

КРАТКИЙ ИТОГОВЫЙ АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ

Тема I: Изучение молекулярно-генетических, иммуноморфологических основ клональных заболеваний системы крови с целью улучшения диагностики и выявления прогностических факторов для оптимизации дифференциальной терапии

Продолжен набор больных в межрегиональный клинический протокол "ОМЛ21" и ведение единой электронной базы данных учета результатов лабораторного обследования в дебюте заболевания и в ходе курсовой терапии. Продолжена оптимизация комплексного молекулярно-генетического анализа у больных ОМЛ (проводится расширение спектра исследований и улучшение методов диагностики основных клинически-значимых мишеней). Ведется сравнение протоколов программной терапии на основе первичных молекулярно-генетических факторов риска и мониторинга опухолевого клона при разных молекулярных вариантах ОМЛ. Оценено влияния мутаций в генах эпигенетической регуляции и генах активаторов транскрипции на состояние гиперлейкоцитоза у больных ОМЛ. Проведена работа по выявлению ключевых параметров, влияющих на верную оценку аллельной нагрузки при мутациях в гене FLT3 при проведении фрагментного анализа. На увеличенной выборке показаны новые особенности профиля генетических нарушений у больных ХЛЛ с наиболее распространенными в России CAP. Получены данные о спектре мутаций TP53 у российских больных В-клеточными лимфомами. Метод arrayCGH позволил уточнить структуру нарушений в локусе 17p13.1 при del-TP53 по результатам FISH. Проведены пилотные исследования по оценке диагностических возможностей исследования сцДНК у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. В проспективное исследование включено 97 больных впервые выявленной ММ (41 мужчина и 56 женщин), в возрасте от 30 до 82 лет (медиана 58 лет), находившихся на лечении в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России в период с марта 2019 г. по февраль 2022 г. Изучена экспрессия гена MAGE-C1 и белка MAGE-C1 в плазматических клетках костного мозга больных ММ. Показано, что повышенная экспрессия гена MAGE-C1 и белка MAGE-C1 может рассматриваться в качестве дополнительного биомаркера неблагоприятного течения ММ. Результаты ПЦР-РВ и ИГХ методов показали высокий уровень корреляции при исследовании экспрессии гена MAGE-C1 и белка MAGE-C1. В ретроспективное исследование включено 39 пациентов с ММ (13 мужчин, 26 женщин) в возрасте от 24 до 67 лет (медиана 57 лет), у

которых в дебюте заболевания выявлены костные плазмоцитомы. Разработан способ определения группы риска для пациентов с ММ, осложненной плазмоцитомой, основанный на применении иммуногистохимического метода. Изучен субстрат экстрамедуллярной плазмоцитомы и костного мозга у больной ММ различными молекулярно-биологическими методами. Доказаны отличия в опухолевом субстрате костного мозга и экстрамедуллярной плазмоцитомы. При сопоставлении STR-маркеров опухолевой свободно циркулирующей в плазме ДНК, CD138+ клеток костного мозга, плазмоцитомы наибольшее количество вовлеченных локусов выявлено именно в ДНК плазмоцитомы. Мутация в гене NRAS выявлена только в ДНК плазмоцитомы. Разностороннее молекулярно-генетическое исследование субстрата экстрамедуллярной плазмоцитомы необходимо для понимания механизмов патогенеза и на этой основе – для разработки дифференцированных терапевтических подходов. Результаты определения CD26+ лейкозных стволовых клеток у больных ХМЛ с различным уровнем молекулярного ответа (МО) Недавние исследования показывают, что существует популяция стволовых клеток (СК), высокоспецифичная для пациентов с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). Эти клетки представляют собой «незрелые» CD34+CD38^{low}/neg SC и демонстрируют экспрессию CD26, нетипичную для нормальных СК. Предполагается, что эти клетки представляют собой лейкемические стволовые клетки ХМЛ (ЛСК). Влияние остаточных ЛСК на ремиссию без лечения и воспроизводимость методов их определения требуют изучения. Целью работы явилось определение представленности резидуальных ЛСК у пациентов с глубоким МО (ГлМО) и их значимость для поддержания ремиссии после прекращения терапии. Были проанализированы 185 образцов от 125 пациентов с хронической фазой ХМЛ (133 образца крови и 52 образца костного мозга). В анализ были включены пациенты с ГлМО (минимум МО4) и контрольная группа пациентов с de novo ХМЛ. Детекцию ЛСК ХМЛ проводили методом проточной цитометрии (ПЦ) на проточном цитометре BC CytoFlex (4 антигена (CD45, CD34, CD38 и CD26)). В контрольной группе пациентов с de novo ХМЛ медиана концентрации клеток ЛСК в костном мозге составила 50,76 на мкл (ИКР 16,37-116,96) и 26,29 на мкл (ИКР 4,67-83,93) в образцах крови (p=0,09). Ни у одного из пациентов с ГлМО как на фоне лечения, так и после прекращения терапии ИТК не было выявлено CD26+ ЛСК в образцах крови или костного мозга. Таким образом, компартмент CD26+ЛСК выявляется в крови и костном мозге у больных в дебюте ХМЛ и отсутствует у больных ГлМО как до терапии ИТК, так и после отмены терапии. Этот метод не является ни альтернативой, ни дополнением к количественной ПЦР в реальном времени для отбора пациентов для прекращения терапии ИТК. По клиническим, морфологическим и цитогенетическим данным с-MYC/BCL2

