).* 2025;64(1):32–44. DOI: 10.1093/rheumatology/keae391.
96. Zhang Q., Zhao Y.Z., Ma H.H., et al. A study of ruxolitinib response-based stratified treatment for pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2022;139(24):3493–504. DOI: 10.1182/blood.2021014860.
97. Myachikova V.Yu., Maslyanskiy A.L., Moiseeva O.M. Idiopathic recurrent pericarditis – a new orphan autoinflammatory disease? A retrospective analysis of cases of idiopathic recurrent pericarditis and a design of a double-blind, randomized, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of RPH-104 treatment in patients with idiopathic recurrent pericarditis. *Kardiologiya.* 2021;61(1):72–7. DOI: 10.18087/cardio.2021.1.n1475.
98. Samsonov M., Bogin V., Van Tassell B.W., Abbate A. Interleukin-1 blockade with RPH-104 in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: study design and rationale. *J Transl Med.* 2021;19:169. DOI: 10.1186/s12967-021-02828-z.
99. Krotkova A., Shipaeva E., Luetjens C.M., et al. Toxicity and Pharmacokinetics of novel IL-1 Trap heterodimeric fusion protein. *Toxicol Lett.* 2015;238(2):S311. ISSN 0378-4274. DOI: 10.1016/j.toxlet.2015.08.889.
86. Yi Y., Chai X., Zheng L., et al. CRISPR-edited CART with GM-CSF knockout and auto secretion of IL6 and IL1 blockers in patients with hematologic malignancy. *Cell Discov.* 2021;7(1):27. DOI: 10.1038/s41421-021-00255-4.
87. Kenderian S.S., Oluwole O.O., McCarthy P.L., et al. ZUMA-19: A phase 1/2 multicenter study of lenzilumab use with axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in patients with relapsed or refractory large B cell lymphoma (R/R LBCL). *Blood.* 2020;136(Suppl 1):6–7.
88. Banerjee R., Marsal J., Huang C.Y., et al. Early time-to-tocilizumab after B cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T cell therapy in myeloma. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(6):477.e1–e7. DOI: 10.1016/j.jct.2021.03.004.
89. Penack O., Peczynski C., Boreland W., et al. Management of complications of chimeric antigen receptor T-cell therapy: a report by the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica.* 2024;109(11):3557–65. DOI: 10.3324/haematol.2023.284810.
90. McNerney K.O., Si Lim S.J., Ishikawa K., et al. HLH-like toxicities predict poor survival after the use of tisagenlecleucel in children and young adults with B-ALL. *Blood Adv.* 2023;7(12):2758–71. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022008893.
91. Lichtenstein D.A., Schischlik F., Shao L., et al. Characterization of HLH-like manifestations as a CRS variant in patients receiving CD22 CAR T cells. *Blood.* 2021;138(24):2469–84. DOI: 10.1182/blood.2021011898.
92. Sandler R.D., Tattersall R.S., Schoemans H., et al. Diagnosis and management of secondary HLH/MAS following HSCT and CAR T cell therapy in adults; a review of the literature and a survey of practice within EBMT centres. *Front Immunol.* 2020;11:524. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00524.
93. Diorio C., Vatsayan A., Talleur A.C., et al. Anakinra utilization in refractory pediatric CAR T-cell associated toxicities. *Blood Adv.* 2022;6(11):3398–403. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022006983.
94. Cai W., Lu Y., He H., et al. Efficacy of emapalumab in the management of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy associated cytokine release syndrome: A report of two cases. *Oncol Lett.* 2024;29(2):71. DOI: 10.3892/ol.2024.14817.
95. Baldo F., Erkens R.G.A., Mizuta M., et al. Current treatment in macrophage activation syndrome worldwide: a systematic literature review to inform the METAPHOR project. *Rheumatology (Oxford).* 2025;64(1):32–44. DOI: 10.1093/rheumatology/keae391.
96. Zhang Q., Zhao Y.Z., Ma H.H., et al. A study of ruxolitinib response-based stratified treatment for pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2022;139(24):3493–504. DOI: 10.1182/blood.2021014860.
97. Myachikova V.Yu., Maslyanskiy A.L., Moiseeva O.M. Idiopathic recurrent pericarditis – a new orphan autoinflammatory disease? A retrospective analysis of cases of idiopathic recurrent pericarditis and a design of a double-blind, randomized, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of RPH-104 treatment in patients with idiopathic recurrent pericarditis. *Kardiologiya.* 2021;61(1):72–7. DOI: 10.18087/cardio.2021.1.n1475.
98. Samsonov M., Bogin V., Van Tassell B.W., Abbate A. Interleukin-1 blockade with RPH-104 in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: study design and rationale. *J Transl Med.* 2021;19:169. DOI: 10.1186/s12967-021-02828-z.
99. Krotkova A., Shipaeva E., Luetjens C.M., et al. Toxicity and Pharmacokinetics of novel IL-1 Trap heterodimeric fusion protein. *Toxicol Lett.* 2015;238(2):S311. ISSN 0378-4274. DOI: 10.1016/j.toxlet.2015.08.889.

Информация об авторах

Лепик Кирилл Викторович*, кандидат медицинских наук, руководитель отдела биотехнологий НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: lepikkv@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4056-050X>

Дергачева Татьяна Юрьевна, директор департамента по медицинской поддержке онкологических продуктов Медицинской дирекции АО «Р-Фарм», e-mail: dergacheva@rpharm.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2743-5438>

Попова Марина Олеговна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гематологии трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии ФПО им. Б.В. Афанасьева ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: marina.popova.spb@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8536-5495>

Андрианов Андрей Николаевич, кандидат медицинских наук, научный советник научной группы исследований в онкологии отдела медицинской документации департамента доклинической и клинической разработки медицинской дирекции АО «Р-Фарм», e-mail: an.andrianov@rpharm.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9298-7521>

Самсонов Михаил Юрьевич, кандидат медицинских наук, медицинский директор медицинской дирекции АО «Р-Фарм», e-mail: samsonov@r-pharm.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2685-1623>

Моисеев Иван Сергеевич, доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе «НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой», Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: moisiv@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4332-0114>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 24.04.2025

Принята к печати: 10.06.2025

Information about the authors

Kirill V. Lepik*, Cand. Sci. (Med.), Head of the Biotechnology Department, R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: lepikkv@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4056-050X>

Tatyana Yu. Dergacheva, Director of the Department for Medical Support of Oncology Products, Medical Directorate, JSC "R-Pharm", e-mail: dergacheva@rpharm.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2743-5438>

Marina O. Popova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Hematology, Transfusiology and Transplantology with the Course of Pediatric Oncology, Faculty of Postgraduate Education named after Professor B.V. Afanasyev, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: marina.popova.spb@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8536-5495>

Andrey N. Andrianov, Cand. Sci. (Med.), Scientific Advisor, Medical Documentation Division, Department of Preclinical and Clinical Development, Medical Directorate, JSC "R-Pharm", e-mail: an.andrianov@rpharm.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9298-7521>

Mikhail Yu. Samsonov, Cand. Sci. (Med.), Chief Medical Officer, Medical Directorate, JSC "R-Pharm", e-mail: samsonov@r-pharm.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2685-1623>

Ivan S. Moiseev, Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Research, R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: moisiv@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4332-0114>

* Corresponding author

Received 24 Apr 2025

Accepted 10 Jun 2025

<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-245-251>



ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ИММУННЫХ КЛЕТОК ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ: ИНДУКЦИЯ РЕМИССИИ ПЕРЕД ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Волков Д.В.^{*}, Габибов А.Г.

ФГБУН «Государственный научный центр Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук, 117997, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Традиционные методы предтрансплантационного кондиционирования провоцируют острые повреждения органов. Более безопасны иммунотерапевтические препараты, нацеленные на различные маркеры клеток крови. Такой потенциал имеется у препаратов на основе цитотоксических иммунных клеток. Их использование позволит совместить два этапа терапии — удаление остаточного опухолевого клона и элиминацию гемопоэза, увеличив тем самым вероятность приживания трансплантата без развития реакции «трансплантат против хозяина».

Цель: систематизировать информацию о применении клеточной терапии у больных гемобластозами и оценить роль такой терапии при подготовке больных к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

Основные сведения. Проведен анализ роли и существующих режимов кондиционирования. Обсуждены подходы к использованию иммунотерапевтических агентов на основе цитотоксических иммунных клеток для лечения больных гемобластозами, обозначена роль такой терапии при подготовке больных к ТГСК.

Ключевые слова: гемобластоз, Т-клетки, CAR T клетки, ViTE, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, кондиционирование

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 23-44-00043).

Для цитирования: Волков Д.В., Габибов А.Г. Препараты на основе цитотоксических иммунных клеток при гемобластозах: индукция ремиссии перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. 2025; 70(2):245–251. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-245-251>

CYTOTOXIC IMMUNE CELL-DERIVED AGENTS IN HEMATOLOGIC NEOPLASMS: PRE-TRANSPLANT REMISSION INDUCTION

Volkov D.V.^{*}, Gabibov A.G.

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Traditional methods of pre-transplant conditioning provoke acute organ damage. Immunotherapeutic drugs that target various markers of blood cells are safer. This potential is possessed by drugs based on cytotoxic immune cells. Their use may concurrently address two treatment objectives — residual tumor clearance (induction of remission) and myeloablation — consequently improving graft acceptance while preventing graft-versus-host disease development.

Aim: to systematize information on the use of cell therapy in patients with hematologic malignancies and to evaluate the role of such therapy in preparing patients for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).

Main findings. Current conditioning regimens and their rationale were reviewed. Approaches to the use of immunotherapeutic agents based on cytotoxic immune cells for the treatment of patients with hematologic neoplasms are discussed, and the role of such therapy in preparing patients for HSCT is outlined.

Keywords: hematologic neoplasms, T cells, CAR T cells, BiTE, hematopoietic stem cell transplantation, conditioning

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

Financial disclosure: the work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 23-44-00043).

For citation: Volkov D.V., Gabibov A.G. Cytotoxic immune cell-derived agents in hematologic neoplasms: Pre-transplant remission induction. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2025; 70(2):245–251. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-245-251>

Введение

Традиционные методы предтрансплантационного кондиционирования больных (химиотерапия и облучение в дозах, которые высокотоксичны для клеток крови и костного мозга) провоцируют острые повреждения других органов. Более безопасные иммунотерапевтические препараты, нацеленные на различные маркеры клеток крови, давно исследуют в качестве кондиционирующих агентов. Показана возможность элиминации гемопоэтических клеток этими препаратами. Такой потенциал имеется у препаратов на основе цитотоксических иммунных клеток. Их использование позволит частично совместить два этапа терапии — удаление остаточного опухолевого клона (индукцию ремиссии) и элиминацию гемопоэза, тем самым увеличив вероятность приживания трансплантата без развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

Цель настоящего обзора — систематизировать информацию о применении клеточной терапии у боль-

ных гемобластомами и оценить роль такой терапии при подготовке больных к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

Роль кондиционирования при подготовке к ТГСК

ТГСК применяют в качестве заключительного этапа лечения больных с нарушениями кроветворения, аутоиммунными заболеваниями или злокачественными новообразованиями [1]. После ТГСК донорские стволовые клетки восстанавливают кроветворную и иммунную системы реципиента. Благоприятный исход ТГСК зависит от многих факторов, включая совместимость по человеческим лейкоцитарным антигенам, своевременное предотвращение РТПХ и эффективную редукцию кроветворной и иммунной систем реципиента (кондиционирование) перед ТГСК [2]. В процессе кондиционирования организм больного подвергается воздействию высокотоксичных аген-

тов, которые повышают эффективность приживления трансплантата, но в то же время провоцируют сопутствующие нарушения в других органах и тканях, формируя локальные очаги воспаления и повышая риск генотоксичности [1].

Кондиционирование является необходимым этапом подготовки для эффективной ТГСК. Во-первых, кондиционирование создает свободное пространство в нишах гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Такие ниши имеют сложную пространственную организацию со множеством различных типов клеток [3, 4]. Эти клетки продуцируют молекулярные сигналы, необходимые для восстановления ГСК и поддержания функционирования костного мозга (КМ). Кондиционирование позволяет донорским ГСК занять освободившиеся ниши, чтобы начать восстановление кроветворной системы [5]. Во-вторых, кондиционирование освобождает пространство в микроокружении КМ. Предшественники гранулоцитов и макрофагов заполняют его, формируя кластеры, которые вовлечены в миелопоэз [6, 7]. В-третьих, в случае злокачественных новообразований и аутоиммунных нарушений кондиционирование позволяет максимально удалить остаточный патологический росток КМ [8]. Дополнительное использование антитимоцитарного глобулина, циклоспорина, такролимуса или сиролимуса индуцирует иммуносупрессию для уменьшения риска отторжения трансплантата и возникновения РТПХ [9, 10].

Режимы кондиционирования

Официальной классификации режимов кондиционирования не предложено. Применяют разные сочетания кондиционирующих агентов, которые обуславливают градацию интенсивности кондиционирования — миелоаблативное и сниженной интенсивности или немиелоаблативное [11] (рис. 1).

До сих пор используют традиционные методы кондиционирования — химиотерапию и облучение, которые обладают тяжелыми побочными эффектами, включая повышенную вероятность развития опухолей. Группой высокого риска в этом случае являются реципиенты с наследственными заболеваниями, связанными с нарушениями репарации ДНК (анемия Фанкони, синдром Ниймеген, синдром Блума, атаксия-телеангиоэктазия), дети, в анамнезе которых есть сопутствующие заболевания и другие факторы риска, и пожилые больные [13–16]. Существуют протоколы кондиционирования с использованием средних и низких доз химиотерапевтических препаратов и облучения, но низкие дозы не гарантируют полноценного удаления патологического ростка КМ, а также достаточной элиминации собственных иммунных клеток реципиента, что негативно отражается на эффективности терапии и приживлении трансплантата [17].

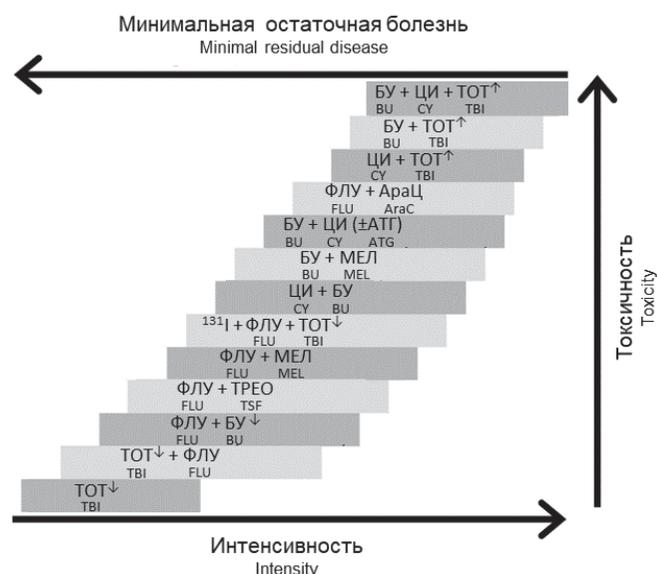


Рисунок 1. Режимы кондиционирования (адаптировано из [12]); TOT — тотальное облучение тела, ↓ — низкая доза, ↑ — высокая доза, ФЛУ — флударабин, БУ — бусульфид, ТРЕО — тресульфид, МЕЛ — мелфалан, 131I — конъюгированное с изотопом йод-131 антитело к рецептору CD45 (CD — cluster of differentiation), ЦИ — циклофосфамид, АТГ — антитимоцитарный глобулин, АраЦ — цитарабин

Figure 1. Conditioning regimens (adapted from [12]); TBI — total body irradiation, ↓ — low dose, ↑ — high dose, FLU — fludarabine, BU — busulfan, TRS — treosulfan, MEL — melphalan, 131I — Iode-131 isotope conjugated CD45 antibody (CD — cluster of differentiation), CY — cyclophosphamide, ATG — Anti-thymocyte globulin, AraC — Cytarabine

Кроме того, даже высокоинтенсивные режимы кондиционирования часто не обеспечивают требуемую редукцию кроветворной и иммунной систем реципиента, что способствует проявлению основных факторов посттрансплантационной смертности — отторжению трансплантата и развитию РТПХ. Для более эффективной и безопасной ТГСК необходимо дополнительно использовать более направленные и эффективные препараты.

В настоящее время для элиминации злокачественных клеток крови применяют иммунотерапевтические агенты, такие как моноклональные антитела, специфичные к маркерам клеток лимфоидного и миелоидного происхождения (CD52 (здесь и далее по тексту CD — cluster of differentiation) [18, 19]; CD20 [20, 21]; интегрин $\alpha\beta 7$ [22], клиническое исследование #NCT03657160; CD117 [23–25]; CD47 [23, 25]; CD4; CD8; CD40L; CD122 [26] и др.), а также химио- (CD45 [27]; CD117 [28]; CD33 [29]; CD300f [30] и др.) и радио-конъюгаты антител (CD45 — клиническое исследование #NCT02665065; CD20 [31], CD25 — клиническое исследование #NCT04871607; CD66 — клиническое исследование #NCT04082286 и др.). Схожим потенциалом обладают иммунотерапевтические агенты на основе цитотоксических иммунных клеток. Кроме того, с их помощью возможна эффективная элиминация опухолевых клеток, часто обладающих лекарственной устойчивостью, что обеспечивает устойчивую ремиссию при гемобластозах.

Терапевтические агенты на основе Т-клеток, модифицированных химерным антигенным рецептором (Chimeric antigen receptor, CAR)

Введение CAR Т-клеток для лечения агрессивных злокачественных заболеваний и удаления остаточного опухолевого клона при миелоидных новообразованиях обеспечивает в то же время миелотоксический эффект и предполагает в дальнейшем ТГСК. Это свойство позволяет рассматривать терапию CAR Т-клетками как дополнение к кондиционированию, которое повысит эффективность ТГСК.

