

ISSN 2782-3806

ISSN 2782-3814 (Online)

УДК 616.853.1 : 616-006.6 : 616.155.2 : 577.2/.3

ПОПЫТКА ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С БОКОВЫМ АМИОТРОФИЧЕСКИМ СКЛЕРОЗОМ: АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И КЛОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ

**Долгополов И. С.¹, Гривцова Л. Ю.², Коваленко Н. И.¹, Шаталов П. А.³,
Брюховецкий А. С.⁴, Рыков М. Ю.^{5, 6}**

¹ Акционерное общество «Клинический госпиталь “Нейровита”», Москва, Россия

² Медицинский радиологический научный центр имени А. Ф. Цыба — филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

⁴ Некоммерческая организация «Евразийская Ассоциация медицинских и экологических технологий», Москва, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный социальный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Москва, Россия

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Контактная информация:

Рыков Максим Юрьевич,
ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России,
ул. Добролюбова, д. 11, Москва, Россия,
127254.

E-mail: wordex2006@ambler.ru

Статья поступила в редакцию 25.08.2025
и принята к печати 29.09.2025

РЕЗЮМЕ

Введение. Последние достижения в патогенезе нейродегенеративных заболеваний демонстрируют, что воспаление является ключевым фактором прогрессирования. Уровни Т-клеток, NK-клеток, моноцитов и нейтрофилов, как обнаружено, повышены у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом (БАС), что определяет прогрессирование заболевания. **Цель** — оценить динамику иммунологических показателей клеток костного мозга и клonalный гемопоэз у пациентов с БАС. **Материалы и методы.** Группа БАС включала 10 пациентов (М/Ж 4/6). Средний возраст составил $53,9 \pm 9,9$ года (95 % ДИ, 28–47). Полноэкомное секвенирование и иммунофенотипирование субпопуляций CD34+ в клетках костного мозга проводились до начала терапии (точка 1) и в течение первых 6 месяцев наблюдения (точка 2). Группа сравнения включала 10 доноров

костного мозга, средний возраст составил $39,5 \pm 8,5$ года (95 % ДИ, 46–66, $p=0,007$). Клональный гемопоэз неопределенного потенциала (КГНП) обнаружен в 3 случаях (30 %). **Результаты.** Сбор мононуклеарных клеток периферической крови (МНК) осуществлялся после четырехдневного введения филграстима. Среднее количество собранных CD34+ составило $184,5 \pm 121,5 \times 10^6$ (95 % ДИ, 126,0–444,8). Пациенты получали флударабин 25 мг/м²/сут в 1-й и 2-й дни. С целью трансдифференцировки осуществлялась инкубация с двухцепочечными фрагментами ДНК человеческой плаценты (Panagen®) *ex vivo* после размораживания, после чего CD34+ клетки реинфузировали внутривенно через 48 часов после введения флударабина. После иммуномодулирующей терапии и реинфузии трансдифференцированных CD34+ МНК выявлено достоверное увеличение CD34+CD13+ и CD34+CD123+. Уровень CD34+CD44+ в костном мозге достоверно снизился. Уровни CD34+CD7+, CD34+CD2+ и CD34+CD56+ показали тенденцию к увеличению среднего значения и расширению доверительных интервалов по сравнению со значениями до лечения, хотя они не достигли статистической значимости. После терапии в двух случаях продемонстрировано исчезновение КГНП и в одном случае наблюдалось снижение частоты аллельного варианта (VAF). В ходе наблюдения средний балл ALSFRS-R не изменился (40 ± 1 балл (ДИ 95 %, 37,5–40) против 40 ± 2 (ДИ 95 %, 38–42,5), $p>0,05$). **Заключение.** Наше исследование является первой попыткой охарактеризовать подгруппы CD34+ клеток костного мозга при БАС. Полученные результаты имеют клиническое значение, хотя они ограничены и предварительны. Во-первых, они демонстрируют, что костный мозг является одним из органов, реагирующих на иммуноопосредованное нейровоспаление. Во-вторых, поднимается вопрос о том, можно ли перезапустить и исправить аномальный иммунный ответ, приводящий к нейродегенерации. Более того, предварительные результаты указывают на возможную связь между КГНП и БАС и указывают путь к устраниению aberrантных клонов.

Ключевые слова: CD34+ клетки, костный мозг, боковой амиотрофический склероз, клональный гемопоэз неопределенного потенциала, иммуносупрессия

Для цитирования: Долгополов И.С., Гrivцова Л.Ю., Коваленко Н.И. и др. Попытка персонализации подходов к лечению пациентов с боковым амиотрофическим склерозом: анализ иммунологических показателей клеток костного мозга и клональный гемопоэз. Российский журнал персонализированной медицины. 2025;5(4):314-329. DOI: 10.18705/2782-3806-2025-5-4-314-329. EDN: JYJSNF

AN ATTEMPT TO PERSONALIZE APPROACHES TO THE TREATMENT OF PATIENTS WITH AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS: ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF BONE MARROW CELLS AND CLONAL HEMATOPOIESIS

**Dolgopolov I. S.¹, Grivtsova L. Y.², Kovalenko N. I.¹, Shatalov P. A.³,
Bryukhovetsky A. S.⁴, Rykov M. Yu.^{5, 6}**

¹ Clinical hospital «Neurovita», Moscow, Russia

² A. Tsyb Medical Radiological Research Center, Obninsk, Russia

³ National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁴ Non-profit Organization «Eurasian Association of Medical and Environmental Technologies», Moscow, Russia

⁵ Russian State Social University of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁶ Russian research institute of Health, Moscow, Russia

Corresponding author:

Rykov Maxim Yu.,
Russian research institute of Health,
Dobrolyubova str., 11, Moscow, Russia,
127254.
E-mail: wordex2006@ambler.ru

Received 25 August 2025; accepted
29 September 2025

ABSTRACT

Introduction. Recent advances in pathogenesis of neurodegenerative diseases have shown that inflammation is a key factor of progression. The levels of T cells, NK cells, monocytes and neutrophils are found to be increased in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients and are associated with disease progression. **The aim of the study** was to evaluate the dynamics of immunological parameters of bone marrow cells and clonal hematopoiesis in patients with ALS. **Material and methods.** The ALS group included 10 patients (M/F 4/6). The mean age was 53.9 ± 9.9 years (95 % CI, 28–47). Whole-exome sequencing and immunophenotyping of CD34+ subsets in bone marrow cells were performed before the start of therapy (point 1) and during the first 6 months of follow-up (point 2). The control group included 10 bone marrow donors, mean age was 39.5 ± 8.5 years (CI 95 %, 46–66, p=0.007). CHIP was detected in 3 cases (30 %) before therapy. **Results.** The peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected after four-day G-CSF administration. The mean number of collected CD34+ cells was $184.5 \pm 121.5 \times 10^6$ (95 % CI, 126.0–444.8). Patients received fludarabine 25 mg/m²/day, on days 1 and 2. To induce hematopoietic stem cell proliferation the harvested cells were incubated with human placenta double-stranded DNA fragments (Panagen®) ex vivo.

The obtained CD34+ cells were reinfused intravenously 48 hours post fludarabine. A significant increase in the number of CD34+CD13+ and CD34+CD123+ HSCs was detected after immunomodulatory therapy and reinfusion of transdifferentiated CD34+ HSCs. The level of CD34+CD44+ in bone marrow significantly decreased. Levels of CD34+CD7+, CD34+CD2+ and CD34+CD56+ showed a trend toward increased mean value and widened confidence intervals compared with the values before treatment, although they did not reach statistical significance. After therapy, two cases demonstrated absence of CHIP while, one case showed a decrease in the allelic variant frequency (VAF). During follow-up the mean ALSFRS-R score did not change (40 ± 1 points (CI 95 %, 37.5–40) vs. 40 ± 2 (CI 95 %, 38–42.5), $p > 0.05$). **Conclusion.** Our study is the first attempt to characterize the subsets of bone marrow HSCs in ALS. Our results have clinical significance, although they are limited and preliminary. First, they demonstrate that bone marrow is one of the organs responding to immune-mediated neuroinflammation. Second, the issue of whether the abnormal immune response leading to neurodegeneration can be restarted and corrected is raised. Moreover, preliminary results indicate a possible link between CHIP and ALS and point the way to eliminating aberrant clones.

