ЗАТВЕРДЖУЮ
Керівник підприємства/установи/організації
(Грантоотримувача)
Директор Інституту молекулярної біології і
генетики НАН України
(посада)
Академік НАН України
Михайло ТУКАЛО
ПІБ
_____
(підпис)
М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
«Дослідження терапевтичної ефективності і безпечності нових еквівалентів дерми з включенням композиту (препарат ізатізон та цитокін ЕМАР ІІ) для лікування травматичних уражень шкіри»
(назва Проєкту)

Назва конкурсу: Наука для безпеки людини та суспільства_____
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.01/0035_____

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.01/0035 «Дослідження терапевтичної ефективності і безпечності нових еквівалентів дерми з включенням композиту (препарат ізатізон та цитокін) для лікування травматичних уражень шкіри»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Наука для безпеки людини та суспільства
(назва конкурсу)
протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання проєкту
Початок – 27.10.2020 р.;
Закінчення – 15.12.2021 р..

Загальна вартість Проєкту, грн.: 1582200,00 грн.

Вартість Проєкту по роках, грн.:
1-й рік 633000,00 грн.
2-й рік 949200,00 грн.
3-й рік_____

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 7 виконавців, з них:
доктори наук 2;
кандидати наук 4;
інші працівники 1.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Субвиконавця(ів) Проєкту немає.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Дослідження терапевтичної ефективності і безпечності нових еквівалентів дерми, що містять оригінальний комплекс біологічно активних речовин, призначених для лікування опікових ран та інших уражень шкіри.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

У 2020 році основні завдання були такі: створення і напрацювання дослідних зразків нових еквівалентів дерми та дослідження їх терапевтичної ефективності на моделі термічних опіків у модельних тварин. Основні завдання 2021 року: вивчення безпечності дослідних зразків еквівалентів дерми (їх можливої гострої та субгострої або субхронічної токсичності) та аналіз отриманих матеріалів з використанням піддослідних тварин.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- **Сучасний стан проблеми** (до 400 знаків)

Актуальною проблемою є високий рівень травматизму шкіряних покривів, що потребують тривалого вартісного лікування. За даними ВОЗ опіки займають третє місце серед травматичних уражень шкіри, спостерігається тенденція до зростання їх частоти і підвищення ступеня тяжкості. За кордоном опікові рани лікують з використанням дорогих еквівалентів шкіри, які практично недоступні для пацієнтів України.

- **Новизна Проєкту** (до 400 знаків)

Нині немає універсальних еквівалентів шкіри, які б задовільнили всі потреби пацієнтів при лікуванні опікових ран. Це зумовило спрямування нашої роботи на створення нових еквівалентів дерми що містять оригінальний комплекс біологічно активних речовин, які синтезуються стовбуровими клітинами людини, із включенням фармацевтичного композиту, що має антивірусні та імуномодулювальні властивості.

- **Методологія дослідження** (до 400 знаків)

В роботі проводились експерименти *in vitro* з використанням стовбурових клітин людини оригінальної лінії 4BL та *in vivo* на модельних тваринах, мишах лінії ICR. Використовувались методи клітинної біології (у тому числі, МТТ-тест на метаболічну активність клітин), патоморфологічні, патофізіологічні, біохімічні, статистичні, клінічний аналіз крові піддослідних тварин.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик).

На першому етапі (4 квартал 2020 року) науково-дослідної роботи виконувалось декілька завдань, пов'язаних з удосконаленням нової біотехнології та створенням і напрацюванням дослідних зразків дермальних покриттів. Покращення терапевтичних якостей нових дермальних еквівалентів досягнуто завдяки використанню: а) комплексу біологічно активних речовин, синтезованих стовбуровими клітинами людини оригінальної лінії 4BL. Це мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) або мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК), виділені з периферичної крові здорового донора за допомогою методу (know-how), який розроблено в нашій лабораторії; б) природних і синтетичних матриксів (гідрогелі і мембрани-носії), що дозволені для використання в медицині; в) фармацевтичного композиту (відомий лікарський препарат ізатізон та рекомбінантний цитокін ЕМАР ІІ) з антивірусними та імуномодулювальними властивостями. Ці біологічно активні компоненти були інкорпоровані нами в гідрогель, який може бути використаний як мазь або нанесений на мембрану-носій.

