

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту фізіології
ім. О.О. Богомольця НАН України
академік Микола ВЕСЕЛОВСЬКИЙ



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу в рамках реалізації проекту
із виконання наукових досліджень і розробок

«Вплив периферичних нейрофізіологічних механізмів дихання на гострий респіраторний дистрес-синдром: роль рецепторів транзієнтного потенціалу (TRP), опіоїдних (MOR) та канабіноїдних (CA) рецепторів»

Назва конкурсу: «Наука для безпеки людини та суспільства»
Реєстраційний номер Проекту: 2020.01/0266

Підстава для реалізації Проекту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проекту) 2020.01/0266 «Вплив периферичних нейрофізіологічних механізмів дихання на гострий респіраторний дистрес-синдром: роль рецепторів транзієнтного потенціалу (TRP), опіоїдних (MOR) та канабіноїдних (CA) рецепторів»

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

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Загальна тривалість виконання проекту 2020 рік – 2021 рік

Тривалість виконання Проекту

Початок – 23 жовтня 2020 року

Закінчення – 15 грудня 2021 року

Загальна вартість Проекту, грн. дев'ять мільйонів сімдесят одна тисяча гривень 00 коп.
(9 071 000,00 грн)

Вартість Проекту по роках, грн.:

1-й рік 3 000 000,00 грн

2-й рік 6 071 000,00 грн

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проекту залучено 8 виконавців, з них:

доктори наук 0;

кандидати наук 4;

інші працівники 4.

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

Грантоотримувач Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
Директор академік Веселовський М.С.

Основний вид економічної діяльності за КВЕД - 72.2 Дослідження й експериментальні розробки у сфері суспільних і гуманітарних наук

Код ЄДРПОУ: 05417093

Юридична адреса: Богомольця Академіка вулиця, 4

Фактична адреса: 01601, м. Київ, Богомольця Академіка вулиця, буд. 4

Форма власності: Державна власність

Організаційно-правова форма господарювання за КОПФГ: Організації (установи, заклади)

Орган державного управління за КОДУ (підпорядкованість):Національна академія наук України

Рік заснування: 1953

Є науково-дослідним центром в галузі молекулярної фізіології, біофізики, нейрофізіології, патологічної фізіології.

Організації-субвиконавці не залучались.

4. ОПИС ПРОЕКТУ

4.1. Мета Проекту (до 200 знаків)

Встановити значення периферичних нейронних механізмів, що реалізуються за участі рецепторів транзієнтного потенціалу (TRP), опіоїднових (MOR) та канабіноїдних (CA) рецепторів у механізмах розвитку гострого респіраторного дистрес синдрому (ГРДС) – головної причини смертності людей при COVID-19.

4.2. Основні завдання Проекту (до 400 знаків)

1. Розробити модель ГРДС у спонтанно гіпертензивних старих щурів із застосуванням прецизійної гіпервентиляції легень та інтратрахеального введення активатору TLR 3 типу – полі I:C.
2. Оцінити дію агоністів та антагоністів TRP, MOR та CA введених інтратрахеально на важкість перебігу ГРДС.
3. Провести експериментальну терапію ГРДС із специфічним впливом на певні рецептори.
4. Визначити комбінацію агоністів та антагоністів TRPV, MOR та CA на перебіг ГРДС.

4.3. Детальний зміст Проекту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Існуючі наукові дані підтримують гіпотезу, що нервова система бере участь у регуляції імунної відповіді у дихальних шляхах та легенях. Між тим, така регуляція не може обмежуватись тільки взаємодією нейронів та імунних клітин, але і включає в себе взаємодію і з структурними клітинами, які в свою чергу беруть участь у процесах запалення. Нейрони, що іннервують дихальні шляхи можуть як ініціювати порушення дихальної системи легень через підвищення імунної реакції, так і істотно пригнічувати запалення.

- Новизна Проекту (до 400 знаків)

На моделі ГРДС із застосуванням прецизійної гіпервентиляції легень та інтратрахеального введення полі I:C, що відтворює відповідь організму на вірусну інфекцію буде показано вплив агоністів та антагоністів TRPV, опіоїдних та канабіноїдних рецепторів.

