

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

1. Выявлено, что в выборке больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) генетические нарушения в группах CLL#1, CLL#6, CLL#3 встречаются значительно чаще, чем по литературным данным. Предположительно это отчасти связано с использованием в работе более чувствительных методов. Кроме того, часть пациентов в изучаемой когорте имели рецидив после режима FCR. Также нельзя исключить и популяционные отличия в развитии заболевания.

Показана эффективность использования технологии NGS (секвенирование следующего поколения) для определения мутационного статуса генов *IGHV* в сложных случаях, когда исследование по Сэнгеру оказывается неинформативным. Обнаружено, что в случаях с двумя перестройками с генами одного семейства *IGHV* чаще встречаются варианты семейства *IGHV3* (68,7%), варианты без мутаций *IGHV* также встречаются чаще. Таким образом, метод NGS позволяет уточнить диагноз и назначить соответствующее лечение для значительного числа сложных случаев.

Усовершенствован разработанный нами ранее метод определения мутаций в позиции С481 в гене *BTK* на основе метода аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР). Показано хорошее соответствие результатов при определении типа мутации и аллельной нагрузки с методом NGS.

Получены первые данные о спектре мутаций TP53 у российских больных В-клеточными лимфомами.

Включение молекулярно-генетических факторов - реаранжировки гена *BCL-2* и мутаций гена *EZH2* в прогностическую модель при фолликулярной лимфоме (ФЛ) повышает ее значимость и позволяет выбирать больным риск-адаптированные варианты терапии.

2. В рамках межрегионального научного взаимодействия гематологических клиник в России создан протокол нового проспективного клинического исследования для больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Проспективное рандомизированное контролируемое многоцентровое исследование "ОМЛ-21" поможет выработать единые современные подходы к диагностике и лечению больных ОМЛ. Взаимодействие лабораторных центров, научных кадров и врачей-клиницистов позволяет осуществить высокотехнологичную диагностику и терапию для больных ОМЛ во многих регионах России. Для учета результатов лабораторных исследований больных ОМЛ разработана

единая электронная база данных

Ведется работа по оценке эффективности терапии с применением гипометилирующих агентов (азацитидин, децитабин) у больных ОМЛ моложе 60 лет, а также продолжается работа по оценке эффективности программы терапии АТО + АТРА у больных острым промиелоцитарным лейкозом(ОПЛ).

Важным аспектом оценки эффективности проводимой терапии и мониторинга рецидивов является определение минимальной остаточной болезни (МОБ). Для этой цели используют методы с крайне высокой чувствительностью, 10^{-4} - 10^{-5} . Однако, исследование МОБ при ОМЛ не стандартизовано, предлагаемые в разных исследованиях подходы значительно отличаются. Нами были предложены варианты исследования МОБ с помощью многоцветной проточной цитометрии с демонстрацией используемой стратегии гейтирования, описанием иммунофенотипа нормальных неопухолевых гемопоэтических клеток и представлением нескольких вариантов оценки МОБ. Приводятся также использованные нами панели моноклональных антител с описанием их особенностей.

Вторым вариантом исследования МОБ является анализ наличия мишеней мутантных клеток в здоровой популяции с помощью ПЦР. За счет усовершенствования протокола анализа гена *NPM1* нам удалось увеличить аналитические возможности выявления МОБ методом ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ) на 7%.

Оптимизация условий комплексного молекулярно-генетического анализа у больных ОМЛ позволила на 5% сузить группу промежуточного риска за счет внедрения в рутинную практику диагностики гена *RUNX1*.

3. Изучена чувствительность к антибиотикам среди *E. faecium* и *E. faecalis* в разные периоды исследования (2002–2009 гг. и 2010–2017 гг.). Отмечено, что во 2-й период исследования (2010–2017 гг.) среди *E. faecium* доля устойчивых к ванкомицину штаммов, увеличилась с 8,3 до 23,4 % ($p = 0,0001$), выделены 2 линезолид-устойчивых штамма. Все ванкомицин-устойчивые и линезолид-устойчивые *E. faecium* сохраняли чувствительность к даптомицину и тигециклину. Все штаммы *E. faecalis* были чувствительны к тигециклину, линезолиду и тейкопланину, выявлен только 1 штамм, умеренно резистентный к ванкомицину. У *E. faecalis* осталась неизменной высокая чувствительность к ампициллину (97,7 и 97,6 % соответственно).