Key words: CD34 subsets, bone marrow, amyotrophic lateral sclerosis, clonal hematopoiesis of indeterminate potential, immunosuppression

For citation: Dolgopolov IS, Grivtsova LY, Kovalenko NI, et al. An attempt to personalize approaches to the treatment of patients with amyotrophic lateral sclerosis: analysis of immunological parameters of bone marrow cells and clonal hematopoiesis. Russian Journal for Personalized Medicine. 2025;5(4):314-329. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2025-5-4-314-329. EDN: JYJSNF

ВВЕДЕНИЕ

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — прогрессирующее фатальное нейродегенеративное заболевание, поражающее в первую очередь двигательную систему. Потеря верхних и нижних двигательных нейронов приводит к тяжелой инвалидности, параличу и смерти, которая обычно наступает в течение 3–5 лет после появления симптомов [1, 2]. Средний возраст начала БАС составляет 55–65 лет, и он чаще встречается у мужчин, чем у женщин. Большинство случаев классического БАС (~90 %) определяются как спорадические, с небольшим генетическим вкладом [1]. Семейные формы БАС являются либо аутосомно-доминантными, либо аутосомно-рецессивными и составляют менее 10 % всех случаев БАС [3]. Выявление мутаций C9orf72 у пациентов без семейного анамнеза и несовпадение диагнозов у монозиготных близнецов ставит под сомнение традиционную бинарную классификацию заболевания на семейные и спорадические формы и предполагает сильный вклад эпигенетических

факторов в БАС [3, 4]. Более того, спорадический БАС клинически неотличим от семейных форм, что повышает вероятность того, что заболевание вызвано взаимодействием нескольких генов и/или эпигенетической дисрегуляцией их функционирования [5]. Доказательством служит тот факт, что в течение жизни одногенетических близнецов в скелетных мышцах, жировой ткани и лимфоцитах возникают значительные эпигенетические различия [6]. Соматический мозаицизм, то есть наличие нескольких генетически различных клонов клеток в одной и той же ткани, является неизбежным следствием старения человека [7].

Гемопоэтическая система не исключение: исследования выявили наличие расширенных клонов клеток крови с мутациями в генах-драйверах и/или генетическими изменениями в хромосомах. Это явление называется клональным гемопоэзом и особенно распространено среди пожилых людей [7–10]. При этом старение считается самым известным фактором риска развития БАС [3]. В результате клональной экспансии потомки мутантной гемопоэтической стволовой клетки нарушают функционирование

системы иммунитета через систему воспалительных цитокинов или элиминацию макрофагами продуктов жизнедеятельности клеток нормальных тканей. В единичных работах последних лет сделаны попытки проследить связь БАС с клональным гемопоэзом неопределенного потенциала (КГНП), однако они ограничиваются одним или несколькими генами [11].

Исследования нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, показали, что воспаление представляет собой не только результат нейродегенерации, но и ключевой фактор в этом процессе. Белковые агрегаты, которые очень часто обнаруживаются при нейродегенерации, являются, скорее, не причиной заболевания, а следствием нарушения работы иммунной системы по поддержанию генетической целостности организма. На самом деле воспаление возникает даже раньше, чем агрегация белков. При этом их отложение в нервной ткани может поддерживать и усугублять нейровоспаление и нейродегенерацию. Все больше данных свидетельствует о том, что распространенные факторы риска нейродегенеративных заболеваний могут вызывать воспалительную реакцию, инициируя и усугубляя прогрессирование заболевания. Кроме того, многие генетические факторы риска нейродегенеративных заболеваний связаны с иммунитетом [12]. Семейство интерлейкинов (IL), особенно IL-1, IL-6 и IL-17, играет важнейшую роль в патогенезе этих заболеваний. Регуляторные Т-клетки (Treg) и эффекторные CD4+ лимфоциты играют важную роль в иммунной толерантности и нейровоспалении. Показано, что у пациентов с БАС наблюдается значительное снижение экспрессии белков Treg и FoxP3 [13]. У пациентов с БАС отмечено увеличение количества CD3, CD4, CD8 и CD3+CD56+ Т-клеток в периферической крови, естественных киллеров и гранулоцитов [14]. В то время как более высокие уровни эффекторных CD4-Т-клеток как в крови, так и в ликворе связаны со снижением выживаемости, повышенная частота активированных регуляторных Т-клеток (Treg) в крови ассоциирована с улучшением выживаемости [15].

Можно предположить, что клональные нарушения кроветворения на уровне стволовой клетки костного мозга, приобретшей соматическую мутацию или хромосомную aberrацию под воздействием внешних или внутренних факторов, играют важную роль в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, в частности БАС. Потомство таких стволовых гемопоэтических клеток приобретает клональное преимущество, что приводит к их клональной экспансии, развитию хронического иммуноопосредованного воспаления и нарушению функционирования иммунной системы.

Соматические клоны иммунокомпетентных клеток через эпигенетические механизмы клеточной регуляции взаимодействуют как с имеющимися герминальными мутациями, которые клинически не проявлялись ранее, так и с соматическими тканевыми мутациями. Уровень поражения нервной системы, разнообразие клинических проявлений, время начала болезни и т. п. могут различаться в зависимости от репертуара тканевых соматических/герминальных мутаций и вовлеченных в соматическую мутацию генов потомков гемопоэтической стволовой клетки, направления ее дифференцировки, спектра секретируемых цитокинов и активированных сигнальных путей. Роль гемопоэтических клеток костного мозга в развитии и поддержании иммуноопосредованного воспаления и демиелинизации недавно продемонстрирована у пациентов с рассеянным склерозом [16].

Планируя данное исследование, мы предположили, что, поскольку костный мозг является центральным органом гемопоэза (как лимфо-, так и миелопоэза), можно перезапустить и скорректировать аномальный иммунный ответ, приводящий к нейродегенерации при БАС, используя минимальную иммуномодуляцию и аутологичные гемопоэтические стволовые клетки, трансдифференцированные ex vivo.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основную группу вошли 10 пациентов с подтвержденным БАС (мужчины — 4, женщины — 6), средней продолжительностью заболевания от момента постановки диагноза $25,1 \pm 3,5$ месяца (ДИ 95 %, 18,9–31,2). Средний возраст — $53,9 \pm 9,9$ года (ДИ 95 %, 28–47). Медиана по шкале ALSFRS-R 40 ± 1 балл (ДИ 95 %, 37,5–40). Средний балл по шкале Карновского на момент включения в исследование составил 60 ± 10 (95 % ДИ, 47,5–60). Всем пациентам до начала терапии выполнена пункция костного мозга. Полноэкомное секвенирование и иммунофенотипирование субпопуляций CD34 положительных клеток костного мозга проводились до начала терапии (точка 1) и в течение первых 6 мес. наблюдения, но не ранее, чем через 3 мес. (точка 2). В группу сравнения вошло 10 доноров костного мозга (мужчины — 7, женщины — 3), медиана возраста доноров составила $39,5 \pm 8,5$ года (ДИ 95 %, 46–66, $p=0,007$). Сбор CD34+ фракции мононуклеарных клеток периферической крови проводился на сепараторе Spectra Optia (Terumo BCT, Lakewood, CO, США) после 4 дней мобилизации филграстимом. Токсичность терапии оценивалась по шкале NCI CTCAE v5.0.

Всеми пациентами подписано информированное согласие на участие в исследовании. Протокол одобрен локальным этическим комитетом.