CD117

В исследованиях CAR Т-клеток, направленных на CD117, показан потенциал иммунотерапевтических клеточных агентов для повышения эффективности ТГСК. В экспериментах *in vitro* показали эффективный лизис мышинных CD117-позитивных ГСК и клеток-предшественников. Оценивая эффективность анти-CD117 CAR Т-клеточной терапии на животных, обнаружили, что в КМ к 8 дню терапии значительно уменьшалось количество ГСК и клеток-предшественников. В экспериментах [32] с трансплантацией аллогенных клеток КМ мышам показали, что введение циклофосфида, применяемого для кондиционирования у людей, само по себе не способствовало приживлению трансплантата, однако при введении циклофосфида и анти-CD117 CAR Т-клеток донорский химеризм составил 26,9%, и к 12 неделям наблюдали 20–30% донорских В-клеток, Т-клеток, гранулоцитов в периферической крови животных. В случае мышинной модели хронического гранулематозного заболевания режим кондиционирования циклофосфидом, дополненный введением анти-CD117 CAR Т-клеток, с последующей трансплантацией клеток КМ позволил провести фенотипическую коррекцию заболевания.

Другая исследовательская группа, использовавшая анти-CD117 CAR Т-клетки, также установила специфический лизис CD117-позитивных бластных клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) *in vitro* и *in vivo* [33]. Всего 98% CD117-позитивных клеток были элиминированы CAR Т-клетками, что привело к заметному снижению общего количества клеток КМ. Хотя исследование не включало модель трансплантации клеток КМ у животных, элиминация не только бластных клеток ОМЛ, но и ГСК и клеток-предшественников анти-CD117 CAR Т-клетками подчеркивает их потенциал к такому использованию.

CD123

Другой мишенью для CAR Т-клеточной терапии, потенциально способствующей повышению эффективности ТГСК, может быть CD123. α -цепь рецептора интерлейкина (ИЛ)-3 представлена в бластных

клетках ОМЛ и нормальных гемопоэтических клетках [34]. S. Gill и соавт. [34] получили CAR Т-клетки, направленные на CD123, и показали, что при введении этих клеток мышам с трансплантированными бластными клетками ОМЛ человека и здоровыми гемопоэтическими клетками происходит полноценная элиминация ксенотрансплантата. Кроме того, лечение анти-CD123 CAR Т-клетками также приводило к нарушению нормального кроветворения у мышей, которым трансплантировали здоровые человеческие CD34-позитивные клетки.

Другая группа, изучавшая применение анти-CD123 CAR Т-клеток, пришла к сходным результатам [35]. В исследованиях *in vitro* показали, что коинкубация с анти-CD123 CAR Т-клетками значительно снижает клоногенность CD34-позитивных клеток-предшественников. В экспериментах *in vivo* мышей облучали и трансплантировали им человеческие CD34-позитивные клетки-предшественники. Введение анти-CD123 CAR Т-клеток либо через 1 день, либо через 6 недель значительно ухудшало мультилинейное восстановление гемопоэза. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о потенциале применения анти-CD123 CAR Т-клеток в качестве дополнения к существующим режимам кондиционирования и одновременного уменьшения опухолевой нагрузки.

CD45

Еще одной перспективной мишенью для CAR Т-опосредованного кондиционирования является антиген CD45 — белковая тирозиновая фосфатаза, которая представлена на поверхности практически всех клеток крови за исключением зрелых тромбоцитов и эритроцитов, и отсутствует на клетках других тканей организма [36] (рис. 2).

Опухолевые клетки подавляющего большинства лейкозов и лимфом также несут CD45 на своей поверхности [38, 39]. Благодаря этому больше типов гемопоэтических и иммунных клеток будет подвергаться элиминации, что, возможно, обеспечит более полную редукцию гемопоэтических клеток больного и снижение риска сохранения остаточного заболевания или возникновения рецидива после трансплантации.

N. Wellhausen и соавт. [40] показали принципиальную возможность точечного редактирования (BE — base editing) гена PTPRC, кодирующего CD45 в Т-клетках, для создания устойчивых к кросс-цитотоксичности (фратрициду) анти-CD45 CAR Т-клеток. Авторы показали на моделях на мышах, что полученные ими анти-CD45 CAR Т-клетки лизируют широкий спектр CD45-позитивных опухолевых клеток, эффективно элиминируют гемопоэз и не мешают трансплантации отредактированных аналогичным образом CD34-позитивных клеток для восстановления кровеносной системы.

Две другие исследовательские группы [37, 41] использовали систему CRISPR/Cas9 для нокаута (КО — knock-out) гена *PTPRC* в Т клетках. Тем самым авторы получили устойчивые к фратрициду анти-CD45 CAR Т КО клетки и продемонстрировали эффективную элиминацию CD45-позитивных клеток крови человека, включая злокачественные, как *in vitro* [37, 41], так и на релевантных животных моделях [37].

Терапевтические агенты на основе биспецифических активаторов Т-клеток

Подход к элиминации опухолей с использованием биспецифических активаторов Т-клеток (BiTE) позволяет распознавать нативные антигены, но в то же время включает в себя физиологичный Т-клеточный ответ. Это возможно благодаря наличию двух распознающих доменов, один из которых специфичен к CD3ε на Т-клетках [42]. Если второй домен BiTE распознает различные маркеры ГСК, то этот метод можно использовать с целью достижения ремиссии при гемобластазах.

CD34

Авторы исследования [43] показали, что BiTE анти-CD34-анти-CD3ε эффективны в терапии ОМЛ на доклинических моделях. Т-клетки в присутствии BiTE анти-CD34-анти-CD3ε элиминировали CD34-позитивные опухоли как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, авторы также показали, что в присутствии BiTE Т клетки лизировали ГСК, выделенные из периферической крови после мобилизации. Хотя в исследовании не изучали элиминацию ГСК и CD34-позитивных клеток КМ *in vivo*, потенциал у данного подхода к такому использованию имеется.

CD117

J. D. Kiefer и соавт. [44] показали, что BiTE анти-CD117-анти-CD3ε способствует эффективному лизису CD117-позитивных опухолевых клеточных линий и первичных бластов ОМЛ *in vitro*. CD117-позитивные клетки-предшественники также были подвержены элиминации при коинкубации с аутологичными Т-клетками в присутствии BiTE анти-CD117-анти-CD3ε, что демонстрирует перспективы применения этого BiTE для повышения эффективности ТГСК.

FLT3

Сигнал от рецептора FLT3 способствует дифференцировке ГСК и клеток-предшественников. Однако этот рецептор экспонирован также на поверхности бластных клеток у большинства больных ОМЛ, где он обеспечивает выживаемость злокачественных клеток и их пролиферацию. Таким образом, FLT3 представляет собой мишень как для лечения ОМЛ, так и для специфичной элиминации ГСК.

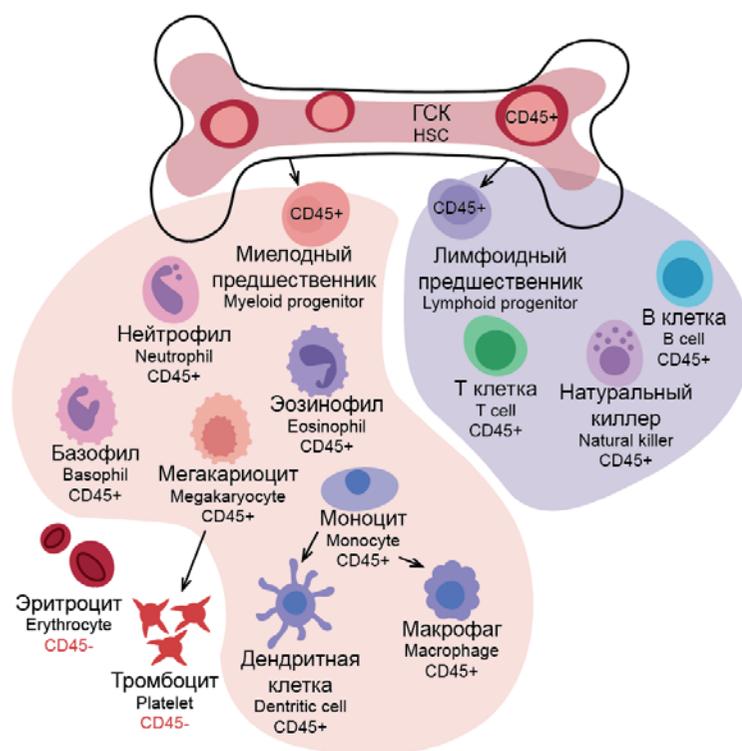


Рисунок 2. Представленность CD45 на клетках крови человека (адаптировано из [37]); ГСК — гемопоэтическая стволовая клетка

Figure 2. CD45 on human blood cells (adapted from [37]); HSC — hematopoietic stem cell

C. Sirochinsky и соавт. [45] оценили эффективность BiTE анти-FLT3-анти-CD3ε на гуманизированных с помощью РВМС иммунодефицитных мышях с трансплантированными клетками ОМЛ. В результате такой терапии у животных наблюдали эффективное уничтожение ксенотрансплантата как опухоли, так и здоровых человеческих гемопоэтических клеток в КМ. Данное исследование показало, что BiTE анти-FLT3-анти-CD3ε можно использовать как для лечения ОМЛ, так и для повышения эффективности ТГСК.

Таким образом, применение CAR Т-клеточных препаратов позволило совершить качественный скачок в лечении В-клеточных гемобластозов. Применение клеточных технологий для лечения миелоидных новообразований также демонстрирует высокий терапевтический потенциал таких препаратов, особенно в случаях устойчивости к химиотерапевтическим препаратам и облучению, а также в борьбе с рецидивами заболеваний. Аналогом таких препаратов являются BiTE, которые активно применяют в терапии злокачественных новообразований. Направляя иммунные клетки на миелоидные и лимфоидные маркеры, такие препараты способны эффективно дополнить существующие режимы кондиционирования и ТГСК для обеспечения надежного приживления трансплантата и снижения риска развития РТПХ и рецидива новообразований. Несмотря на достигнутые успехи, существует ряд проблем и вызовов, которые необходимо преодолеть. К ним относятся потенциальные побочные эффекты, харак-

терные для применения CAR T-клеток — синдром выброса цитокинов и нейротоксичность, а также риски развития вторичных опухолей. Также необходимо учитывать индивидуальные особенности больных, включая возраст, сопутствующие заболевания и генетические предрасположенности. Остается актуальным выбор оптимального антигена для клеточного кондиционирования. Разработки в области применения одновременно

го коктейля из CAR T-клеток или ViTE способствуют более тщательному учету разнообразных потенциальных мишеней. Дальнейшие исследования в этой области, особенно комплексного подхода с применением как CAR T терапии, так и ТГСК, могут существенно изменить подходы к лечению, повысить эффективность трансплантации и улучшить качество жизни больных гемобластозами.

Литература / References

1. Tuthill M., Hatzimichael E. Hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Cloning*. 2010;3:105. DOI: 10.2147/sccaa.s6815.
2. Rafiee M., Abbasi M., Rafieemehr H., et al. A concise review on factors influencing the hematopoietic stem cell transplantation main outcomes. *Health Sci Rep*. 2021;2:e282. DOI: 10.1002/hsr2.282.
3. Pinho S., Frenette P.S. Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019;5:303–20. DOI: 10.1038/s41580-019-0103-9.
4. Wei Q., Frenette P.S. Niches for hematopoietic stem cells and their progeny. *Immunity*. 2018;4:632–48. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.03.024.
5. Ugarte F., Forsberg E.C. Haematopoietic stem cell niches: new insights inspire new questions. *EMBO J*. 2013;19:2535–47. DOI: 10.1038/emboj.2013.201.
6. Héralt A., Binnewies M., Leong S., et al. Myeloid progenitor cluster formation drives emergency and leukaemic myelopoiesis. *Nature*. 2017;7648:53–8. DOI: 10.1038/nature21693.
7. Niederkorn M., Starczynowski D.T. GMP-ing to spatial conclusions about emergency and leukemic myelopoiesis. *Cell Stem Cell*. 2017;5:579–81. DOI: 10.1016/j.stem.2017.04.005.
8. Vriesendorp H.M. Aims of conditioning. *Exp Hematol*. 2003;10:844–54. DOI: 10.1016/s0301-472x(03)00229-7.
9. Bouchlaka M.N., Redelman D., Murphy W.J. Immunotherapy following hematopoietic stem cell transplantation: potential for synergistic effects. *Immunotherapy*. 2010;3:399–418. DOI: 10.2217/imt.10.20.
10. Chang Y.-J., Zhao X.-Y., Huang X.-J. Strategies for enhancing and preserving anti-leukemia effects without aggravating graft-versus-host disease. *Front Immunol*. 2018;3041. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03041.
11. Gyurkocza B., Sandmaier B.M. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood*. 2014;3:344–53. DOI: 10.1182/blood-2014-02-514778.
12. Deeg H.J., Sandmaier B.M. Who is fit for allogeneic transplantation? *Blood*. 2010;23:4762–70. DOI: 10.1182/blood-2010-07-259358.
13. Ebens C.L., MacMillan M.L., Wagner J.E. Hematopoietic cell transplantation in Fanconi anemia: current evidence, challenges and recommendations. *Expert Rev Hematol*. 2017;1:81–97. DOI: 10.1080/17474086.2016.1268048.
14. Giardino S., de Latour R.P., Aljurf M., et al. Outcome of patients with Fanconi anemia developing myelodysplasia and acute leukemia who received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A retrospective analysis on behalf of EBMT group. *Am J Hematol*. 2020;7:809–16. DOI: 10.1002/ajh.25810.
15. Rialland F., Grain A., Labopin M., et al. Reduced-toxicity myeloablative conditioning regimen using fludarabine and full doses of intravenous busulfan in pediatric patients not eligible for standard myeloablative conditioning regimens: Results of a multicenter prospective phase 2 trial. *Bone Marrow Transplant*. 2022;11:1698–703. DOI: 10.1038/s41409-022-01769-5.
16. Brammer J.E., Stentz A., Gajewski J., et al. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplant for the treatment of patients with hematologic malignancies using busulfan, fludarabine, and total body irradiation conditioning is effective in an elderly and infirm population. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;1:89–96. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.024.
17. Atilla E., Ataca Atilla P., Demirel T. A review of myeloablative vs reduced intensity/non-myeloablative regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Balkan Med J*. 2017;1:1–9. DOI: 10.4274/balkanmedj.2017.0055.
18. Slatter M.A., Rao K., Abd Hamid I.J., et al. Treosulfan and fludarabine conditioning for hematopoietic stem cell transplantation in children with primary immunodeficiency: UK experience. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;3:529–36. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.11.009.
19. Law J., Cowan M.J., Dvorak C.C., et al. Busulfan, fludarabine, and alemtuzumab as a reduced toxicity regimen for children with malignant and nonmalignant diseases improves engraftment and graft-versus-host disease without delaying immune reconstitution. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;11:1656–63. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.05.006.
20. Jagadeesh D., Majhail N.S., He Y., et al. Outcomes of rituximab-BEAM versus BEAM conditioning regimen in patients with diffuse large B cell lymphoma undergoing autologous transplantation. *Cancer*. 2020;10:2279–87. DOI: 10.1002/cncr.32752.
21. Epperla N., Ahn K.W., Ahmed S., et al. Rituximab-containing reduced-intensity conditioning improves progression-free survival following allogeneic transplantation in B cell non-Hodgkin lymphoma. *J Hematol Oncol*. 2017;1:???. DOI: 10.1186/s13045-017-0487-y.
22. Chen Y.-B., Shah N.N., Renteria A.S., et al. Vedolizumab for prevention of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Adv*. 2019;23:4136–46. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000893.
23. Marjon K.D., Chen J.Y., Duan J., et al. An all antibody approach for conditioning bone marrow for Hematopoietic stem cell transplantation with anti-cKIT and anti-CD47 in non-human primates. *Blood*. 2019;Supplement_1:4428. DOI: 10.1182/blood-2019-131490.
24. Kwon H.-S., Logan A.C., Chhabra A., et al. Anti-human CD117 antibody-mediated bone marrow niche clearance in nonhuman primates and humanized NSG mice. *Blood*. 2019;19:2104–8. DOI: 10.1182/blood-2018-06-853879.
25. Chhabra A., Ring A.M., Weiskopf K., et al. Hematopoietic stem cell transplantation in immunocompetent hosts without radiation or chemotherapy. *Sci Transl Med*. 2016;351:351ra105. DOI: 10.1126/scitranslmed.aae0501.
26. George B.M., Kao K.S., Kwon H.-S., et al. Antibody conditioning enables MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplants and organ graft tolerance. *Cell Stem Cell*. 2019;2:185–92.e3. DOI: 10.1016/j.stem.2019.05.018.
27. Palchaudhuri R., Saez B., Hoggatt J., et al. Non-genotoxic conditioning for hematopoietic stem cell transplantation using a hematopoietic-cell-specific internalizing immunotoxin. *Nat Biotechnol*. 2016;7:738–45. DOI: 10.1038/nbt.3584.
28. Li Z., Czechowicz A., Scheck A., et al. Hematopoietic chimerism and donor-specific skin allograft tolerance after non-genotoxic CD117 antibody-drug-conjugate conditioning in MHC-mismatched allotransplantation. *Nat Commun*. 2019;1:616. DOI: 10.1038/s41467-018-08202-w.
29. Wadleigh M., Richardson P.G., Zahrieh D., et al. Prior gemtuzumab ozogamicin exposure significantly increases the risk of veno-occlusive disease in

