Краткий итоговый аналитический отчет о результатах выполненных работ

за 2018г. 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 неблагополучных районах Арктической зоны Российской Федерации»**

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

Проводится разработка методологии оценки риска гендерной диспропорции и других нарушений внутриутробного развития плода и разработка рекомендаций по их профилактике при воздействии вредных факторов окружающей среды на организм женщин репродуктивного возраста.

В ходе выполнения НИР получены следующие научные результаты: частота неблагоприятных исходов беременностей отмечена в 8,4%, что существенно выше, чем в среднем по России (4.1%); установлено, что несмотря на глобальные действия в рамках Стокгольмской конвенции по сокращению производства и использования СЭТ, загрязняющие вещества по-прежнему присутствуют в арктической среде, но средние уровни содержания СЭТ в материнской крови снизились по сравнению с когортами, обследованными в 2001 году.; обнаружена тесная статистическая связь между высокими уровнями СЭТ и низким весом при рождении, а также содержанием гексахлорбензол (ГХБ) и β- гексахлорциклогексан в сыворотке крови матери в диапазоне выше 0,2 мкг/л , что, по-видимому, можно рассматривать как пороговый показатель риска, способный влиять на низкий вес при рождении. Несмотря на повышенные уровни, некоторые загрязнители с высокой степенью озабоченности (p'- дихлордифенилтрихлорэтан, Полибромированные дифенил эфиры 153, ГХБ) в представленных арктических популяциях продолжают уменьшаться по сравнению с предыдущими годами.

**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:* 2018г. и плановый период 2019-2020гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990082-7

Проводится анализ особенностей стоматологических заболеваний у детей с муковисцедозом и целиакией с целью разработки программы профилактики стоматологических заболеваний у детей с орфанными заболеваниями и гастроэнтерологической патологией.

В 2018 году проведено обследование стоматологического статуса детей с целиакией и муковисцидозом. Установлено, что у детей, рождённых от матерей с целиакией высока вероятность развития гипоплазии эмали и высокая распространённость кариеса постоянных зубов. Выявлена обратная сильная корреляционная зависимость между резистентностью эмали постоянных зубов и иммуноглобулинов класса А к ферменту тканевой трансглутаминазе в сыворотке у детей с целиакией, рожденных от матерей с целиакией. Выялено, что у детей с муковисцидозом показатели кариеса зубов значительно ниже по сравнению с детьми, не имеющими данного заболевания при том, что показатели кариесогенной ситуации полости рта у данной группы детей были высокими. Установлено, что низкая активность кариозного процесса связана с низким титром *Streptococcus mutans* в слюне и ротовой жидкости на фоне терапии антибиотиками. У детей с муковисцидозом выявлена значительно большая встречаемость глубокого, дистального и пререкрестного видов прикусов по сравнению с детьми группы контроля.

**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:* 2018г. и плановый период 2019-2020гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990085-8

Основные направления исследований, проводимых в 2018 году: разработка оптимального алгоритма идентификации бластоцист – возбудителей одной из наиболее распространенных групп кишечных протозоозов человека. В результате проведенных исследований установлено, что на территории географически дистантных регионов России (Санкт-Петербурга и Чукотского АО) циркулируют бластоцисты, относящиеся к субтипам ST1, ST2, ST3, ST4, ST7. В структуре популяции доминируют антропозоонозные субтипы ST1, ST2, ST3. Разработанный алгоритм идентификации и генетического типирования бластоцист включает в себя последовательное использование ПЦР с родоспецифическими праймерами, ПЦР – субтипирование и секвенирование фрагмента гена малой субъединицы рРНК.

В международной базе данных GenBank депонированы 29 последовательностей фрагментов гена малой субъединицы рРНК бластоцист, полученных в результате исследования (GenBank Acc. №№ MK100348 - MK100376).

**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:* 2018г. и плановый период 2019-2020гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990079-7

Основные направления исследований, проводимых в 2018 году включили в себя изучение микробных сообществ нескольких палеонтологических объектов, представляющих собой мерзлые мумии ископаемых животных плейстоценового периода, обнаруженные в зоне многолетней мерзлоты., микробиоты археологических памятников высокоширотной Арктики (Янская стоянка первобытного человека), а также изучение бактерий, ассоциированных с тающими ледниками архипелага Шпицберген (Альдегонда, Гренфиордбреен).

В ходе полевых исследований сформирована коллекция условно-патогенных мезофильных бактерий, выделенных из палеонтологического материала в условиях многолетней мерзлоты и материала, ассоциированного с поверхностными водами, формирующимися за счет таяния арктических ледников. Установлено, что микробиота вод зоны абляции тающих ледников Альдегонда, Гренфиордбреен содержит условно-патогенные гетеротрофные бактерий родов *Pseudomonas sp.*,*Enterococcus sp., Bacillus sp.,Enterobcter sp., Acinetobacter sp.* В геномах изученых палеобактерий выявлены генетические детерминанты патогенности, что позволяет использовать последовательности этих геномов для изучения молекулярной эволюции современных возбудителей инфекционных заболеваний.