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целевое парное секвенирование выполнено на приборе MGISEQ-G400 с использованием панелей Roche KAPA HyperExome или Nanodigmbio NEXome Plus Panel v1.0 для полного экзома с целевым покрытием $\sim 100\times$ по всем сайтам. Данные секвенирования обработаны с помощью двух отдельных биоинформационических конвейеров, специально оптимизированных для обнаружения мутаций зародышевой линии и соматических мутаций. Для конвейера анализа зародышевой линии использовались следующие программные инструменты: BWA2 v2.2.1 для выравнивания с человеческим референсным геномом (GRCh37), Streammd v4.3.0 для маркировки и удаления ПЦР-дубликатов, Sambamba v1.0.1 для фильтрации картированных вариантов, GATK Picard для контроля качества и оценки метрик картирования, Google Deepvariant v1.6.1 для обнаружения нуклеотидных замен, Bcftools v1.20 для фильтрации вариантов и Ensembl Variant Effect Predictor release 112 для аннотации вариантов. Конвейер соматического анализа включал несколько общих инструментов, в том числе BWA2 v2.2.1 для выравнивания генома, Streammd v4.3.0 для обработки ПЦР-дубликатов и Sambamba v1.0.1 для фильтрации вариантов. Однако он отличался использованием GATK v4.4.0.0 для контроля качества и метрик картирования, GATK Mutect 2 — для идентификации нуклеотидных замен и FINGS v1.7.2 — для фильтрации вариантов, при этом сохраняя Ensembl Variant Effect Predictor версии 112 для аннотации. Анализ сосредоточен

на панели генов, вовлеченных в соответствующие пути, включая ASXL1, ASXL2, BRCC3, CBL, DNMT3A, ETNK1, GNAS, GNB1, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, NRAS, PPM1D, SETBP1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, PTPN11, BCOR, BCORL1, UBA1, CTCF, DNMT1, DNMT3b, AKT1, MYD88, NLRP3, MTOR, NANOG, OCT4, PTEN и SOX2.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Клеточную популяцию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) оценивали с использованием методов 3-цветной проточной цитометрии, как описано ранее [17]. Самый ранний компартмент ГСК охарактеризован на основе отсутствия антигенов CD38 и HLA-DR на клетках CD34+ и обнаружения субпопуляций Thy-1+ (CD90) среди клеток CD34+. Популяции плюрипотентных клеток охарактеризованы на основе совместной экспрессии на CD34+ клетках антигенов CD45, CD38, HLA-DR, CD117, CD90, CD71, CD10, CD19, CD2, CD7, CD57 и CD56. В дополнение к этим антигенам у пациентов с БАС и здоровых доноров оценивали экспрессию молекулы клеточной адгезии CD44, субъединицы комплекса GPIIb/GPIIIa CD41 и субъединицы альфа-рецептора IL-3 CD123. Образцы анализировались в FACS Canto II (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Palo Alto, Calif.) с использованием программного обеспечения Cellquest (версия 3.1). Для каждого образца измерялось 500 000 событий.

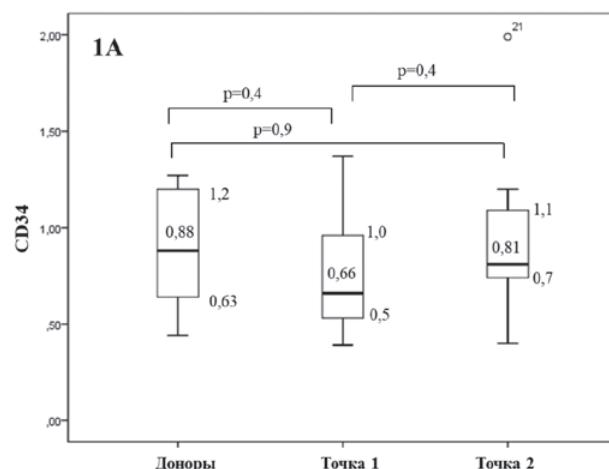


Рис. 1А. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

**Figure 1A. Changes in CD34+ subsets under therapy
(point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)**

Таблица 1. Соматические мутации у пациентов с БАС и их динамика на фоне терапии**Table 1. Dynamics of somatic mutations in patients with ALS on the therapy**

Пациенты	Возраст (лет)	Соматические мутации (ген, dbSNP, VAF (%))	
		До терапии (точка 1)	После терапии (точка 2)
#1	66,6	DNMT3A, rs151168784, 6,6 %	DNMT3A, rs151168784, 3,9 %
#2	45,5	PTEN, rs35632884, 6,4 %	Не определяется
#3	54,6	ASXL1, rs2011586997, 3,0 % ASXL1, rs2145387839, 2,4 % CBL, rs886041500, 3,0 %	Не определяются

Таблица 2. Субпопуляции CD34+ клеток костного мозга пациентов с БАС до начала лечения в сравнении со здоровыми донорами**Table 2. Subsets of CD34+ cells in bone marrow of ALS patients before treatment compared to healthy donors**

Субпопуляции	Доноры, % (медиана ± ср. отклонение)	До терапии (точка 1), % (медиана ± ср. отклонение)	p
CD34+	0,88±0,3	0,66±0,23	>0,05
CD34+CD38+	86,2±8,7	76,8±11,0	
CD34+CD13+	73,6±7,5	66,3±9,1	
CD34+CD33+	41,8±12,9	55,9±16,8	
CD34+CD2+	5,4±1,3	4,0±3,2	
CD34+CD7+	1,6±0,5	1,6±1,2	
CD34+CD10+	23,9±6,7	5,2±1,7	
CD34+CD19+	19,5±9,4	9,2±6,8	
CD34+CD90+	26,7±6,7	23,6±8,2	
CD34+CD56+	1,35±0,82	1,6±1,2	
CD34+CD123+	8,3±3,4	6,3±2,3	
CD34+CD133+	65,4±6,0	62,3±8,6	
CD34+CD41+	6,5±1,4	4,9±3,3	
CD34+CD44+	56,0±24,3	70,8±10,0	
CD34+CD61+	7,5±4,4	3,8±2,7	
CD34+CD117+	76,5±3,1	84,0±6,3	
CD34+HLADR	94,1±3,9	84,9±6,5	
CD34+CD45low	86,5±6,8	93,8±1,7	

Статистическая обработка. Все переменные представлены в виде средних значений, стандартного отклонения, 95 % доверительных интервалов (ДИ) и значений Р. Значимость установлена на уровне $P \leq 0,05$ и 95 % ДИ. Сравнение групп по количественным переменным проводилось с помощью t-критерия Стьюдента или дисперсионного анализа (для параметрических данных). Статистический анализ проведен 28 февраля 2025 года и выполнен с использованием SPSS для Windows, версия 22.0 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс).

Результаты. Все пациенты с БАС получили флударабин 25 мг/м²/сут, дни 1-й и 2-й (суммарная доза=50 мг/м²). Ранее собранные клетки CD34+

реинфузировали внутривенно через 48 часов после иммуномодулирующей терапии. CD34+МНК размораживали и инкубировали с двухцепочечными фрагментами ДНК человеческой плаценты (Panagen®) ex vivo для индукции пролиферации гемопоэтических стволовых клеток. После инкубации клетки промывали и вводили пациенту. Подробности протокола клинического исследования Panagen® и механизма его действия на гемопоэтические стволовые клетки можно найти в [18]. Пациенты не получали никакой другой терапии БАС в течение периода наблюдения.

