Приложение 4

Краткий итоговый аналитический отчет о результатах выполненных работ

за 2019г. 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:* 2018 г. и плановый период 2019-2020 гг. *Рег. номер ЕГИСУ*: АААА-А18-118052990084-1

С целью продолжения разработки 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 2019 г. впервые дана оценка основных тенденций изменения уровня содержания стойких токсичных веществ 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, проживающего в экологически неблагополучных районах Арктической зоны Российской Федерации. По результатам выполнения настоящей научно-исследовательской работы в экологически неблагополучных районах Арктической зоны Российской Федерации будут внедрены меры, которые позволяют существенно снизить экспозицию коренных жителей к стойким токсичным веществам

**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

С целью дальнейшего анализа 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 2019 г. проведен анализ показателей кариесогенной ситуации полости рта и маркеров костного метаболизма для уточнения особенностей патогенеза стоматологической патологии у пациентов с целиакией. Обследовано 38 детей с подтверждённым диагнозом целиакии в возрасте 8-16 лет и 27 детей контрольной группы. Изучены показатели теста спонтанной активации базофилов периферической крови на зубные пасты. У детей с рано выявленной целиакией, показатели кариесогенной ситуации полости рта и показатели костного метаболизма значительно лучше, чем у детей с поздно выявленной целиакией. В целях разработки системы профилактики кариеса зубов у детей с целиакией показано, что для полноценного формирования твердых тканей зубов необходимо контролировать диету у детей с данным заболеванием, а также использовать современные и эффективные способы экзогенной профилактики кариеса и повышения резистентности эмали прорезавшихся зубов.

**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

С целью продолжения разработки диагностических тест-систем для идентификации ДНК основных видов простейших – возбудителей паразитарных инвазий человека (*Blastocystis spp., Giardia intestinalis, Cryptosporidium spp.*), в клиническом материале и на объектах внешней среды, основными задачами, решаемыми в 2019 году, являлись: литературный поиск уже имеющихся тест-систем для идентификации *Giardia intestinalis, Cryptosporidium spp*.; проведение испытаний тест-систем на референтных образцах, отработка условий реакции; формирование коллекции (биобанка) изолятов простейших, представляющих различные генетические линии.

В результате выполнения данного этапа работы были отобраны наборы праймеров для ПЦР-идентификации *Cryptosporidium spp*. и *Giardia intestinalis*; оптимизированы условия ПЦР реакции; сформирована коллекция изолятов *Blastocystis spp.*, относящихся к пяти различным генетичеким субтипам и изоляты *Cryptosporidium spp.* и *Giardia intestinalis*, необходимые для дальнейших этапов работы.

**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

С целью продолжения оценки риска распространения древних инфекционных агентов на основе комплексных палеомикробиологических исследований археологических и палеонтологических находок, сделанных в Арктической зоне Российской Федерации, основные направления исследований, проводимых в 2019 г., включали в себя работы по формированию коллекции условно-патогенных мезофильных бактерий, выделенных из обнажений многолетней мерзлоты в палеонтологических местонахождениях Якутии «Батагайка» и «Юнюген».

Экспериментальные исследования были направлены на выяснение механизмов персистенции патогенных и условно-патогенных бактерий в криогенных средах полярных регионов Земли. Полученные на основании анализа полногеномных последовательностей нескольких бактериальных штаммов данные о структуре их геномов свидетельствует о принципиальной возможности быстрой адаптации бактерий – паразитов человека и животных к экстремальным условиям существования путем приобретения генов устойчивости к холоду и радиации. В этой связи биологические угрозы могут быть связаны с формированием клонов, сохраняющих патогенный потенциал наряду с повышенной устойчивостью к воздействию различных стрессовых факторов. Последовательности геномов трех изученных штаммов *Enterococcus faecalis* 85-4d, *Serratia liquefaciens* 72 и *Salmonella enterica* 404 депонированы в GenBank под номерами SAXB00000000.1, NZ\_MQRG00000000.1 и WIAP00000000.1 соответственно.

**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 методов исследования кинетики биомедицинских клеточных продуктов, пригодных для проведения доклинических и клинических исследований, в 2019 г. получены следующие научные результаты: оценена возможность криоконсервации меченых клеток без утраты ими метки, исследована ульраструктура клеток, содержащих частицы, показано, что консервация меченых клеток без утраты включенных частиц возможна, после размораживания клетки сохраняют частицы, продолжают делиться, сохраняют иммунофенотип и жизнеспособность; методом электронной микроскопии показано, что кластеризованные (диаметр кластера не более 1-1.5 мкм) частицы интернализуются посредством везикулярного транспорта; методами иммуноцитохимии показано, что через 24 часа после добавления частицы выявлены в составе везикул, аутофагосомах и лизосомах, но не поздних эндосомах; на фрагментах мышечной ткани показана возможность визуализации меченых клеток с помощью клинических (1Т) МРТ сканеров. На данном этапе показана возможность включения в клетки непокрытых наночастиц оксида железа, полученных методом электрического взрыва проводника в атмосфере воздуха, а также доказана возможность визуализации меченых клеток методом магнитно-резонансной томографии с использованием клинических томографов (1Т и 1,5Т).