**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:* 2018г. и плановый период 2019-2020гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990081-0

В ходе выполнения НИР в 2018 г. получены следующие научные результаты: подобраны условия мечения клеток, их очистки от не содержащих включения парамагнетита, оценена жизнеспособность меченых клеток. В качестве контрастирующего агента использовали непокрытые частицы железа («Передовые порошковые технологии», Россия). С помощью методов лазерной дифракции и динамического светового рассеивания определено, что данные частицы после обработки ультразвуком действительно обладают размером 100 нм, как заявлено производителем, однако в растворах агрегируют в течение первых 10 мин до частиц 1-3 мкм и далее стабильны. Оптимальной концентрацией для введения в клетку (с учетом баланса «воздействие на клетку-возможность визуализации) определена концентрация частиц в культуральной среде 300 мкг/мл. Разделение клеток достигнуто с помощью метода магнитной сепарации. Показано, что скорость пролиферации клеток не отличалась от контрольной (немеченые клетки).

На данном этапе показана возможность включения в клетки непокрытых наночастиц оксида железа, полученных методом электрического взрыва проводника в атмосфере воздуха

Область применения результатов работы оценка биораспределения клеточного трансплантата в крупных организмах (кролик, собака, свинья, приматы, человек) методом магнитно-резонансной томографии. Такая оценка является необходимым этапом доклинических исследований клеточных пролуктов согласно ФЗ №180.

**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:* 2018г. и плановый период 2019-2020гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990083-4

В ходе работы был проведен мониторинг чувствительности к антимикотическим препаратам: отмечено статистически достоверное снижение чувствительности к флуконазолу среди возбудителей криптококкоза, сниженная чувствительность к азоловым препаратам обнаружена среди видов *Candida* non-albicans. 4 штамма нового внутрибольничного патогена *Candida auris* были резистентны к азолам и эхинокандинам и чувствительны к амфотерицину В.

Проведен полногеномный анализ *C. auris* РКПГ-1821. Показано, что штамм принадлежит к индо-пакистанской кладе и имеет две замены F105L и K143R в гене *ERG11*, ответственные за возникновение устойчивости *C. albican,.* Микроморфология и ультраструктура дрожжевых клеток *C. auris* (РКПГY-1821) отличалась от других видов рода *Candida*, в том числе резистентных. Описан новый способ вторичного использования запасных липидов зрелой дрожжевой клеткой, происходящий с участием вакуолей.

Продолжена работа по апробации мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» на клиническом материале пациентов с микозами. Чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов тест-системы составила 70%, 87%, 82% и 87%, соответственно. При исследовании БАЛ совместное использование разрабатываемой ПЦР тест-системы и галактоманнанового теста (“Platelia-*Aspergillus* Ag” (Bio-Rad, США)) чувствительность и специфичность диагностики возрастает до 91-92%, что соответствует рекомендациям международных обществ ESCMID-ECMM-ERS (2018). Проведена апробация экспериментального набора реагентов“AfAg-ИФА”, разработанного в ИОХ РАН. Полученные данные указывают на сравнимые с тест-системой “Platelia *Aspe gillus* AG” показатели теста “AfAg-ИФА“ для положительных сывороток крови и БАЛ.

Реализация представляемой НИР - экономически эффективна. Исследование будет основой профилактических мер для предотвращения распространения мультирезистентных изолятов микромицетов, появления новых видов с высокой вирулентностью, и способствовать снижению бремени инвазивных микозов. Результаты НИР используются в учебном процессе кафедры медицинской микробиологии и клинической микологии, аллергологии и иммунологии, в лечебно-диагностической работе микологической клиники ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России.

**Тема 7. «Разработка и внедрение оптимальной модели нейрохирургической службы для перинатальной медицины (при патологии у плодов, новорождённых и беременных женщин».**

*Обоснование выполнения:* Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2016-2018гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А16-116042010010-6

Объект исследования – единство биологических систем «мать-плод-новорождённый» и «новорожденный-ребенок-взрослый».

Сформулированы основные практические задачи, которые должна решать нейрохирургическая служба перинатальной медицины. Предложен интегративный критерий оценки эффективности оказания медицинской помощи при нейрохирургической патологии у плодов, новорождённых и беременных женщин – это соотношение «польза-цена-время». «Оптимальная» модель должна обеспечить наилучшее (оптимальное) соотношение «польза-цена-время».

