

Краткий итоговый аналитический отчет о результатах выполненных работ за 2020г. в рамках государственного задания Минздрава России в части осуществления научных исследований и разработок в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Тема 1. «Факторы риска гендерного дисбаланса среди новорожденных детей и других нарушений внутриутробного развития плода и их профилактика у коренного населения, проживающего в экологически неблагоприятных районах Арктической зоны Российской Федерации»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990084-1

Впервые дана оценка основных тенденций изменения уровня содержания стойких токсичных веществ, таких как полихлорированные бифенилы, хлорорганические пестициды (ДДТ, ГХЦГ, хлорданы, токсафены и др.), в крови коренного населения Арктической зоны Российской Федерации за 15 летний период наблюдения. Впервые выполнена оценка уровней риска возникновения гендерного дисбаланса среди новорожденных детей и других нарушений внутриутробного развития плода у коренного населения. Впервые разработаны меры по обеспечению безопасных уровней воздействия СТВ и мер по их контролю. Внедрение данных мероприятий послужит первым шагом по переходу от базовой политики монетарной поддержки и стимулирования рождаемости к мерам сохранения репродуктивного здоровья человека и уменьшению репродуктивных потерь.

По результатам выполнения настоящей научно-исследовательской работы будут внедрены профилактические мероприятия, которые позволяют существенно снизить экспозицию коренных жителей к стойким токсичным веществам. Данные меры являются эффективным средством профилактики неблагоприятных эффектов воздействия СТВ на организм коренных жителей, прежде всего на репродуктивное здоровье женщин (беременных, кормящих и планирующих беременность), а также на здоровье новорожденных, что окажет позитивное влияние в целом на здоровье будущих поколений коренных малочисленных народов.

Тема 2. «Разработка и внедрение современных методов и технологий, направленных на повышение эффективности

профилактики и лечения стоматологических заболеваний у детей с патологией пищеварительного тракта и орфанными заболеваниями»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990082-7

В ходе выполнения НИР получены следующие научные результаты: у детей с рано выявленной целиакией, показатели кариесогенной ситуации полости рта и показатели костного метаболизма значительно лучше, чем у детей с поздно выявленной целиакией. Анализ данных коэффициентов активации базофилов периферической крови, которые характеризуют безопасность зубных паст позволяет рекомендовать детям с 6 лет с целиакией специализированные зубные пасты. В результате проведенной работы подана заявка на патент на изобретение «Способ гигиены полости рта у детей». Впервые показано, что проведение своевременной коррекции ротового дыхания у детей с муковисцидозом значительно уменьшит выраженность зубо-челюстных аномалий и улучшит качество жизни. Разработаны и внедрены в клиническую деятельность «Методические рекомендации по уходу за полостью рта у детей с орфанными заболеваниями». Персонализированная программа профилактики стоматологических заболеваний с орфанными заболеваниями неврологической патологии с тяжелой степенью двигательных нарушений, у детей с орфанными заболеваниями неврологического генеза с тяжелой степенью двигательных нарушений позволит учесть особенности тяжести соматической патологии детей с ограниченными возможностями здоровья и, в совокупности, является этапом реабилитации таких детей.

Тема 3. «Идентификация генетических маркеров возбудителей основных кишечных протозойных инвазий и разработка на их основе комплекса диагностических тест-систем»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990085-8

Настоящее исследование было направлено на идентификацию филогенетических маркеров основных видов простейших – возбудителей паразитарных инвазий человека, которые могут быть использованы для разработки диагностических тест-систем с количественным определением ДНК возбудителя в клиническом материале и на объектах внешней среды, являющихся факторами передачи. В результате выполненной работы были определены филогенетически значимые участки генома основных видов простейших – возбудителей паразитарных инвазий человека (*Blastocystis*

spp., *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp.*). Проведена апробация и оценка эффективности различных подходов к молекулярной идентификации *Blastocystis spp.*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp.* Разработан алгоритм молекулярной идентификации и генетического типирования *Blastocystis spp.*

По результатам работы за 2018-2020гг. опубликовано 6 полнотекстовых статей. Результаты работы могут быть использованы в области эпидемиологии, медицинской и ветеринарной паразитологии, инфекционных болезней, коммунальной гигиены.

