

тистически значимой корреляции в достижении ОО между РанРец и ПоздРец (65% против 73%,  $p=0,624$ ) и уровнем экспрессии CD33 на бластах – группы сравнения с экспрессией до 60% и более (40% против 52%,  $p=0,496$ ). Двухлетняя ОВ и БРВ пациентов с ОО, цензурированных по алло-ТГСК, составили 70% (95%ДИ 43-97) и 41% (95%ДИ 16-66), соответственно. Частота рецидивов 28% (95%ДИ 12-47). Гепатотоксичность имела место в виде транзиторного повышения трансаминаз ( $<10$  ВГН). Ни у одного из пациентов не зафиксировано развитие синусоидального обструктивного синдрома и синдрома пролонгированного QT. Нейтропения 3-4 ст. в группе с одно/два введениями ГО составила 88% (22/26), при трех введениях ГО – 98% (48/49). У пациентов, получивших ГО+СНХТ частота нейтропении 3-4 ст. и тромбоцитопении 3-4 ст. составил 87% и 73%, соответственно. В группе ГО+ВДХТ, такие осложнения отмечались

у всех пациентов. Ранняя летальность составила 11% (95%ДИ 3-24). Причиной смерти у 4 пациентов – прогрессия лейкоза, у 3 пациентов – инфекционные осложнения, у 1 пациента – ОНМК по геморрагическому типу. Непосредственной связи летального исхода с терапией ГО не зафиксировано.

## Выводы

Добавление к стандартным курсам химиотерапии ГО у пациентов с РР ОМЛ продемонстрировало свою эффективность и приемлемую токсичность, что дает основание использовать ГО в сочетании с противорецидивной ХТ.

## Ключевые слова

Острый миелоидный лейкоз, таргетная терапия, гемту-зумаб озогамидин.

## Pharmacokinetics of ruxolitinib administrated before and after allo-HSCT in patients with myelofibrosis

Maria V. Barabanshikova<sup>1</sup>, Elena V. Morozova<sup>1</sup>, Ivan S. Moiseev<sup>1</sup>, Alena I. Shakirova<sup>1</sup>, Ildar M. Barkhatov<sup>1</sup>, Inna I. Ushal<sup>2</sup>, Gennadij G. Rodionov<sup>2</sup>, Sergey I. Moiseev<sup>2</sup>, Julia J. Vlasova<sup>1</sup>, Tatjana A. Rudakova<sup>1</sup>, Elena I. Darskaya<sup>1</sup>, Vadim V. Baykov<sup>1</sup>, Aleksander L. Alyanskiy<sup>1</sup>, Sergey N. Bondarenko<sup>1</sup>, Boris V. Afanasyev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Maria V. Barabanshikova

E-mail: mashaprian@mail.ru

## Introduction

Janus kinase 1 and 2 (JAK1/2) inhibitor ruxolitinib reduces splenomegaly, constitutional symptoms, bone marrow fibrosis and confers survival benefit in some MF-patients and is effectively used for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease (GVHD). However, there is no prospective data on the administration of ruxolitinib as GVHD prophylaxis and relapse prevention.

## Patients and methods

Between 2015 and 2018, 20 patients with primary myelofibrosis (PMF), post-essential thrombocythemia (post-ET-MF) and post-polycythemia myelofibrosis (post-PV-MF) were enrolled in the pilot prospective study (NCT02806375, clinicaltrials.gov) in Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Table 1). All the patients were treated with pretransplant ruxolitinib with median time 7.4 months (2.6-22.3) and continued to receive ruxolitinib 45 mg/day from day -7 until day -2. Reduced intensity conditioning was performed with fludarabine 180 mg/m<sup>2</sup> and busulfan 10 mg/kg. GVHD prophylaxis included cyclophosphamide (PTCy) 50 mg/kg on days +3, +4 and ruxolitinib 15 mg/day starting day +5 to +100. Peripheral blood was collected from 20 patients at D0, D+3, D+7, D+21, D+30, D+60. A high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS) method was developed for the determination of ruxolitinib in human plasma in Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, The Nikiforov Russian

Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia. Analyzes were performed using HPLC Agilent 1200 with triple quadrupole mass-spectrometer Agilent 6460 with ionization – electro spray system (Agilent technology, USA).