Разработаны и усовершенствованы инновационные технологии оказания медицинской помощи плодам, новорождённым и беременным женщинам с нейрохирургической патологией. Сформулированы две базовые медицинские концепции («Плод как нейрохирургический пациент» и «Оптимальная медицинская помощь»). Разработаны, изготовлены и апробированы (на фантомах-симуляторах и в клинических условиях) новые элементы интегративного (гибридного) операционного мини-комплекса и диагностического мини-комплекса. Создана работающая модель Санкт-Петербургского кластера «Перинатальная нейрохирургия».

Получено положительное решение по 1 изобретению, подготовлено 4 главы в монографии, опубликовано 7 статей в журналах ВАК и 2 работы в SCOPUS, 6 тезисов докладов, 4 методических рекомендации, сделано 8 докладов (3 за рубежом).

Предложенные инновационные технологии (например, диагностический и хирургический мини-комплексы с телемедицинским обеспечением) могут применяться не только в перинатальной медицине, но и в условиях профилактической, неотложной, плановой, военной, экстремальной и космической нейромедицины.

**Тема 8. «Исследование морфо-функциональных свойств мезенхимных стволовых клеток при длительном культивировании in vitro»**

*Обоснование выполнения:* Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения*: 2016-2018гг*. Рег. номер ЕГИС*У: АААА-А16-116042010011-3

*Результат:* Использование мезенхимных стволовых клетки (МСК), как наиболее перспективных источников для клеточной терапии различных заболеваний, связано с необходимостью их культивирования ex vivo, в ходе которого могут значительно изменяться свойства и характеристики клеток, что влияет на безопасность и эффективность их применения. В ходе выполнения проекта и экспериментов по определению уровня онкомаркеров разработан комплекс тестов, позволяющих оценить наличие онкотрансформированных клеток в культивируемых образцах. Показано, что МСК пупочного канатика человека способны к сохранению генетической стабильности функциональной активности в течение 6 месяцев культивирования ex vivo не подвергаясь онкотрансформации.

На сегодня не выявлено случаев спонтанной онкотрансформации, однако обнаружены признаки клональной изменчивости, что говорит о некоторой нестабильности генома при культивировании in vitro.

**Тема 9. «Молекулярные предикторы развития микозов и микоаллергозов различного генеза на основе иммунопатогенеза»**

*Обоснование выполнения:* Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения*: 2016-2018гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А16-116042010012-0

*Результат*: Определены этиология, факторы риска, основные клинические признаки и оценена выживаемость у больных диссеминированным инвазивным аспергиллёзом (ИА), сочетанной грибковой инфекцией, ВИЧ-инфицированных. Выявлены особенности специфического иммунного ответа онкогематологических больных на ранней стадии ИА; создан регистр больных «доказанным» и «вероятным» ИА. Разработаны эффективные методы и алгоритм диагностики грибковых инфекций и оптимизирована клинико-эндоскопическая диагностика для раннего выявления микотической инфекции у реципиентов-трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) детского возраста. Выявлены некоторые молекулярно-генетические предикторы (гены-кандидаты) возникновения ИА, позволяющие с большей достоверностью стратифицировать риски ИА у онкогематологических больных. У пациентов созданного Регистра больных бронхиальной астмой (БА) и муковисцедозом (МВ) установлена распространённость основных форм аспергиллеза и показана необходимость скринингового обследования для оценки микогенной сенсибилизации и выявления грибов рода *Aspergillus*, определены ранние диагностические маркеры развития аллергического бронхиального лёгочного аспергиллеза и оценена клинико-иммунологическая эффективность различной антимикотической терапии.

**Тема 10. «Инновационные технологии квантовой медицины и магнитных полей в лечении и реабилитации социальных заболеваний»**

*Обоснование выполнения:* Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2016-2018гг. *Рег. номер ЕГИСУ:* АААА-А16-116042010006-9

Объектом исследования являются новые технологии физиотерапии и медицинской реабилитации (электромагнитные волны терагерцевого диапазона, фотохромотерапия, КВЧ-терапия, лазеротерапия, лекарственный электрофорез современными лекарственными средствами) у больных терапевтического, неврологического и нейрохирургического профиля.

Впервые были разработаны и научно обоснованы новые методы и методики лечения больных с инсультом, псориазом, сахарным диабетом, черепно-мозговой травмой с использованием новых технологий физиотерапии и медицинской реабилитации (электромагнитные волны терагерцевого диапазона, фотохромотерапия с узкополостным оптическим излучением (ФХТ с УОИ), КВЧ-терапия, лазеротерапия, лекарственный электрофорез современными лекарственными средствами). В лечении заболеваний центральной нервной системы разработана новая научная концепция дифференцированного применения КВЧ терапии, доказано противоболевое и нейротропное действие инфракрасного излучения ТГц диапазона, оказано нормализующее влияние фотохромотерапии длиной волны 540 нм на повышение тонуса мимической мускулатуры (патологические синкинезии и гемиспазмы). Показаны дополнительные преимущества ФХТ УОИ с длиной волны 530 нм в восстановлении общего функционального состояния, внимания и устного счета, а также чтения и речи при ишемической природе повреждения головного мозга.