У 2 (20 %) больных наблюдалось усиление ощущения слабости и затруднения дыхания во время

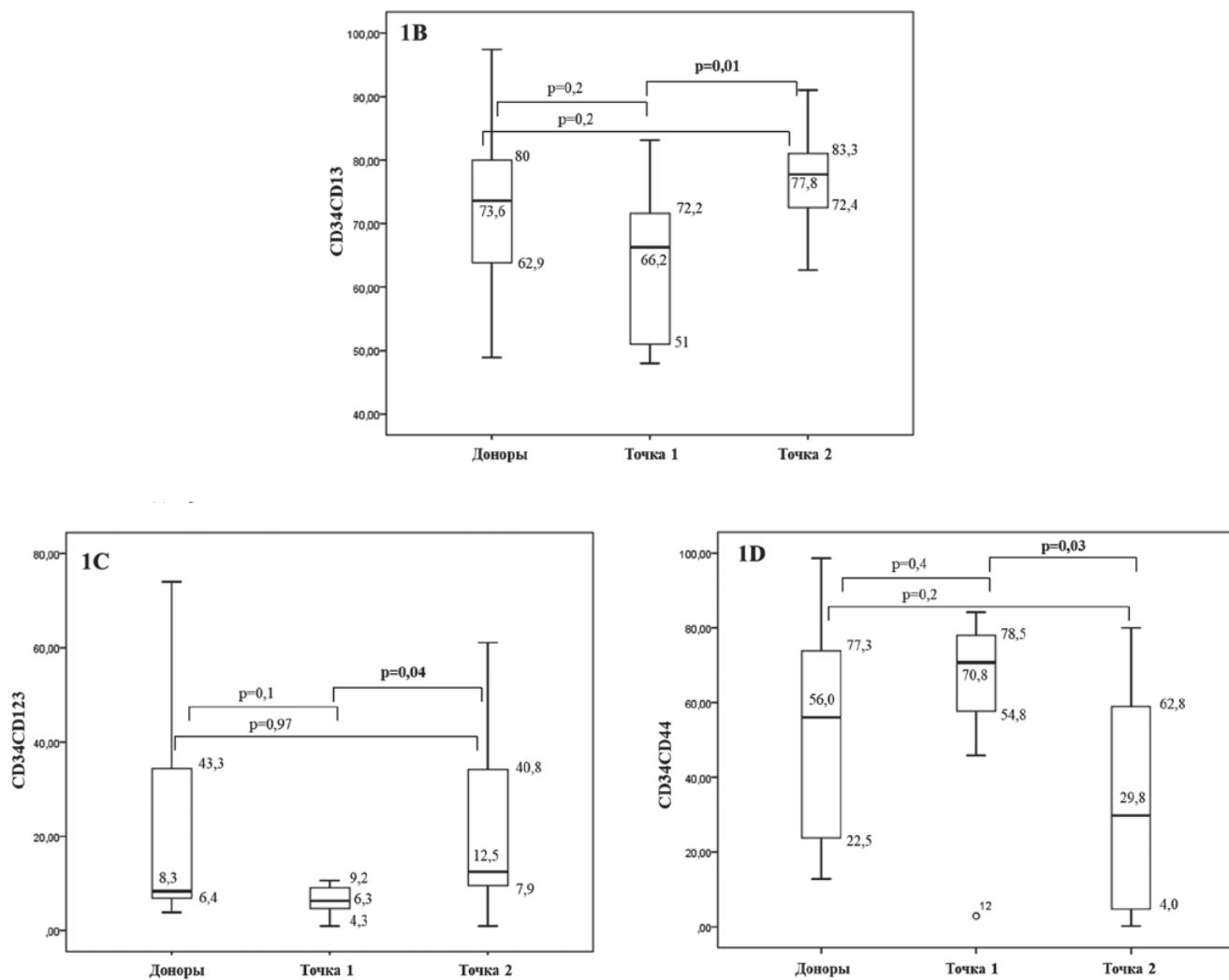


Рис. 1B–1D. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+CD13+, CD34+CD123+ и CD34+CD44+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

Figure 1B–1D. Changes in CD34+CD13+, CD34+CD123+ and CD34+CD44+ subsets under therapy (point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)

введения филграстима. Все признаки исчезли самостоятельно через 3–4 дня после окончания введения филграстима. Токсичность проведенной терапии флударабином не достигла 1 степени по шкале NCI CTCAE v5.0 ни в одном случае. Средняя доза при реинфузии составила $2,9 \pm 1,6$ (ДИ 95 %, 2,0–6,1) клеток CD34+/кг. Медиана наблюдения от начала терапии до контрольного обследования составила $5,0 \pm 1,0$ месяца (ДИ 95 %, 4,6–6,0). Средний балл по шкале ALSFRS-R на момент контрольного обследования составил 40 ± 2 (ДИ 95 %, 38–42,5, $p > 0,05$).

У 3 (30 %) пациентов выявлены соматические мутации до начала терапии. После проведения терапии соматические мутации в 2 случаях не определялись

и в 1 случае отмечалось снижение частоты аллельного варианта (VAF) (табл. 1).

При анализе субпопуляций CD34+ клеток костного мозга при первичном обследовании не выявлено достоверных различий между здоровыми донорами и пациентами с БАС (табл. 2).

Несмотря на то, что количество CD34+ МНК в костном мозге больных БАС достоверно не различалось ($0,66 \% \pm 0,23\%$ (ДИ 95 %, 0,5–1,0) и $0,81 \% \pm 0,17\%$ (ДИ 95 %, 0,7–1,1) соответственно) до и после терапии, уровень клеток CD34+ после терапии (точка 2) приблизился к значениям здоровых доноров (рис. 1A).

После проведения иммуномодулирующей терапии и реинфузии трансдифференцированных

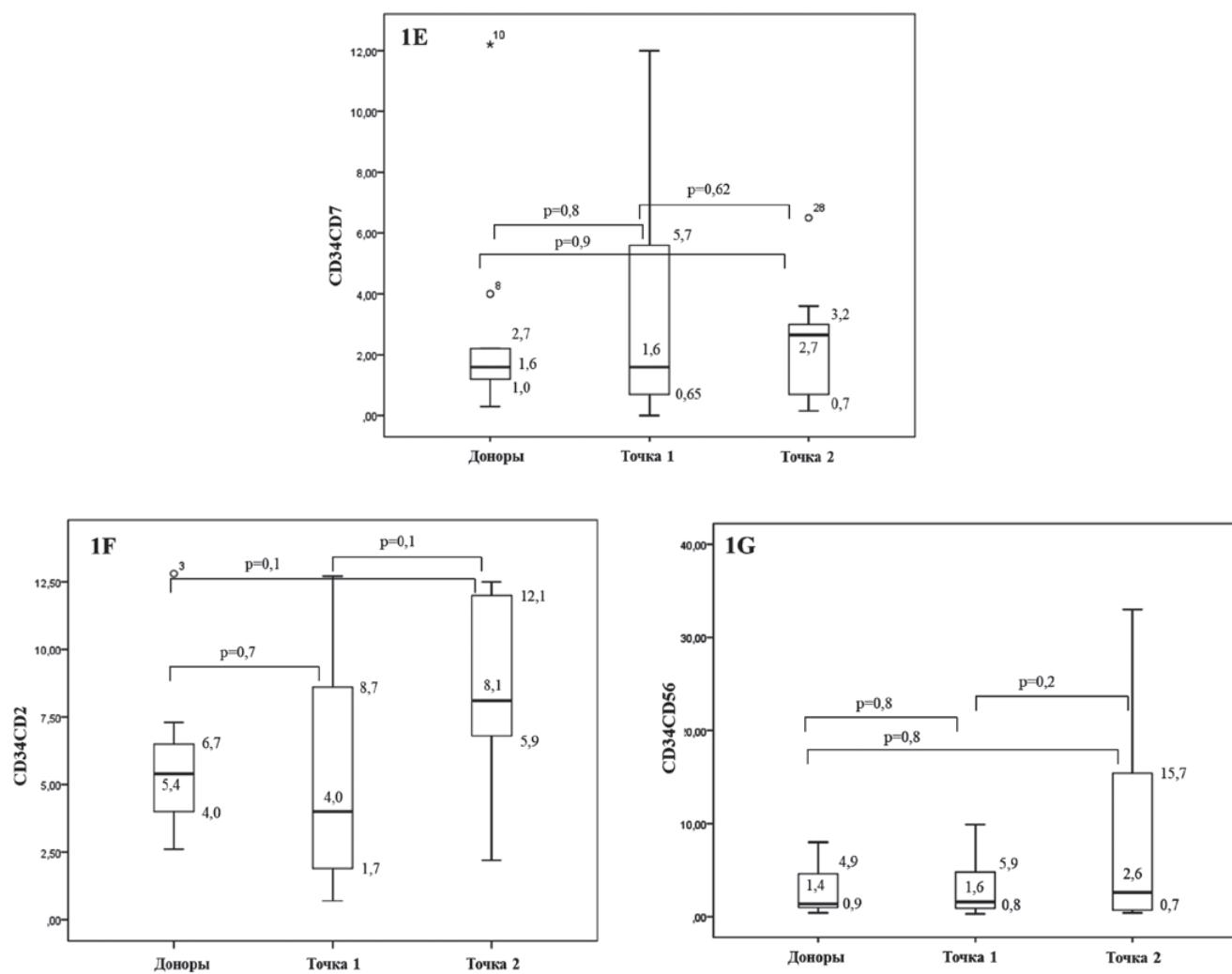


Рис. 1Е–1G. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+CD7+, CD34+CD2+ и CD34+CD56+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

Figure 1E–1G. Changes in CD34+CD7+, CD34+CD2+ and CD34+CD56+ subsets under therapy (point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)

CD34+ ГСК выявлено достоверное увеличение количества CD34+CD13+ и CD34+CD123+ ГСК. Уровень CD34+CD44+ в костном мозге достоверно снизился (рис. 1B–1D).