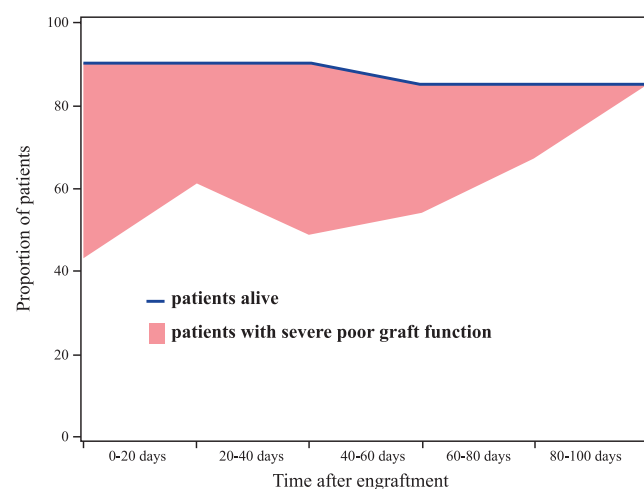


Figure 1. Incidence of severe poor graft function was assessed after engraftment and was gradually resolved in all cases

## Results

The median follow-up was 22 (3-41) months. Primary engraftment was documented in 17 patients. Median time to neutrophil engraftment, on day 27 (18-44); platelet engraftment, day 38 (15-219), RBC transfusion independence, by 59 (20-540) days. Two patients died before engraftment due to severe *Pseudomonas aeruginosae* sepsis (1) and gastrointestinal bleeding (1). One patient experienced poor graft function (PGF). One patient died at day+115 due to thrombotic microangiopathy and infectious complications after cyclosporine A and steroid therapy, due to acute GVHD grade 3. Fifty-five percent of the patients (11) experienced severe PGF (SPGF), as shown in Fig. 1. In two patients, SPGF resolved without changing ruxolitinib dose. Ruxolitinib dose reduction from 15 to 10 mg/day was performed in eight patients with SPGF. In one of them, SPGF resolved only at day+77, in one another – after ruxolitinib discontinuation at day+100. Three patients required CD34+ boost administration, 3 – donor lymphocyte infusion to treat SPGF.

Mild veno-occlusive disease (VOD) was observed in one patient. Sepsis was documented in 35% (7) of patients, invasive mycosis – in 1 patient. Forty five percent (9) experienced any type of the viral reactivation or infection (CMV reactivation – 6, HHV type 6 reactivation – 3, HHV type 1,2 – 2, BK – 1, parvovirus B19 – 1). Three patients experienced viral hemorrhagic cystitis. The incidence of acute GVHD grade II-IV was 25% (5), and severe GVHD grade III-IV – 15% (3). The overall rate of chronic GVHD was 40% (8), moderate – 20% (4), mild – 20% (4). All engrafted patients achieved full donor chimerism hematological, molecular remission, splenomegaly regression. Sixty five percent of patients achieved near complete bone marrow fibrosis resolution at day 398 (range 131-748). Molecular and hematological relapse was documented in 1 patient at day+665. Two-year NRM was 15% (95%CI 4-34%), 2-year OS – 85% (95%CI 60-93%), 2-year EFS – 72% (95%CI 45-87%) (Fig. 2).

Analysis of Cthrough concentrations of ruxolitinib demonstrated accumulation of the drug from day +7 (median 17.7 ng/ml) to day +14 (median 43.8 ng/ml, p=0.028) and subsequent stable concentrations (Fig. 3). Therefore, dose reduction from 15 to 10 mg/day might be reasonable after D+20 due to achievement of stable concentration. The anticipated adverse effect of ruxolitinib upon donor stem cells was eliminated by interruption of the drug intake from day -1 to +4. Thereby, ruxolitinib value was not detected at day 0 in all samples.

## Conclusion

Replacement of calcineurin inhibitors and mycophenolate mofetil by ruxolitinib as an additional component of PT-Cy-based prophylaxis resulted in low toxicity, good acute and chronic GVHD control and low relapse incidence. However, relatively high rate of SPGF should be taken in to account, which possibly might be mitigated by ruxolitinib dose reduction.