**Тема 11. «Исследование стероидных профилей биологических жидкостей методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) в сочетании с методами иммуноанализа в дифференциальной диагностике заболеваний гипофизарно-надпочечниковой системы. Дифференциальная диагностика, клиника и тактика ведения больных при объемных образованиях надпочечников»**

*Обоснование выполнения*: Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения*: 2016-2018гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А16-116042010008-3

*Результат:* оптимизирована пробоподготовка, разработаны хроматографическое разделение и количественное определение экскреции стероидов с мочой (андрогенов, глюкокортикоидов, минералокортикоидов, их предшественников и метаболитов) методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС). Всего идентифицировано 68 стероидов. На основании исследования стероидных профилей методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ГХ-МС в сочетании с методами иммуноанализа у пациентов с инциденталомой коры надпочечников (ИН), у больных синдромом Кушинга надпочечникового генеза (СК), у больных синдромом Кушинга гипофизарного генеза (БК), у больных с адренокортикальным раком (АКР), у больных феохромоцитомой (ФЕО), у женщин репродуктивного возраста с синдромом гиперандрогении (ГА), у пациентов с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) и у больных ожирением разработаны критерии ранней диагностики АКР и субклинического СК, дифференциально-диагностические критерии СК и БК, классического и неклассического СПКЯ, определены признаки неклассических форм врожденной дисфункции коры надпочечников (НФ ВДКН) с недостаточностью 21-гидроксилазы и 11β-гидроксилазы, показано особое значение исследования стероидных профилей в биологических жидкостях методом ВЭЖХ в комплексе обследования больных с ИН. Сочетание классических методов и ГХ-МС также позволяет улучшить дифференциальную диагностику ГА, различных форм СПКЯ, НФ ВДКН, выявить признаки агрессивного течения ФЕО. Исследователями получен патент на изобретение.

В 2017гг. исследователи стали победителями Всероссийского конкурсе «Эстафета вузовской науки-2017» по данной теме исследования, платформа «Эндокринология».

**Тема 12. «Изучение совокупного влияния фармакогенетических, физиологических (патофизиологических) особенностей человека и факторов окружающей среды на безопасность и возможности персонализации фармакотерапии»**

*Обоснование выполнения:* Государственное задание Минздрава России в части научной деятельности. *Сроки выполнения:* 2016-2018гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А16-116042010009-0

Проведен комплекс исследований, посвященных изучению фармакогенетических, кинетических и средовых факторов на персонализацию фармакотерапии. За отчетный период выполнено исследован6ие биологического и клинического материала у пациентов с жизнеугрожающими инфекционными заболеваниями; у беременных, определены факторы, влияющие на индивидуальный ответ на фармакотерапию у пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом, получающими терапию пероральными сахароснижающими препаратами (метформин, гликлазид, саксаглиптин и другие); у пациентов с ишемической болезнью сердца, получающими статины, проведен анализ концентраций ванкомицина и влияние на него различных факторов для поиска причин индивидуальной восприимчивости к пациентов.

Для выявления и анализа причин нежелательных лекарственных реакций в исследуемых группах пациентов; изучено влияние генетических полиморфизмов в индивидуальной восприимчивости к бета-адреноблокаторам и статинам. Нами было уточнено также, что генетический полиморфизм OATP1B1\*5 влияет не только (или не столько) на выраженность нежелательных эффектов, но и на терапевтическую эффективность. Другим фактором, оказывающим влияние на эффективность даже в малой дозе, оказался CYP3A5\*3. При проведении фармакотерапии пероральными сахароснижающими препаратами генетические факторы позволяют предсказать клинический ответ и вероятность возникновения нежелательных эффектов при проведении фармакотерапии. Клиническое значения ряда обсуждаемых генетических полиморфизмов было описано нами впервые.

Было выявлено, что фармакотерапия во время беременности находится под существенным влиянием средовых факторов, таких как собственные представления о рисках лекарственной терапии (с прямо противоположными представлениями об одних и тех же лекарствах), значимой является роль врача, а также информации, размещенной в сети Интернет.

Изученные факторы выявляют факторы, которые необходимо учитывать при проведении фармакотерапии значимых состояний в том числе в уязвимых категориях больных в реальной клинической практике.

Область применения результатов исследования: клиническая медицина и персонализированная фармакотерапия, в том числе беременных.