HGBL DH и HGBL TH представляют собой более однородную группу лимфом, которые имеют патогенетическую связь с ФЛ и в большинстве случаев представлены трансформацией ФЛ. С-MYC/BCL6 HGBL DH напоминает ДВККЛ. Мы предложили рассмотреть дополнительно дискордантное поражение костного мозга и длительный (не менее 6 месяцев) анамнез заболевания как признаки трансформации. Все вышесказанное оправдывает использование некоторых терапевтических подходов, используемых для лечения ФЛ и ЛМЗ, для лечения пациентов с с-MYC/BCL2 HGBL DH, с-MYC/BCL6 HGBL DH и HGBL NOS.

Феномены MSI, в частности EMAST, и LOH имеют место при ФЛ, ДВККЛ и ВКЛВСЗ. Более высокая частота генетических aberrаций характерна для лимфом с более агрессивной морфологией. Строгой зависимости между нозологическими формами и преимущественным вовлечением отдельных микросателлитных локусов не выявлено. MSI, которая имеет место при НХЛ, не соответствует определению MSI-H – типу нестабильности, характерному для синдрома Линча и подобных ему солидных новообразований, и в большей степени отражает патогенетические пути возникновения MSI-L и EMAST. За второе полугодие 2022 года проведено сопоставление морфологии и гистоархитектоники мегакариоцитов между ранее выделенными группами с учетом изготовленных ИГХ-препаратов с антителами к CD42b. Результаты занесены в информационные таблицы, проведен статистический анализ результатов. Изготовлен иллюстративный материал в виде микрофотографий. Проводится сопоставление с клиническими данными.

Изучены характеристики новорожденных и динамика молекулярного ответа (МО) у беременных с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) при прерывании терапии ИТК.С 2000 по 2020 г. в наблюдательном исследовании «Регистр беременных с ХМЛ» у 147 женщин (146 с хронической фазой, 1 с фазой акселерации) отмечено 205 беременностей, из которых 144 (70%) завершились родами. В 101 (70%) из 144 случаев беременность диагностирована на фоне приема ИТК, в 96 (96%) из них ИТК были отменены на ранних сроках (4-6 нед). Из 146 новорожденных (включая 2 пары близнецов) у 10 (6,8%) отмечены врожденные аномалии развития (АР), часто встречающиеся в популяции. Тяжелых или жизнеугрожающих АР не было. Достоверной связи АР с терапией во время беременности не отмечено ($p=0,81$). При терапии ИТК во II-III триместре достоверно чаще отмечено снижение массо-ростового показателя новорожденных (менее 55,5) по сравнению с ИФН ($p=0,009$) и наблюдением без терапии ($p<0,001$), однако в дальнейшем развитие детей было в норме, при Me возраста 4 года (диапазон от 3 мес. до 11 лет). Вероятность сохранения МО2 через 9 мес. после отмены