## Keywords

Myelofibrosis, ruxolitinib, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

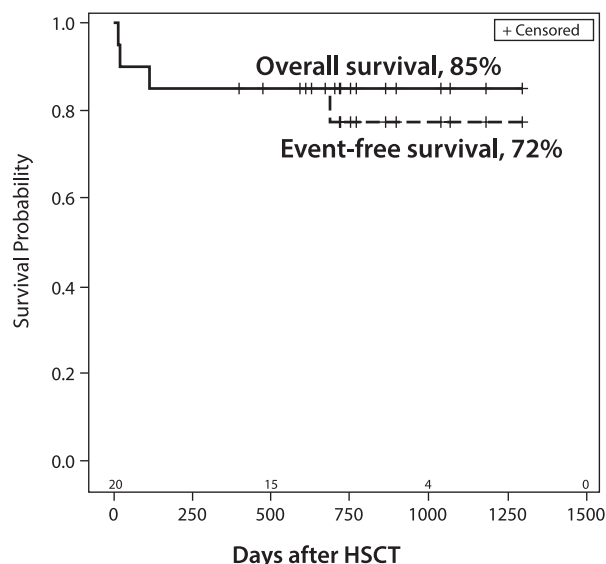


Figure 2. Two-year overall and event-free survival among our patients treated with ruxolitinib

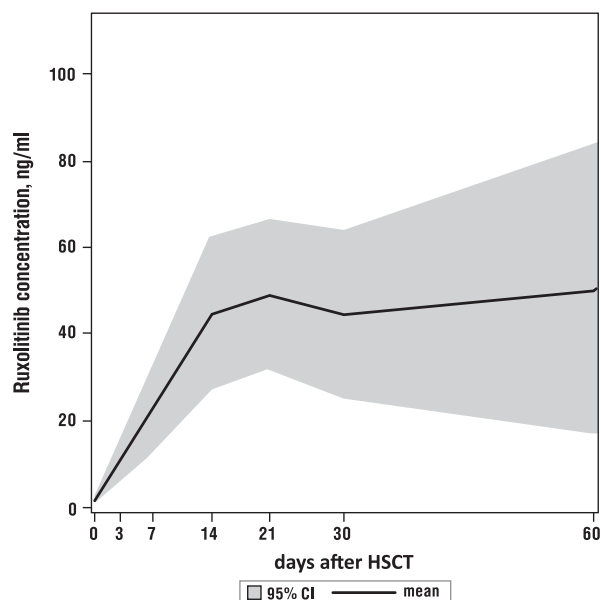


Figure 3. Time dynamics of ruxolitinib concentration in the patients under study

Table 1. Characteristics of the patients

Patient number	Age	Sex	Diagnosis	Time after diagnosis	DIPSSplus risk group	Ruxolitinib Response at allo-HSCT	Palpable spleen at transplant, cm	CD34+ cell dose x10 <sup>9</sup> /l	Donor	Stem cell source
1	40	m	pET-MF	4,6	id-2	SD	12	7,3	MUD	PB
2	51	f	pPV-MF	5,3	id-2	CI	4	6,6	MMUD	PB
3	37	f	PMF	3,3	id-1	CI	8	6,1	MUD	PB
4	40	m	PMF	1,2	id-2	PR	splenectomy	1,4	MUD	BM
5	42	f	PMF	4,7	id-2	SD	splenectomy	11,1	MRD	PB
6	56	f	pPV-MF	18,8	id-2	CI	3	5,1	MUD	PB
7	49	m	PMF	4,1	high	SD	11	11,1	MRD	PB
8	49	m	PMF	6,1	id-2	SD	10	7,2	Haplo	PB
9	60	m	PMF	10,7	id-2	SD	splenectomy	10,0	MDR	PB
10	56	m	PMF	3,5	high	SD	11	5,6	MUD	PB
11	59	f	pPV-MF	11,1	id-2	SD	splenectomy	11,9	Haplo	PB
12	57	f	pET-MF	14,3	id-2	SD	splenectomy	5,9	MMUD	PB
13	54	m	PMF	1,5	id-2	CI	2	7,7	MUD	PB
14	64	f	PMF	1,4	id-2	CI	10	7,5	MUD	PB
15	32	m	PMF	1,0	id-2	CI	2	6,2	MUD	PB
16	60	f	PMF	6,8	id-2	SD	splenectomy	4,8	Haplo	PB
17	51	m	PMF	2,7	high	SD	12	11,0	Haplo	PB
18	52	m	PMF	2,3	high	SD	12	7,6	MUD	PB
19	34	f	pPV-MF	8,4	id-1	SD	4	5,9	MUD	PB
20	44	f	pET-MF	18,6	id-2	CI	splenectomy	6,4	MUD	PB