- patients who undergo myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2003;5:1578–82. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0255.
30. Abadir E., Silveira P.A., Gasiorowski R.E., et al. Targeting CD300f to enhance hematopoietic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2020;7:1206–16. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001289.
31. Krishnan A., Palmer J.M., Tsai N.-C., et al. Matched-cohort analysis of autologous hematopoietic cell transplantation with radioimmunotherapy versus total body irradiation-based conditioning for poor-risk diffuse large cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;3:441–50. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.07.016.
32. Arai Y., Choi U., Corsino C.I., et al. Myeloid conditioning with c-kit-targeted CAR-T cells enables donor stem cell engraftment. *Mol Ther*. 2018;5:1181–97. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.03.003.
33. Myburgh R., Kiefer J.D., Russkamp N.F., et al. Anti-human CD117 CAR T-cells efficiently eliminate healthy and malignant CD117-expressing hematopoietic cells. *Leukemia*. 2020;10:2688–703. DOI: 10.1038/s41375-020-0818-9.
34. Gill S., Tasian S.K., Ruella M., et al. Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells. *Blood*. 2014;15:2343–54. DOI: 10.1182/blood-2013-09-529537.
35. Baroni M.L., Sanchez Martinez D., Gutierrez Aguera F., et al. 41BB-based and CD28-based CD123-redirected T-cells ablate human normal hematopoiesis in vivo. *J Immunother Cancer*. 2020;1:e000845. DOI: 10.1136/jitc-2020-000845.
36. Dahlke M.H., Larsen S.R., Rasko J.E.J., et al. The biology of CD45 and its use as a therapeutic target. *Leuk Lymphoma*. 2004;2:229–36. DOI: 10.1080/1042819031000151932.
37. Stepanova V.M., Volkov D.V., Osipova D.S., et al. Targeting CD45 by gene-edited CAR T cells for leukemia eradication and hematopoietic stem cell transplantation preconditioning. *Molecular Therapy: Oncology*. 2024;3:200843. DOI: 10.1016/j.omton.2024.200843.
38. Hermiston M.L., Xu Z., Weiss A. CD45: a critical regulator of signaling thresholds in immune cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;1:107–37. DOI: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.140946.
39. Volkov D.V., Stepanova V.M., Rubtsov Y.P., et al. Protein tyrosine phosphatase CD45 as an immunity regulator and a potential effector of CAR-T therapy. *Acta Naturae*. 2023;3:17–26. DOI: 10.32607/actanaturae.25438.
40. Wellhausen N., O'Connell R.P., Lesch S., et al. Epitope base editing CD45 in hematopoietic cells enables universal blood cancer immune therapy. *Sci Transl Med*. 2023;714:eadi1145. DOI: 10.1126/scitranslmed.adi1145.
41. Harfmann M., Schröder T., Głow D., et al. CD45-directed CAR-T cells with CD45 knockout efficiently kill myeloid leukemia and lymphoma cells in vitro even after extended culture. *Cancers (Basel)*. 2024;2:???. DOI: 10.3390/cancers16020334.
42. Tian Z., Liu M., Zhang Y., et al. Bispecific T cell engagers: an emerging therapy for management of hematologic malignancies. *J Hematol Oncol*. 2021;1:75. DOI: 10.1186/s13045-021-01084-4.
43. Arruda L.C.M., Jin L., Lambert M., et al. A novel CD34-specific T-cell engager efficiently depletes stem cells and Acute myeloid leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood*. 2021;Supplement 1:2861. DOI: 10.1182/blood-2021-145278.
44. Kiefer J.D., Myburgh R., Russkamp N.F., et al. A bispecific antibody targeting CD117 and CD3 enables T cell mediated killing of CD117-expressing healthy and malignant hematopoietic cells. *Blood*. 2021;Supplement 1:2354. DOI: 10.1182/blood-2021-147676.
45. Sirochinsky C., Liang R., Shrestha E., et al. FLT3-CD3 bispecific antibody specifically eliminates normal hematopoietic progenitors and AML in humanized mouse models. *Blood*. 2020;Supplement 1:20–1. DOI: 10.1182/blood-2020-142709.

Информация об авторах

Волков Дмитрий Васильевич*, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биокатализа ФГБУН «ГНЦ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук,
e-mail: ya.wolf.otl@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1800-999X>

Габиров Александр Габирович, доктор химических наук, академик РАН, профессор РАН, заведующий лабораторией биокатализа ФГБУН «ГНЦ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук,
e-mail: gabibov@ibch.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8665-3288>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 13.12.2024

Принята к печати: 10.06.2025

Information about the authors

Dmitry V. Volkov*, Cand. Sci. (Biol.), Research associate, Biocatalysis Laboratory of Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,
e-mail: ya.wolf.otl@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1800-999X>

Alexander G. Gabibov, Dr. Sci. (Chem.), Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of Biocatalysis Laboratory of Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,
e-mail: gabibov@ibch.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8665-3288>

* Corresponding author

Received 13 Dec 2024

Accepted 10 Jun 2025

НОВЫЕ СТРАТЕГИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕФРАКТЕРНЫХ ФОРМ И РЕЦИДИВОВ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМЫ: ТЕРАПИЯ Т-ЛИМФОЦИТАМИ С ХИМЕРНЫМ АНТИГЕННЫМ РЕЦЕПТОРОМ

Смолянинова А.К.*, Алешина О.А., Боголюбова А.В., Звонков Е.Е.

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

РЕЗЮМЕ

Введение. Фолликулярная лимфома (ФЛ) — самая частая индолентная лимфома. Несмотря на продолжительную общую выживаемость, опухоль остается неизлечимой у большинства больных. Не существует алгоритма выбора лечения ФЛ после 3 линий терапии. Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (chimeric antigen receptor, CAR) оказалась эффективной при ФЛ.

Цель: систематизировать данные об эффективности и безопасности современной CAR Т терапии при ФЛ.

Основные сведения. CAR Т терапия — это лечебная опция для больных ФЛ как после множества курсов терапии, так и с первично рефрактерной опухолью. Продолжается совершенствование этого метода, улучшается безопасность и расширяются возможности использования, проводится интеграция CAR Т терапии в противорецидивные схемы ФЛ.

Ключевые слова: фолликулярная лимфома, CAR Т терапия, рецидив, рефрактерность

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в соответствии с государственным заданием «Исследование эффективности и безопасности CAR Т-лимфоцитов 2-го поколения, специфичных к CD19 антигену В-клеток, у взрослых пациентов с рецидивами и рефрактерными формами В-клеточных лимфо-пролиферативных заболеваний» ПК № 124012300248–3.

Для цитирования: Смолянинова А.К., Алешина О.А., Боголюбова А.В., Звонков Е.Е. Новые стратегии в лечении рефрактерных форм и рецидивов фолликулярной лимфомы: терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):252–263. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-252-263>

NEW STRATEGIES IN THE TREATMENT OF REFRACTORY FORMS AND RELAPSES OF FOLLICULAR LYMPHOMA: CAR T-CELL THERAPY

Smolyaninova A.K.*, Aleshina O.A, Bogolyubova A.V., Zvonkov E.E., Parovichnikova E.N.

National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Follicular lymphoma (FL) is the most common indolent lymphoma. Despite the long overall survival, the tumor remains incurable in most patients. Currently, there is no specific algorithm for choosing therapy for ≥ 3 lines of patients with FL. CAR T-cell therapy (therapy with genetically modified T-lymphocytes carrying a chimeric antigen receptor — CAR) has proven effective in many tumors, including FL.

Aim. to systematize data on the efficacy and safety of modern CAR T-cell therapy for follicular lymphoma.

Main findings. CAR T-cell therapy is an effective option both for patients with FL after multiple courses of therapy, and for refractory tumors. Ongoing advancements continue to refine this method, enhancing its safety and expanding the possibilities of use. CAR T-cell therapy is increasingly being integrated into anti-relapse regimens for FL.

Keywords: follicular lymphoma, CAR T cell therapy, relapse, refractory tumor

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

Financial disclosure: the study was performed in accordance with the State Assignment 'Study of efficacy and safety of CAR T lymphocytes of the 2nd generation, specific to CD19 antigen of B-cells, in adult patients with relapsed and refractory forms of B-cell lymphoproliferative diseases' № 124012300248-3.

For citation: Smolyaninova A.K., Aleshina O.A, Bogolyubova A.V., Zvonkov E.E., Parovichnikova E.N. New strategies in the treatment of refractory forms and relapses of follicular lymphoma: CAR T-cell therapy. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2025; 70(2):252–263 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-252-263>

Введение

Фолликулярная лимфома (ФЛ) — это одна из самых часто встречающихся индолентных неходжкинских лимфом. Заболеваемость ФЛ составляет 3–4 новых случая на 100 000 населения в год [1]. В первой линии лечения ФЛ обычно применяют иммунохимиотерапию (R-СНОР или R-В). Несмотря на чувствительность к иммунохимиотерапии, ФЛ остается неизлечимой опухолью [2].

На протяжении своей жизни больные ФЛ получают множество курсов химиотерапии из-за рецидивов заболевания, это отражается как на физическом, так и на психологическом статусе больных, ведет к снижению качества жизни и нередко — к грубой инвалидизации [3]. С каждой последующей линией терапии выбор вариантов лечения существенно сужается, а продолжительность противоопухолевого ответа становится короче [3]. Отдельную проблему представляет когорта больных с ранней прогрессией опухоли после начала терапии 1-й линии (progression of disease

within 24 months — POD24), в которой выживаемость гораздо ниже, чем в общей группе ФЛ (5-летняя общая выживаемость (ОВ) 64% в группе POD24 против 90% в общей группе ФЛ) [4]. Кардинально поменять сценарий развития опухоли и добиться излечения больного ФЛ можно, прибегнув к первичной интенсификации терапии. Доказано, что у 50–70% больных ФЛ рецидив никогда больше не развивается, если провести консолидацию высокодозной химиотерапией с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) или аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [5–7]. Оба этих метода малодоступны в клинической практике из-за токсичности, прежде всего у пожилых больных, высокой ранней смертности от причин, не связанных с ФЛ (например, реакции «трансплантат против хозяина»).

Одним из ключевых механизмов развития многих опухолей является «ускользание» от иммунного надзора, так как в норме Т-клетки быстро идентифи-

цируют и уничтожают злокачественные клоны [8]. Терапия генномодифицированными Т-лимфоцитами, несущими химерный антигенный рецептор (Chimeric antigen receptor, CAR), или CAR Т терапия позволяет Т-клеткам иммунной системы распознать и атаковать клетки, имеющие на своей поверхности целевой антиген [8, 9]. Появление нового класса препаратов поменяло парадигму выбора терапии и прогноз при рефрактерных формах и рецидивах (Р/Р) ФЛ, так как эффективность такого лечения оказалась высока. В настоящей статье обобщены данные о CAR Т терапии при Р/Р ФЛ, а также представлены перспективы использования CAR Т в будущем [10–12].

Цель: систематизировать данные об эффективности и безопасности современной CAR Т терапии ФЛ.

Структура химерного антигенного рецептора и общие принципы производства CAR Т-клеток

При CAR Т терапии применяют генетически модифицированные собственные Т-лимфоциты больного, экспрессирующие химерный антигенный рецептор, нацеленный на определенный антиген, который представляет собой гибридный белок, состоящий из 4 компонентов [11–13]. Внеклеточный домен состоит из антиген-распознающего одноцепочечного фрагмента антитела (single-chain variable fragment, scFv), он определяет специфичность связывания с антигеном. Для связывания внеклеточного домена с трансмембранным доменом и обеспечения конформационной гибкости используется шарнирный домен. Внутриклеточный домен состоит из костимуляторного домена (например, последовательности CD28 или 4-1BB), который имитирует костимуляторный сигнал для Т-клеточного рецептора во время активации Т-лимфоцита. Сигнальный домен состоит из последовательности CD3 ζ Т-клеточного рецепторного комплекса. CAR Т-лимфоциты могут распознать целевой антиген на клетках и направленно уничтожить их. Распознавание антигена CAR Т-клетками является независимым от молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС) [10]. Производство CAR Т-клеточного продукта — сложный, многостадийный процесс, стадии которого тщательно подбираются и оптимизируются под каждый клеточный препарат. В общем случае производство начинается с лейкофереза для получения аутологичных мононуклеарных клеток крови больного. Далее Т-клетки подвергаются последовательным стадиям активации, трансдукции с использованием лентивирусного или гамма-ретровирусного вектора и экспансии клеток [14].

Во время производства CAR Т-клеток многие больные получают «мостиковую» терапию для максимального уменьшения опухолевой массы; в качестве нее может выступать иммунохимиотерапия, таргетная те-

рапия [11]. Перед введением CAR Т-клеток больному проводят лимфодеплецию, которая обычно завершается за 1–4 дня до введения CAR Т-клеток. Основными целями лимфодеплеции являются уменьшение количества эндогенных неопухолевых лимфоцитов и объема опухоли, а также подготовка микроокружения для избежания быстрого истощения CAR Т-клеток, обеспечения их оптимального приживления и длительной персистенции [11, 12, 15]. На этом этапе больному вводят флударабин, циклофосфамид или бендамустин [11]. Несмотря на негативное влияние бендамустина, введенного до заготовки клеток, на результаты CAR Т терапии использование препарата в качестве лимфодеплеционной терапии является эффективным и безопасным [16, 17].

Ранние исследования CAR Т при ФЛ

Исследования CAR Т терапии началось с работы, проведенной в израильском Институте имени Вейцмана Z. Eshar и соавт. [18], в которой впервые был сконструирован химерный антигенный рецептор, состоящий из scFv домена, распознающего CD20, и сигнального домена CD3 ζ . Данная конструкция впоследствии была названа CAR первого поколения. Дальнейшие исследования CAR Т-клеток первого поколения показали, что цитотоксическая активность модифицированных Т-клеток была кратковременной и не имела клинической эффективности в исследованиях на людях [19, 20]. Позже несколько научных групп опубликовали сообщения [21, 22] об эффективности CAR Т-клеток второго поколения с дополнительным костимуляторным доменом в конструкторе CAR, добавление которого привело к существенному увеличению экспансии, персистенции и противоопухолевой активности препарата.

Первоначально эффективность анти-CD19 CAR Т-клеточной терапии была показана при Р/Р диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДБККЛ) [23–26], первые же сообщения о противоопухолевой активности CAR Т-клеток при Р/Р ФЛ появились в исследованиях Национального института рака в 2010-х гг., в которых больным была проведена терапия препаратом аксикабтаген цилолеусел (Yescarta), представляющим собой анти-CD19 CAR Т-клетки второго поколения с костимуляторным доменом CD28. В работе J. Kochenderfer и соавт. описали случай быстрого регресса опухоли у больного прогрессирующей ФЛ, при этом CD19⁺ В-клетки не определялись в крови и костном мозге на протяжении 39 недель наблюдения [27]. Позже были опубликованы данные более долгосрочных наблюдений после CAR Т-терапии, подтвердившие устойчивый эффект при ФЛ: 3-летняя продолжительность противоопухолевого ответа составила 63%, у одного больного зафиксирована продолжающаяся ремиссия на 9-м году наблюдения после CAR Т-терапии [10, 28].

Первое исследование CAR Т-клеточного препарата тисагенлейклейцел (Кимрая) при ФЛ, в котором использован конструктор CAR второго поколения с ко-стимуляторным доменом 4-1BB, было опубликовано S. Schuster и соавт. [29] (CTL019), оно включало 15 больных Р/Р ФЛ, из которых у 10 (76%) больных была достигнута полная ремиссия (ПР). Пик экспансии CAR Т-клеток наступал позже, чем при использовании аксикабтагена цилолеусела (медиана 8 дней), экспансия характеризовалась большей площадью под кривой. В соответствии с обновленными данными этой работы 5-летняя выживаемость без прогрессии (ВБП) составила 43%, а медиана продолжительности ответа достигнута не была [28, 30].

Многообещающие результаты пилотных исследований CAR Т терапии при ФЛ обусловили старт однокрупных исследований II фазы для оценки эффективности и безопасности применения препаратов аксикабтагена цилолеусела и тисагенлейклейцела [31, 32]

Современные клинические исследования CAR Т-клеточных лекарственных препаратов при ФЛ

Аксикабтаген цилолеусел был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США для больных ФЛ после 2 и более линий терапии, Европейским агентством лекарственных средств — после 3 линий терапии. Одобрение было получено в ускоренном порядке на основании результатов II фазы исследования «ZUMA-5», включавшего больных Р/Р ФЛ и 24 больных Р/Р лимфомой из клеток маргинальной зоны [31]. Во включенной выборке больных преобладали больные с крайне неблагоприятным прогнозом: у 84% была IV стадия ФЛ, у 54% размер опухоли превышал 6 см, у 44% — высокий риск по прогностическому индексу для ФЛ — FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index) [33], 55% больных были с POD24, 63% больных были после 3 и более линий терапии (от 2 до 4). Из 84 больных, подлежащих финальной оценке эффективности, у 79 больных (94%; 95% доверительный интервал (ДИ): 87–98%) был установлен противоопухолевый ответ. Полный ответ наблюдали у 66 больных (79%; 95% ДИ: 62–97%). Эффективность аксикабтагена цилолеусела в группе больных с POD24 была не ниже, чем в общей когорте.

При медиане наблюдения 23,3 мес. медиана ВБП достигнута не была; у 78% больных, у которых был достигнут полный ответ, сохранялась ремиссия заболевания. 13 из 26 больных, у которых была получена частичная ремиссия (ЧР), по данным оценки на +4 неделе после введения CAR Т-клеток, достигли полного ответа позже. У 13 больных с рецидивом после терапии аксикабтагеном цилолеуселом вновь был получен противоопухолевый ответ после повторно-

го введения препарата, у 77% из них наступила ПР (у 46% ремиссия сохранялась на момент проведения анализа). Медиана времени между первым и вторым введениями CAR Т-клеток (post-hoc анализ) составила 10,6 мес.

На конференции Американского общества гематологов в 2023 г. были представлены обновленные результаты исследования «ZUMA-5», согласно которым 4-летняя ВБП составила 53%, медиана ВБП — 57,3 мес., медиана общей выживаемости (ОВ) достигнута не была (медиана наблюдения — 47,6 мес.) [34]. Начиная с 28 до 48 мес. наблюдения только у одного больного была зарегистрирована прогрессия заболевания. Устойчивость противоопухолевого ответа была намного выше у больных с ПР: медиана продолжительности ответа у больных с ПР составила 60,4 мес. против 4,9 мес. у больных с ЧР. По данным корреляционного анализа большее количество циркулирующих CAR Т-клеток было ассоциировано с большей продолжительностью ответа.

Тисагенлейклейцел был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США и Европейским агентством лекарственных средств для лечения ФЛ после 3 и более линий терапии после получения данных исследования «ELARA», в которое были включены 97 больных. По сравнению с «ZUMA-5» в исследовании «ELARA» была набрана еще более неблагоприятная по прогнозу группа больных [35, 36]. Больные были после множества линий терапии в анамнезе (медиана линий терапии 4, максимально — 13 линий), с оценкой по шкале оценки общего состояния ECOG [37] ≥ 1 у 41% больных, большой размер опухоли — у 62%, высокий риск по FLIPI — у 58% больных. У 61% больных был POD24, а 76% были рефрактерны к последней линии терапии. Тисагенлейклейцел 18% больных вводили амбулаторно. Частота общего ответа (ОО) составила 86,2% (95% ДИ: 77,5–92,4%), из них ПР — у 69,1% (95% ДИ: 58,8–78,3%). Через 12 мес. ВБП составила 67% (95% ДИ: 56–76%) в общей группе и 85,5% (95% ДИ: 74,0–92,2%) у больных с ПР.