Наступним важливим завданням було вивчення терапевтичної ефективності вироблених і досліджених нами еквівалентів дерми при лікування травматичних уражень шкіри, в основному на моделі термічних опіків у піддослідних тварин. Підготовлено групи контрольних і дослідних модельних тварин (миші лінії ICR) з термічними опіками «третього ступеня» та поставлено експерименти з вивчення впливу вироблених нами зразків дермальних покриттів на загоєння опікових ран. Проведено оцінку протиопікової ефективності зразків дермальних ранових покриттів в динаміці. Показано пришвидшене загоєння опікових ран при використанні нових еквівалентів дерми у порівнянні з негативним контролем та з дослідними групами, в яких використовувався лише один із компонентів: безклітинне середовище (БКС), кондиційоване стовбуровими клітинами *in vitro*, препарат ізатізон або рекомбінантний цитокін ЕМАР ІІ.

У наступному 2021 році основними завданнями були отримання токсикологічних характеристик нового біотехнологічного продукту, які би дозволили оцінити його безпечність, і аналіз отриманих біологічних матеріалів. З цією метою були підготовлені групи тварин, яким вводились комплекси біологічно активних компонентів нових еквівалентів дерми. Також були підготовлені і напрацьовані окремі компоненти нових еквівалентів дерми: безклітинні середовища (БКС), кондиційовані стовбуровими клітинами людини лінії 4BL *in vitro*, препарат ізатізон і рекомбінантний цитокін ЕМАР ІІ. Виготовлено дослідні зразки нових еквівалентів дерми, що містять БКС з включенням фармацевтичного композиту (препарат ізатізон та цитокін ЕМАР ІІ).

Сукупність експериментальних даних з вивчення гострої токсичності комплексного еквіваленту дерми на мишах обох статей свідчить про відсутність його токсичної дії при інтраперитонеальному шляху введення ($ЛД_{50}$>5000 мг/кг). Згідно з класифікацією речовин за токсичністю **комплекс біологічно активних компонентів БКС+ізатизон+ЕМАРІІ належить до V класу токсичності речовин – практично нетоксичні речовини при інтраперитонеальному введенні**. Експерименти з вивчення підгострої або субхронічної токсичності також не виявили явних ознак токсичної дії досліджуваних зразків біологічно активних компонентів. Проведений подальший макроскопічний та мікроскопічний аналіз зразків тканин піддослідних тварин підтвердив висновок про відсутність токсичної дії біологічно активних компонентів розроблених нами еквівалентів дерми в досліджуваних діапазонах концентрацій.

В процесі виконання роботи оптимізовано технологію отримання нових еквівалентів дерми з включенням комплексу біологічно активних речовин, які синтезовані стовбуровими клітинами *in vitro*, та фармацевтичного композиту (препарат ізатізон та цитокін ЕМАР ІІ). В процесі проведення досліджень вдосконалено існуючі зразки біотехнологічного продукту, еквівалентів дерми, з метою підвищення їх якості і зниження собівартості виробництва для подальшого впровадження у практичну медицину. Охарактеризовано новий біотехнологічний продукт, еквівалент дерми у складі гідрогеля карбополу, та умови, необхідні для його зберігання

Комплексний біотехнологічний продукт поєднує оптимальні фізико-хімічні властивості

носія (біосумісність, нетоксичність, еластичність, прозорість, адгерентність до поверхні рани, легкість накладення та усунення, здатність до адсорбції токсинів) зі сприятливою терапевтичною дією факторів росту та інших біологічно активних речовин, синтезованих стовбуровими клітинами, а також додатково введеного фармацевтичного композиту (лікарський препарат ізатізон та рекомбінантний цитокін ЕМАР ІІ, що мають антивірусні та імуномодулювальні властивості, здатні впливати на ангіогенез і проліферацію клітин та інші процеси в організмі залежно від їх концентрації).