## Анализ фармакокинетики руксолитиниба в посттрансплантационном периоде у пациентов с миелофиброзом

Мария В. Барабанщикова<sup>1</sup>, Елена В. Морозова<sup>1</sup>, Иван С. Моисеев<sup>1</sup>, Алена И. Шакирова<sup>1</sup>, Ильдар М. Бархатов<sup>1</sup>, Инна И. Ушаль<sup>2</sup>, Геннадий Г. Родионов<sup>2</sup>, Сергей И. Моисеев<sup>2</sup>, Юлия Ю. Власова<sup>1</sup>, Татьяна А. Рудакова<sup>1</sup>, Елена И. Дарская<sup>1</sup>, Вадим В. Байков<sup>1</sup>, Александр Л. Алянский<sup>1</sup>, Сергей Н. Бондаренко<sup>1</sup>, Борис В. Афанасьев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

### Введение

Применение ингибитора JAK1/JAK2 руксолитиниба во многом позволяет изменить статус пациента с миелофиброзом на момент аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). В то же время руксолитиниб обладает иммуномодулирующим эффектом, благодаря чему широко используется для лечения острой и хронической реакции трансплантат против хозяина (РТПХ). В нашем исследовании мы использовали руксолитиниб в комбинации с посттрансплантационным циклофосфаном в качестве профилактики РТПХ и рецидива заболевания.

### Пациенты и методы

Двадцать пациентов с первичным миелофиброзом, посттромбоцитемическим и постполицитемическим миелофиброзом в период с 2015 по 2018 гг. были включены в пилотное проспективное исследование (NCT02806375, clinicaltrials.gov) в ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова. Все пациенты получали руксолитиниб перед алло-

ТГСК в течение в среднем 7.4 месяцев (2.6-22.3) в терапевтической дозе. Далее пациенты продолжали получать руксолитиниб 45 мг/сут. с Д-7 по Д-2. Во всех случаях применялся режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз (флударабин 180 мг/м<sup>2</sup>, бусульфан 10 мг/кг). В качестве профилактики РТПХ использовался циклофосфамид 50 мг/кг в день +3, +4 и руксолитиниб 15 мг/сут с Д+5 день Д+100.

Образцы крови были получены у 20 пациентов в Д0, Д+3, Д+7, Д+21, Д+30, Д+60. Высокоэффективный метод с применением жидкостной тандемной масс-спектрометрии для определения концентрации руксолитиниба был разработан в научно-исследовательской лаборатории токсикологии и лекарственного мониторинга ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России. Исследование проводилось с помощью масс-спектрометра Agilent 6460 (Agilent technology, USA).

### Результаты

Медиана наблюдения составила 22 (3-41) месяца. При-

живление трансплантата наблюдалось у 17 пациентов. Медиана времени до достижения уровня нейтрофилов  $>500/\text{мкл}$  составила 27 (18-44) дней, тромбоцитов  $>20000/\text{мкл}$  – 38 (15-219) дней, достижения независимости от гемотрансфузий – 59 (20-540) дней. Двое пациентов погибли до приживления, один пациент – в связи с тяжелым сепсисом *Pseudomonas aeruginosae*, другой – в связи с желудочно-кишечным кровотечением. У одного пациента наблюдалось первичное неприживление трансплантата. Один пациент погиб Д+115 в связи с развитием тромботической микроангиопатии и инфекционных осложнений на фоне терапии циклоспорином А и глюкокортикостероидами по поводу острой РТПХ 3 степени. У 55% пациентов отмечалось развитие тяжелой гипофункции трансплантата (ТГТ).