ИТК составила 61% (95% ДИ 45-76%). В 12 (43%) случаях при отсутствии изначального МО2 отмечена некомплаентность и потеря гематологического ответа; трое пациенток умерли после родов из-за прогрессии ХМЛ. Анализ исходов беременности и кинетики МО позволили разработать дифференцированную схему ведения больных ХМЛ. Терапия иматинибом или нилотинибом может применяться во II-III триместре (после 15 недель) у беременных с ХМЛ. Оптимальным является планирование беременности при стабильном глубоком МО и терапии ИТК более 3 лет. Проанализированы предварительные результаты выживаемости без молекулярного рецидива у больных ХМЛ после полной отмены ИТК с предшествующим наблюдением на терапии сниженными дозами ИТК. Исследование состоит из двух последовательных фаз: 1) наблюдение на сниженных дозах ИТК ≥ 12 месяцев (мес.); 2) Фаза ремиссии без лечения (РБЛ). С 12.2019 по 11.2021 в исследование включено 103 пациента. У 29 пациентов в анамнезе имелась как минимум 1 отмена терапии ИТК. Первый этап редукции доз ИТК завершили 59 пациентов: потеря глубокого МО была отмечена у 4 больных; потери БМО не было. Второй этап редукции доз ИТК завершили 53 пациента: потеря БМО была у 2 пациентов, потеря глубокого МО - у 9 больных. В фазу РБЛ включено 46 пациентов, из них у 15 (32,6%) в анамнезе уже была как минимум одна попытка отмены лечения. Ме наблюдения после отмены лечения составила 8 мес. (1-21 мес.) Выживаемость без потери БМО через 12 мес. во всей группе составила 60% (ДИ:45-75%). Выживаемость без потери БМО для пациентов с первой попыткой отмены терапии и для пациентов с повторной отменой лечения составила 66% и 46%, соответственно. Терапия сниженными дозами ИТК у больных ХМЛ с глубоким МО ≥ 1 года является безопасной опцией лечения при условии регулярного молекулярного мониторинга. Обнадешивающим является показатель выживаемости без потери БМО в РБЛ у больных с первой попыткой отмены терапии-66%, однако полученные результаты являются предварительными. Наблюдение пациентов в исследовании продолжается. Детальная характеристика причин смены терапии при множестве линий лечения (более трех) у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) мало изучена. Наиболее часто в публикациях представлены данные о причине перевода на последнюю линию лечения без подробного указания анамнестических данных, характеризующих популяцию пациентов. Подробный анализ этих данных поможет более полноценно представить популяцию больных ХМЛ. В анализ включено 82 пациента с Ph+ ХМЛ в хронической фазе с резистентностью к 2 и более линиям терапии, получающих терапию асциминибом в рамках программы MAP (Managed Access Program). В качестве причин смены ИТК рассматривались: резистентность, непереносимость, сочетание резистентность + непереносимость и другие причины (отсутствие доступа к препарату, решение

врача и др.). Наиболее распространенной причиной смены препарата у больных, получающих терапию ИТК 2-3 поколений во 2 и более линии, являлась резистентность во всех предыдущих линиях (70-100%). Изолировано непереносимость встречалась значительно реже (10-25%), иногда причиной являлось сочетание резистентности и непереносимости (1-25%). У больных, получивших более 6 ИТК резистентность была основной проблемой и причиной смены терапии, иногда в сочетании с токсичностью.

Тема 2: Изучение возможности использования гемопоэтических аллоантигенов в качестве мишеней клеточной иммунотерапии гемобластозов

С помощью методов биоинформатики описан репертуар HA-1 TCR, идентифицированы комбинации функциональных цепей, отобраны наиболее аффинные TCR без аллореактивности и показана их способность эффективно распознавать эндогенно процессированный антиген на РВМС здоровых и пациентов с гематологическими нарушениями. Описан метод модификации CD8⁺ Т-клеток с помощью HA-1-специфичных трансгенных TCR, сочетающих нокаут эндогенного TCR с использованием CRISPR/Cas. Полученные Т-клетки проявляли цитотоксическую активность в отношении РВМС больных различными онкогематологическими заболеваниями, включая ОМЛ, В- и Т-клеточный ОЛЛ. Описанное направление может быть использовано для создания терапии, специфичной к другим МАГ, как к весьма перспективному классу антигенов для лечения гемобластозов.