При секвенировании 83 ванкомицин-резистентных *E. faecium* (VR-*E. faecium*) определена их принадлежность к 22 сиквенс-типам (ST) с преобладанием трех сиквенс-типов (ST17, ST78 и ST80), включавших 54,3% исследуемых VR-*E. faecium*. Все VR-*E. faecium* принадлежали к одной генетической линии – клональному комплексу CC17, распространенному в стационарах мира.

Изучена чувствительность планктонных форм и биопленок *Candida spp* (8 *C. krusei*, 7 *C. tropicalis*, 7 *C. albicans*, 5 *C. parapsilosis*) к противогрибковым препаратам. Чувствительность планктонных форм *Candida spp.* к анидулафунгину составила 100%, к каспофунгину - 85,2%, к флуконазолу - 66,7%, МПК90 амфотерицина В были ≤ 1 мг/мл. Оба протестированных эхинокандина были активны *in vitro* в отношении биопленок *Candida*, но МПК80 анидулафунгина были ниже, чем каспофунгина. Все биопленки *Candida* были резистентными к флуконазолу (МПК80 >1024 мг/мл) и амфотерицину В (диапазон МПК80 4 –16 мг/мл).

Таким образом, более высокие показатели антибиотикорезистентности были определены для *E. faecium*, что проявлялось в увеличении доли ванкомицин-резистентных *E. faecium* и появлении линезолид-резистентных штаммов. Клональный состав VR-*E. faecium* претерпел изменения, но клоны «высокого риска», такие как ST17 и ST78, оставались наиболее распространёнными, и их можно рассматривать как эндемичные для России. Более высокая активность *in vitro* против биопленок *Candida spp.* отмечена у анидулафунгина, ниже – у каспофунгина; полное отсутствие активности было отмечено у амфотерицина В и флуконазола.

4. Изучены феномены EMAST, MSI, LOH при ФЛ, ДВККЛ, HGBL. Наличие LOH и EMAST и их сочетание позволило выделить группу пациентов с ФЛ и HGBL с неблагоприятным течением заболевания. При ДВККЛ неблагоприятного влияния LOH и EMAST на выживаемость пациентов не отмечено. Аберрации мононуклеотидных повторов, не соответствующие определению MSI-H, не обладают самостоятельным прогностическим значением.

При ДКВКЛ с признаками неблагоприятного прогноза в соответствии международными прогностическими моделями, результаты терапии по программе R-СНОР признаны неудовлетворительными, общая 5 – летняя выживаемость не превышает 35%.

Выполнен анализ фармакоэкономической эффективности (ФЭЭ) лечения больных ДВККЛ на разных программах терапии. Отмечено, что схема R-NHL-BFM-90 по эффективности превосходит R-DA-EPOCH, при этом отмечена разница только в преобладании гематологической токсичности 3-4 степени, но без летальных исходов.

Проведен анализ динамики количества лейкоцитов после иммунохимиотерапии по программе R(G)-DHAP у пациентов с НХЛ. Установлено, что срок активации самостоятельного гранулоцитопоза не зависит от стимуляции Г-КСФ и общей дозы ростового фактора и соответствует в среднем 10-11 дню перерыва после окончания курса химиотерапии. Эта особенность позволяет спланировать оптимальный режим

профилактики Г-КСФ непосредственно после завершения цитотоксического воздействия. Уменьшение длительности нейтропении может быть достигнуто за счет ее отсроченного развития при реализации раннего гиперлейкоцитоза. Кроме того, наблюдаемый феномен отражает фундаментальные характеристики уровня взаимодействия Г-КСФ с субстратом костномозговых предшественников, а также хронологию гранулоцитопоза как общего свойства кроветворения.

5. За 8 лет сформирована выборка из 108 больных первичным миелофиброзом, из которых ранняя стадия (префиброзная стадия) диагностирована у 35 (32,4%) больных. Медиана возраста больных 48 лет (21 – 65 лет), соотношение мужчины: женщины – 1:2,9 (9:26). Диагноз был установлен на основании критериев ВОЗ 2017г. Спленомегалия наблюдалась в 26 (74%) случаях. Медиана количества тромбоцитов $650 \times 10^9/\text{л}$ (от $313 \times 10^9/\text{л}$ до $3472 \times 10^9/\text{л}$), лейкоцитов - $9,04 \times 10^9/\text{л}$ (от $4,5 \times 10^9/\text{л}$ до $17,6 \times 10^9/\text{л}$). Молекулярная характеристика: JAK2V617F – 40%, CALR – 46%, MPL - 3%, тройное негативное заболевание – 11%. Тромбозы в анамнезе были у 4 (11%) больных: 2 ОНМК, 2 случая тромбоза в системе портальных сосудов. Сопутствующие заболевания диагностированы в 31 (88,5%) случае. В первой линии терапии пациенты получали гидроксикарбамид (34%), интерферон альфа (43%); только наблюдение (23%).