Уровни CD34+CD7+, CD34+CD2+ и CD34+CD56+ показали тенденцию к увеличению среднего значения и расширению доверительных интервалов по сравнению со значениями до лечения (точка 1), хотя и не достигли статистической значимости (рис. 1E–1G).

Средние значения других маркеров, в частности CD34+CD117+, CD34, CD90+, CD34+CD133+ и CD34+CD33+, не претерпели существенных изменений (рис. 1H–1K).

Наблюдалась тенденция к снижению уровня поверхности экспрессии молекул класса II (HLA)

на CD34+ и субпопуляции CD34+CD38+ у пациентов с БАС до начала терапии с последующим ее восстановлением (рис. 1L–1M).

В точке 1 выявлена тенденция к снижению уровня ранних предшественников В-лимфоцитов (CD34+CD10+) у больных БАС. В точке 2 отмечена тенденция к восстановлению уровня CD34+CD10+ при снижении уровня поздних предшественников (CD34+CD19+), что, вероятно, связано с воздействием флударабина на В-лимфоциты (рис. 1H–1O).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нейровоспаление является важным защитным механизмом хозяина для предохранения мозга

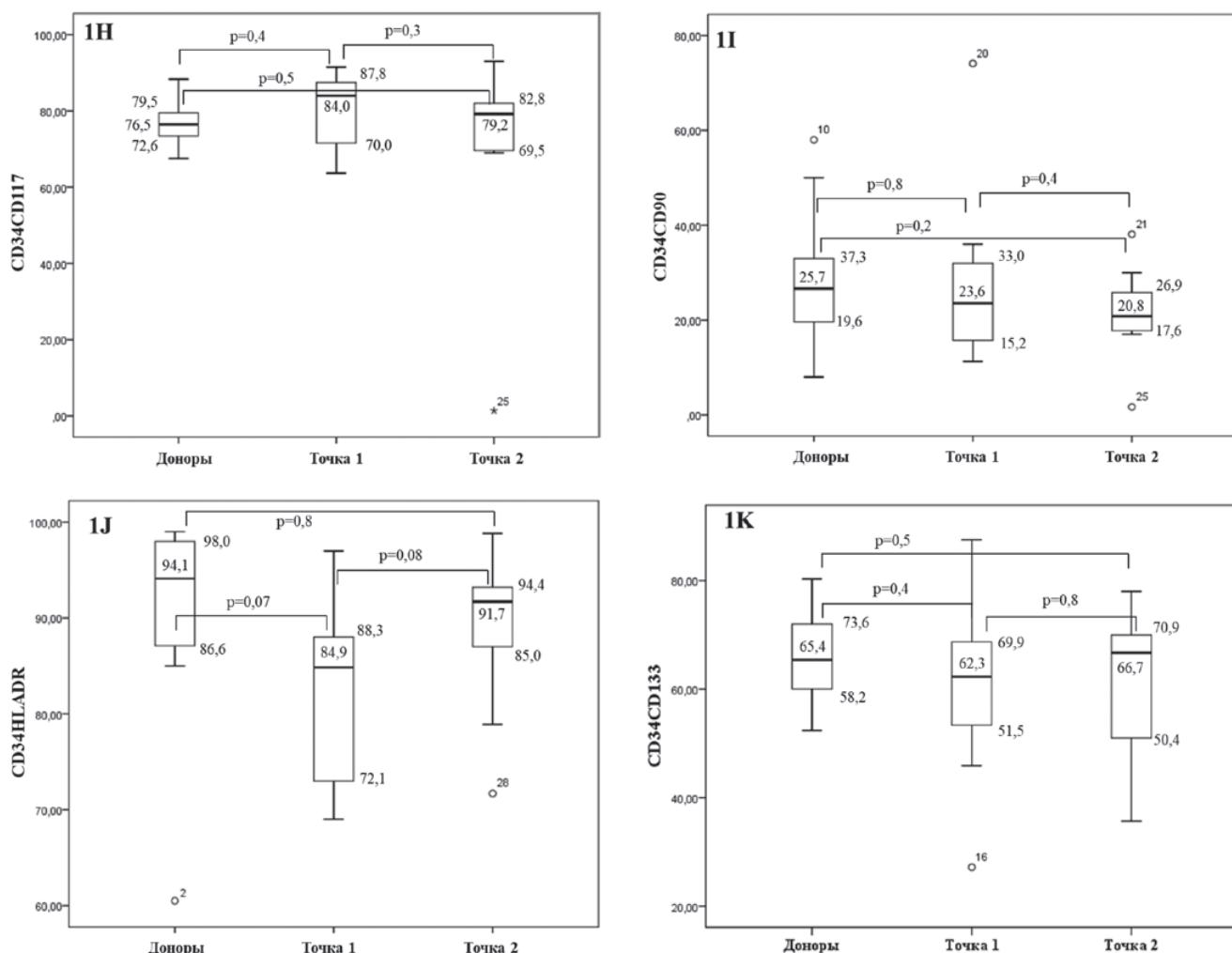


Рис. 1H–1K. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+CD117, CD34+CD90+, CD34+HLADR+, CD34+CD133+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

Figure 1H–1K. Changes in CD34+CD117, CD34+CD90+, CD34+HLADR+, CD34+CD133+ subsets under therapy (point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)

от инфекции или травмы и восстановления нормальной структуры и функции [19].

Однако неконтролируемое или длительное нейровоспаление может индуцировать цитотоксичность и усугублять тяжесть различных нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера (БА), рассеянный склероз и БАС [19–21]. Воспалительные реакции,

характеризующиеся аберрантной активацией микроглии и избыточной секрецией провоспалительных цитокинов, способствуют нейродегенерации, наблюдалась при БАС, и прогрессированию заболевания [22–24]. Показано, что помимо микроглии в патогенез БАС вовлечены несколько подгрупп клеток крови, включая макрофаги, моноциты, нейтрофилы и естественные клетки-киллеры (NK).