В 2023 г. были опубликованы обновленные 3-летние данные исследования «ELARA»: через 36 мес. у 53% больных сохранялась ПР, а медиана БПВ составила 37 мес. (медиана наблюдения — 41 мес.). В группе POD24 36-месячная ВБП составила 50% по сравнению с 59% у больных без POD24 [32]. По данным многофакторного анализа, поражение более четырех групп лимфатических узлов, POD24, высокая опухолевая нагрузка, инфильтрация опухоли Т-клетками с истощенным фенотипом LAG3⁺ CD3⁺ были значимыми предикторами короткой ВБП. Персистенция трансгена CAR наблюдалась до 1290 дня. У больных без POD24 была более высокая медиана экспансии и длительность персистенции CAR Т-клеток.

Несмотря на высокую эффективность, существуют ограничения для применения CAR T-клеточной терапии. В первую очередь это побочные эффекты [38, 39]. Уникальный профиль токсичности, являющийся класс-специфичным, включает синдром высвобождения цитокинов (СВЦ) и с иммунными клетками ассоциированный нейротоксичный синдром (ИКАНС). Оба этих вида токсичности обусловлены супрафизиологической воспалительной реакцией, которая развивается в ответ на связывание CAR с таргетным антигеном, лизисом опухолевых клеток и высвобождением провоспалительных цитокинов [11, 12]. В исследовании «ZUMA-5» у 78% больных ФЛ развился СВЦ, из них у 6% — СВЦ тяжелой (≥ 3) степени. Введение тоцилизумаба потребовалось 50% больным, глюкокортикоидов и вазопрессоров — 18 и 5% больных соответственно [34]. ИКАНС наблюдался у 56% больных, из них ИКАНС тяжелой (≥ 3) степени — у 15% больных. Средняя продолжительность ИКАНС составила 14 дней (5–43 дня). Всего один больной умер в исследовании «ZUMA-5», смерть была связана с полиорганной недостаточностью.

В исследовании «ELARA» частота развития неблагоприятных явлений была ниже: СВЦ развился у 49% больных, во введении тоцилизумаба и глюкокортикоидов нуждались 34 и 6,4% больных соответственно [32]. Развитие тяжелого СВЦ не наблюдалось ни у одного больного. ИКАНС был у 4,1% больных, и лишь у 1% осложнение было тяжелой степени. Смертей, связанных с лечением, не было.

Инфекционные осложнения — еще один тип часто встречающихся при проведении CAR T-терапии неблагоприятных явлений [40]. В исследовании «ZUMA-5» инфекционные осложнения ≥ 3 -й степени развились у 18% больных, а в «ELARA» — у 5,2% больных. У 33% больных в «ZUMA-5» наблюдалась длительная (более 30 дней) цитопения ≥ 3 -й степени. В исследовании «ELARA» длительная цитопения наблюдалась у 20% больных, из них у 8% она сохранялась более 12 мес.

Еще одним долгосрочным осложнением после CAR T-терапии является В-клеточная аплазия, которая приводит к гипогамма-глобулинемии (14% после аксикабтагена цилолеусела и 18% после тисагенлейклейцела) и к риску инфекций, особенно у больных с длительной цитопенией [40–43].

Данные об эффективности и безопасности CAR T-терапии в реальной клинической практике в неселективной популяции больных (в том числе у больных старше 65 лет) были аналогичны результатам клинических исследований. С. А. Jacobson и соавт. [44] провели исследование регистра CIBMTR (Center for International Blood and Marrow Transplant Research), в котором зарегистрирован 151 больной Р/Р ФЛ, получивший аксикабтаген цилолеусел. Из этих больных 40 человек не подошли по критериям для «ZUMA-5»

из-за сопутствующей патологии. Показатели ОО и ПР составили 93 и 84%, а ОВ и ВВП через 6 мес. — 88 и 96% соответственно. СВЦ степени ≥ 3 и ИКАНС наблюдались у 2 и 13% больных соответственно.

Показатели выживаемости были сопоставимы независимо от соответствия критериям «ZUMA-5». Было показано, что группа больных в возрасте ≥ 65 лет имела сопоставимые с общей группой профили эффективности и безопасности. В настоящее время предполагается, что аксикабтаген цилолеусел характеризуется более высокими показателями противоопухолевого ответа, в то время как терапия тисагенлейклейцелом является более безопасной (табл. 1) [11]. Данное предположение основано на экстраполяции результатов прямых сравнительных исследований разных CAR T-клеточных продуктов при терапии ДБКЛ [45, 46].

Прямых сравнительных исследований CAR T-клеток разных поколений для ФЛ не проводилось. Непрямое сравнение с поправкой (match-adjusted indirect comparison (MAIC)) данных исследований «ZUMA-5» и «ELARA» провели М. Dickinson и соавт. [47]. Анализ показал, что частота ОО (91,2% против 94,2%, $p = 0,58$) и полного ответа (74,0% против 79,1%, $p = 0,60$) на терапию тисагенлейклейцелом и аксикабтагеном цилолеуселом существенно не отличались. В то же время частота развития СВЦ любой степени после терапии тисагенлейклейцелом была на 33,7% меньше, чем после аксикабтагена цилолеусела (тяжелого СВЦ на 6,5% меньше), а ИКАНС любой степени после терапии тисагенлейклейцелом наблюдался на 47% реже (тяжелый ИКАНС на 15% реже). Все различия были статистически значимы ($p < 0,001$).

Данные о прямом проспективном сравнении CAR T-клеточной терапии и стандартной терапии при ФЛ в настоящее время отсутствуют. Клиническое испытание «ZUMA-22» является первым текущим рандомизированным проспективным исследованием III фазы, в котором напрямую будут сравниваться эффективность и безопасность CAR T-терапии и стандартной терапии ФЛ, но данные этой работы еще недоступны [48].

Проведены два ретроспективных исследования по сравнительному анализу CAR T терапии и стандартного лечения.

В первом исследовании были проведено сравнение больных ФЛ, получивших CAR T-клетки в рамках «ZUMA-5», и больных Р/Р ФЛ, получивших 3 и более линий стандартной терапии, из международной когорты «SCHOLAR-5» [49]. Группы сравнения были сбалансированы с помощью метода псевдорандомизации. В результате были отобраны 85 больных из «SCHOLAR-5» и 86 больных из «ZUMA-5». Частота ОО составила 49,4% для «SCHOLAR-5» и 94,2% для «ZUMA-5», а медиана ВВП — 13 и 57,3 мес. соответственно. Через 48 мес. ОВ составила 61,4 и 72,4% в группах «SCHOLAR-5» и «ZUMA-5». Таким обра-

Таблица 1. Сравнение эффективности и безопасности CAR T-терапии у больных с Р/Р ФЛ
Table 1. Comparison of the effectiveness and safety of CAR T therapy in patients with R/R FL

CAR T-продукт CAR T product	Исследова- ние Trial	n	ОО OR (%)	ПР CR (%)	Медиана ВБП Median PFS	Медиана ОВ Median OS	Медиана ПО Median DR	СВЦ 1–2 CRS 1–2	СВЦ 3–4 CRS 3–4	ИКАНС 1–2 ICANS 1–2	ИКАНС 3–4 ICANS 3–4
Аксикабтаген цилолеусел Axicabtagene ciloleucel	ZUMA-5 (4 года)* ZUMA-5 (4 years)*	124	95	79	57,3 мес. 57,3 month	Н/д N/r	55 мес. 55 months	78 %	6 %	56 %	18 %
Тисагенлей- клейцел Tisagenlecleucel	ELARA (3 года) ELARA (3-years*)	97	86	69	37 мес. 37 months	Н/д N/r	Н/д N/r	49 %	0 %	4,1 %	1 %

Примечания: ОО — общий ответ; ПР — полная ремиссия; ОВ — общая выживаемость; ПО — продолжительность ответа; СВЦ — синдром высвобождения цитокинов; ИКАНС — иммунными клетками ассоциированный нейротоксический синдром, Н/д — не достигнут, * — длительность наблюдения.
 Notes: OR — overall response; CR — complete remission; OS — overall survival; DR — duration of response; CRS — Cytokine Release Syndrome; ICANS — immune cell-associated neurotoxicity syndrome; N/r — Not reached; * — follow up duration.

зом, было показано, что эффективность аксикабтагена цилолеусела значительно превосходит все доступные методы стандартного лечения.

Во втором исследовании аналогичного дизайна сравнили 143 больных, получивших тисагенлейклейцел, из исследования «ELARA», с группой из 97 больных из исследования «ReCORD», получивших стандартную терапию. ПР была достигнута у 69,1 % (95 % ДИ: 59,8–78,3%) и 37,3 % (95 % ДИ: 26,4–48,3%) для больных из «ELARA» и «ReCORD» соответственно. Через 12 мес. ВБП составила 70,5 и 52 %, а ОВ — 97 и 72 % соответственно в пользу тисагенлейклейцела [50].

Интеграция CAR T-терапии в текущий алгоритм выбора лечения Р/Р ФЛ — сложная задача, в рамках которой должно учитываться множество факторов. Для успешного сбора Т-клеток и оптимизации заготовки CAR T-клеток больной должен какое-то время не получать цитостатической противоопухолевой терапии, что не всегда возможно [11]. В недавних исследованиях показано, что применение некоторых препаратов, таких как бендамустин, может снизить эффективность CAR T-клеток вследствие лимфотоксического действия препарата. У больных, получавших бендамустин в течение 6 мес. до CAR T-терапии, ВБП была короче, чем в общей группе [51, 52]. Оптимальный период, который нужно выждать перед лейкоферезом после применения бендамустина, составляет не менее 9 мес. [53]. У больных после алло-ТГСК, в соответствии с рекомендациями Европейского общества по трансплантации костного мозга [54], в течение месяца перед лейкоферезом не должно быть признаков реакции «трансплантат против хозяина» и они не должны получать иммуносупрессивную терапию.

CAR T-терапия эффективна у больных ФЛ с POD24, но неясно оптимальное время для применения этого варианта лечения. Согласно существующему консенсусу, больным с первым ранним химиочувствительным рецидивом ФЛ по возможности проводится ау-

то-ТГСК [55]. Однако в исследовании по применению аксикабтагена цилолеусела во второй линии лечения ДБККЛ (ZUMA-7) показано преимущество во ВБП CAR T-терапии перед стандартной «терапией спасения» и ауто-ТГСК [56]. Поэтому, вероятно, в будущем можно будет говорить о замене ауто-ТГСК на CAR T-терапию и при ФЛ, если устойчивость противоопухолевого ответа после CAR T-терапии подтвердится в долгосрочных наблюдениях.

При определении показаний для CAR T-клеточной терапии необходимо руководствоваться индивидуальным подходом, взвешивать преимущества и риски терапии у конкретного больного, учитывать темпы прогрессии опухоли, а также время, необходимое для производства CAR T-клеточного продукта. Кандидатами для CAR T терапии могут быть прежде всего больные с ранним рецидивом ФЛ, больные с признаками агрессивного течения опухоли и возможной гистологической трансформацией (В-симптомы, быстрый рост опухоли, увеличение активности лактатдегидрогеназы, высокая метаболическая активность по данным позитронной эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией). При этом больные должны быть без тяжелой сопутствующей патологии и в удовлетворительном соматическом статусе (ECOG 0–1). У пожилых соматически ослабленных больных, больных с факторами риска развития осложнений, такими как высокая опухолевая нагрузка, целесообразно делать выбор в пользу CAR T-клеток с меньшей токсичностью (тисагенлейклейцел) [12].

Ограничения применения CAR T-терапии и современные методы их преодоления

Резистентность к CAR T-терапии — это серьезная проблема, появившаяся в новой эре терапии CAR T-клетками и биспецифическими антителами. Механизмы развития резистентности малоизучены.

Одной из причин может быть потеря экспрессии CD19 опухолевыми клетками. Активно разрабатываются CAR T-продукты, направленные на альтернативные целевые антигены, такие как CD20 и CD22. М. Shadman и соавт. [57] опубликовали данные пилотного исследования препарата MB-106, представляющего CAR T-клетки третьего поколения (с двумя костимуляторными доменами 4-1BB и CD28), нацеленные на CD20. У 2 из 3 больных ФЛ, включенных в исследование, была достигнута ПР. Работа была продолжена, набрано 20 больных Р/Р ФЛ в среднем с 4 предшествующими линиями терапии. ОО и полный ответ были получены у 93 и 80% больных соответственно. ПР была достигнута в том числе у 1 больного с прогрессией ФЛ после анти-CD19 CAR T-клеточной терапии. Также проводятся исследования анти-CD19/20 биспецифических CAR T-клеток, показана их эффективность при неходжкинских лимфомах (преимущественно ДБККЛ) [58, 59]. В эти исследования пока включены только единичные больные ФЛ.

Другими ограничениями широкого использования CAR T-клеток являются сложная логистика доставки препарата с производства в клинический центр, а также риск неудачной заготовки CAR T-клеток и получения продукта низкого качества. Терапия аллогенными CAR T-клетками, полученными от здоровых доноров, позволяет обойти все эти препятствия [10, 60]. Аллогенные CAR T-клетки могут быть альтернативой для больных с агрессивным течением заболевания, для которых ожидание лейкафереза и процесса производства CAR T-клеток нежелательно.

В клиническом исследовании I фазы «ALPHA» применяли аллогенные анти-CD19 CAR T-клетки. CAR T-клеточный продукт производили с применением технологии генного редактирования с использованием эндонуклеазы рестрикции TALEN для получения T-клеток с дефицитом TCR/CD52 для исключения аллореактивности [60]. В исследование был включен 61 больной ДБККЛ и 26 больных ФЛ. По предварительным данным, в общей группе ОО и ПР состави-

ли 63 и 37% соответственно (медиана наблюдения 3,8 мес.) [60]. Переносимость была удовлетворительной: СВЦ 1–4-й степени наблюдался у 23% больных, СВЦ \geq 3-й степени — у 1 больного. Реакция «трансплантат против хозяина» или ИКАНС \geq 3-й степени не наблюдались. Недостатком аллогенных CAR T-клеток является сложный дорогостоящий процесс изготовления, а также использование в процессе производства технологий редактирования генома, несущих потенциальные риски злокачественной трансформации клеток.

Благодаря разработке новых вариантов CAR T-продуктов существует возможность уменьшения частоты тяжелых осложнений, уменьшение времени ожидания терапии больным, а также может быть решена проблема резистентности к предшествующей CAR T-терапии. В то же время следует дождаться результатов клинических исследований, чтобы подтвердить безопасность и эффективность новых вариантов CAR T-клеток и их преимущества по сравнению с уже вышедшими на рынок вариантами продуктами.

Таким образом, появление CAR T-клеточной терапии коренным образом меняет представление о крайне неблагоприятном прогнозе у больных Р/Р ФЛ. Однократная инфузия CAR T-клеток позволяет достичь противоопухолевого ответа, избежать длительного лечения, накопленной токсичности химиопрепаратов, применяемых в противорецидивных программах. Для молодых больных, продолжительность жизни которых будет ожидаемо короче вследствие множества рецидивов ФЛ, для больных Р/Р ФЛ высокого риска введение CAR T-клеток является «терапией выбора». Проводятся исследования по интеграции CAR T-клеточной терапии в более ранние линии лечения лимфатических опухолей. CAR T может быть терапией «одного выстрела»: части больных может больше никогда не потребоваться лечение. Поэтому такой вариант терапии может стать альтернативой ауто-ТГСК и алло-ТГСК. Терапия с использованием генетически модифицированных иммунных клеток в будущем будет играть все более значимую роль в лечении ФЛ.