Проанализированы данные 57 больных неклассифицированным миелопролиферативным новообразованием. Медиана возраста составила 45 лет (22 – 83 года), соотношение мужчины: женщины 1:1,3 (25: 32). Спленомегалия наблюдалась у 28 (49%) больных, медиана тромбоцитов $672 \times 10^9/\text{л}$ (от $39 \times 10^9/\text{л}$ до $2158 \times 10^9/\text{л}$), лейкоцитов - $8 \times 10^9/\text{л}$ (от $2,7 \times 10^9/\text{л}$ до $62,9 \times 10^9/\text{л}$). Молекулярная характеристика: JAK2V617F - 75%, CALR – 16%, тройное негативное заболевание – 9% случаев. Тромбозы в анамнезе или на момент постановки диагноза были у 17 (30%) больных): ОНМК - 5, инфаркт миокарда 4, тромбозы портальных сосудов – 8, геморроидальные вены – 1, чревный ствол – 1, почечная артерия – 1, глубокие вены голени – 1. У 4 больных зарегистрировано по 2 тромботических события. В первой линии терапии назначен гидроксикарбамид (40%), интерферон альфа (11%), симптоматическая терапия (49%). Спленэктомия на первом этапе лечения выполнена в 3 случаях.

На материале ранее изготовленных гистохимических препаратов, окрашенных с использованием методик импрегнации солями серебра по Гомори и "Трихром по Массону", проведен морфологический анализ степени ретикулинового фиброза стромы и степени остеосклероза в костном мозге ранее выделенных групп пациентов с использованием полуколичественного метода оценки и занесением результатов в закодированном виде (0-3, соответствует четырем степеням миелофиброза и

остеосклероза) в ранее созданную информационную таблицу, учитывающую клинические характеристики пациентов.

6. Начато изучение генетического профиля плазмоцитомы при множественной миеломе (ММ). В ретроспективное исследование включено 10 пациентов с ММ, осложненной плазмоцитомой (7 женщин, 3 мужчин), медиана возраста 53,5 лет (от 34 до 62 лет). У всех 10 пациентов были выделены парные образцы ДНК опухоль/контроль для последующего STR-профилирования. Отмечено, что у всех 10 пациентов выявлены варианты потери гетерозиготности с разной аллельной нагрузкой, предполагающей либо делецию/количественно нейтральную потерю гетерозиготности (ПГ), либо дупликацию одного из двух аллелей. Таким образом, в работе был сделан первый шаг к молекулярно-генетическому исследованию ММ и собраны первые данные о потере гетерозиготности в геноме плазмоцитомы. Отмечена тенденция к большему числу локусов с ПГ в субстрате плазмоцитомы из группы рецидивов ММ, по сравнению с плазмоцитомами, выявленными в дебюте заболевания. При анализе данных мы отметили часто встречающуюся ПГ на следующих хромосомах: 1 (1q42), 6(6q14), 7 (7q21.11), 13 (13q31.1), 21(21q21.1).

Изучены гистологические и ИГХ- параметры плазмоцитомы у 21 пациента с ММ. Частота экспрессии белков NSD2 и циклина D1 в субстрате костной плазмоцитомы больных ММ составила 33,4% и 28,6% соответственно. Проведенное сопоставление хромосомных aberrаций, выявленных методом FISH в костном мозге, и экспрессии белков-продуктов онкогенов в субстрате костной плазмоцитомы может свидетельствовать о клональной гетерогенности ММ и активации разных опухолевых клонов при костных плазмоцитомах.

В проспективное исследование с февраля 2019 года по июль 2021 года включено 76 больных ММ (43 мужчины и 33 женщины), медиана возраста 58 лет (от 35 до 82 лет). Всем больным был определен уровень экспрессии гена MAGE-C1 методом ПЦР-РВ в образцах костного мозга, обогащенного CD138+ клетками. Результаты исследования позволяют предположить, что повышенная экспрессия гена MAGE-C1 сопряжена с высокой пролиферативной активностью опухоли и объемом опухолевой массы и может рассматриваться в качестве дополнительного маркера, отражающего активность опухоли при ММ.