Таким чином, в результаті створено біотехнологічний продукт, еквівалент дерми або дермальне покриття, що має покращені властивості: 1) економічний; 2) ефективний для лікування опікових ран та інших травматичних уражень шкіри завдяки присутності біологічно активних речовин, синтезованих стовбуровими клітинами людини, та фармацевтичного композиту (препарат ізатізон та цитокін ЕМАР ІІ) та 3) безпечний для організму, так як його біологічно активні компоненти не виявляють гострої та субхронічної токсичності.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

На сьогодні ані в Україні, ані у світі немає аналога нашої біотехнології, в основі якої лежить створення дермальних еквівалентів із включенням оригінального комплексу біологічно активних речовин, синтезованих стовбуровими клітинами людини в культурі, і фармацевтичного композиту (лікарського препарату ізатізон у комбінації з рекомбінантним цитокіном ЕМАР ІІ) з антивірусними та імуномодулювальними властивостями. Отже в результаті виконання проєкту отримано новий біотехнологічний продукт – дермальне покриття або еквівалент дерми, що 1) має покращені експлуатаційні властивості; 2) економічний; 2) терапевтично ефективний при лікуванні опіків та інших травматичних уражень шкіри завдяки присутності біологічно активних речовин клітинного походження і поєднанню їх із фармацевтичним композитом та 3)безпечний для організму, оскільки містить біологічно активні компоненти, які не виявляють токсичності у досліджуваних концентраціях. Всі закордонні еквіваленти шкіри з використанням клітинного компоненту надто вартісні (коштують приблизно 30-120 $ за один квадратний сантиметр поверхні) і не доступні для пацієнтів в Україні. За орієнтовними підрахунками еквіваленти дерми, що пропонуються, можуть коштувати приблизно в 10 разів дешевше, ніж закордонні аналоги. Очікується, що, завдяки вказаним властивостям, отримані нами дермальні покриття можуть бути придатними для використання як при лікуванні масивних опіків, так і інших уражень шкіри.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Враховуючи практичну неможливість для більшості наших громадян через фінансову скруту здійснювати лікування за кордоном та оплачувати використання закордонних біотехнологічних продуктів, пропонований проект має не лише наукову, але й соціальну значущість. Нові еквіваленти дерми, що пропонуються, призначені для використання у схемах лікування опікових ран різної природи, трофічних виразок та інфікованих ран, а також ускладнених і важко загоювальних уражень шкіри, зокрема, у хворих на цукровий діабет. Згідно з даними ВОЗ, опіки за частотою займають третє місце серед травматичних пошкоджень шкіри. Статистика опікового травматизму в Україні свідчить про тенденцію до зростання частоти випадків і підвищення ступеня їх тяжкості як серед дітей, так і серед дорослих. Слід відзначити, що в Україні є спеціалісти-комбустіологи високого рівня кваліфікації, але в той же час існує нестача еквівалентів шкіри для лікування травматичних уражень шкіри.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Як вже відзначалось, нові еквіваленти дерми призначені для використання у схемах лікування опікових ран різної природи, трофічних виразок та інфікованих ран, а також ускладнених і важко загоювальних уражень шкіри, зокрема, у хворих на цукровий діабет. Ми маємо листи рекомендації від спеціалізованих клінік, Центру термічної травми і пластичної хірургії Київської міської лікарні № 2 і Житомирського госпіталя № А106, які свідчать про те, що спеціалісти готові використовувати в клінічній практиці розроблені нами дермальні еквіваленти

для лікування травматичних уражень шкіри (автори можуть надати листи на замовлення).

Отже створений нами продукт пропонується для подальших клінічних досліджень і впровадження у практику лікування опікової хвороби та інших травматичних пошкоджень шкіри. Після проведення його незалежної верифікації на тваринах в акредитованій лабораторії і клінічних випробувань на пацієнтах еквіваленти дерми або дермальні покриття можуть знайти широке застосування в практичній медицині для лікування травматичних уражень шкіри різного генезу.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту
Заступник директора з наукової роботи Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, головний науковий співробітник відділу генетики людини, професор
(посада)
Любов ЛУКАШ
ПІБ
_____
(підпис)