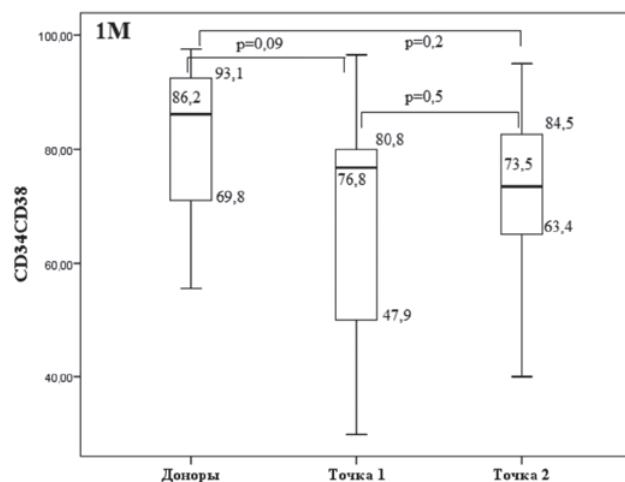
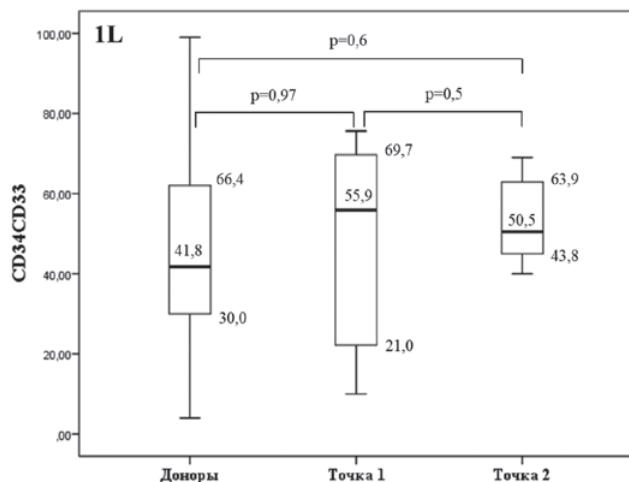


Рис. 1L–1M. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+CD33+ и CD34+CD38+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

Figure 1L–1M. Changes in CD34+CDHLADR+ and CD34+CD38+ subsets under therapy (point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)

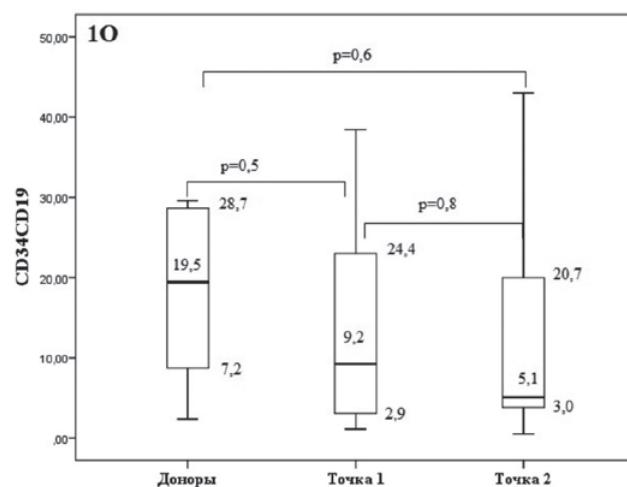
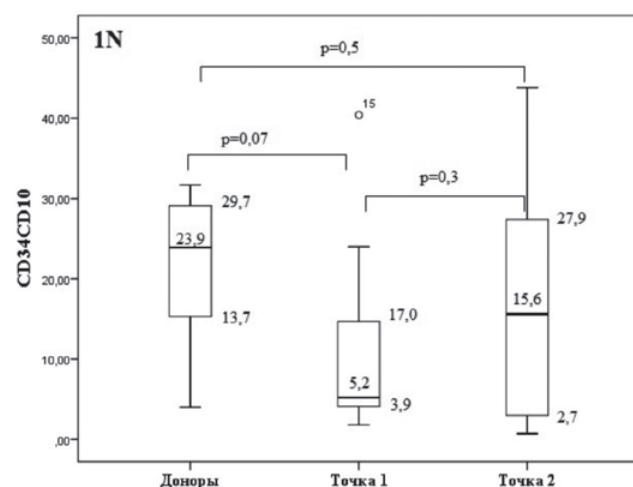


Рис. 1N–1O. Диаграммы изменения субпопуляций CD34+CD10+ и CD34+CD19+ на фоне терапии (точка 1 – до начала терапии, точка 2 – после проведения терапии)

Figure 1N–1O. Changes in CD34+CD10+ and CD34+CD19+ subsets under therapy (point 1 – before therapy, point 2 – after therapy)

Также продемонстрирована роль CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в формировании и поддержании воспаления в ЦНС [25–27]. Все эти подгруппы иммунных клеток, вероятно, оказывают большую часть своего действия на периферии, поскольку их доступ к ЦНС ограничен. Представлены свидетельства того, что экспрессия воспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (ФНО- α), интерлейкины (ИЛ)-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови, цереброспинальной жидкости и тканях спинного мозга, повышена у пациентов с БАС по сравнению со здоровыми донорами [28]. Чаще всего исследования сосредоточены на подгруппах Т-клеток, реже на нейтрофилах, моноцитах и других клетках врожденного иммунитета в периферической крови и тканях и не рассматривают изменения, происходящие на уровне гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток в костном мозге пациентов. Только отдельные публикации сосредоточены на роли костного мозга как фактора, способствующего распространению нейровоспаления и аутоиммунного повреждения [16, 29]. В нашем исследовании мы не обнаружили существенных различий в подгруппах клеток CD34+ костного мозга у пациентов с БАС по сравнению с донорами.

Однако после иммуномодулирующей терапии в костном мозге пациента наблюдалось значительное увеличение CD34+CD13+ и CD34+CD123+ и снижение клеток, экспрессирующих CD34 CD44+ (рис. 1A–1D).

В костном мозге экспрессия CD123, альфа-цепи рецептора интерлейкина-3 (ИЛ-3R), ограничена субпопуляцией нормальных стволовых клеток, некоторыми лимфоидными предшественниками и базофилами. Клетки-предшественники, экспрессирующие CD123, обладают повышенной устойчивостью к апоптозу и высокой пролиферативной активностью [30, 31]. У людей ИЛ-3 способствует активации плазматоидных дендритных клеток, которые участвуют в поддержании толерантности Т-клеток [32, 33]. ИЛ-3 подавляет дифференцировку Th17 и усиливает дифференцировку в направлении Th2 лимфоцитов [34]. Кроме того, ИЛ-3 способствует дифференцировке наивных CD4+ CD45RA+ Т-клеток в регуляторные Т-клетки CD3+ CD4+ CD25+ CD127- и содействует миграции регуляторных Т-клеток путем изменения фосфорилирования киназ и структуры актинового цитоскелета. В то же время выявлена повышенная экспрессия CD123 на Т-регуляторных клетках по сравнению с обычными Т-клетками [35]. При болезни Альцгеймера (БА) экспрессия CD123 повышена в тканях фронтальной коры и коррелирует как с длительностью заболевания, так и с уровнями β -амилоида (А β). Воздействие ИЛ-3, опосредованное CD123+,

вызывает транскрипционное, морфологическое и функциональное перепрограммирование микроглии, наделяя ее программой острого иммунного ответа, повышенной подвижностью и способностью кластеризовать и очищать агрегаты А β и тау [36]. С другой стороны, локальная выработка ИЛ-3 при рассеянном склерозе и повышенная экспрессия CD123 усиливают инфильтрацию иммунными клетками ЦНС, усугубляя течение болезни [37]. Таким образом, это несоответствие между БА и РС указывает на двойную роль ИЛ-3 в воспалении ЦНС, когда один и тот же механизм (перепрограммирование миелоидных клеток IL-3R+) приводит к двум различным последствиям (благоприятным при БА и пагубным при РС). Роль ИЛ-3 и ИЛ-3R (CD123) при других нейродегенеративных заболеваниях пока не изучена.

Субпопуляция CD34+CD13+ обнаруживается в донорском костном мозге и пуповинной крови, отражая раннюю стадию дифференцировки миелоидных клеток человека, которая предшествует появлению CD33. Экспрессия CD13 на клетках CD34+ предшествует экспрессии CD33 во время миелоидной дифференцировки и связана с ранними гемопоэтическими клетками (CD90, CD133 и CD117) при отсутствии маркеров, связанных с линией [38, 39]. В наших наблюдениях клетки костного мозга не показали увеличения экспрессии CD117, CD90 и CD133, а также CD33 (рис. 1H–1K).