Тема 4. «Оценка риска распространения древних инфекционных агентов на основе комплексных палеомикробиологических исследований археологических и палеонтологических находок, сделанных в Арктической зоне Российской Федерации»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990079-7

Исследование было направлено на оценку риска распространения древних инфекционных агентов на основе комплексных палеомикробиологических исследований археологических и палеонтологических находок, сделанных в Арктической зоне Российской Федерации. Изучены несколько «территорий (объектов) риска» потенциальной реактивации древних патогенов: крупные местонахождения плейстоценовой фауны Восточной Сибири (Бунге-Толль, Батагайка), археологические памятники, свидетельствующие о присутствии древнего человека в Арктике (Янская, Жоховская стоянки первобытного человека, останки древнего населения Западной Сибири из селькупских захоронений), зоны абляции интенсивно тающих ледников архипелага Шпицберген (Альдегонда, Стемме, Гренфиордбреен). Методология исследований включала в себя идентификацию культивируемой бактериальной микробиоты а также, сравнительный анализ геномов выделенных штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий, (*Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter spp.*, *Serratia spp.*).

В результате проведенных исследований было обосновано предположение о том, что в условиях воздействия полярной среды обитания, бактерии изученных видов способны сохранять факторы патогенности, наряду с приобретением дополнительных генетических факторов, обеспечивающим им возможность адаптироваться к экстремальным факторам, что актуализирует вопрос необходимости систематического микробиологического мониторинга в полярных регионах.

Практические результаты проведенных исследований включили в себя подготовку проекта методических рекомендаций по обеспечению биологической безопасности при проведении палеонтологических и археологических раскопок в зоне многолетней мерзлоты.

По результатам работы за 2018-2020гг. опубликовано 6 полнотекстовых статей. Результаты работы могут быть использованы в области эпидемиологического надзора за сапронозными и зоонозными инфекционными заболеваниями.

Тема 5. « Исследование прижизненной локализации мезенхимных стволовых клеток, меченых суперпарамагнитными наночастицами магнетита, в тканях и органах реципиента»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990081-0

С целью разработки метода исследования биораспределения биомедицинских клеточных продуктов после трансплантации, пригодного для проведения доклинических и клинических исследований, в 2020 г. получены следующие результаты: 1) разработан метод включения в клетки непокрытых наночастиц оксида железа; 2) доказана *in situ* и *in vivo* возможность визуализации меченых клеток на клинических томографах (1Т и 1,5Т). 3) Показана стабильность присутствия метки в течение 1 года после трансплантации. Область применения результатов работы - оценка биораспределения клеточного трансплантата в крупных организмах методом магнитно-резонансной томографии, при доклинических исследованиях биомедицинских клеточных продуктов согласно Федеральному закону N 180-ФЗ.

По результатам работы в 2019-2020гг. опубликовано 10 полнотекстовых статей (8 – в 2020 г) из них 3 – в журналах, цитируемых в базе Web of Science (1 – в 2019, 2 – в 2020г). Подана заявка на патент РФ.

Тема 6. «Разработка быстрых методов диагностики микозов и молекулярных маркеров резистентности клинически значимых микромицетов к противогрибковым препаратам»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А18-118052990083-4

С целью выявления молекулярных маркеров устойчивости патогенных грибов к противогрибковым препаратам проведен мониторинг распространения резистентности возбудителей микозов к противогрибковым препаратам, в том числе в рамках международного мультицентрового

исследования Clinical Implications of Azol-Resistant Aspergillosis («CLARITY»). Охарактеризованы морфо-биологические и молекулярно-генетические свойства *C. auris* - контагиозного мультирезистентного нозокомиального патогена. Изучены полиморфные варианты фермента ланостерол-14-альфа-деметилазы, ассоциированные с формированием резистентности, клинических изолятов, выделенных на территории РФ: *CYP51A* видов *Aspergillus non-fumigatus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*) и *ERG11 Candida albicans*. Определен ареал распространения генотипа ITS грибов комплекса *Trichophyton mentagrophytes* / *T. interdigitale*, ассоциированный с приобретением резистентности к тербинафину.

В ходе работы разработаны быстрые методы диагностики микозов (на основе масс-спектрометрии для определения резистентности микромицетов к антимикотикам и на основе ПЦР для выявления ДНК *Candida auris* в клинических биосубстратах). Была продолжена апробация ПЦР-тест-системы для обнаружения *Aspergillus* spp. и мукомицетов («HRM-Zygo-Asp») и апробация набора реагентов «AfAg-ИФА» для определения антигена *Aspergillus* spp. в биологическом материале.

Результаты работы будут способствовать совершенствованию диагностики микозов, разработки мер для предупреждения распространения резистентных возбудителей и оптимизации антимикотической терапии.

Тема 7. «Исследование метаболизма стероидов методами жидкостной и газовой хромато–масс–спектрометрии у больных с различными нарушениями адреналового стероидогенеза, ее роль в патогенезе малигнизации надпочечников и создание кластеров заболеваний надпочечников на основе многофакторного анализа».