**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

Исследование направлено на совершенствованию профилактики, диагностики и лечения микозов и является основой разработки схем персонифицированного назначения противогрибковых препаратов, профилактических мер для предотвращения распространения мультирезистентных клинических изолятов, появления новых видов с высокой вирулентностью. В ходе отчетного периода в 2019 г. было проведено: (1) мониторирование резистентности возбудителей микозов к противогрибковым препаратам; (2) анализ полной последовательности генома *C. auris*, первого выделенного в РФ штамма, с целью определения путей распространенности данного патогена на территории РФ и молекулярно-генетических механизмов формирования резистентности к противогрибковым препаратам; (3) определение чувствительности штаммов *C. auris* к дезинфицирующим средствам; (4) изучение генетического полиморфизма CYP51A, ассоциированного с формированием резистентности видов Aspergillus non-fumigatus (*A*. *flavus, A. niger, A. terreus*), у клинических изолятов, выделенных на территории РФ, и по геномным/протеомным метаданным базы Национального центра биотехнологической информации США (NCBI); (5) определение ареала распространения генотипа ITS грибов комплекса *Trichophyton mentagrophytes / T. interdigitale*, ассоциированного с приобретением резистентности к тербинафину; (6) апробация ПЦР-тест-системы для обнаружения *Aspergillus spp*. “Asp-Tag”- ПЦР; (7) совершенствование видовой идентификации клинических изолятов медицински значимых микроскопических грибов методом MALDI-TOF масс спектрометрии.

**Тема 7. «Исследование метаболомики 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

С целью установления нарушений адреналового стероидогенеза у больных с синдромом гиперандрогении и с новообразованиями надпочечников методами хроматографии проводилось исследование стероидных профилей мочи (СПМ) методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) (всего идентифицировано 69 стероидов) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (идентефицировано 7 кортикостероидов в крови и 4 в моче). Метаболомика стероидов была изучена у 89 женщин с различными формами синдрома гиперандрогении. Дифференциально-диагностические критерии классического (23 женщины) и неклассического синдрома поликистозных яичников (39 женщин), неклассической формы врожденной дисфункции коры надпочечников (НФ ВДКН) с недостаточностью 21-гидроксилазы (9 женщин) были получены при сочетании исследования СПМ методом ГХ-МС и методов иммунохимического анализа. Методом ГХ-МС были получены ранние признаки агрессивного течения феохромоцитомы (ФХ) у 13 больных с ФХ с суммой баллов по шкале PASS более 4. У 12 пациентов с синдромом Кушинга (СК) надпочечникового генеза с суммой баллов менее 4 (1-3) по шкале L.M. Weiss были получены ранние признаки злокачественного потенциала (ЗП): повышение экскреции с мочой 16-охо-андростендиола (больше 90 мкг/24 ч), тетрагидро-11-дезоксикортизола (больше 500 мкг/24 ч) и 16-ОН-прегнендиола, которые имели 100% специфичность и чувствительность более 90% для диагностики больных СК с ЗП, а также были определены неклассические 5-ene-прегнены, не обнаруженные у пациентов с СК без ЗП. Полученные данные могут быть ранними признаками ЗП у больных СК, что может иметь значение в определении тактики ведения пациентов с СК.

Область применения результатов работы: диагностика различных форм синдрома гиперандрогении, ранних признаков малигнизации новообразований коры надпочечников, агрессивного течения феохромоцитомы в клинической практике

**Тема 8. «Морфо-биологические особенности патогенных мукоромицетов – 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

В ходе отчетного периода было проведено: (1) изучение этиологии мукормикоза с помощью молекулярных методов идентификации микромицетов; (2) разработана экспериментальная модель мукормикоза легких, обусловленного грибами рода *Lichtheimia*; (3) определение чувствительности штаммов *Lichtheimia spp*. к антимикотическим препаратам; (4) изучение вирулентности различных штаммов *Lichtheimia spp.* на экспериментальной модели мукормикоза; (5) изучение морфологических и ультраструктурных особенностей *L. corymbifera* на питательной среде и на экспериментальной модели мукормикоза; (6) апробация разработанной мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-ZYGO-ASP» для быстрой диагностики мукормикоза на биоматериале от больных мукормикозом.