7. Выполнена оценка кинетики лейкозного клона после отмены ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) с сохраняющимся глубоким молекулярным ответом (МО) после отмены ИТК, включая анализ отдаленных результатов мониторинга. Установлено, что у 66% больных ХМЛ с глубоким МО после отмены ИТК отмечаются колебания уровня МОБ, при этом в 74% случаев потеря МО4

предшествует молекулярному рецидиву – потере большого молекулярного ответа (БМО). Наиболее неблагоприятной для развития молекулярного рецидива была потеря МО4 на сроках менее 3 мес. после отмены ИТК. При анализе отдаленных результатов наблюдения в ремиссии без лечения (РБЛ) отмечено, что на сроках более 2 лет после отмены ИТК вероятность потери БМО составила 51% а через 5 лет после отмены ИТК наблюдались лишь единичные молекулярные рецидивы.

Оценивалась 20-летняя общая выживаемость (ОВ) больных ХМЛ, которые начинали терапию иматинибом еще в рамках благотворительной программы GIPAP. Для пациентов с ранней и поздней хронической фазой (ХФ) 20-летняя ОВ составила 67%, и 58% соответственно. В структуре причин летальности преобладали смерти, связанные с лейкозом. Частота смертей от ХМЛ в ранней и поздней ХФ составила 8% и 25% больных соответственно ($p=0,008$).

Изучены концентрации ИТК у больных ХМЛ с глубоким МО, включенных в исследование деэскалации доз ИТК. Отмечено отсутствие достоверных различий концентрации нилотиниба при терапии в стандартной дозе 400 мг и в редуцированной дозе 200 мг, что может приниматься во внимание при решении вопроса о деэскалации доз ИТК у больных с глубоким МО.

Полученные результаты важны для разработки принципов деэскалации терапии ИТК и ведения больных в РБЛ, а также для построения оптимальной стратегии терапии больных ХМЛ. Данные направления планируется продолжить в дальнейшей работе для решения практических задач и оптимизации таргетной терапии у больных ХМЛ.

Тема II: Изучение возможности использования гемопэтических аллоантигенов в качестве мишеней клеточной иммунотерапии гемобластозов

В рамках работы по изучению возможности использования гемопэтических аллоантигенов в качестве мишеней клеточной иммунотерапии гемобластозов, была отобрана панель из 24 аллоантигенов, происходящих из генов, экспрессируемых клетками миелоидного ряда, в качестве потенциальных мишени иммунотерапии гемобластозов. Экспериментально подтверждено связывание синтетических пептидов с предсказанными аллелями HLA-A*02:01 и HLA-B*07:02. Также сконструирована *in silico* ДНК-кассета, содержащая последовательности кандидатных пептидов для экспрессии в антиген-презентирующих клетках и выявления процессируемых антигенов. Отобрана панель blastov у пациентов с первичным/ рецидивирующим ОМЛ/ОЛЛ, произведено их фенотипирование по наличию аллелей HLA-A*02:01 и HLA-B*07:02, заготовлена ДНК

для типирования аллелей исследуемых полиморфизмов. Проведено полноэкзомное секвенирование 3х доноров с целью выявления генотипа по изучаемым полиморфизмам.

Кроме того, была изучена применимость аллоантигенов в качестве мишеней для клеточной иммунотерапии гемобластозов. Разрабатывается метод профилактики или терапии рецидивов гемобластозов после трансплантации аллогенных стволовых клеток с использованием лимфоцитов донора, специфичных к аллоантигенам пациента, кодируемым генами, преимущественно экспрессирующиеся в гемопоэтической ткани.