Литература

1. Morton L.M., Wang S.S., Devesa S.S., et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992–2001. *Blood*. 2006;107(1):265–76. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2508.
2. Watanabe T., Tobinai K., Wakabayashi M., et al. R-CHOP treatment for patients with advanced follicular lymphoma: Over 15-year follow-up of JCOG0203. *Br J Haematol*. 2024;204(3):849–60. DOI: 10.1111/bjh.19213.
3. Ghione P., Palomba M.L., Ghesquieres H., et al. Treatment patterns and outcomes in relapsed/refractory follicular lymphoma: results from the international SCHOLAR-5 study. *Haematologica*. 2023;108(3):822–32. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2022.281421.
4. Casulo C., Dixon J.G., Le-Rademacher J., et al. Validation of POD24 as a robust early clinical end point of poor survival in FL from 5225 patients on 13 clinical

References

1. Morton L.M., Wang S.S., Devesa S.S., et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992–2001. *Blood*. 2006;107(1):265–76. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2508.
2. Watanabe T., Tobinai K., Wakabayashi M., et al. R-CHOP treatment for patients with advanced follicular lymphoma: Over 15-year follow-up of JCOG0203. *Br J Haematol*. 2024;204(3):849–60. DOI: 10.1111/bjh.19213.
3. Ghione P., Palomba M.L., Ghesquieres H., et al. Treatment patterns and outcomes in relapsed/refractory follicular lymphoma: results from the international SCHOLAR-5 study. *Haematologica*. 2023;108(3):822–32. DOI: 10.3324/HAEMATOL.2022.281421.
4. Casulo C., Dixon J.G., Le-Rademacher J., et al. Validation of POD24 as a robust early clinical end point of poor survival in FL from 5225 patients on 13 clinical

- trials. *Blood*. 2022;139(11):1684–93. DOI: 10.1182/blood.2020010263.
5. Metzner B., Pott C., Müller T.H., et al. Long-term outcome in patients with follicular lymphoma following high-dose therapy and autologous stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2021;107(5):543–52. DOI: 10.1111/ejh.13691.
 6. Jiménez-Ubieto A., Grande C., Caballero D., et al. Autologous Stem Cell Transplantation for Follicular Lymphoma: Favorable Long-Term Survival Irrespective of Pretransplantation Rituximab Exposure. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(10):1631–40. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.05.021.
 7. Смольянинова А.К., Беляева А.В., Сидорова Ю.В. и др. Высокодозная химиотерапия с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток в первой линии терапии фолликулярной лимфомы. *Гематология и трансфузиология*. 2023;68(3):344–62. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-3-344-362.
 8. Giraudo M., Jackson Z., Das I., et al. Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T Cell Therapy for Non-Hodgkin's Lymphoma. *Pathogens and Immunity*. 2024;9(1):1–17. DOI: 10.20411/pai.v9i1.647.
 9. Гаврилина О.А., Галстян Г.М., Щекина А.Е. и др. Терапия Т-клетками с химерным антигенным рецептором взрослых больных В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями. *Гематология и трансфузиология*. 2022;67(1):8–28. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-1-8-28.
 10. Jacobs R., Jacobson C. The treatment of follicular lymphoma with CD19-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Front Oncol*. 2024;14:1384600. DOI: 10.3389/fonc.2024.1384600.
 11. Fowler N.H., Chavez J.C., Riedell P.A. Moving T-Cell Therapies into the Standard of Care for Patients with Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma: A Review. *Target Oncol*. 2024;19(4):495–510. DOI: 10.1007/s11523-024-01070-z.
 12. Thiruvengadam S.K., Shouse G., Danilov A. V. Thinking “outside the germinal center”: Re-educating T cells to combat follicular lymphoma. *Blood Rev*. 2023;61:101099. DOI: 10.1016/j.blre.2023.101099.
 13. Perica K., Curran K.J., Brentjens R.J., et al. Building a CAR Garage: Preparing for the Delivery of Commercial CAR T Cell Products at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(6):1135–41. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.02.018.
 14. 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.
 15. Lickfett B., Chu L., Ortiz-Maldonado V., et al. Lymphodepletion — an essential but undervalued part of the chimeric antigen receptor T-cell therapy cycle. *Front Immunol*. 2023;14:1303935. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1303935.
 16. Chong E.A., Chong E.R., Therwhanger D., et al. Bendamustine as Lymphodepletion for Brexucabtagene Autoleucl Therapy of Mantle Cell Lymphoma. *Transplant Cell Ther*. 2024;30(7):726.e1–e8. DOI: 10.1016/j.jtct.2024.03.015.
 17. Ghilardi G., Chong E.A., Svoboda J., et al. Bendamustine is safe and effective for lymphodepletion before tisagenlecleucel in patients with refractory or relapsed large B-cell lymphomas. *Ann Oncol*. 2022;33(9):916–28. DOI: 10.1016/j.anonc.2022.05.521.
 18. Eshhar Z., Waks T., Gross G., et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Nat Acad Sci*. 1993;90(2):720–4. DOI: 10.1073/pnas.90.2.720.
 19. Till B.G., Jensen M.C., Wang J., et al. Adoptive immunotherapy for indolent non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma using genetically modified autologous CD20-specific T cells. *Blood*. 2008;112(6):2261–71. DOI: 10.1182/blood-2007-12-128843.
 20. Kershaw M.H., Westwood J.A., Parker L.L., et al. A Phase I Study on Adoptive Immunotherapy Using Gene-Modified T Cells for Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(20):6106–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1183.
 - trials. *Blood*. 2022;139(11):1684–93. DOI: 10.1182/blood.2020010263.
 5. Metzner B., Pott C., Müller T.H., et al. Long-term outcome in patients with follicular lymphoma following high-dose therapy and autologous stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2021;107(5):543–52. DOI: 10.1111/ejh.13691.
 6. Jiménez-Ubieto A., Grande C., Caballero D., et al. Autologous Stem Cell Transplantation for Follicular Lymphoma: Favorable Long-Term Survival Irrespective of Pretransplantation Rituximab Exposure. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(10):1631–40. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.05.021.
 7. Smolyaninova A.K., Belyayeva A. V., Sidorova Y. V., et al. High-dose chemotherapy with transplantation of autologous hematopoietic stem cells in the first line of follicular lymphoma therapy. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2023;68(3):344–62 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-3-344-362.
 8. Giraudo M., Jackson Z., Das I., et al. Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T Cell Therapy for Non-Hodgkin's Lymphoma. *Pathogens and Immunity*. 2024;9(1):1–17. DOI: 10.20411/pai.v9i1.647.
 9. Gavrilina O.A., Galstyan G.M., Shchekina A.E., et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in adult patients with B-cell lymphoproliferative diseases. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2022;67(1):8–28 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-1-8-28.
 10. Jacobs R., Jacobson C. The treatment of follicular lymphoma with CD19-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Front Oncol*. 2024;14: 1384600. DOI: 10.3389/fonc.2024.1384600.
 11. Fowler N.H., Chavez J.C., Riedell P.A. Moving T-Cell Therapies into the Standard of Care for Patients with Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma: A Review. *Target Oncol*. 2024;19(4):495–510. DOI: 10.1007/s11523-024-01070-z.
 12. Thiruvengadam S.K., Shouse G., Danilov A. V. Thinking “outside the germinal center”: Re-educating T cells to combat follicular lymphoma. *Blood Rev*. 2023;61:101099. DOI: 10.1016/j.blre.2023.101099.
 13. Perica K., Curran K.J., Brentjens R.J., et al. Building a CAR Garage: Preparing for the Delivery of Commercial CAR T Cell Products at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(6):1135–41. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.02.018.
 14. 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.
 15. Lickfett B., Chu L., Ortiz-Maldonado V., et al. Lymphodepletion — an essential but undervalued part of the chimeric antigen receptor T-cell therapy cycle. *Front Immunol*. 2023;14:1303935. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1303935.
 16. Chong E.A., Chong E.R., Therwhanger D., et al. Bendamustine as Lymphodepletion for Brexucabtagene Autoleucl Therapy of Mantle Cell Lymphoma. *Transplant Cell Ther*. 2024;30(7):726.e1–e8. DOI: 10.1016/j.jtct.2024.03.015.
 17. Ghilardi G., Chong E.A., Svoboda J., et al. Bendamustine is safe and effective for lymphodepletion before tisagenlecleucel in patients with refractory or relapsed large B-cell lymphomas. *Ann Oncol*. 2022;33(9):916–28. DOI: 10.1016/j.anonc.2022.05.521.
 18. Eshhar Z., Waks T., Gross G., et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Nat Acad Sci*. 1993;90(2):720–4. DOI: 10.1073/pnas.90.2.720.
 19. Till B.G., Jensen M.C., Wang J., et al. Adoptive immunotherapy for indolent non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma using genetically modified autologous CD20-specific T cells. *Blood*. 2008;112(6):2261–71. DOI: 10.1182/blood-2007-12-128843.
 20. Kershaw M.H., Westwood J.A., Parker L.L., et al. A Phase I Study on Adoptive Immunotherapy Using Gene-Modified T Cells for Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(20):6106–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1183.

21. van der Stegen S.J.C., Hamieh M., Sadelain M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. *Nat Rev Drug Discov.* 2015;14(7):499–509. DOI: 10.1038/nrd4597.
22. Savoldo B., Ramos C.A., Liu E., et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor–modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1822–6. DOI: 10.1172/JCI46110.
23. Abramson J.S., Palomba M.L., Gordon L.I., et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet.* 2020;396(10254):839–52. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31366-0.
24. Wang M., Munoz J., Goy A., et al. KTE-X19 CAR T-Cell Therapy in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2020;382(14):1331–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1914347.
25. Locke F.L., Ghobadi A., Jacobson C.A., et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):31–42. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30864-7.
26. 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.
27. Kochenderfer J.N., Wilson W.H., Janik J.E., et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood.* 2010;116(20):4099–102. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-04-281931.
28. Cappell K.M., Sherry R.M., Yang J.C., et al. Long-Term Follow-Up of Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *J Clin Oncol.* 2020;38(32):3805–15. DOI: 10.1200/JCO.20.01467.
29. Schuster S.J., Svoboda J., Chong E.A., et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2545–54. DOI: 10.1056/NEJMoa1708566.
30. Kochenderfer J.N., Dudley M.E., Kassim S.H., et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol.* 2015;33(6):540–9. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.2025.
31. 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.
32. Schuster S.J., Fowler N., Dickinson M., et al. Clinical Outcomes of Patients with Relapsed/Refractory Follicular Lymphoma Treated with Tisagenlecleucel: Phase 2 Elara 3-Year Follow-up. *Blood.* 2023;142(Suppl. 1):601. DOI: 10.1182/blood-2023-180936.
33. Solal-Celigny P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood.* 2004;104(5):1258–65. DOI: 10.1182/blood-2003-12-4434.
34. Neelapu S.S., Chavez J.C., Sehgal A.R., et al. Axicabtagene Ciloleucel (Axi-Cel) in Patients with Relapsed/Refractory Indolent Non-Hodgkin Lymphoma: 4-Year Follow-up from the Phase 2 ZUMA-5 Trial. *Blood.* 2023;142(Supplement 1):4868. DOI: 10.1182/blood-2023-174914.
35. Zelenetz A.D., Gordon L.I., Abramson J.S., et al. NCCN Guidelines Insights: B-Cell Lymphomas, Version 3.2019. *J Natl Compr Cancer Netw.* 2019;17(6):650–61. DOI: 10.6004/jnccn.2019.0029.
36. Fowler N.H., Dickinson M., Dreyling M., et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial. *Nat Med.* 2022;28(2):325–32. DOI: 10.1038/s41591-021-01622-0.
37. Mor V., Laliberte L., Morris J.N., et al. The Karnofsky performance status scale: An examination of its reliability and validity in a research setting. *Cancer.* 2015;116(12):3183–9. DOI: 10.1002/cncr.29488.
21. van der Stegen S.J.C., Hamieh M., Sadelain M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. *Nat Rev Drug Discov.* 2015;14(7):499–509. DOI: 10.1038/nrd4597.
22. Savoldo B., Ramos C.A., Liu E., et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor–modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1822–6. DOI: 10.1172/JCI46110.
23. Abramson J.S., Palomba M.L., Gordon L.I., et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet.* 2020;396(10254):839–52. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31366-0.
24. Wang M., Munoz J., Goy A., et al. KTE-X19 CAR T-Cell Therapy in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2020;382(14):1331–42. DOI: 10.1056/NEJMoa1914347.
25. Locke F.L., Ghobadi A., Jacobson C.A., et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):31–42. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30864-7.
26. 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.
27. Kochenderfer J.N., Wilson W.H., Janik J.E., et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood.* 2010;116(20):4099–102. DOI: 10.1182/BLOOD-2010-04-281931.
28. Cappell K.M., Sherry R.M., Yang J.C., et al. Long-Term Follow-Up of Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *J Clin Oncol.* 2020;38(32):3805–15. DOI: 10.1200/JCO.20.01467.
29. Schuster S.J., Svoboda J., Chong E.A., et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2545–54. DOI: 10.1056/NEJMoa1708566.
30. Kochenderfer J.N., Dudley M.E., Kassim S.H., et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol.* 2015;33(6):540–9. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.2025.
31. 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.
32. Schuster S.J., Fowler N., Dickinson M., et al. Clinical Outcomes of Patients with Relapsed/Refractory Follicular Lymphoma Treated with Tisagenlecleucel: Phase 2 Elara 3-Year Follow-up. *Blood.* 2023;142(Suppl. 1):601. DOI: 10.1182/blood-2023-180936.
33. Solal-Celigny P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood.* 2004;104(5):1258–65. DOI: 10.1182/blood-2003-12-4434.
34. Neelapu S.S., Chavez J.C., Sehgal A.R., et al. Axicabtagene Ciloleucel (Axi-Cel) in Patients with Relapsed/Refractory Indolent Non-Hodgkin Lymphoma: 4-Year Follow-up from the Phase 2 ZUMA-5 Trial. *Blood.* 2023;142(Supplement 1):4868. DOI: 10.1182/blood-2023-174914.
35. Zelenetz A.D., Gordon L.I., Abramson J.S., et al. NCCN Guidelines Insights: B-Cell Lymphomas, Version 3.2019. *J Natl Compr Cancer Netw.* 2019;17(6):650–61. DOI: 10.6004/jnccn.2019.0029.
36. Fowler N.H., Dickinson M., Dreyling M., et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial. *Nat Med.* 2022;28(2):325–32. DOI: 10.1038/s41591-021-01622-0.
37. Mor V., Laliberte L., Morris J.N., et al. The Karnofsky performance status scale: An examination of its reliability and validity in a research setting. *Cancer.* 2015;116(12):3183–9. DOI: 10.1002/cncr.29488.

- 1984;53(9):2002–7. DOI: 10.1002/1097-0142(19840501)53:9<2002::AID-CNCR2820530933>3.0.CO;2-W.
38. Azoulay É., Castro P., Maamar A., et al. Outcomes in patients treated with chimeric antigen receptor T-cell therapy who were admitted to intensive care (CARTAS): an international, multicentre, observational cohort study. *Lancet Haematol.* 2021;8(5):e355–64. DOI: 10.1016/S2352-3026(21)00060-0.
39. Щекина А.Е., Галстян Г.М., Гаврилина О.А., и др.. Синдром высвобождения цитокинов и другие осложнения после терапии Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором у взрослых с В-клеточными лимфомами и лейкозами. *Гематология и трансфузиология.* 2022;67(S2):88.
40. 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.
41. Kymriah® (tisagenlecleucel) [package insert]. East Hanover (NJ): Novartis Pharmaceuticals Corporation; 2022.
42. Yescarta® (axicabtagene ciloleucel) [package insert]. Santa Monica (CA): Kite Pharma, Inc.; 2022.
43. Adkins, S. CAR T-Cell Therapy: Adverse Events and Management. *J Adv Pract Oncol.* 2019;10(Suppl 3): 21–28. DOI: 10.6004/jadpro.2019.10.4.11.
44. Jacobson C.A., Hemmer M.T., Hu Z.-H., et al. Real-world early outcomes of axicabtagene ciloleucel for relapsed or refractory (R/R) follicular lymphoma (FL). *J Clin Oncol.* 2023;41(16_suppl):7509. DOI: 10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.7509.
45. Ghafouri S., Fenerty K., Schiller G., et al. Real-World Experience of Axicabtagene Ciloleucel and Tisagenlecleucel for Relapsed or Refractory Aggressive B-cell Lymphomas: A Single-Institution Experience. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2021;21(12):861–72. DOI: 10.1016/j.clml.2021.07.002.
46. Kwon M., Iacoboni G., Reguera J.L., et al. Axicabtagene ciloleucel compared to tisagenlecleucel for the treatment of aggressive B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2022;108(1):110–21. DOI: 10.3324/haematol.2022.280805.
47. Dickinson M., Martinez-Lopez J., Jousseume E., et al. Comparative efficacy and safety of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel among adults with r/r follicular lymphoma. *Leuk Lymph.* 2024;65(3):323–32. DOI: 10.1080/10428194.2023.2289854.
48. Flinn I.W., Jacobson C.A., Nastoupil L.J., et al. ZUMA-22: A phase 3, randomized controlled study of axicabtagene ciloleucel (axi-cel) versus standard-of-care therapy in patients with relapsed or refractory (R/R) follicular lymphoma (FL). *J Clin Oncol.* 2023;41(16_suppl):TPS7579. DOI: 10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.TPS7579.
49. Ghione P., Palomba M.L., Patel A.R., et al. Comparative effectiveness of ZUMA-5 (axi-cel) vs SCHOLAR-5 external control in relapsed/refractory follicular lymphoma. *Blood.* 2022;140(8):851–60. DOI: 10.1182/blood.2021014375.
50. Salles G., Schuster S.J., Dreyling M., et al. Efficacy comparison of tisagenlecleucel vs usual care in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. *Blood Adv.* 2022;6(22):5835–43. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022008150.
51. Visco C., Chiappella A., Nassi L., et al. Rituximab, bendamustine, and low-dose cytarabine as induction therapy in elderly patients with mantle cell lymphoma: a multicentre, phase 2 trial from Fondazione Italiana Linfomi. *Lancet Haematol.* 2017;4(1):e15–23. DOI: 10.1016/S2352-3026(16)30185-5.
52. Neelapu S.S., Chavez J., Sehgal A.R., et al. 3-Year Follow-up Analysis of ZUMA-5: A Phase 2 Study of Axicabtagene Ciloleucel (Axi-Cel) in Patients with Relapsed/Refractory (R/R) Indolent Non-Hodgkin Lymphoma (iNHL). *Blood.* 2022;140(Supplement 1):10380–3. DOI: 10.1182/blood-2022-156120.
53. Iacoboni G., Navarro V., Martín-López A.Á., et al. Recent Bendamustine Treatment Before Apheresis Has a Negative Impact on Outcomes in Patients With
- 1984;53(9):2002–7. DOI: 10.1002/1097-0142(19840501)53:9<2002::AID-CNCR2820530933>3.0.CO;2-W.
38. Azoulay É., Castro P., Maamar A., et al. Outcomes in patients treated with chimeric antigen receptor T-cell therapy who were admitted to intensive care (CARTAS): an international, multicentre, observational cohort study. *Lancet Haematol.* 2021;8(5):e355–64. DOI: 10.1016/S2352-3026(21)00060-0.
39. Shchekina A.E., Galstyan G.M., Gavrilina O.A., et al. Cytokine release syndrome and other complications after chimeric antigen receptor T-lymphocyte therapy in adults with B-cell lymphoma and leukemia. *Gematoplogiya I Transfusiologiya.* 2022;67(S2):88 (In Russian).
40. 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.
41. Kymriah® (tisagenlecleucel) [package insert]. East Hanover (NJ): Novartis Pharmaceuticals Corporation; 2022.
42. Yescarta® (axicabtagene ciloleucel) [package insert]. Santa Monica (CA): Kite Pharma, Inc.; 2022.
43. Adkins, S. CAR T-Cell Therapy: Adverse Events and Management. *J Adv Pract Oncol.* 2019;10(Suppl 3): 21–28. DOI: 10.6004/jadpro.2019.10.4.11.
44. Jacobson C.A., Hemmer M.T., Hu Z.-H., et al. Real-world early outcomes of axicabtagene ciloleucel for relapsed or refractory (R/R) follicular lymphoma (FL). *J Clin Oncol.* 2023;41(16_suppl):7509. DOI: 10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.7509.
45. Ghafouri S., Fenerty K., Schiller G., et al. Real-World Experience of Axicabtagene Ciloleucel and Tisagenlecleucel for Relapsed or Refractory Aggressive B-cell Lymphomas: A Single-Institution Experience. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2021;21(12):861–72. DOI: 10.1016/j.clml.2021.07.002.
46. Kwon M., Iacoboni G., Reguera J.L., et al. Axicabtagene ciloleucel compared to tisagenlecleucel for the treatment of aggressive B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2022;108(1):110–21. DOI: 10.3324/haematol.2022.280805.
47. Dickinson M., Martinez-Lopez J., Jousseume E., et al. Comparative efficacy and safety of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel among adults with r/r follicular lymphoma. *Leuk Lymph.* 2024;65(3):323–32. DOI: 10.1080/10428194.2023.2289854.
48. Flinn I.W., Jacobson C.A., Nastoupil L.J., et al. ZUMA-22: A phase 3, randomized controlled study of axicabtagene ciloleucel (axi-cel) versus standard-of-care therapy in patients with relapsed or refractory (R/R) follicular lymphoma (FL). *J Clin Oncol.* 2023;41(16_suppl):TPS7579. DOI: 10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.TPS7579.
49. Ghione P., Palomba M.L., Patel A.R., et al. Comparative effectiveness of ZUMA-5 (axi-cel) vs SCHOLAR-5 external control in relapsed/refractory follicular lymphoma. *Blood.* 2022;140(8):851–60. DOI: 10.1182/blood.2021014375.
50. Salles G., Schuster S.J., Dreyling M., et al. Efficacy comparison of tisagenlecleucel vs usual care in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. *Blood Adv.* 2022;6(22):5835–43. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022008150.
51. Visco C., Chiappella A., Nassi L., et al. Rituximab, bendamustine, and low-dose cytarabine as induction therapy in elderly patients with mantle cell lymphoma: a multicentre, phase 2 trial from Fondazione Italiana Linfomi. *Lancet Haematol.* 2017;4(1):e15–23. DOI: 10.1016/S2352-3026(16)30185-5.
52. Neelapu S.S., Chavez J., Sehgal A.R., et al. 3-Year Follow-up Analysis of ZUMA-5: A Phase 2 Study of Axicabtagene Ciloleucel (Axi-Cel) in Patients with Relapsed/Refractory (R/R) Indolent Non-Hodgkin Lymphoma (iNHL). *Blood.* 2022;140(Supplement 1):10380–3. DOI: 10.1182/blood-2022-156120.
53. Iacoboni G., Navarro V., Martín-López A.Á., et al. Recent Bendamustine Treatment Before Apheresis Has a Negative Impact on Outcomes in Patients With