Снижение дозы руксолитиниба с 15 до 10 мг было выполнено у 8 пациентов. У одного из них ТГТ разрешилась на Д+77, у другого – после отмены руксолитиниба на Д+100. Трем пациентам потребовалось дополнительное введение CD34+ клеток, 3 – инфузия донорских лимфоцитов для лечения ТГФ. Веноокклюзионная болезнь печени легкой степени наблюдалась у 1 пациента, сепсис – 35% (7), инвазивный микоз – у 1 пациента. У 45% больных отмечалась реактивация вирусной инфекции: ЦМВ – 6, ВПГ 1 и 2 типа – 2, ВГ 6 типа – 3, ВК-вирус – 1, парвовирус В19 – 1. У трех пациентов вирусная реактивация сопровождалась геморрагическим циститом. Частота острой РТПХ II-IV составила 25% (5), тяжелой острой РТПХ III-IV степени – 15% (3), хронической РТПХ – 40% (8), средней степени тяжести (NIH) – 20% (4), легкой степени – 20% (4). У всех пациентов, достигших приживления, наблюдался полный донорский химеризм, клиничко-гематологическая, мо-

лекулярная ремиссия. 65% пациентов достигли регресса фиброза в костном мозге в среднем на Д+398 (131-748). Молекулярный и гематологический рецидив зарегистрирован у 1 пациента на Д+665.

Двухлетняя трансплантационная летальность составила 15% (95%CI 4-34%), 2-летняя общая выживаемость – 85% (95%CI 60-93%), 2-летняя бессобытийная выживаемость – 72% (95%CI 45-87%).

При анализе концентрации руксолитиниба была выявлена аккумуляция препарата с Д+7 (медиана 17,7 нг/мл) к Д+14 (медиана 43,8 нг/мл,  $p=0.028$ ) с достижением в дальнейшем стабильной концентрации. Таким образом редукция дозы руксолитиниба с 15 до 10 мг/сут. может быть оправдана с Д+20 с учетом достижения стабильной концентрации. Возможный неблагоприятный эффект руксолитиниба на донорский стволовые клетки нивелировался благодаря перерыву в приеме препарата с Д-1 по Д+4. В связи с этим концентрация руксолитиниба не определялась на Д0 у всех пациентов.

## Заключение

Посттрансплантационный циклофосфамид в комбинации с руксолитинибом представляется эффективной терапевтической опцией в качестве профилактики РТПХ и рецидива заболевания у пациентов с миелофиброзом. Снижение дозы руксолитиниба в посттрансплантационном периоде возможно позволит уменьшить частоту тяжелой гипофункции трансплантата.

## Ключевые слова

Руксолитиниб, миелофиброз, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

## Comparative analysis of *in vitro* activity of a CD20-specific CART cells based on the human monoclonal antibody ofatumumab

Tatyana N. Belovezhets

Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Contact: Dr. Tatyana N. Belovezhets

E-mail: ochotanya@gmail.com

### Introduction

Despite the armamentarium of highly efficacious therapeutic approaches to treat patients with haematological malignancies, the choice of therapies to help those with relapsing forms of leukemia and lymphoma has been limited. The goal of the present study was to design a novel CD20-specific CAR and perform a side-by-side comparison of its *in vitro* activity with that of the published CD20-specific CARs.

### Materials and methods

To this end, we produced lentiviral constructs encoding two reference CARs based on the murine mAbs 1F5 and Leu16, as well as the CAR based on the sequence of a fully human mAb ofatumumab (2F2). In these CARs, structure of the hinge region was additionally varied, and alternative designs encompassing a hinge derived from human IgG or lacking a

spacer altogether were tested. T cells from a healthy donor were isolated, activated, and transduced with the pseudotyped lentiviral particles obtained with the above constructs.

### Results

Positive control CAR T cells transduced with a “gold standard” CD19-specific CAR identical to the one used in Kymriah CAR T cell product were also produced (Fig. 1). Next, we asked whether the CAR T cells obtained displayed any differences in cytotoxicity against CD20-positive Raji cells. FACS-based cytotoxicity data shown in Figure 2 indicate that regardless of the CAR design, all CAR T cells were highly active. Nevertheless, this type of analysis merely represents a snapshot of cytotoxic activity at a selected time point (4 hrs), so we proceeded to measure the CAR T cell cytotoxicity in real time by running impedance-based cell prolifer-