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

1. У больных заболеваниями системы крови с множественными трансфузиями перед алло-ТГСК проводили определение истинной групповой принадлежности по эритроцитарным системам с целью поиска маркеров для последующего мониторинга приживления ГСК и прогнозирования возможных иммунологических осложнений. Перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) проблемы в оценке серологических результатов определения групповой принадлежности были у 98 больных: 79 больных с посттрансфузионным химеризмом (ПТХ) и 19 больных с ослабленной экспрессией антигенов (ОЭА) эритроцитов. Генотипирование провели 49 больным с ПТХ, уточнение генотипа при ОЭА – 14 больным. Типирование по АВО провели 32 больным: 25 с ПТХ с агглютинацией эритроцитов Цоликлонами 5-98% и 7 с ослабленной экспрессией антигенов А (6 человек) и В (1 человек). У больных с агглютинацией эритроцитов 50-80% с Цоликлоном а-А1 был генотип АВО*О1А2 (группа А2), химеризм наблюдали из-за присутствия донорских эритроцитов А1. У больной с 50% агглютинацией эритроцитов Цоликлоном а-А1 идентифицирован генотип АВО*О1А1 (группа А1), причиной химеризма было присутствие донорских эритроцитов А2. У пациента с 50% агглютинацией эритроцитов Цоликлонами а-А и а-В был установлен генотип АВО*В1В1.

Типирование для определения генов системы Резус выполнено 21 больному. По антигену RhD посттрансфузионный химеризм (70%) был выявлен только у одной больной, имеющий редкий генотип RHD+ RHCE*csee. Подтверждено присутствие гена RHCE*C у 10 лиц с 50-100% агглютинированными эритроцитами Цоликлоном анти-С, и только у одного больного с 30% агглютинированными эритроцитами анти-С выявлена гомозиготность по гену RHCE*c. У 5-х больных с 20-95 % агглютинированными эритроцитами Цоликлоном анти-с установлена гомозиготность по гену RHCE*C. У 7 пациентов с 10-60% агглютинированными эритроцитами Цоликлоном анти-Е

подтверждена гомозиготность по гену RHCE*е. Типирование для определения генов системы MNS было выполнено 20 больным. У больных с АЭ Цоликлонами а-М 50-90% и а-N 50-80% был генотип NN. У больных с 90-100% АЭ а-М и 50-80% АЭ а-N – MM. Со 100% АЭ а-М и 50-80% АЭ а-N – MN. Со 100% АЭ а-М и 70- 80% АЭ а-N – MM. Типирование для определения генов системы Kell было выполнено 4 больным. Пациент с 50% АЭ Цоликлоном а-K и а-k оказался гомозиготным по гену KEL*01.01. У 3 больных с 80-97% АЭ а-K найдены гены KEL*01.01 и KEL*02.

Уточнение генотипа провели 15 донорам. Причины: отсутствовали сведения о группе крови при поступлении криоконсервированных ГСК, а выполнить исследование было невозможно из-за лизиса эритроцитов (у 4 доноров); уточнение генотипа для выявления информативных маркеров мониторинга приживления ГСК (у 1, по MNS); ослабление экспрессии антигенов (у 10 доноров и 14 больных подтверждены гены O1A2, B1B1, RHD weak type 1, RHD weak type 2, RHD weak type 3, RHCE*Cw). Произведена валидация математических моделей тромбообразования в сосудах с интенсивной гемодинамикой на примере артерио-венозных фистул. Методами численного моделирования изучены системные осложнения ишемических инсультов. Разработано техническое решение по включению в облачное приложение методики корректировки показателей персонализированных тромботических рисков, основанной на топологическом и спектральном анализе электрокардиографических данных пациента. Разработана модель активации тромбообразования в интенсивных течениях крови с учетом протеолиза молекул VWF. Построены параметрические диаграммы активации тромбоцитов в осях “длина размотанного фактора фон Виллербранда” — “время нахождения в размотанном состоянии” и осях “количество факторов фон Виллербранда” — “время нахождения в размотанном состоянии”.

2. Разработаны ПЦР-системы для анализа первичной структуры всех функционально важных областей гена ADAMTS13 (29 экзонов), ITGA2B (30 экзонов) и ITGB3 (15 экзонов). Полный мутационный анализ, проведенный для 18 пациентов с входящим диагнозом тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП) позволил выявить дефекты в гене ADAMTS13 у 7 пациентов (синдром Апшоу-Шульмана). Наличие мутаций в гене ADAMTS13 коррелировало с отсутствием антител, специфичных к белку ADAMTS13. Антитела с достаточно высоким титром (41-44 BU) наблюдались только у одного пациента, гетерозиготного носителя микроинсерции с.4143insA. Найдены две новые миссенс-мутации (р.Trp387Ser и р.Arg116Pro), ранее не встречавшиеся в мировой популяции.