- Large B-Cell Lymphoma Receiving Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *J Clin Oncol.* 2024;42(2):205–17. DOI: 10.1200/JCO.23.01097.
54. Yakoub-Agha I., Chabannon C., Bader P., et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica.* 2020;105(2):297–316. DOI: 10.3324/haematol.2019.229781.
55. Casulo C., Friedberg J.W., Ahn K.W., et al. Autologous Transplantation in Follicular Lymphoma with Early Therapy Failure: A National LymphoCare Study and Center for International Blood and Marrow Transplant Research Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(6):1163–71. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.12.771.
56. Locke F.L., Miklos D.B., Jacobson C.A., et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;386(7):640–54. DOI: 10.1056/NEJMoa2116133.
57. Shadman M., Caimi P.F., O'Brien S.M., et al. Efficacy and Safety of a Third Generation CD20 CAR-T (MB-106) for Treatment of Relapsed/Refractory Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma: Phase-1 Results from a Multicenter Trial. *Blood.* 2023;142(Suppl. 1):2102. DOI: 10.1182/blood-2023-175007.
58. Shah N.N., Johnson B.D., Schneider D., et al. Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nature Med.* 2020;26(10):1569–75. DOI: 10.1038/s41591-020-1081-3.
59. Tong C., Zhang Y., Liu Y., et al. Optimized tandem CD19/CD20 CAR-engineered T cells in refractory/relapsed B cell lymphoma. *Blood.* 2020; 135 (14): 1632–44. DOI: 10.1182/blood.2020005278.
60. Locke F.L., Munoz J.L., Tees M.T., et al. ALLO-647 for Lymphodepletion in the Allogeneic CAR T Setting: Safety Experience with ALLO-501/501A in Patients (Pts) with Relapsed/Refractory (r/r) Large B-Cell and Follicular Lymphomas. *Blood.* 2023;142 (Suppl. 1):2095. DOI: 10.1182/blood-2023-189196.

Информация об авторах

Смолянинова Анна Константиновна*, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, гематолог отделения гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: annmo8@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0591-2589>

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>

Боголюбова Аполлиария Васильевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией трансплантационной 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>

- Large B-Cell Lymphoma Receiving Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *J Clin Oncol.* 2024;42(2):205–17. DOI: 10.1200/JCO.23.01097.
54. Yakoub-Agha I., Chabannon C., Bader P., et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica.* 2020;105(2):297–316. DOI: 10.3324/haematol.2019.229781.
55. Casulo C., Friedberg J.W., Ahn K.W., et al. Autologous Transplantation in Follicular Lymphoma with Early Therapy Failure: A National LymphoCare Study and Center for International Blood and Marrow Transplant Research Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(6):1163–71. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.12.771.
56. Locke F.L., Miklos D.B., Jacobson C.A., et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;386(7):640–54. DOI: 10.1056/NEJMoa2116133.
57. Shadman M., Caimi P.F., O'Brien S.M., et al. Efficacy and Safety of a Third Generation CD20 CAR-T (MB-106) for Treatment of Relapsed/Refractory Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma: Phase-1 Results from a Multicenter Trial. *Blood.* 2023;142(Suppl. 1):2102. DOI: 10.1182/blood-2023-175007.
58. Shah N.N., Johnson B.D., Schneider D., et al. Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial. *Nature Med.* 2020;26(10):1569–75. DOI: 10.1038/s41591-020-1081-3.
59. Tong C., Zhang Y., Liu Y., et al. Optimized tandem CD19/CD20 CAR-engineered T cells in refractory/relapsed B cell lymphoma. *Blood.* 2020; 135 (14):1632–44. DOI: 10.1182/blood.2020005278.
60. Locke F.L., Munoz J.L., Tees M.T., et al. ALLO-647 for Lymphodepletion in the Allogeneic CAR T Setting: Safety Experience with ALLO-501/501A in Patients (Pts) with Relapsed/Refractory (r/r) Large B-Cell and Follicular Lymphomas. *Blood.* 2023;142 (Suppl. 1):2095. DOI: 10.1182/blood-2023-189196.

Information about the authors

Anna K. Smolianinova*, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Department of Hematology and Chemotherapy of Lymphomas with Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation Unit, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: annmo8@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0591-2589>

Olga A. Aleshina, Cand. Sci. (Med.), Head of cell and immunotherapy department, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: dr.gavrilina@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

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

Звонков Евгений Евгеньевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением гематологии и химиотерапии лимфом с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zvonkov@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>

Evgeny E. Zvonkov, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Hematology and Chemotherapy of Lymphomas with Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation Unit, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: dr.zvonkov@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>.

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.12.2024

Принята к печати: 10.06.2025

*** Corresponding author**

Received 20 Dec 2024

Accepted 10 Jun 2025

СЛУЧАЙ ВЫЯВЛЕНИЯ РЕДКОГО ФЕНОТИПА DEL У ДОНОРА КРОВИ

Кара В.В.^{1,*}, Данилец В.В.¹, Райкина Е.В.², Чумак А.А.³, Шрагина О.А.², Погонин А.В.¹, Дрозд Т.С.¹, Мартынова Е.А.¹, Буланов А.Ю.⁴

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения города Москвы», 124489, г. Москва, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117198, г. Москва, Российская Федерация

³ ГБУЗ «Центр крови имени О.К. Гаврилова Департамента здравоохранения Москвы», 125284, г. Москва, Российская Федерация

⁴ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», 129090, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Высокоиммуногенный антиген D — один из наиболее важных после групповых антигенов A и B. Многочисленные аллели гена *RHD* приводят к появлению новых фенотипов антигена D. Фенотип Del характеризуется сверхслабой экспрессией антигена D.

Цель: представить результаты типирования антигена D у донора крови с фенотипом Del.

Материалы и методы. Для серологического типирования крови донора использовали технологию микроколоночной агглютинации и твердофазную микропланшетную технологию «Capture». Первичное генотипирование донора выполняли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АСП-ПЦР). Был проведен поиск нуклеотидных замен методом секвенирования по Сэнгеру продуктов ПЦР экзонов гена *RHD*.

Результаты. При проведении серологического типирования с анти-D-антителами IgM и IgG с использованием твердофазной микропланшетной технологии был получен положительный результат. При определении парциальных вариантов антигена D однозначно интерпретировать полученные данные не получилось. Для идентификации вариантов антигена weak D потребовалось проведение молекулярно-генетического анализа. По результатам первичного генотипирования методом АСП-ПЦР было сделано предположение о делеции 9-го экзона гена *RHD* либо нуклеотидной замене в 9-м экзоне. По результатам секвенирования по Сэнгеру в экзоне 9 был обнаружен вариант нуклеотидной последовательности ДНК с. 1203T>A, приводящий к образованию стоп-кодона Ttg401Ter (rs759513820). Данный генетический вариант соответствует аллелю *RHD*01EL.17*. Антиген, кодируемый этим аллелем, относится к типу Del.

Заключение. Необходимо применять иммуногематологические методы в сочетании с молекулярно-генетическими методами для типирования антигена D у доноров крови с фенотипом Del с целью предотвращения аллоиммунизации антигеном D.

Ключевые слова: фенотип Del, резус-фактор, антигены эритроцитов, иммуногематология, генотипирование

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Кара В.В., Данилец В.В., Райкина Е.В., Чумак А.А., Шрагина О.А., Погонин А.В., Дрозд Т.С., Мартынова Е.А., Буланов А.Ю. Случай выявления редкого фенотипа Del у донора крови. Гематология и трансфузиология. 2025; 70(2):264–272. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-264-272>

A CASE OF RARE DEL PHENOTYPE IN A BLOOD DONOR

Kara V.V.^{1,*}, Danilets V.V.¹, Raykina E.V.², Chumak A.A.³, Shragina O.A.², Pogonin A.V.¹, Drozd T.S.¹, Martynova E.A.¹, Bulanov A.Yu.⁴

¹ City Clinical Hospital named after M. P. Konchalovsky, 124489, Moscow, Russian Federation

² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 117198, Moscow, Russian Federation

³ Moscow City Blood Center named after O.K. Gavrilov, 125284, Moscow, Russian Federation

⁴ N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, 129090, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The highly immunogenic D antigen is one of the most important antigens after the group antigens A and B. Numerous alleles of the *RHD* gene lead to the emergence of new D antigen phenotypes. The Del phenotype is characterized by an extremely weak expression of the D antigen.

Aim: to present the results of D antigen typing in a blood donor with the Del phenotype.

Materials and methods. Two technologies were used for serologic typing of donor blood: microcolumn agglutination technology and solid phase microplate Capture technology. Primary genotyping of the donor was performed by allele-specific polymerase chain reaction (ASP-PCR). Nucleotide substitutions were searched for by Sanger sequencing of PCR products of exons of the *RHD* gene.

Results. When serological typing with IgM and IgG anti-D antibodies using solid-phase microplate technology was performed, a positive result was obtained. When determining partial variants of the D antigen, it was not possible to unambiguously interpret the data obtained. Molecular genetic analysis was required to identify variants of the weak D antigen. The results of primary genotyping by ASP-PCR suggested deletion of exon 9 of the *RHD* gene or nucleotide substitution in exon 9. According to the results of Sanger sequencing, a variant of the DNA nucleotide sequence c.1203T>A was detected in exon 9, resulting in the formation of the stop codon Tyr401Ter (rs759513820). This genetic variant corresponds to the *RHD**01EL.17 allele. The antigen encoded by this allele is of the Del type.

Conclusion. It is necessary to use immunohematological methods in combination with molecular genetic methods for D antigen typing in blood donors with the Del phenotype in order to prevent alloimmunization with the D antigen.

Key words: Del phenotype, Rh-factor, erythrocyte antigens, immunohematology, genotyping

Conflict of interest: the authors declare that they have no competing interests.

Funding: this study was not supported by any external sources of funding.

For citation: Kara V.V., Danilets V.V., Raykina E.V., Chumak A.A., Shragina O.A., Pogonin A.V., Drozd T.S., Martynova E.A., Bulanov A.Yu. A case of rare Del phenotype in a blood donor. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2025; 70(2):264–272 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2025-70-2-264-272>

Введение

Система Rh является наиболее полиморфной системой групп крови человека, имеющей большое клиническое значение в трансфузионной медицине. Соответствие между донором и реципиентом по резус-антигену D является ключевым фактором предотвращения аллоиммунизации и гемолитических трансфузионных реакций [1]. Rh-полипептиды кодируются парой гомологичных генов, *RHD* и *RHCE*, которые расположены на коротком плече хромосомы 1

(1p34.3–36.13). Оба гена состоят из 10 экзонов и являются результатом дупликации общего гена-предка [2, 3]. Они имеют противоположную ориентацию в RH-локусе, то есть находятся в конфигурации хвост к хвосту (*5'RHD3'-3'RHCE5'*). При этом кодирующая нить *RHD* становится некодирующей нитью *RHCE*, и наоборот [4]. Ген *RHD* фланкирован двумя высокомолекулярными последовательностями, так называемыми «резусными боксами». Гены *RHD* и *RHCE* кодируют

трансмембранные белки RhD и RhCE длиной более 400 аминокислотных остатков. Полипептид RhD отличается от обычной формы белка RhCE примерно на 31–35 аминокислотных остатков в зависимости от аллеля *RHCE*. Белки резус пересекают мембрану эритроцита 12 раз, формируя 6 внеклеточных петель — потенциальных мест экспрессии антигенов Rh [2–4]. Ген *RHD* кодирует синтез антигена D, который имеет более 30 эпитопов, а ген *RHCE* может образовывать антигенные антигены C/c и E/e в комбинации Ce, ce, cE и CE [5].

В зависимости от наличия или отсутствия антигена D на поверхности эритроцитов люди делятся на Rh-положительных и Rh-отрицательных. На поверхности эритроцитов резус-отрицательных лиц экспрессия антигена D отсутствует вследствие делеции гена *RHD* или из-за его транскрипционного молчания [6]. Ген *RHD* является высокополиморфным, и существование большого количества различных аллелей приводит к появлению новых фенотипов антигена D [7]. Даже незначительные изменения в аминокислотной последовательности могут вызвать конформационные изменения, которые создают новые антигены и влияют на экспрессию существующих [4].

Вариант Del демонстрирует чрезвычайно слабую экспрессию антигена D, в результате чего стандартные иммуногематологические тесты на антиген D часто ошибочно идентифицируют лиц с вариантом Del как Rh-отрицательных [8]. Количество детерминант антигена D на поверхности эритроцитов лиц с вариантом Del оценивается менее чем в 22 детерминанты на клетку по сравнению с 10 000–30 000 детерминант для нормального D и 1500–7000 — для слабого D [9–11]. Основными механизмами, приводящими к возникновению аллелей *DEL*, являются миссенс-варианты и варианты, влияющие на проявление альтернативного сплайсинга. Дополнительные механизмы включают гибридные аллели, варианты сдвига рамки считывания, преждевременные стоп-кодоны и крупные делеции, охватывающие целые экзоны [12].

Для обеспечения иммунологической безопасности гемотрансфузий важно идентифицировать доноров крови, экспрессирующих антиген D, и классифицировать их как Rh-положительных вне зависимости от плотности антигена D на поверхности эритроцитов [13]. Ошибочное отнесение доноров крови с фенотипом Del к лицам с резус-отрицательной принадлежностью ассоциировано с риском анти-D аллоиммунизации при переливании эритроцитсодержащих компонентов резус-отрицательным реципиентам. В связи с тем что стандартное иммуногематологическое тестирование для определения резус-принадлежности не всегда эффективно в случае слабой экспрессии антигена D, для обнаружения варианта Del может дополнительно потребоваться молекулярно-генетическое типирование [8].

Цель настоящей работы — представить результаты типирования антигена D у донора крови с фенотипом Del.

Материалы и методы

Исследование выполнено в отделении трансфузиологии ГБУЗ «ГКБ им. М. П. Кончаловского ДЗМ» в соответствии с требованиями этических норм и принципов Хельсинкской декларации и поддержано локальным этическим комитетом ГБУЗ «ГКБ им. М. П. Кончаловского ДЗМ». В соответствии с единым протоколом и на основании информированного согласия образец периферической крови донора (идентификационный номер пробы: 777302330094824) был собран в индивидуальную вакуумную пробирку UNIVAC с K2 ЭДТА (ООО «Эйлитон», Россия) путем стандартной венепункции для проведения иммуногематологических исследований.

В целях обеспечения соблюдения требований безопасности донорской крови были проведены следующие иммуногематологические исследования: определение группы крови по системе АВО и резус-принадлежности; типирование антигенов эритроцитов C, c, E, e, D, K; скрининг и идентификация антител в непрямом антиглобулиновом тесте (НАГТ); подтверждение D слабого (D weak) с использованием твердофазной методики; прямой антиглобулиновый тест (ПАГТ); определение парциальных вариантов антигена D.

При проведении иммуногематологических исследований крови донора использовали две различные технологии: технологию микроколоночной агглютинации от компаний «Bio-Rad» (США) и «Diagnostic Grifols, S. A.» (Испания), а также твердофазную микропланшетную технологию «Capture» компании «Immucor» (США).

Для фенотипирования эритроцитов по системе АВО методом гемагглютинации в жидкой фазе на микропланшетах использовали реагенты «immuClone Anti-A IgM», «immuClone Anti-B IgM», «immuClone Anti-AB IgM» («Immucor», США). Типирование антигенов эритроцитов C, c, E, e, D, K проводили с использованием реагентов «immuClone Anti-C IgM», «Anti-c IgM», «Anti-D rapid IgM», «Anti-E IgM», «Anti-e IgM», «Anti-K IgM» (Immucor, США). Данные исследования проводили на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo» («Immucor», США). При наличии на эритроцитах соответствующего антигена на поверхности лунки микропланшета наблюдали прямую агглютинацию исследуемых эритроцитов.