Тема 3: Реализация молекулярно-генетических и биологических механизмов в организме человека в норме и при заболеваниях системы крови

Продолжается статистическая обработка данных, полученных после анализа крови доноров. Сформированы медианные значения параметров истощения Т-клеточного звена и субпопуляционного состава Т-хэлперов. Выбраны значения, которые достоверно отличаются у группы доноров и пациентов после трансплантации (на +185 и +365 день после алло-ТГСК). Обработаны результаты анализа исследования со-ингибиторных молекул на малых субпопуляциях Т-клеток. Отобрана когорта из 30 здоровых доноров и установлены референсные значения количественных характеристик популяций Т-клеток различных стадий созревания таких как: наивные Т-клетки, стволовые клетки центральной памяти, клетки центральной памяти, эффекторные клетки памяти 1, 2 и 3, пре-эффекторные Т-клетки 1, 2 и 3, эффекторные клетки. Определена экспрессия маркеров истощения (PD-1, TIMP, CD160) на этих клетках. Определены различия субпопуляционного

состава в зависимости от пола и возраста доноров. Мониторинг приживления гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) проводили 24 больным параллельно серологическими и молекулярными методами по системам АВО, Резус, MNSs (Er-PCR) и коротким tandemным повторам (STR-PCR). Всего было выполнено 36 молекулярных исследований в периоды через 30, 50-70, 90-100 и более 115 дней после трансплантации ГСК. Донорский химеризм был определен у всех пациентов после успешной ТГСК обоими молекулярными методами. У пациентов с рецидивами основного заболевания методом Er-PCR был выявлен смешанный химеризм по всем исследованным эритроцитарным системам, методом STR-PCR – также смешанный химеризм с высоким показателем (более 30 %) маркеров реципиента. У одного больного с отторжением трансплантата регистрировали возврат к собственному гемопоэзу обоими молекулярными методами. Данные методов Er-PCR и STR-PCR совпали в 31 случае из 36 (86,1 %).

Получен комплект материалов для тестирования работы облачной платформы по оценке тромботических рисков и для отладки технологии, допускающей масштабирование детальности искомой оценки по запросу пользователя. Проведены валидационные эксперименты по тромбированию сосудистых сетей с использованием технологии “microfluidity”. Изучены различные режимы тромбирования на модели изготовленных чипов. Качественно показано соответствие выдвинутых в ходе математического моделирования гипотез о централизации кровообращения для различных механизмов активации свертывания крови. Усовершенствована методика изготовления экспериментального блока, воспроизводящего геометрию фрагмента реального сосуда. Стандартизирован протокол испытаний. Усовершенствование технологии позволило не только существенно увеличить производительность метода и сократить технологическую петлю от МРТ/КТ исследования до результатов теста, но открыло возможность изучать процессы активации тромбоцитов в широком спектре специфических гидродинамических условий. Методами численного моделирования изучены механизмы насыщения тканей кислородом при прохождении эритроцитами капилляров. Полученные сведения позволяют оценивать эффекты трансформации гидродинамических потоков в капиллярном русле при развитии отдельных патологических процессов. С использованием таргетного секвенирования проведен поиск мутаций в генах 41 белка тромбопоэза для группы пациентов с входящим диагнозом иммунная тромбоцитопения или тромбоцитопатия/тромбоцитопения неясного генеза. Показано, что во многих случаях заболевание носит наследственный характер, причем диагностированные нозологии оказались весьма разнообразными (болезнь Виллебранда, MYH9-ассоциированные болезни, амегокариотарная

тромбоцитопения, макротромбоцитопении различной этиологии). Проведенные исследования и анализ последних литературных данных позволяют сделать вывод о целесообразности перехода на последующих этапах реализации проекта от таргетного к полноэкзомному секвенированию. С использованием классического секвенирования по методу Сэнгера нами были найдены мутации в гене ADAMTS13 у 5 пациентов с синдромом Апшоу-Шульмана и среди них две, ранее не описанные (p.Asp235Gly и p.Pro487Leu). Таким образом, на настоящий момент времени данная патология генетически верифицирована у 11 пациентов. Также в отчетный период нами разработаны и применены на практике системы классического мутационного анализа по методу Сэнгера для гена RASGRP2.