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2019г и плановый период 2020-2021гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А19-119053190034-0

У больных адренокортикальным раком (АКР) получены 3 варианта стероидных профилей мочи (СПМ) методом ГХ-МС. Увеличение экскреции с мочой прегнандиола, прегнантриола, прегнентриола и неклассических 5-ene-прегненов повысило точность диагностики АКР на дооперационном этапе при всех вариантах СПМ до 100%. Методом ГХ-МС и ВЭЖХ у пациентов с синдромом Кушинга надпочечникового (СКН) и гипофизарного генеза (СКГ) получены пороговые значения стероидов, которые имеют особое значение при сомнительном диагнозе и для определения вида хирургического лечения пациента. Значимыми стероидами для дифференциальной диагностики СКН и СКГ были метаболиты ДНЕА и андростендиона, глюкокортикоиды (тетрагидро-11-дезоксикортизол, сумма

α -кортола и β -кортола) при проведении многофакторного анализа. По данным ГХ-МС у пациентов с инциденталомой надпочечников с уровнем кортизола после теста с 1 мг дексаметазона меньше 50 нмоль/л установлены признаки недостаточности 21-гидроксилазы (10,6%), нарушения метаболизма андрогенов, глюкокортикоидов и минералокортикоидов, признаки недостаточности 11 β -гидроксилазы и 17-гидроксилазы (58,9%), у оперированных пациентов – положительные корреляции андрогенов со злокачественным потенциалом опухоли, что играет важную роль в определении тактики и объема хирургического лечения пациентов.

По результатам работы в 2020 г. опубликовано 6 статей, из них 1 – в журнале, цитируемом в базе Scopus, сделано 5 докладов на всероссийских конференциях с международным участием.

Результаты работы могут быть использованы в области эндокринологии, хирургии, гинекологии, клинической лабораторной диагностики с целью диагностики различных форм синдрома гиперандрогении, ранних признаков малигнизации новообразований коры надпочечников, агрессивного течения феохромоцитомы.

Тема 8. «Морфо-биологические особенности патогенных мукоморлицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. Сроки выполнения: 2019 г и плановый период 2020-2021 гг. Рег. номер ЕГИСУ: АААА-А19-119053190038-8

С целью продолжения разработки быстрых методов лабораторной диагностики мукоморлицоза и испытания новых противогрибковых препаратов впервые созданы модели инвазивного мукоморлицоза легких с использованием штаммов *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus microsporus*, выделенных от больных в России, и оригинальной схемы индукции нейтропении у мышей. Впервые определены минимальные подавляющие концентрации позаконазола и амфотерицина В для возбудителей мукоморлицоза в России. Впервые реконструированы протеазы мукоморлицетов *Rhizomucor miehei*, *Syncephalastrum racemosum*, белок-адгезин *Mucor lusitanicus*. Изучены морфологические и ультраструктурные особенности *Rhizopus arrhizus*, *R. microsporus*. Продолжена апробация разработанной мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-ZYGO-ASP» на биоматериале от больных мукоморлицозом. Создан регистр пациентов с мукоморлицозом, установлены основные фоновые заболевания. По результатам работы в 2019-2020 гг. опубликовано 15 полнотекстовых статей, из них 3 – в журналах, цитируемых в базах Scopus и Web of Science. По результатам данной научно-

исследовательской работы будет внедрен быстрый молекулярно-генетический метод диагностики мукормикоза, который позволит существенно снизить летальность больных этим инвазивным микозом, а также будут внедрены экспериментальные модели для оценки эффективности новых антимикотических препаратов *in vivo*. Результаты работы могут быть использованы в области гематологии, эндокринологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии, оториноларингологии, онкологии, инфекционных болезней, фармакологии, а также экологии человека.

Тема 9. «Бактериофаги как перспективные средства антибактериальной терапии в условиях распространения бактерий с множественной лекарственной устойчивостью»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. Сроки выполнения: 2019г и плановый период 2020-2021 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А19-119053190035-7

Целью проекта является изучение биологических (в т.ч. генетических) характеристик бактериофагов, перспективных для лечения инфекций, обусловленных бактериями с множественной лекарственной устойчивостью.

Исследования, проведенные в 2020 году, включали в себя расширение коллекции микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний с охарактеризованной чувствительностью к бактериофагам; создание коллекции высоковирулентных бактериофагов, эффективных в отношении полиантибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, полученных от пациентов отделений риска в стационарах различного профиля; разработку методика моделирования формирования вирусного аэрозоля с помощью бактериофага; оценку эффективности бактериофагов для борьбы с биопленками. В 2020 г. Продолжено формирование коллекции литических бактериофагов, эффективных в отношении антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных заболеваний. Текущая коллекция фагов включает 33 бактериофага, выделенных из клинического биологического материала от пациентов и из объектов внешней среды (городские сточные воды, водные экосистемы Антарктики).