Результаты работы вносят вклад в изучение глобальной эпидемиологии мукормикоза, биологических особенностей патогенных мукоромицетов, выявление механизмов патогенеза мукормикоза. Внедрение новой тест-системы «HRM-ZYGO-ASP» в клиническую практику позволит проводить быструю и точную диагностику мукормикоза, что будет способствовать улучшению качества лечения и снижению летальности больных мукормикозом.

**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

С целью изучения биологических (в т.ч. генетических) характеристик бактериофагов, перспективных для лечения инфекций, обусловленных бактериями с множественной лекарственной устойчивостью, основные направления исследований, проводимых в 2019 году, включали в себя создание коллекции индикаторных культур, обладающих высокой чувствительностью к бактериофагам и создание коллекции высоковирулентных бактериофагов, эффективных в отношении полиантибиотикорезистентных штаммов, полученных от пациентов стационаров различных профилей. В ходе выполнения исследований в 2019 г. были сформированы коллекции эпидемически значимых штаммов псевдомонад, ацинетобактеров, клебсиелл, энтерококков, кишечных палочек (67 штаммов) и высоковирулентных бактериофагов (11 бактериофагов – 8 фагов из клинического материала от пациентов с инфекциями, связанными и оказанием медицинской помощи (ИСМП), 3 – из водных экосистем Антарктиды), перспективных в качестве маточных рас для производства эффективных препаратов бактериофагов.

**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

Стволовые клетки (СК) пульпы и периодонта являются крайне перспективным материалом для стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. С целью разработки и стандартизации методов выделения и культивирования СК пульпы зуба и периодонта, сравнения их биологических свойств для определения диапазона их биологической эффективности и возможного применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии каждой из этих популяций клеток, в течение 2019 г. разработаны методы выделения различных тканей зуба и периодонта. Получены образцы различных СК ротовой полости (пульпы постоянных зубов, пульпы молочных зубов, периодонтальных связок, зубного фолликула) и охарактеризованы все полученные культуры. Показано, что СК из разных тканей зуба и периодонта обладают различной скоростью пролиферации. Показано, что морфология СК периодонта максимально близка к фибробластной, в то время, как клетки пульпы обладают более полигональной, неправильной формой. Сравнение особенностей остеогенной дифференцировки тканей пульпы и периодонта показало различие остеогенного потенциала пульпы и периодонта – клетки пульпы значительно быстрее отвечают на остеогенные стимулы. Полученные данные свидетельствуют о различиях в характеристиках СК нервного гребня из различных тканей зуба и периодонта.

**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 и сердечно-сосудистых (СС) заболеваний разрабатываются методы коррекции патогенетически значимых иммунных нарушений у данной категории больных. Основными задачами, решаемыми в 2019 г. (I этап работы), являлось изучение особенностей развития и течения ревматических заболеваний (РЗ) и сердечно-сосудистой патологии (СС) патологии в их взаимосвязи с факторами риска формирования и прогрессирования ревмокардиального, ревмокардиоренального и ревмадерматологического континуумов. В результате настоящего этапа работы сформированы регистры пациентов с РЗ (8 регистров, n=5250), валидизированы русскоязычные версии индексов EQ-5L и ASAS, уточнена встречаемость СС заболеваний у пациентов с рядом РЗ, показаны различия в мощности индексов оценки СС риска при РЗ, установлена взаимосвязь активности РЗ и СС риска с носительством 48 генетических аллелей, разработан новый маркер оценки активности спондилоартритов (иммуноглобулины А к CD74), оценены особенности течения РЗ и СС заболеваний при биологической терапии, разработана и зарегистрирована в Роспатенте программа ЭВМ для снижения дозы глюкокортикоидов.

**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 выявления наиболее востребованных во время беременности лекарств; прояснение механизмов, определяющих их безопасность, в 2019 г. в процессе исследования изучались данные регистра лекарственных воздействий при беременности и изучалось действие ацетаминофена (парацетамола) (АРАР) на жизнеспособность клеток нейрональной линии РС12. В результате исследования были выявлены наиболее частые осложнения при терапии ритуксимабом у беременных - преждевременные роды и внутриутробные инфекции. Выявлено, что при беременности чаще всего назначают НПВС, антигистаминные средства, глюкокортикостероиды. Значительная часть назначений - лекарственные средства, влияющие на нервную систему (селективные ингибиторы обратного захвата серотонина). Полученные данные подтверждают необходимость проведения исследований, направленных на изучение нейротоксичности лекарственных средств. Было показано, нейротоксическое действие высоких концентраций АРАР на клетки РС12, усиливающееся в присутствии перекиси водорода.

В течение подготовительного периода 2019 г. производились методологические действия: подготовлены и адаптированы культуры клеток для изучения токсического воздействия АРАР и его метаболитов на клетки РС12. Проведена подготовительная работа, по изучению эпидемиологии использования лекарственных средств беременными с целью выделения группы средств, безопасность которых должна быть изучена в первую очередь.