Тема 4: Разработка единой риск-адаптированной стратегии трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, объединяющей этапы предтрансплантационного кондиционирования, профилактики РТПХ и посттрансплантационного пациент-ориентированного воздействия

Показано, что режимы профилактики РТПХ с посттрансплантационным циклофосфамидом (ПТ-ЦФ), а также Т-клеточной деплецией обладают более мощным воздействием на реконституцию ЦМВ-специфического иммунитета, в том числе и в более поздние сроки после алло-ТГСК. Таким образом, именно эти пациенты, которые перенесли эти виды профилактики РТПХ, могут являться целевой группой для применения у них клеточных технологий, например, реинфузия CD45RA- донорских лимфоцитов, а также ЦМВ-специфичных Т-лимфоцитов донора. Определение ЦМВ-статуса пары донор-реципиент до планируемой ТГСК является особенно важным, так как на этом этапе диагностики выделяют пациентов из группы наиболее высокого риска развития ЦМВ-инфекции. Выделена группа пациентов, которые требуют индивидуального подхода к профилактике ЦМВ-инфекции и, возможно, более длительного мониторинга ЦМВ-инфекции в посттрансплантационном периоде. Продемонстрировано, что при отсутствии у реципиента «наилучшего» генотипа киллерного иммуноглобулиноподобного рецептора (KIR) (значение которого показано для снижения вероятности развития рецидива заболевания) риск развития несостоятельности трансплантата снижается. Исследование относительного уровня экспрессии (ОУЭ) генов выявило изменения в ММСК пациентов в дебюте заболевания и при достижении ремиссии перед алло-ТГСК по сравнению со здоровыми донорами. Уровни экспрессии IL6, JAG1, и PPAR γ были достоверно повышены. Что может свидетельствовать об ослаблении противовоспалительных свойств ММСК больных ОЛ, сохраняющееся в ремиссии заболевания. Выявлено, что у пациентов на поздних сроках по

данным молекулярного исследования может сохраняться полная донорская химера в клетках костного мозга, однако, отдельные популяции клеток, в том числе регуляторные, могут иметь достаточно существенные различия по своей генетической структуре – более половины клеток могут сохранять примесь хозяйского кроветворения, что может влиять на результаты алло-ТГСК. При изучении инфекций кровотока после алло-ТГСК в этиологической структуре в обе фазы иммунной реконституции преобладали грамотрицательные бактерии, что позволило назначать адекватную противомикробную терапию первой линии у больных после трансплантации. Доказана нецелесообразность применения фторхинолонов в период нейтропении у пациентов, колонизированных полирезистентными грамотрицательными бактериями и обосновано их применение у пациентов без колонизации данными микроорганизмами. Выполнена сравнительная оценка эффективности и безопасности применения алло-ТГСК у больных НХЛ в первой и последующих линиях терапии. Показано преимущество алло-ТГСК в первой линии терапии для больных с наличием мутаций в гене TP53.

Тема 5: Изучение молекулярно-генетических механизмов резистентности и патогенности у нозокомиальных бактерий и грибов в гематологии и особенностей новой коронавирусной инфекции, вызванной COVID-19 среди пациентов с заболеваниями системы крови, доноров крови и ее компонентов и стволовых гемопоэтических клеток