Мажорными для отечественной популяции оказались патогенные варианты p.Arg1060Trp и c.4143insA, хотя бы один из них присутствовал у каждого пациента. Это обстоятельство позволяет создавать экономичные системы эффективного дифференциального молекулярно-генетического экспресс-анализа, дающие возможность в кратчайшие сроки (в течение дня) различать наследственную и приобретенную формы ТТП, что крайне важно, поскольку для их лечения применяются принципиально различные терапевтические подходы. Анализ всех функционально важных областей генов ITGA2B и ITGB3 для 4-х пациентов с входящим диагнозом тромбастения Гланцмана позволил выявить новый патогенный вариант гена ITGA2B (c.1810 insC), ранее не встречавшийся в мировой популяции. Разработана таргетная NGS-панель для анализа мутаций в генах (40 генов), нарушение которых ассоциировано с различными наследственными дефектами тромбопоэза. По итогам первого года работы сформирована и отработана панель моноклональных антител для определения состава малых субпопуляций Т-клеток и обработана первая группа образцов 7 здоровых доноров для установления референсных значений количественных характеристик популяций Т-клеток, таких как наивные Т-клетки, клетки центральной памяти, эффекторные клетки памяти и терминальные эффекторные клетки. Также разработана сложная тактика гейтирования и выделения 52 различных субпопуляций Т-клеток. Запланированная работа выполнена в полном объеме, но планируется продолжать набор выборки доноров разных.

Тема IV: Совершенствование различных этапов выполнения трансплантации аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток и разработка новых подходов профилактики и терапии посттрансплантационных осложнений

В работе была оценена реконституция Т-клеточного звена иммунной системы у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Показано влияние различных режимов профилактики РТПХ на Т-клеточный пул. Показан основной механизм иммуносупрессии после трансплантации - а именно деплеция наивных Т-клеток. В рамках проведенной работы было проведено изучение прогностической значимости минимальной остаточной болезни перед трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных острыми лейкозами. Показано что наличие МОБ негативно влияет на показатели рецидива после трансплантации, что существенно ухудшает общую выживаемость этих пациентов. На большой клинической группе была сделана оценка результатов аутологичной ТГСК у больных множественной миеломой с диализ-зависимой почечной недостаточностью, а также пациентво с AL-амилоидозом. Летальность, связанная с трансплантацией, отсутствовала. При медиане наблюдения 53

мес. 5-летняя выживаемость без прогрессии составила 59%, общая выживаемость - 93%. Проведено изучение эффективности трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных лимфомой из клеток мантии с мутациями в гене TP53 показана эффективность трансплантации у данной категории пациентов.

Тема V: Оптимизация программы диагностики, лечения и мониторинга неопухолевых орфанных заболеваний системы крови у взрослых на основе молекулярно-генетических, биохимических, иммунофенотипических параметров

Впервые в РФ создан Регистр пациентов с болезнью Гоше (БГ), который включил 340 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. Изучение параметров ответа на лечение позволяет своевременно переводить на поддерживающий режим заместительной ферментной терапии пациентов, достигших целей лечения БГ.

Показано, что в 30% случаев пациенты с аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА) имеют резистентность к стандартной иммуносупрессивной терапии, наименьшая результативность наблюдается при холодовых формах АИГА. У 45-85% больных с резистентной АИГА гемолиз удается купировать ритуксимабом - моноклональными антителами к CD20 В-лимфоцитов. Проведенный предварительный анализ свидетельствует об эффективности редуцированных доз ритуксимаба в лечении пациентов с резистентными формами АИГА и о целесообразности применения ритуксимаба в качестве первой линии терапии АИГА с холодовыми агглютинами и смешанным типом аутоантител. Разработаны и утверждены (2021 г.) Минздравом России клинические рекомендации по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ) и острым порфириям (ОП).

Разработаны алгоритмы диагностики гипо- и гиперкоагуляционных состояний, новых подходов и возможностей к назначению терапии наследственных коагулопатий, разнообразных схем антикоагулянтной терапии у больных с тромботическими осложнениями и акушерскими неудачами, позволяющие контролировать кровотечения в группе больных с гипокоагуляционными изменениями и предотвращать повторные тромботические случаи у больных с гиперкоагуляционными нарушениями.