Для определения слабого антигена D использовали микрострипы «Capture-R Select» («Immucor», США) и реагент «Novoclone Anti D IgM + IgG» («Immucor», США), содержащий анти-D человеческие моноклональные антитела IgM, клон D175–2 и IgG, клон D415–1E4 соответственно. Компонент IgG анти-D позволяет выявить наиболее слабые варианты антигена D.

В дополнение к твердофазной технологии антиген D был типирован с использованием метода колоночной агглютинации — гелевая карта «DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания). Изображения, полученные с автоматического иммуногематологического анализатора «Erytra» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания), оценивали визуально. Наличие компактного осадка эритроцитов на дне микропробирки свидетельствовало об отрицательной реакции. ПАГТ проводили с использованием гелевой карты «DG Gel Coombs» («Diagnostic Grifols, S.A.», Испания). НАГТ был проведен с использованием твердофазной системы «Capture-R Ready-Screen» («Immucor», США).

Для определения парциальных вариантов антигена D (DII, DIV, DV, DVI, DVII, DFR, DBT и DHAR) в образце донорской крови ручным методом был использован набор «ID-Partial RhD Typing» («Bio-Rad», США), который содержит 6 микропробирок с полиспецифическим антиглобулиновым реагентом, а также набор анти-D сывороток, включающий 6 линий моноклональных анти-D антител (клеточные линии: LHM76/55 (IgG), LHM77/64 (IgG), LHM70/45 (IgG), LHM59/19 (IgG), LHM169/80 (IgG), LDM1 (IgM)).

Молекулярно-генетическое определение резус-принадлежности было проведено в лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Выделение геномной ДНК для генетического типирования из ядросодержащих клеток периферической крови проводили с использованием коммерческого набора для ручной экстракции ДНК с мини-центрифугирующими колонками «Protrans DNA Box 500» («Protrans GmbH», Германия). В образце, полученном после выделения ДНК, измеряли концентрацию геномной ДНК с помощью спектрофотометра «Nano Drop One» («Thermo Fisher Scientific», США). Показатель чистоты ДНК, определяемый по отношению показателей при 260 и 280 нм, составил 1,75; концентрация конечной ДНК — 52 нг/мкл.

Первичное генотипирование донора выполняли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АСП-ПЦР) с использованием коммерческих наборов реагентов для определения клинически значимых и редких вариантов системы резус «RH-TYPE», «BA Gene Weak D-TYPE», «BA Gene Partial D-TYPE» («BAG Health Care GmbH», Германия). «BAGene RH-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение стандартных *RHD/RHCE* (C, Cw, c, D, DEL, E, e). «BAGeneWeak D-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение типов слабого антигена D (weak D) включая 1, 1.1, 2, 3, 4.0/4.1, 4.2, 5, 11, 15, 17, 20. «BA Gene Partial D-TYPE» позволяет проводить молекулярно-генетическое определение частичных D, таких как DII, DIII, DIV, DV, DVI,

DVII, DAU, DBT, DFR, DHMi, DHMii, DNB и DHAR (Rh33). Детекцию продуктов АСП-ПЦР осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Для визуализации результатов использовали гель-документирующую систему «ChemiDoc» («Bio-Rad», США). Результаты интерпретировали в соответствии с диаграммами оценки, предоставленными производителем.

Для проведения секвенирования по Сэнгеру продуктов ПЦР экзонов гена *RHD* были подобраны праймеры для амплификации 10 экзонов гена *RHD* с захватом прилежащих интронных областей [14]. Праймеры и мастер-микс для ПЦР экзонов и секвенирования были изготовлены компанией ЗАО «Евроген» (Россия). Для амплификации использовали набор реагентов «Platinum™ Taq DNA Polymerase» («Invitrogen», США). Очистку амплификата проводили с помощью набора для ферментативной очистки продуктов ПЦР «ExoSAP-IT» («Thermo Fisher Scientific», США). Секвенирование проводили с использованием набора реактивов «Big Dye Terminator 1.1v Cycle Sequencing Kit» («Applied Biosystems», США). Для секвенирующей реакции использовали прямой и обратный праймеры. После проведения секвенирующих реакций продукты ПЦР очищали при помощи набора «iX-Pure™ Dye Terminator Cleanup Kit» («NimaGen», Нидерланды). Продукты секвенирующих реакций разделяли и анализировали с использованием генетического анализатора «Applied Biosystems 3500 xL» («Applied Biosystems», США). Данные секвенирования по Сэнгеру сопоставляли с референсной последовательностью гена *RHD* (Hg38, NM_016124.6) в геномном браузере Ensembl, аннотация аллелей проведена в соответствии с номенклатурой Международного общества переливания крови.

Результаты

Первоначальную диагностику антигенной структуры эритроцитов проводили с помощью иммуногематологических методов. На рисунке 1 представлен протокол исследования, полученный с иммуногематологического анализатора «Immucor Galileo Neo». При серологическом исследовании антигенного состава образца крови донора получен следующий результат: группа крови по системе ABO — A, резус-принадлежность — Rh-, фенотип ccEe. При проведении НАГТ аллоиммунные антитела IgG к антигенам эритроцитов не выявлены.

При типировании антигена D с использованием микропланшетной технологии и реагента, содержащего моноклональные IgM-антитела к антигену D, получен отрицательный результат (рис. 1). Для выявления слабых подтипов антигена D был проведен тест «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo». Был получен следующий результат: сила положительной реакции (3+), что соответствует степени

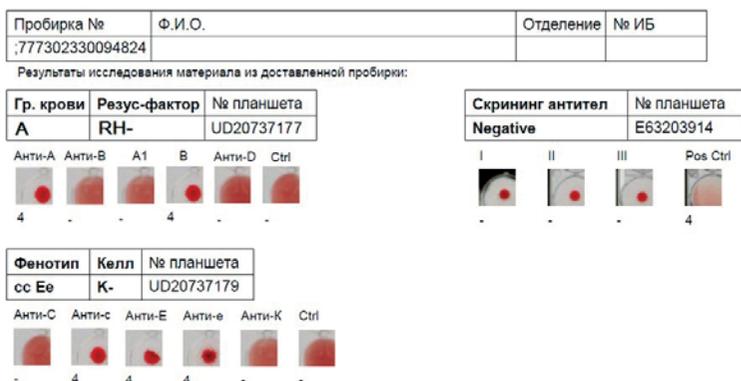


Рисунок 1. Результаты стандартного серологического типирования образца крови донора на анализаторе «Immucor Galileo Neo»

Figure 1. Results of standard serological typing of a donor blood sample on the Immucor Galileo Neo analyzer

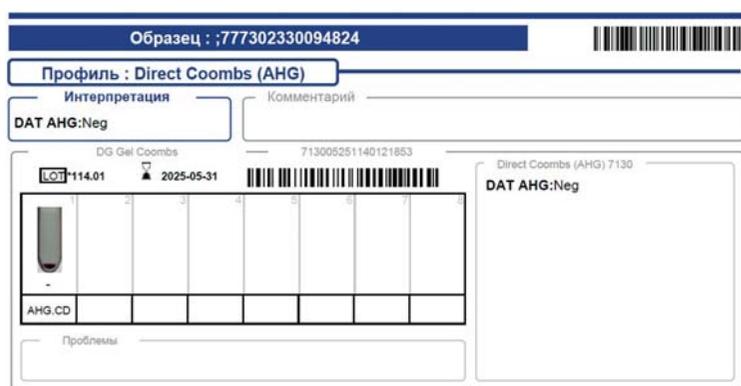


Рисунок 3. Результат прямого антиглобулинового теста

Figure 3. The result of a direct antiglobulin test

адгезии эритроцитов к монослою (рис. 2). Появление положительного результата только в тесте «D weak» с анти-D-антителами IgM и IgG позволило судить о наличии слабого фенотипа антигена D или в меньшей степени о вариантной форме антигена D.

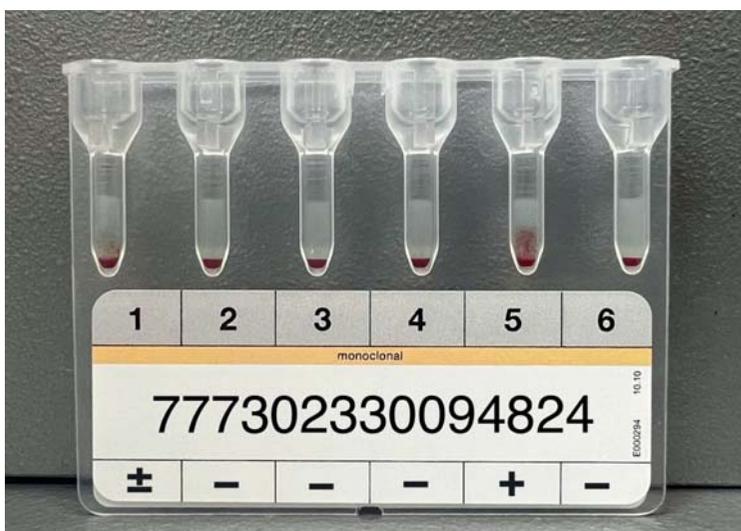


Рисунок 5. Результат типирования парциальных вариантов антигена RhD образца донорской крови

Figure 5. RhD antigen partial variant typing result of a donor blood sample

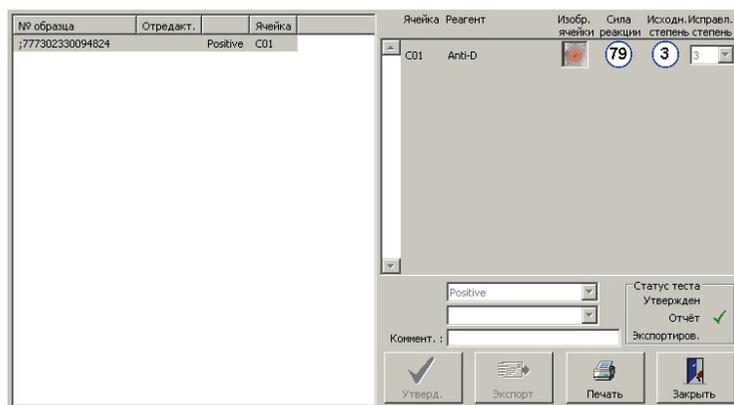


Рисунок 2. Результат теста «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo»

Figure 2. The result of the weak D test on the Immucor Galileo Neo immunohematology analyzer

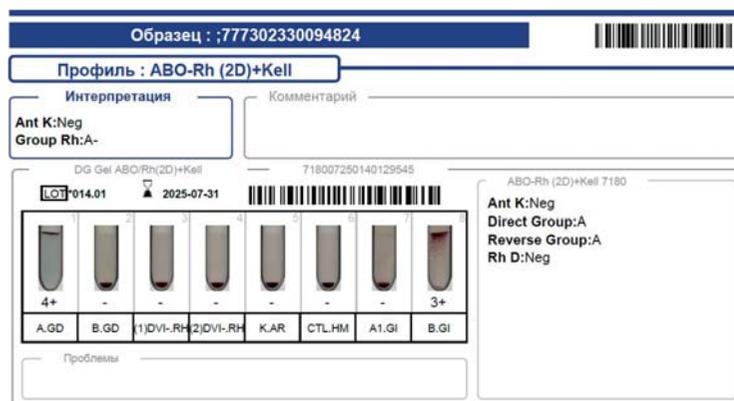


Рисунок 4. Результат двойного определения RhD с использованием гелевой карты «DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell»

Figure 4. Result of double RhD determination using a gel card DG Gel ABO/Rh (2D) + Kell

Для исключения ложноположительного результата в тесте «D weak» с анти-D-антителами, вызванного эритроцитами, сенсibilизированными *in vivo* иммуноглобулинами и/или фракциями комплемента, был проведен прямой антиглобулиновый тест с использованием гелевой карты «DG Gel Coombs». Была установлена отрицательная реакция, что свидетельствовало об отсутствии выявляемых антител IgG или компонента комплемента C3d на эритроцитах (рис. 3).

По результатам типирования антигена D в гелевой карте в микропробирке с моноклональными анти-D-антителами IgM человеческого происхождения получен отрицательный результат. В микропробирке со смесью моноклональных анти-D-антител IgM и IgG, позволяющей выявлять слабый D и частичные варианты антигена D, также был получен отрицательный результат (рис. 4).

При типировании парциальных вариантов антигена D в микропробирке 1 с LHM76/55 (IgG) линией моноклональных анти-D-антител и микропробирке 5 с LHM169/80 (IgG) линией моноклональных анти-D-антител сила реакции составила (±) и (+) соответственно (рис. 5). Полученные результаты не позволили однозначно интерпретировать данные результаты

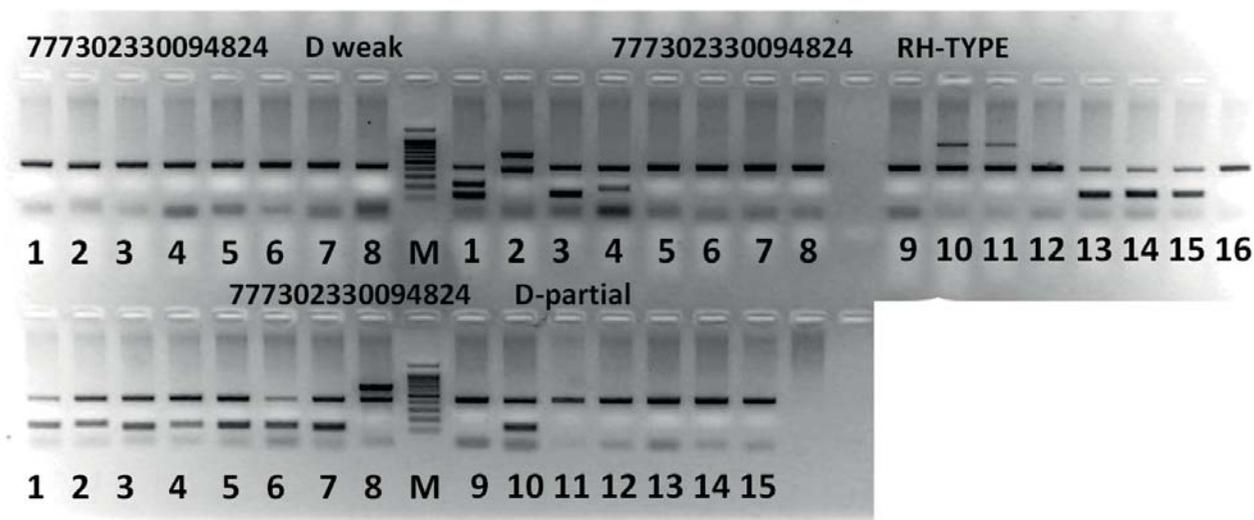


Рисунок 6. Электрофореграммы продуктов АСП-ПЦР с экзон-специфическими праймерами гена *RHD*. М — маркер молекулярного веса ДНК, содержащий фрагменты от 100 до 1000 пар нуклеотидов

Figure 6. Electrophoregrams of ASP-PCR products with exon-specific primers of the *RHD* gene. M — DNA molecular weight marker containing fragments of between 100 to 1000 bp

в соответствии с прилагаемой интерпретационной таблицей. В связи с этим возникла необходимость в проведении дополнительных исследований. По результатам первичного генотипирования методом АСП-ПЦР было сделано предположение о делеции 9-го экзона гена *RHD* либо нуклеотидной замене в 9-м экзоне, однако точный вариант антигена D не был определен (рис. 6). Поскольку результаты генотипирования были неоднозначными, был проведен анализ последовательности методом секвенирования по Сэнгеру. Для анализа геномной последовательности каждый из 10 экзонов *RHD* и фланкирующих интронных областей был амплифицирован с использованием специфических праймеров. ПЦР экзонов и прилегающих интронов гена *RHD* показала наличие всех 10 экзонов, что позволило исключить версию о делеции экзона 9. При анализе результатов секвенирования в экзоне 9 обнаружен вариант нуклеотидной последовательности ДНК с. 1203Т>А (рис. 7).

Обсуждение

Антиген D, который не выявляется при использовании стандартных серологических тестов, включая НАГТ, принято относить к категории «D-elution», или Del [15]. Свое название фенотип получил благодаря тому, что для детекции антигена D с крайне слабой экспрессией требуется метод адсорбции-элюции [12]. Впервые вариант Del был описан в 1984 г. группой японских авторов [16], и к настоящему моменту выявлено большое количество аллелей, связанных с вариантом Del, в разных этнических популяциях [8]. Распространенность фенотипа Del составляет 30% у китайских Rh-отрицательных доноров, 28% у японских Rh-отрицательных доноров и 17% у корейских Rh-отрицательных доноров. При этом среди Rh-отрицательных доноров европеоидной расы фено-

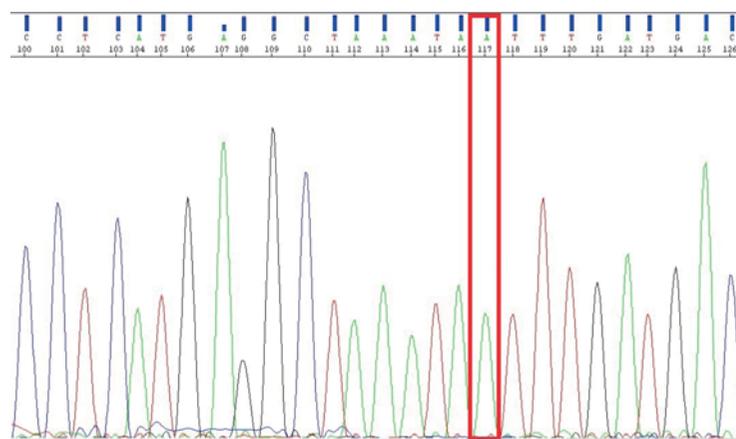


Рисунок 7. Фрагмент электрофореграммы 9-го экзона гена *RHD* с нуклеотидной заменой с.1203Т>А

Figure 7. Fragment of electrophoregram of exon 9 of *RHD* gene with nucleotide substitution c.1203T>A

тип Del встречается редко, на его долю приходится 0,1% [17].