Изучено распределение генов вирулентности (*iucA*, *gmpA* и *gmpA2*) и капсульных типов K1/K2/K5/K20/K54/K57 среди *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из гемокультуры больных с гематологическими заболеваниями. Гены вирулентности были обнаружены у 24,1% *K.pneumoniae*. Отмечена высокая частота их детекции среди *K.pneumoniae* продукцией карбапенемаз (55,3%). Среди генов вирулентности преобладали *iucA* (23,3%) и *gmpA2* (19,8%), которые могут быть использованы в качестве маркеров определения гипервирулентных штаммов. Большинство гипервирулентных СР-*K.pneumoniae* принадлежали к двум генетическим линиям ST395/K2 и ST23/K57. Проведено сравнение *in house* метода ускоренной идентификации грибов из положительной гемокультуры с «классическим» методом с помощью масс-спектрометрии (*C.parapsilosis* n=5, *C.tropicalis* n=4, *C.albicans* n=3, *C.krusei* n=1, *C.guilliermondii* n=1, *Rhodotorula mucilaginosa* n=1, *Fusarium dimerum* n=1) Успешная верификация грибов до рода при использовании ускоренного *in house* метода составила 75% (12/16) изолятов, до вида – 68,8% (11/16). Идентификации грибов ускоренным *in house* методом была статистически значимо короче в сравнении с «классическим» методом и составили 36 ч 20 мин против 55 ч 31 мин, соответственно ($p = 0,028$). Предложенный метод ускоренной идентификации грибов из положительной

гемокультуры позволяет на 19 часов раньше начать прецизионное лечение инвазивного микоза. Отмечена высокая частота инфекций кровотока (ИК) после аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток (аллоТГСК), которая составила 29,9% после первой алло ТГСК и 35,1 - после второй. Выделение резистентных к карбапенемам грамотрицательных бактерий было значимо выше после второй алло-ТГСК по сравнению с первой (57,1% против 13,6%; $p=0,048$). Выживаемость после ИК была ниже во время второй алло-ТГСК по сравнению с первой (71,4% против 97,9%; $p<0,0001$), особенно при выделении карбапенем-резистентных грамотрицательных бактерий (25,0% против 100,0%; $p=0,0023$). Анализ полученных данных, показал корреляцию между эпидемиологической обстановкой в России и Москве и частотой выявления антител к RBD-домену вирусного S-белка SARS-CoV-2. Так, частота выявления противовирусных антител у доноров крови и ее компонентов выросла с 8,52 % до 58,09 %, а у сотрудников ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России кумулятивный гуморальный иммунитет к ноябрю 2021 года составил порядка 92%. Частота выявления РНК SARS-CoV-2 не зависела от пола обследованных лиц и составила в группах мужчины/женщины – 1,3% и 1,2% соответственно ($p=0,154$). У сотрудников Центра вирусная РНК была выявлена в 1,42% случаев, в то время как у пациентов центра – в 1,09% ($p<0,001$). При этом частота выявления РНК не имела достоверных различий у пациентов с опухолевыми и неопухолевыми заболеваниями системы крови (1,24 % против 0,92 %, $p=0,147$). Секвенирование образцов вирусной РНК, полученной от сотрудников клинических подразделений, в которых наблюдалась вспышка инфекции показало отсутствие ассоциации определенного варианта SARS-CoV-2 с тяжестью течения заболевания, но позволило провести эпидемиологическое исследование и выявить вариант, вероятно, характеризующийся высокой контагиозностью. Изучение этиологии повторных эпизодов ИК у пациентов после аллоТГСК показало низкую вероятность совпадения с первым эпизодом ИК. Частота развития повторных эпизодов инфекций кровотока составила 22,1% (у 23 из 284) и их развитие было ассоциировано с первичной ($p=0,021$) и вторичной ($p=0,024$) несостоятельностью трансплантата, с выполнением повторной алло-ТГСК ($p<0,0001$). Частота выделения карбапенем-резистентных грамотрицательных бактерий была значимо выше при повторных эпизодах инфекций кровотока по сравнению с первыми (23,7% против 6,0%; $p=0,003$). Лишь у 3,9% больных с повторным ИК было констатировано выделение фенотипически идентичного штамма из гемокультуры.