CD13 — трансмембранный металлопротеаза, которая широко экспрессируется на всех клетках миелоидного ряда, активированных эндотелиальных клетках, гемопоэтических предшественниках и стволовых клетках [38]. Субпопуляция CD34+CD13+ обнаружена в костном мозге и пуповинной крови доноров и отражает раннюю стадию дифференцировки миелоидных клеток человека, предшествующую появлению CD33. На клетках CD34+CD13+ обнаруживается экспрессия маркеров, связанных с ранними гемопоэтическими клетками (CD90, CD133 и CD117). При этом линейные маркеры на этом этапе развития не обнаруживаются [39]. В наших наблюдениях клетки костного мозга не показали увеличения экспрессии CD117, CD90 и CD133, а также CD33 (рис. 1H и 1I).

Молекула CD44 играет важную роль в миграции нормальных CD34+ клеток в костный мозг посредством взаимодействия с гиалуроновой кислотой. Ускорение миграции гемопоэтических стволовых клеток из костного мозга в периферическую кровь наблюдается при снижении уровня CD44 на их клеточной мембране или его блокаде [38, 39]. Интересно, что при мобилизации стволовых клеток в периферическое русло, опосредованной гранулоцитарным колониестимулирующим фактором,

происходит усиление экспрессии матриксных металлопротеиназ, к которым относится CD13. В результате активизируется расщепление и снижается уровень CD44 на клетках костного мозга [40]. В нашем исследовании также продемонстрирована отрицательная корреляция между уровнями CD34+CD13+ и CD34+CD44+, что может указывать на мобилизацию клеток-предшественниц с определенным иммунофенотипом (вероятно, не экспрессирующих CD13) в периферическую кровь. Обнаруженные нами изменения в костном мозге на фоне терапии могут свидетельствовать о том, что перелитые трансдифференцированные *ex vivo* CD34+ ГСК удалось вывести из состояния покоя и запустить в них процессы линейной дифференцировки.

Мало известно о связи между клональным гемопоэзом неопределенного потенциала (КГНП) и риском развития нейродегенеративных заболеваний. Несомненно одно — такая связь существует через систему воспалительных цитокинов и инфламмасом, вырабатываемых мутантными клонами, а также через миграцию в ЦНС мутировавших клеток врожденного иммунитета из костного мозга. Недавнее исследование выявило повышенный риск нейродегенеративных заболеваний у людей с CHIP прежде всего при мутациях DNMT3A, ASXL1 и SRSF2 [41, 42]. Однако, похоже, что связь эта не односторонняя. Примечательно, что Bouzid и соавторы обнаружили, что у людей с CHIP со временем снижается риск развития болезни Альцгеймера. Защитный эффект CHIP против БА может быть обусловлен миграцией клонов мутантных макрофагов и Т-лимфоцитов в микроглию головного мозга. На фоне усиления фагоцитоза микроглии отмечено уменьшение отложения β -амилоида ($A\beta$) и нейрофибрillaryных клубков тау-белка в клетках головного мозга. Исследование продемонстрировало, что влияние CHIP клонов способно ослабить влияние главного генетического фактора риска развития болезни Альцгеймера — аллеля *APOE4* [43].

Выявление соматических мутаций не было основной задачей нашего исследования. Тем не менее, нами обнаружено наличие КГНП у 3 из 10 пациентов с БАС при ограничении VAF $\geq 2\%$. При этом после проведенного лечения и реинфузии трансдифференцированных аутологичных CD34+ клеток отмечено исчезновение aberrантного клона или снижение его концентрации в костном мозге, что не повлекло за собой прогрессирования заболевания в период наблюдения. Интерпретация результатов, а также вопрос наличия и значения клонов с VAF $< 2\%$ требуют расширения группы пациентов, большего срока наблюдения, применения технологии NGS с высоким покрытием и коррекцией ошибок.

Мы предположили, что манипуляции *ex vivo* с покоящимися ГСК могут привести к восстановлению утраченного клонального разнообразия во всей системе крови. Возможно, что КГНП не устранен, но достигнуто снижение VAF соматических мутантных клонов ниже уровня их обнаружения при охвате $\times 100$. Тем не менее, наши данные позволяют по-новому взглянуть на проблему контроля нежелательных клеточных клонов в костном мозге и периферической крови для уменьшения хронического системного воспаления. В то же время наши данные дают новое понимание проблемы нацеливания нежелательных клонов клеток в костном мозге и периферической крови для снижения хронического системного воспаления. Мы инициировали клинический протокол у пациентов с БАС, включающий *ex vivo* реинфузию обработанных аутологичных клеток CD34+ после повторных курсов флударабина и тоцилизумаба. Новая целевая панель секвенирования генов с более высоким покрытием ($\times 2000$ -кратное) предоставит больше информации о динамике CHIP во время лечения.

Наше исследование имеет ограничения. Во-первых, это предварительное исследование, изучающее взаимосвязь между субпопуляциями CD34+, КГНП и клиническим течением БАС. Поэтому расчет мощности для размера выборки не проводился. Следовательно, статистическая мощность могла быть недостаточной для выявления влияния этих факторов на результаты терапии и лабораторные данные. Во-вторых, небольшой размер выборки не позволил нам исключить случайный характер данных, полученных в период наблюдения. В-третьих, субпопуляции иммунных клеток не оценивались одновременно в периферической крови и, по понятным причинам, в тканях головного и спинного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование является первой попыткой охарактеризовать подгруппы HSC костного мозга у пациентов с БАС и выявить изменения в их последующих моделях наблюдения при иммуномодулирующей терапии. Наши результаты имеют клиническое значение, хотя они ограниченны и предварительны. Во-первых, они демонстрируют, что костный мозг является одним из органов, реагирующих на иммуноопосредованное нейровоспаление. Во-вторых, поднимается вопрос о том, можно ли перезапустить и исправить аномальный иммунный ответ, приводящий к нейродегенерации. Кроме того, предварительные результаты указывают на возможную связь между CHIP и БАС и намечают путь к устраниению aberrантных клонов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic lateral sclerosis. *N Eng J Med.* 2001;344(22):1688–1700. <https://doi.org/10.1056/NEJM200105313442207>
2. Zoccolella S, Santamato A, Lamberti P. Current and emerging treatments for amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2009;5(7):577–595. <https://doi.org/10.2147/ndt.s7788>
3. Morris HR, Waite AJ, Williams NM, et al. Recent advances in the genetics of the ALS-FTLD complex. *Curr Neurol Neurosci.* 2012;12(3):243–250. <https://doi.org/10.1007/s11910-012-0268-5>
4. Al-Chalabi A, Fang F, Hanby MF, et al. An estimate of amyotrophic lateral sclerosis heritability using twin data. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010;81(12):1324–1326. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2010.207464>
5. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell.* 2007;128(4):683–692. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.029>
6. Fraga M, Ballestar E, Paz MF, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Nat Acad Sci.* 2005;102(30):10604–10609. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500398102>
7. Evans MA, Walsh K. Clonal hematopoiesis, somatic mosaicism, and age-associated disease. *Physiol Rev.* 2023;103(1):649–716. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2022>
8. Loh PR, Genovese G, Handsaker RE, et al. Insights into clonal haematopoiesis from 8,342 mosaic chromosomal alterations. *Nature.* 2018;559:350–355. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0321-x>
9. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med.* 2014;371:2488–2498. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1408617>
10. Martin LJ, Wong M. Aberrant regulation of DNA methylation in amyotrophic lateral sclerosis: a new target of disease mechanisms. *Neurotherapeutics.* 2013;10(4):722–733. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0205-6>
11. Yun J, Youn YC, Kim HR. Association between clonal hematopoiesis of indeterminate potential and brain β-Amyloid deposition in Korean patients with cognitive impairment. *Ann Lab Med.* 2024;44(6):576–580. <https://doi.org/10.3343/alm.2024.0086>
12. Khan AW, Farooq M, Hwang MJ, et al. Autoimmune neuroinflammatory diseases: role of interleukins. *Int J Mol Sci.* 2023;24(9):60–79. <https://doi.org/10.3390/ijms24097960>
13. Azad A, Gökmen ÜR, Uysal H, et al. Autophagy dysregulation plays a crucial role in regulatory T-cell loss and neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2024;25(3–4):336–344. <https://doi.org/10.1080/21678421.2023.2273365>
14. Gustafson MP, Staff NP, Bornschlegl S, et al. Comprehensive immune profiling reveals substantial immune system alterations in a subset of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One.* 2017;12(7):e0182002. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182002>
15. Yazdani S, Seitz C, Cui C, et al. T cell responses at diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis predict disease progression. *Nat Commun.* 2022;13(1):6733. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34526-9>
16. Shi K, Li H, Chang T, et al. Bone marrow hematopoiesis drives multiple sclerosis progression. *Cell.* 2022;185(13):2234–2247. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.05.020>
17. Bryukhovetskiy AS, Grivtsova LY, Sharma HS. Ultra early molecular biologic diagnosis of malignant and neurodegenerative diseases by the immunospecific profiles of the protein's markers of the surface of the mobilized autologous hematopoietic stem cells. *Prog Brain Res.* 2021;266:75–95. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2021.06.002>
18. Proskurina AS, Gvozdev TS, Alyamkina EA. Results of multicenter double-blind placebo-controlled phase II clinical trial of Panagen preparation to evaluate its leukostimulatory activity and formation of the adaptive immune response in patients with stage II–IV breast cancer. *BMC Cancer.* 2015;15:122. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1142-z>
19. Cherry JD, Olschowka JA, O'Banion MK. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *J Neuroinflammation.* 2014;11:98. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-98>
20. Kempuraj D, Thangavel R, Selvakumar GP. Brain and peripheral atypical inflammatory mediators potentiate neuroinflammation and neurodegeneration. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:216. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00216>
21. Zaccai S, Nemirovsky A, Lerner L, et al. CD4 T-cell aging exacerbates neuroinflammation in a late-onset mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroinflammation.* 2024;21(1):17. <https://doi.org/10.1186/s12974-023-03007-1>
22. Béland LC, Markovic A, Jakovac H, et al. Immunity in amyotrophic lateral sclerosis: blurred lines between excessive inflammation and inefficient immune responses. *Brain Commun.* 2020;2(2):1–24. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa124>
23. Liu J, Wang F. Role of neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: cellular mechanisms and therapeutic implications. *Front Immunol.* 2017;8:1005. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01005>

24. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem.* 2016;139(2):136–153. <https://doi.org/10.1111/jnc.13607>
25. Murdock BJ, Zhou T, Kashlan SR, et al. Correlation of peripheral immunity with rapid amyotrophic lateral sclerosis progression. *Neurol.* 2017;74(12):1446–1454. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.2255>
26. Zhang R, Gascon R, Miller RG, et al. Evidence for systemic immune system alterations in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J Neuroimmunol.* 2005;159:215–224. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2004.10.009>
27. McCauley ME, Baloh RH. Inflammation in ALS/FTD pathogenesis. *Acta Neuropathol.* 2019;137(5):715–730. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1933-9>
28. Lu CH, Allen K, Oei F, et al. Systemic inflammatory response and neuromuscular involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflam.* 2016;3:e244. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000244>
29. Ren H, Liu Q. Skull and vertebral bone marrow in central nervous system inflammation. *Fundam Res.* 2023;4(2):246–250. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.01.012>
30. Hassanein NM, Alcancia F, Perkins KR, et al. Distinct expression patterns of CD123 and CD34 on normal bone marrow B-cell precursors («hematogones») and B lymphoblastic leukemia blasts. *Am J Clin Pathol.* 2009;132(4):573–580. <https://doi.org/10.1309/AJCPO4DS0GTLSOE1>
31. Mani R, Goswami S, Gopalakrishnan B, et al. The interleukin-3 receptor CD123 targeted SL-401 mediates potent cytotoxic activity against CD34+CD123+ cells from acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome patients and healthy donors. *Haematologica.* 2018;103(8):1288–1297. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.188193>
32. Villadangos JA, Young L. Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells. *Immunity.* 2008;29(3):352–361. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.09.002>
33. Grouard G, Rissoan MC, Filgueira L, et al. The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. *J Exp Med.* 1997;185(6):1101–1111. <https://doi.org/10.1084/jem.185.6.1101>
34. Rani L, Kumar A, Karhade J, et al. IL-3 regulates the differentiation of pathogenic Th17 cells. *Eur J Immunol.* 2022;52(11):1842–1858. <https://doi.org/10.1002/eji.202149674>
35. Ullrich KA, Derdau J, Baltes C, et al. IL-3 receptor signalling suppresses chronic intestinal inflammation by controlling mechanobiology and tissue egress of regulatory T cells. *Gut.* 2023;72(11):2081–2094. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2023-329818>
36. McAlpine CS, Park J, Graciuc A, et al. Astrocytic interleukin-3 programs microglia and limits Alzheimer's disease. *Nature.* 2021;595(7869):701–706. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03734-6>
37. Kiss MG, Mindur JE, Yates AG, et al. Interleukin-3 coordinates glial-peripheral immune crosstalk to incite multiple sclerosis. *Immunity.* 2023;56(7):1502–1514. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.013>
38. Look AT, Ashmun RA, Shapiro LH, Peiper SC. Human myeloid plasma membrane glycoprotein CD13 (gp150) is identical to aminopeptidase. *N J Clin Invest.* 1989;83(4):1299–1307. <https://doi.org/10.1172/JCI114015>
39. Gaipa G, Coustan-Smith E, Todisco E, et al. Characterization of CD34+, CD13+, CD33- cells, a rare subset of immature human hematopoietic cells. *Haematologica.* 2002;87(4):347–356.
40. Avigdor A, Goichberg P, Shavit S, et al. CD44 and hyaluronic acid cooperate with SDF-1 in the trafficking of human CD34+ stem/progenitor cells to bone marrow. *Blood.* 2004;103(8):2981–2989. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3611>
41. Zöller M. CD44, hyaluronan, the hematopoietic stem cell, and leukemia-initiating cells. *Front Immunol.* 2015;6:235. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00235>
42. Liu X, Xue H, Wirdefeldt K, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and risk of neurodegenerative diseases. *J Intern Med.* 2024;296(4):327–335. <https://doi.org/10.1111/joim.20001>
43. Bouzid H, Belk JA, Jan M, et al. Clonal hematopoiesis is associated with protection from Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2023;29(7):1662–1670. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02397-2>

Информация об авторах:

Долгополов Игорь Станиславович — доктор медицинских наук, главный врач АО «КГ “Нейровита”»;

Гриццова Людмила Юрьевна — доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, заведующая отделом лабораторной медицины МРНЦ им. А. Ф. Цыба — филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

Коваленко Николай Иванович — заведующий отделением неврологии с реабилитацией АО «КГ “Нейровита”»;

Шаталов Петр Алексеевич — кандидат биологических наук, кандидат медицинских наук, руководитель молекулярно-генетической службы ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

Брюховецкий Андрей Степанович — доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории клеточных и генных технологий НКО «ЕАМЭТ»;

Рыков Максим Юрьевич — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой педиатрии Медицинской высшей школы ФГБОУ ВО «РГСУ» Минобрнауки России, главный специалист отдела проектного и информационного сопровождения ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России.

Authors information:

Dolgopolov Igor S., MD, DSc, PhD, Chief Physician of the JSC «Neurovita CH»;

Grivtsova Lyudmila Yu., MD, DSc, PhD, Head of the Department of Laboratory Medicine, MRRC – branch of the federal State Budgetary Institution “NMRC of Radiology” of the MOH of Russia;

Kovalenko Nikolay I., Head of the Neurology and Rehabilitation Department at JSC «Neurovita CH»;

Shatalov Petr A., PhD of Biological Sciences, PhD of Medical Sciences, Head of the Molecular Genetic Service, Federal State Budgetary Institution «NMRC of Radiology» of the MOH of Russia;

Bryukhovetsky Andrey S., MD, DSc, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Cellular and Gene Technologies, NPO «EAMET»;

Rykov Maxim Yu., MD, DSc, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Pediatrics, Higher School of Medicine, FSBEI HE «RSSU» of the MSHE of Russia; Chief Specialist of the Department of Project and Information Support, FSBI «CRIHOI» of the MOH of Russia.