Номенклатура Международного общества переливания крови насчитывает более 50 различных аллелей *DEL*. При этом их распространенность широко варьирует в этнических группах, что необходимо учитывать при разработке подходящих стратегий безопасности переливания крови [12]. В Китае, Японии и Корее, а также в странах со значительной долей лиц восточноазиатского происхождения, таких как Австралия и США, преобладающим является «Азиатский тип» Del (*RHD*01EL.01*) [18]. У европеоидов аллельный профиль *DEL* имеет большую гетерогенность и характеризуется преобладанием таких аллелей, как *RHD*01EL.08*, *RHD*11* и также *RHD*01EL.01* [12, 19].

В данном исследовании описан случай редкого фенотипа Del у донора крови. Результаты серологического типирования не позволили однозначно определить, выявлено ли наличие слабого фенотипа антигена D

или его вариантной формы. Данные первичного генотипирования методом АСП-ПЦР также оказались неоднозначными, поскольку наборы для АСП-ПЦР имеют ограничения за счет того, что праймеры нацелены на определенные регионы и не учитывают потенциальные редкие нуклеотидные вариации или гибридные аллели [20, 21]. Анализ результатов секвенирования по Сэнгеру позволил выявить наличие варианта нуклеотидной последовательности ДНКс. 1203T>A в экзоне 9 гена *RHD* (NM_016124.6), приводящего к образованию стоп-кодона Тут401Ter (rs759513820). Данный генетический вариант соответствует аллелю *DEL* (*RHD*01EL.17*) [22]. Впервые этот аллель был описан в публикации С. Gassner и соавт. [19] в 2005 г. при исследовании резус-отрицательного донора из Кировской области. Аллель характеризуется образованием стоп-кодона и терминацией синтеза полипептидной цепи в 401 позиции, укорачивая полипептид RhD с 417 до 400 а.к. По всей видимости, терминация трансляции полипептидной цепи на карбоксильном конце не приводит к полной утрате экспрессии антигена D, но существенно снижает ее.

Несмотря на то что во многих источниках указывается на возможность обнаружения Del только с помощью метода адсорбции-элюции, выявленный в настоящей работе вариант показал положительную реакцию с анти-D-антителами IgM и IgG в тесте «D weak» на иммуногематологическом анализаторе «Immucor Galileo Neo». В работе S. Dajak и соавт. [23] было выявлено 6 случаев фенотипа Del с помощью НАГТ, впоследствии подтвержденных генотипированием. По видимости, аллели *DEL* демонстрируют различные серологические профили, которые отличаются по плотности антигена D и отсутствию эпитопов [12]. Таким образом, необходимы дополнительные исследования, направленные на оценку диагностической чувствительности и специфичности методов микро-

лоночной агглютинации и твердофазной микропланшетной технологии «Capture» для определения антигена D у лиц с фенотипом Del.

Большинство фенотипов Del ошибочно интерпретируются как D-отрицательные из-за ограничений рутинного серологического типирования. По этой причине у реципиента с истинно D-отрицательным фенотипом может развиваться анти-D аллоиммунизация после переливания эритроцитсодержащих компонентов крови с фенотипом Del [24]. Имеются сообщения о случаях как первичной, так и вторичной алло-D иммунизации, сопровождающейся нарастанием титра антител. В этой связи некоторые банки крови ввели программу генетического скрининга аллелей *DEL* у резус-отрицательных доноров, чтобы исключить их из категории D- и квалифицировать их эритроциты как D+ [25–27].

Несмотря на то что не все исследователи считают такую меру оправданной, необходимо помнить, что анти-D антитела являются лидирующей причиной тяжелой гемолитической болезни плода и новорожденного. Таким образом, обеспечение совместимых трансфузий резус-отрицательным реципиентам, в особенности женского пола, является весомым аргументом в пользу ДНК-тестирования резус-отрицательных доноров [28]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода при решении вопроса о наличии или отсутствии антигена D в образце донорской крови. Сочетание иммуногематологических и молекулярно-генетических методов исследования представляется целесообразным и надежным подходом для определения истинно резус-отрицательных доноров при первичной донации. Создание программы скрининга варианта Del у доноров на территории Российской Федерации является перспективным направлением для предотвращения анти-D аллоиммунизации реципиентов и связанных с ней гемолитических посттрансфузионных реакций.

Литература / References

- Nadarajan V.S. Serological analysis of Rh antigens: how far can we go? *Ann Blood*. 2023;8:40. DOI: 10.21037/aob-23-30.
- Wagner F.F., Flegel W.A. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood*. 2000;95(12):3662–8. DOI: 10.1182/blood.v95.12.3662.012k12_3662_3668.
- Wagner F.F., Moulds J.M., Flegel W.A. Genetic mechanisms of Rhesus box variation. *Transfusion*. 2005;45(3):338–44. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.04339.x.
- Geoff D., Imelda B. *Essential Guide to Blood Groups*. John Wiley & Sons, Nov 11, 2013. Medical. 131 p.
- Westhoff C.M. The structure and function of the Rh antigen complex. *Semin Hematol*. 2007;44(1):42–50. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2006.09.010.
- Colin Y., Chérif-Zahar B., Le Van Kim C., et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood*. 1991;78(10):2747–52. DOI: 10.1182/blood.v78.10.2747.bloodjournal78102747.
- Cruz B.R., Chiba A.K., Moritz E., et al. RHD alleles in Brazilian blood donors with weak D or D-negative phenotypes. *Transfusion medicine*. 2012;22(2):84–9. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2011.01129.x.

- Flegel W.A. Blood group genotyping in Germany. *Transfusion*. 2007;47(1 Suppl):47S–53S. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01310.x.
- Beckers E.A., Faas B.H., Ligthart P., et al. Lower antigen site density and weak D immunogenicity cannot be explained by structural genomic abnormalities or regulatory defects of the RHD gene. *Transfusion*. 1997;37(6):616–23. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1997.37697335156.x.
- Körmöcz G.F., Gassner C., Shao C.P., et al. A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization. *Transfusion*. 2005;45(10):1561–7. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2005.00584.x.
- Kulkarni S., Mohanty D., Gupte S., et al. Flow cytometric quantification of antigen D sites on red blood cells of partial D and weak D variants in India. *Transfus Med*. 2006;16(4):285–9. DOI: 10.1111/j.1365-3148.2006.00667.x
- Wagner F.F. Serology and molecular biology of DEL: a narrative review. *Ann Blood* 2023;8:28. DOI: 10.21037/aob-22-16.
- Schmidt L.C., Castilho L., Vieira O.V., et al. Impact of a confirmatory RhD test on the correct serologic typing of blood donors. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2013;37(5):302–5. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.06.001.

14. Fichou Y., Le Maréchal C., Jamet D., et al. Establishment of a medium-throughput approach for the genotyping of RHD variants and report of nine novel rare alleles. *Transfusion*. 2013;53(8):1821–8. DOI: 10.1111/trf.12009.
15. Cohn C., Delaney M., Johnson S., et al. Technical manual. 20th edition. Bethesda, MD: AABB, 2020.
16. Okubo Y., Yamaguchi H., Tomita T., et al. A D variant, Del ρ *Transfusion*. 1984;24(6):542. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1984.24685066827.x.
17. Kwon D.H., Sandler S.G., Flegel W.A. DEL phenotype. *Immunohematology*. 2017;33(3):125–32. DOI: 10.21307/immunohematology-2019-019.
18. Flegel W.A., Wagner F.F. DEL. *Blood Transfus.* 2020;18(3):159–62. DOI: 10.2450/2020.0296-19.
19. Gassner C., Doescher A., Drnovsek T.D., et al. Presence of RHD in serologically D-, C/E+ individuals: a European multicenter study. *Transfusion*. 2005;45(4):527–38. DOI: 10.1111/j.0041-1132.2004.04211.x.
20. Jeong D., Oh S., Song E.Y., et al. Molecular Characteristics of the Serological Weak D Phenotype in Koreans. *Diagnostics*. 2021;11(6):920. DOI: 10.3390/diagnostics11060920.
21. Hundhausen T., Petershofen E.K., Doescher A., et al. RHCE-D-CE hybrid genes can cause false-negative DNA typing of the Rh e antigen. *Vox Sang.* 2002;83(3):268–72. DOI: 10.1046/j.1423-0410.2002.00220.x.
22. International Society of Blood Transfusion Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology. (ISBT 004) RHD blood group alleles v6.431-JUL-2023. <https://www.isbtweb.org/resource/004rhd.html>
23. Dajak S., Krstic J.L., Körmöcz G., et al. Characteristics and frequency of DEL phenotype detected by indirect antiglobulin test in Dalmatia county of Croatia. *Transfus Apher Sci.* 2014;50(2):210–3. DOI: 10.1016/j.transci.2014.01.019.
24. Gu J., Wang X.D., Shao C.P., et al. Molecular basis of DEL phenotype in the Chinese population. *BMC Med Genet.* 2014;15:54. DOI: 10.1186/1471-2350-15-54.
25. Wagner F.F., Frohmajer A., Flegel W.A. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genet.* 2001;2:10. DOI: 10.1186/1471-2156-2-10.
26. Wagner F.F. RHD PCR of D-Negative Blood Donors. *Transfus Med Hemother.* 2013;40(3):172–81. DOI: 10.1159/000351604.
27. Polin H., Danzer M., Gaszner W., et al. Identification of RHD alleles with the potential of anti-D immunization among seemingly D- blood donors in Upper Austria. *Transfusion*. 2009;49(4):676–81. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.02046.x.
28. Krog G.R., Clausen F.B., Berkowicz A., et al. Is current serologic RhD typing of blood donors sufficient for avoiding immunization of recipients? *Transfusion*. 2011;51(11):2278–85. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03156.x.

Информация об авторах

Кара Вадим Васильевич*, врач клинической лабораторной диагностики отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: vadim29-00@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3032-6262>

Данилец Виолетта Вячеславовна, заведующая отделением трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: gb3opk@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4605-8315>

Райкина Елена Владиславовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: Elena.Raykina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Чумак Анна Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией HLA-типирования, ГБУЗ «Центр крови им. О.К. Гаврилова» Департамента здравоохранения г. Москвы,
e-mail: gella5@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5912-3564>

Шрагина Ольга Андреевна, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: olga.shragina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-4212>

Information about the authors

Vadim V. Kara*, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: vadim29-00@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3032-6262>

Violetta V. Danilets, Head of the Department of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: gb3opk@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4605-8315>

Elena V. Raykina, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Biology, Dmitry Rogachev National Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology,
e-mail: Elena.Raykina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Anna A. Chumak, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory for HLA-typing, Moscow City Blood Center named after O.K. Gavrilov,
e-mail: gella5@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5912-3564>

Olga A. Shragina, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics of the Molecular Biology Laboratory, Dmitry Rogachev National Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology,
e-mail: olga.shragina@dgoi.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-4212>

Погонин Алексей Владимирович, кандидат медицинских наук, главный врач ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: PogoninAV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5051-1656>

Дрозд Тамара Станиславовна, биолог отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: Peru6ko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-5984>

Мартынова Екатерина Александровна, врач клинической лабораторной диагностики отделения трансфузиологии ГБУЗ «Городская клиническая больница имени М.П. Кончаловского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: emart1971@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-8840>

Буланов Андрей Юльевич, доктор медицинских наук, главный внештатный специалист трансфузиолог Департамента здравоохранения города Москвы; ведущий научный сотрудник отдела биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
e-mail: BulanovAY@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 11.02.2025

Принята к печати: 10.06.2025

Aleksey V. Pogonin, Cand. Sci. (Med.), Chief Physician, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: PogoninAV@zdrav.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5051-1656>

Tamara S. Drozd, Biologist, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M. P. Konchalovsky,
e-mail: Peru6ko@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-5984>

Ekaterina A. Martynova, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Division of Transfusiology, City Clinical Hospital named after M.P. Konchalovsky,
e-mail: emart1971@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-8840>

Andrey Yu. Bulanov, Dr. Sci. (Med.), Chief Transfusiology Specialist of the Moscow Healthcare Department, Leading Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine,
e-mail: BulanovAY@sklif.mos.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-8145>

* Corresponding author

Received 11 Feb 2025

Accepted 10 Jun 2025



Артлегия®

олокизумаб

ИСКУССТВО
В КАЖДОМ
ДВИЖЕНИИ



www.artlegia.com

Олокизумаб – первый и единственный ингибитор ИЛ-6 для терапии ревматоидного артрита^{1,2}, блокирующий цитокин, а не рецептор^{1,3,4}

¹ Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Артлегия раствор для подкожного введения 160 мг/мл, регистрационное удостоверение ЛП- 006218 от 21.05.2020, внесение изменений в инструкцию от 19.02.2024 <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> 01.10.2024

² <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm> (по данным Управления США по контролю и качеству пищевых продуктов, лекарственных препаратов и др) 01.10.2024

https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human/search_api_aggregation_ema_therapeutic_area_name/Immunology-Rheumatology-Transplantation (по данным Агентства по оценке лекарственных препаратов на их соответствие требованиям, изложенным в Европейской Фармакокоде) 01.10.2024

³ Shaw S, Bourne T, Meier C, Carrington B, Gelinas R, Henry A, Popplewell A, Adams R, Baker T, Rapecki S, Marshall D, Moore A, Neale H, Lawson A. Discovery and characterization of olokizumab: a humanized antibody targeting interleukin-6 and neutralizing gp130-signaling. *MAbs*. 2014 May-Jun;6(3):774-82. doi: 10.4161/mabs.28612. Epub 2014 Apr 2. PMID: 24670876; PMCID: PMC4011921 (Шоу С., Борн Т., Майер С., Каррингтон Б., Гелинас Р., Генри А., Попплуэлл А., Адамс Р., Бейкер Т., Рапекки С., Маршалл Д., Мур А., Нил Г., Лоусон А. Открытие и характеристика олокизумаба: гуманизированного антитела, нацеленного на интерлейкин-6 и нейтрализующего передачу сигналов через гликопротеин 130)

⁴ Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol*. 2015 May;16(5):448-57. doi: 10.1038/ni.3153. Erratum in: *Nat Immunol*. 2017 Oct 18;18(11):1271. PMID: 25898198 (Хантер С.А., Джонс С.А., ИЛ-6 как ключевой цитокин в норме и при патологии. Естественная иммунология 2015, май)

Международное непатентованное название (МНН): олокизумаб. Лекарственная форма: раствор для подкожного введения.

Фармакотерапевтическая группа: антитела моноклональные.

Показания к применению:

терапия пациентов старше 18 лет с ревматоидным артритом средней или высокой степени активности в комбинации с метотрексатом, при недостаточной эффективности монотерапии метотрексатом или ингибиторами фактора некроза опухоли (иФНО), патогенетическая терапия синдрома высвобождения цитокинов при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) среднетяжелого и тяжелого течения.

Противопоказания: гиперчувствительность к олокизумабу, любому компоненту препарата в анамнезе; активные инфекционные заболевания (в том числе туберкулез), детский возраст до 18 лет; наследственная непереносимость фруктозы (препарат содержит сорбитол), беременность; период грудного вскармливания. С осторожностью: у пациентов с серьезными или оппортунистическими инфекциями в анамнезе; с сопутствующими заболеваниями и состояниями, являющимися факторами риска развития инфекций (сахарный диабет, почечная недостаточность, приём иммуносупрессивных препаратов, пожилой возраст и др.); у пациентов, контактировавших с больными туберкулезом. Перед применением препарата Артлегия у таких пациентов следует оценить соотношение риска и пользы применения препарата; у пациентов с дивертикулитом или перфорациями кишечника в анамнезе и другими факторами риска перфорации кишечника; у пациентов с нарушениями функции печени и печеночной недостаточностью.

Побочное действие: нежелательные реакции, отмечавшиеся при терапии олокизумабом: очень часто: повышение активности АЛТ; часто: латентный туберкулез, фарингит, конъюнктивит, лейкопения, нейтропения, тромбоцитопения; повышение содержания липидов в крови; гипертензия; диарея, боль в животе; повышенная концентрация прямого и непрямого билирубина; повышенная активность печеночных ферментов, (печеночных трансаминаз, АСТ); сыпь, дерматит; скелетно-мышечная боль; реакции в месте инъекции; повышение уровня ГГТ; нечасто: сепсис; грибковая инфекция кожи; лекарственная гиперчувствительность; гипотиреоз; сахарный диабет; мигрень; стенокардия; фибрилляция предсердий; тромбоз глубоких вен; интерстициальное заболевание легких; гастрит; миозит; почечная колика; маточное кровотечение.

Срок годности: 3 года. Перед применением необходимо ознакомиться с полной инструкцией по применению лекарственного препарата АРТЛЕГИА.

По вопросам, связанным с развитием нежелательных явлений и других проблем с безопасностью лекарственного препарата АРТЛЕГИА просьба обращаться в отдел безопасности лекарственных средств АО «Р-Фарм»: тел.: +7 (495) 956-79-37, доб. 1126, 1506; факс: +7 (495) 956-79-38; e-mail: safety@rpharm.ru.

Юридическое лицо, на имя которого выдано регистрационное удостоверение: АО «Р-Фарм», 123154, Российская Федерация, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корп. 1, тел. +7 (495) 956-79-37, факс +7 (495) 956-79-38, e-mail: info@rpharm.ru.

Производитель: АО «Р-Фарм», Российская Федерация, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Громова, д. 15, тел./факс: +7 (4852) 40-30-20.

ПРОМО-091224002
от 18.12.2024
РЕКЛАМА

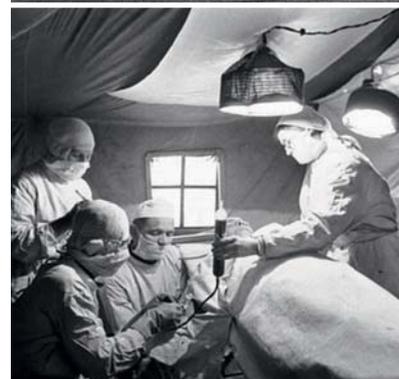
МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ТОЛЬКО ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ РАБОТНИКОВ, РАСПРОСТРАНЕНИЯ НА МЕДИЦИНСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ. НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ И НЕ ЗАМЕНЯЕТ ЕЕ



Р-ФАРМ
Инновационные
технологии
здоровья



ПЕРВЫЙ В МИРЕ



ISSN 0234-5730



9 770234 573007