Тема 6: Оптимизация диагностики, лечения и мониторинга неопухолевых заболеваний системы крови у взрослых на основе

молекулярно-генетических, иммунофенотипических, биологических параметров

Продолжено заполнение Регистра пациентов с болезнью Гоше, который включил 346 взрослых пациентов (> 90 % от общей популяции), что позволило получить достоверную информацию о фенотипической характеристике болезни и динамике клинических и лабораторных показателей в процессе патогенетической терапии. Длительность заместительной ферментной терапии у 50 % российских пациентов превышает 12,5 лет. У 45% взрослых пациентов цели лечения болезни Гоше достигнуты и продолжается ЗФТ в поддерживающем режиме. С 2006 г. применяется новый метод лечения болезни Гоше - субстратредуцирующая терапия (СРТ). Результаты длительного (одноцентрового) наблюдения за пациентами, получающими СРТ элиглуSTATом, подтверждают данные, полученные в многоцентровых клинических исследованиях, проведенных в 2006 - 2020 гг.: хорошую переносимость и высокую эффективность. Актуализированы Национальные клинические рекомендации по болезни Гоше, переданы в Центр экспертизы. Продолжен набор пациентов для исследования по оценке состояния Т-клеточного звена иммунитета у пациентов с АИГА до начала и в процессе иммуносупрессивной терапии с помощью метода проточной цитометрии, в исследование включены 26 больных. Проанализирован субпопуляционный состав Т - лимфоцитов у больных с АИГА до начала лечения в сравнении с группой контроля (56 доноров). Исследование субпопуляционного состава Т-лимфоцитов совершенствует представление о патогенезе АИГА и может являться основой для оптимизации программ лечения и профилактики рецидивов данного заболевания в будущем. Продолжено заполнение регистра пациентов с пароксизмальной ночной гемоглобинурией (Регистровое исследование No PNH-R01 «Эпидемиологические и клинические характеристики пароксизмальной ночной гемоглобинурии» на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России). Проводится изучение долгосрочной клинической эффективности патогенетической терапии ПНГ отечественным ингибитором C5 компонента комплемента и факторов, ассоциированных с благоприятным и неблагоприятным прогнозом течения ПНГ и ответом на патогенетическую терапию. Проведена оценка эффективности гемостатической терапии различными препаратами (концентраты FVIII пролонгированного действия, моноклональные биспецифические антитела с подкожным способом введения) у пациентов с гемофилией. Разработаны критерии перевода на новые препараты. Оптимизированы клинические рекомендации по ведению больных наследственными коагулопатиями. Разработан алгоритм диагностики наследственного дефицита антитромбина III, выделены группы риска

тромботических осложнений. Продемонстрировано, что скрининг на активность АТ III необходимо выполнять беременным на ранних сроках гестации или в период предгравидарной подготовки при отягощенном анамнезе. Продолжено изучение течения коронавирусной инфекции у больных наследственными коагулопатиями. Показано, что в данной когорте пациентов тромботические осложнения SARS-CoV-2-инфекции отсутствовали, кровотечения наблюдались у 8% больных. Проводилось изучение молекулярно-генетических дефектов у пациентов с редкими нарушениями свертывания крови. Начат сбор данных о пациентах с дефицитом FXII: 33 больным проведено генетическое исследование, проанализирован клинический фенотип в корреляции с выявленными мутациями. Клиническая картина у 19 больных была представлена геморрагическим синдромом умеренной выраженности, тромбозы констатированы лишь у 2-х пациентов. Выполнена оценка качества жизни пациентов с наследственными коагулопатиями. Обнаружено, что несмотря на активное внедрение новых препаратов для лечения пациентов с коагулопатиями, некоторые проблемы остаются нерешенными. Впервые в России в условиях одного отделения проведены большие и малые оперативные вмешательства на опорно-двигательном аппарате у пациентов с гемофилией А без ингибитора и с ингибитором к FVIII, находящихся на новой нефакторной терапии. Данная терапия позволила снизить интраоперационную кровопотерю, улучшить результаты восстановления в послеоперационном периоде, значительно улучшить качество жизни пациентов и значительно сократить кол-во израсходованных препаратов FVIII и с шунтирующими механизмами действия при оперативных вмешательствах. Впервые в России проведены большие оперативные вмешательства на опорно-двигательном аппарате на новых рекомбинантных прологированных препаратах FVIII, что позволило длительно, без пиков падения его концентрации поддерживать уровень дефицитного фактора в крови пациента на желаемом уровне, что позволило раннюю и более эффективную реабилитацию, а также экономию FVIII на 40%. Продолжены исследования по применению транексамовой к-ты при хирургических операциях у б-х с гемофилией, что позволило снизить интраоперационную кровопотерю, количество использованного FVIII, улучшить послеоперационные результаты и снизить экономические затраты. Иммунная тромбоцитопения (ИТП) — аутоиммунное заболевание, характеризующееся изолированной тромбоцитопенией. Группа больных иммунной тромбоцитопенией гетерогенна по патогенетическим механизмам, клиническим проявлениям и результатам ответа на терапию. Выбор метода терапии зависит от степени выраженности геморрагического синдрома, количества тромбоцитов, возраста и сопутствующих заболеваний пациента, прогнозируемых нежелательных