Индивидуализированные программы заместительной гемостатической терапии и профилактики осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с тяжелой формой гемофилии А позволяют улучшить качество жизни пациентов и уменьшить экономические затраты здравоохранения на лечение осложнений у данной группы

больных. Рекомендовано применение комбинированной гемостатической терапии фактора VIII и транексамовой кислоты при больших ортопедических операциях с целью снижения послеоперационной кровопотери, уменьшения послеоперационных осложнений. Для пациентов с коротким периодом полувыведения фактора VIII при больших ортопедических вмешательствах в раннем послеоперационном периоде целесообразно применять постоянную инфузию фактора VIII.

Тема VI: Оптимизация программной химиотерапии гемобластозов на основе пациентспецифических биологических маркеров заболевания

Проспективное исследование «Ранняя индукционная терапия и мониторинг» у больных ХМЛ показало, что частота достижения глубокого молекулярного ответа высокая, что в дальнейшем позволит увеличить долю больных в ремиссии без лечения.

Проведенный анализ эффективности курсов R-B и R-CHOP у больных ФЛ показал, что схема R-B более эффективна при ФЛ 1-го и 2-го, а R-CHOP – при 3 цитологическом типах. Объем опухоли (особенно наличие bulky), индекс FLIP1 и морфология ФЛ являются ключевыми критериями выбора терапии.

При применении неларабина у взрослых больных с рефрактерным течением/рецидивом острого Т- лимфобластного лейкоза/ лимфомы полученные нами данные не столь оптимистичны. У 3 из 10 больных в сроки до 1 года после алло-ТГСК развился рецидив заболевания. У 2 больных в полной ремиссии после алло-ТГСК срок наблюдения составляет 9 и 11 месяцев после алло-ТГСК. Однако включение неларабина в схемы химиотерапии при данных формах Т-ОЛЛ позволяют улучшить результаты химиотерапии.

Результаты программной терапии острых миелоидных лейкозов продемонстрировали, что для больных в ПР после 1-го курса, но с МОБ-положительным статусом необходимо выполнить аллоТГСК. Причем аллоТГСК больным должна быть выполнена как можно раньше.

Таргетная терапия руксолитинибом у больных ИП позволяет эффективно контролировать симптомы, опосредованные заболеванием, снижает риск тромботических осложнений, приводит к улучшению показателей ОВ.

Назначение ингибитора BRAFV600E вемурафениба у больных ВКЛ до начала приема стандартных препаратов для пациентов с глубокой нейтропенией/агранулоцитозом с или без инфекционных осложнений в качестве предварительной терапии перед предоставлением стандартного курса кладрибина позволили снизить частоту инфекционных осложнений и увеличить частоту ПР.

Создание обсервационного отделения при возникновении эпидемиологически неблагоприятных ситуаций явилось рациональным решением, позволившим уменьшить риск распространения инфекционных заболеваний, вовремя установить больным правильный диагноз, оказать медицинскую помощь при развитии жизнеугрожающих состояний, продолжить проведение терапии, включая высокодозную химиотерапию, а также оптимизировать деятельность медицинской организации без риска больших экономических потерь.

Более длительная продолжительность лечения и глубина МО (\leq MO4.5) у больных ХМЛ до отмены ИТК увеличивают вероятность сохранения ремиссии без лечения. Наше исследование показало, что выживаемость без молекулярного рецидива значимо не увеличивается при применении ИТК2 в первой линии по сравнению с иматинибом. Тем не менее терапия ИТК2 в качестве первой линии позволяет сократить вдвое длительность лечения, необходимого для достижения сопоставимых показателей выживаемости без молекулярного рецидива по сравнению с иматинибом.

Терапия больных ОПЛ, основанная на дифференцированном подходе в зависимости от группы риска, с добавлением цитостатических препаратов лишь больным из группы высокого риска, позволила достичь в 100 % молекулярную ремиссию и безрецидивную выживаемость. Неудачи терапии (ранняя летальность и смерть в ремиссии) были у больных из группы высокого риска обусловлены тяжелым состоянием больных на момент диагностики ОПЛ.

Исследование по применению брентуксимаб ведотина в Российской Федерации показало, что препарат является эффективным и хорошо переносимым для лечения поздних стадий CD30+ЛПЗ кожи. Применение брентуксимаб ведотина в неблагоприятной когорте предлеченных пациентов с кожными Т-клеточными лимфомами показало достаточно обнадеживающие результаты лечения с возможностью достижения большого процента общего ответа при приемлемой токсичности.