Разработана методика моделирования формирования вирусного аэрозоля при проведении медицинских манипуляций и использовании средств индивидуальной защиты в клинике для лечения пациентов с COVID-19, основанной на применении бактериофага *Enterococcus faecalis phita Efl_1*.

Проведены исследования для оценки эффективности бактериофагов для борьбы с биопленками возбудителей инфекционных заболеваний.

Показано, что бактериофаги можно с успехом использовать для профилактики образования биопленок и разрушения зрелых биопленок.

По результатам работы за 2020гг. опубликовано 2 полнотекстовые статьи. Результаты работы могут быть использованы в области госпитальной эпидемиологии, эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи.

Тема 10. «Доклиническая оценка эффективности и сравнение свойств стволовых клеток пульпы и периодонта»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. Сроки выполнения: 2019 г. и плановый период 2020-2021 гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А19-119053190037-1

С целью дальнейшей разработки технологии создания клеточнозаселенных имплантов для восстановления костных дефектов в 2020 г. разработан метод получения стволовых клеток пульпы и периодонта методом нейросфер. Показано, что при ферментативном методе получения первичных культур снижается число жизнеспособных клеток в диссоциированных тканях по сравнению с образцами, полученными путем механического измельчения. Однако в образцах, полученных путем измельчения, крайне редко образуются нейросферы – шарообразные скопления плюрипотентно-подобных клеток, сохранивших маркеры нервной ткани. Разработана технология 3D печати по данным компьютерной томографии заливочных форм, воспроизводящих дефект альвеолярной кости пациента. Эти формы заполняли скаффолдом на основе фибринового клея и стволовых клеток пульпы зуба. Показано, что клетки сохраняют свои морфо-функциональные свойства в составе такого скаффолда. В экспериментах на мышцах показано, что приготовленные по данной технологии импланты ускоряют процессы ремоделирования в костной ткани.

По результатам работы в 2019-2020гг. опубликовано 6 полнотекстовых статьи из них 2 – в журналах, цитируемых в базе Web of Science.

Тема 11. «Изучение общих и частных механизмов формирования и прогрессирования ревматических и сердечно-сосудистых заболеваний, а также разработка методов коррекции патогенетически значимых иммунных нарушений у данной категории больных»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. Сроки выполнения: 2019 г. и плановый период 2020-2021гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А16-116042010008-3

На основании изучения общих и частных механизмов формирования и прогрессирования ревматических (РЗ) и сердечно-сосудистых (СС) заболеваний разрабатываются методы коррекции патогенетически значимых

иммунных нарушений у данной категории больных. Основными задачами, решаемыми в 2020 г. (II этап работы), являлось изучение особенностей развития и течения РЗ и СС патологии в их взаимосвязи с факторами риска формирования и прогрессирования ревмокардиального, ревмокардиоренального и ревматодерматологического континуумов. Объектом исследования являются пациенты с РЗ. Применяли эпидемиологические, клинические, лабораторные (включая иммуногистохимический и молекулярно-генетический) методы.

На втором этапе исследования продолжено формирование регистров пациентов с РЗ (8 регистров, n=7878), уточнена встречаемость СС заболеваний у пациентов с гиперурикемией, подагрой и системной красной волчанкой (СКВ), оценена роль генетических полиморфизмов системы HLA-DR4 и формирования антинуклеарных антител в развитии тромбозов у пациентов с СКВ и антифосфолипидным синдромом, оценены особенности течения РЗ и СС заболеваний при биологической и таргетной терапии, в том числе у беременных. По результатам исследования разработана и зарегистрирована программа ЭВМ для ранней диагностики аксиального спондилоартрита, опубликовано 32 научных работы, результаты исследований доложены на 27 научно-практических мероприятиях.

Тема 12. «Предрасполагающие факторы и механизмы неблагоприятного воздействия лекарств на беременность и развитие плода»

Обоснование выполнения: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. Сроки выполнения: 2019г и плановый период 2020-2021гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А19-119060390106-0

С целью выяснения влияния ацетаминофена на клетки нейрональной линии РС12 были продолжены исследования, направленные на изучения изменений различных метаболических показателей (жизнеспособности, накопления активных форм кислорода, изменения митохондриального мембранного потенциала) под воздействием ацетаминофена. Впервые были получены данные о влиянии индуцированного воспалительного процесса (индуктор бактериальный липополисахарид) и окислительного стресса (индуктор перекись водорода) на изменение жизнеспособности клеток нейрональной линии РС12 при действии ацетаминофена. По результатам исследования в 2019-2020 годах были подготовлены 5 публикаций и 18 докладов на конференциях. Результаты работы позволяют расширить представления о механизмах действия ацетаминофена на нейрональные клеточные линии, так как ранее в литературе не было описано влияние ацетаминофена на нейрональные клеточные линии в условиях патологии.