явлений лечения. Широкое использование агонистов тромбоцетиновых рецепторов (ромиплостима и элтромбопага) и ритуксимаба у взрослых существенно изменили программу лечения ИТП. Согласно последним международным клиническим рекомендациям, спленэктомия рекомендуется выполнять только через 12-24 месяца от начала заболевания в связи с вероятностью достижения ремиссии. Однако четкий алгоритм выбора терапии второй линии не разработан. Целью исследования является оптимизация терапии у пациентов с иммунной тромбоцитопенией, резистентных к терапии первой линии. В исследование включено 112 пациентов первичной иммунной тромбоцитопенией, резистентных к терапии первой линии. Пациенты разделены на 2 группы: 82 пациентам выполнена спленэктомия в хирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, 30 пациентам начата терапия агонистами тромбоцетиновых рецепторов, из них 17 пациентам – ромиплостимом, 13 пациентам - элтромбопагом. В группе пациентов, которым выполнена спленэктомия, произведен анализ методов и эффективности предоперационной подготовки, интра- и послеоперационных осложнений и отдаленные результаты выполнения спленэктомии.

Тема 7: Влияние архитектурно-структурных изменений новых полимерных соединений на их гемосовместимость и обеспечение гемостатических реакций в экспериментах *in vivo* и *in vitro*

За отчётный период были созданы и изучены экспериментальные монокомпонентные и комплексные локальные покрытия на основе альгината натрия в формах губки, плёнки, порошка и их комбинаций. Доказано, что высоким гемостатическим эффектом обладали покрытия на основе 2,0, 3,0 и 4,0 % растворов альгината натрия в форме плёнки (88,52, 81,89 и 86,79 % соответственно) и в форме порошка с активной добавкой 1 в соотношении 3:1. Исследовано влияние материала форм, в которых производилась сублимационная сушка (стекло или металл), на структуру покрытия в форме губки. Определены изменения свойств покрытий под влиянием введённых в их состав микро- и наночастиц оксидов железа. Следующий раздел нашей работы был связан с необходимостью перехода к использованию преимущественно отечественной сырьевой базы. В лаборатории проведено сравнительное исследование каппа-каррагинана филиппинского производства и четырёх новых партий образцов каррагинана, изготовленных в России. Из образцов партии 1 и 2 были изготовлены покрытия в форме губки, а образцы 3 и 4 были исследованы *in vitro*. Показатели ТЭМ при контакте донорской крови с 1,5% растворами каррагинана российского (образец №3) и филиппинского производства практически не отличались, что доказывает возможность получения каррагинана российского производства, способного впоследствии заменить импортные аналоги.

Определено, что механизм антикоагулянтного действия сульфатов галактоглокоманнана (ГГМ; ММ 14,4 кДа) / галактоманнана (ГМ; ММ 276,8 кДа) связан с самостоятельным и антитромбин - опосредованным снижением амидолитической активности тромбина. Внутривенное введение морским свинкам ГГМ и ГМ в дозе 3 мг/кг приводит к достоверному увеличению времени свертывания плазмы в тестах АЧТВ и ПВ.

Конъюгаты крахмал-терпенофенол не влияли *in vitro* на время появления сгустка фибрина в тестах ВРК, АЧТВ, ТВ и на параметры агрегации тромбоцитов. Степень гемолиза эритроцитов человека при инкубации с конъюгатами была < 2 %.

Внутривенное введение конъюгатов в дозах 2 и 4 мг/кг не приводило к достоверному изменению времени свертывания плазмы морских свинок в тестах АЧТВ и ПВ.