Выполненная работа по эффективности и экономической целесообразности режимов химиотерапии R-DA-EPOCH и R-mNHL-BFM-90 ± ауто-ТСКК у больных ДВККЛ показала, что терапия по схеме R-mNHL-BFM-90 представляет собой экономически наиболее эффективную стратегию с наименьшими затратами на лечение. Применение данной схемы за счет достижения ПР позволяет предупредить затраты, связанные с проведением второй и последующих линий противоопухолевой терапии, что существенно уменьшает совокупные затраты.

Тема VII: Разработка диагностических наборов реагентов для молекулярно-генетического выявления онкогенных транскриптов с целью ранней диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах

На основе технологий мультиплексной ПЦР разработаны прототипы диагностических тест систем для дополнительного тестирования лиц с подозрением на наличие острого лейкоза (набор «Лейкемия-Скрин»), для уточнения молекулярно-генетического профиля (набор «Лейкемия-Дифф»), а также для контроля эффективности терапии ОМЛ (набор «Лейкемия-Монитор-М») и ОЛЛ (набор «Лейкемия-Монитор-Л»). Использование разработанных наборов позволяет в течение одного рабочего выявлять экспрессию мРНК пяти онкогенов (WT1, PRAME, EVI-1, HMGA2, BAALC) и 14 отдельных химерных транскриптов (PML-RAR α , PICALM-MLLT10, MLL-AF4, MLL-AF6, MLL-AF9, MLL-AF10, MLL-ENL, MLL-ELL, CBFB-MYH11, AML1-ETO, ETV6-RUNX1, E2A-PBX1, SIL-TAL, BCR-ABL1(p190, p210, p230)). Разработаны стандартные образцы, позволяющие осуществлять контроль правильности выполнения анализа. Была продемонстрирована выраженная гетерогенность экспрессии онкогенных мРНК и сформулирована гипотеза наличия специфических особенностей соотношения экспрессии отдельных онкогенных мРНК при лейкомогенезе. Предложенный с учетом выявленных соотношений РНК-маркеров алгоритм интерпретации результатов теста «Лейкемия-Скрин», позволяет обеспечить высокий уровень диагностической эффективности с 96% чувствительностью и 71% специфичностью. По результатам выполненной работы оформлена патентная заявка на изобретение «Способ диагностики острых лейкозов и наборы для его выполнения», а также разработаны «Технические условия» производства заявленных наборов.

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

Изучение архитектурно-структурных изменений локальных покрытий, а именно: определение формы покрытий (плёнка, губка, гель-пластина), их влияние *in vitro* на образование первичного тромба при прямом контакте с кровью, зависимость гемостатической активности покрытий от введения микро- и наночастиц оксидов железа, проведение анализа физико-химических свойств, изучение различных технологических процессов получения покрытий, — позволило нам предложить к дальнейшей разработке производственного получения новых новых локальных гемостатических покрытий на основе хитозана и бактериальной целлюлозы. Анализ полученных данных показал, что покрытия на основе хитозана активны только при низком темпе кровотока (до

1,25 г/мин). Добавление в состав покрытий микро- и наночастиц оксидов железа резко усиливало гемостатическую активность вне зависимости от темпа кровотока, увеличивало поглотительную способность и плотность некоторых образцов. Результаты *in vitro* доказали усиление генерации тромбина и усиление потребления тромбоцитов (от 189,50 до 141,20 $\times 10^9$ /л) при контакте губки с кровью. Структурные изменения покрытий на основе бактериальной целлюлозы не приводили к снижению гемостатической активности (73,55–87,84 %), однако увеличивали пористость образцов, что требует дальнейшего исследования. Работа по исследованию выбора производственного процесса получения данных покрытий продолжается.

Сульфатированный галактоглобукоманнан со степенью полидисперсности 1,43; сульфатированный галактоглобукоманнан со степенью полидисперсности 1,5, а также галактоманнан, полученный сульфатированием комплексом сульфаминовая кислота–мочевина, со степенью полидисперсности 2,75 и галактоманнаны, полученные сульфатированием хлорсульфоновой кислотой в 1,4-диоксане не провоцируют агрегацию тромбоцитов человека и не влияют на гемолиз эритроцитов человека *in vitro*. Геморрагическая активность сульфата при внутривенное введение экспериментальным животным (в дозе 117 аПа ЕД/кг) в 20 раз меньше, чем геморрагическая активность нефракционированного гепарина в такой же дозе. Послойная модификация полиуретановых пластин кватернизированным хитозаном и нефракционированным гепарином приводит к высокой тромборезистентности.