Буде виявлений комбінаторний ефект модуляторів досліджуваних рецепторів та запропоновано найбільш оптимальний склад модуляторів для регуляції імунної відповіді та запалення дихальних шляхів і легень.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

1. Експериментальне відтворення ГРДС на дослідних групах щурів;
2. Введення агоністів та антагоністів відповідних рецепторів інтратрахеально за допомогою небулайзера, який синхронізований з FlexiVent;

3. Оцінка важкості розвитку ГРДС за параметрами: відношення маси вологої легені до сухої, розтяжності, імпедансу, жорсткості легень, рівню білку та кількості нейтрофільних гранулоцитів в бронхіальному лаважі, рівню прозапальних цитокінів в тканині легень та ультраструктурних змін у тканинах легень.

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

В рамках реалізації Проекту було розроблено експериментальну модель гострого респіраторного дистрес-синдрому у щурів із застосуванням прецизійної гіпервентиляції легень та інтратрахеального введення специфічного активатору TLR 3 типу – PolyI:C (дволанцюгової РНК, що складається з інозину та цитозину). В ході досліджень дана модель пройшла ряд випробовувань, а саме було оцінено фізіологічні параметри респіраторної та механічної функції легень в умовах ГРДС, ступінь набряку легень, вміст загального білку та кількості нейтрофілів в бронхолегеневому лаважі, експресія генів, що кодують прозапальні цитокіни та хемокіни, електрофізіологічні параметри активності vagusного нерву, що іннервує легені, ультраструктурні зміни у легенях. Оцінка динамічних змін респіраторної функції легень внаслідок модельованого ГРДС показала достовірне збільшення таких показників, як ньютонівський опір, тканинна жорсткість, статична розтяжність, та зменшення еластичності та демпінгу тканин, що повністю відповідає патогенезу ГРДС у пацієнтів. Аналіз коефіцієнту «суха/волога легеня» показав двократне підвищення набряку легень – тяжкого, загрозливого для життя стану, що розвивається внаслідок ГРДС. Кількісна оцінка вмісту загального білку у бронхолегеневому лаважі показала збільшення його концентрації у 4 рази порівняно з контролем, що свідчить про збільшення проникності легеневих капілярів внаслідок ГРДС. Крім того, спостерігалось збільшення концентрації нейтрофілів у бронхолегеневому лаважі, що також є показником збільшення проникності легеневих капілярів, і маркером розвитку запального процесу. Методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі було ідентифіковано збільшення в 3 рази порівняно з контролем концентрації прозапального хемокіну CX12, який сприяє міграції імунних клітин до місця запалення та розвитку запалення. Також спостерігалось збільшення цитокіну Gro1 – ще відомий, як neutrophil-activating protein 3, який стимулює міграцію нейтрофілів у тканини, якими виробляється. Електрофізіологічна реєстрація активності vagusного нерву, що іннервує легені продемонструвала істотне підвищення активності ноцицептивних волокон, особливо на останній стадії формування гострого респіраторного дистрес-синдрому, що підтверджує роль нервової системи в даній патології. Аналіз ультраструктурних змін у легенях в наслідок ГРДС продемонстрував наявність численних вогнищевих геморагій, виникнення яких пов’язане із порушенням проникності судин, а в окремих випадках і руйнуванням судинної стінки, гіпремію судин та агрегація тромбоцитів, периваскулярний та перибронхіальний набряк, лейкоцитарну генералізовану інфільтрацію, заповнення альвеолярного простору десквамованими альвеоцитами, еритроцитами та лейкоцитами (в складі яких збільшується відсоток нейтрофілів), а на окремих ділянках досліджуваної тканини заповнення альвеол ексудатом та еозинопозитивними утвореннями (гіалінові мембрани), чередування ателектазних ділянок і зон з ознаками енфіземи, фрагментація базальної мембрани окремих бронхіол, часткове злущування бронхіального епітелію, наявність лейкоцитарних інфільтратів в просвіті бронхів свідчать про значні функціональні порушення, пов’язані із кровопостачанням легень, підвищенням альвеолярного поверхневого натягу, та формуванням численних зон з унеможливленим газообміном. Всі вищезазначені зміни характерні для початкових стадій розвитку гострого респіраторного синдрому.

Із використанням розробленої моделі було досліджено вплив агоністів та антагоністів рецепторів TRP, MOR та CA на перебіг ГРДС. Оцінка важкості розвитку ГРДС із застосуванням досліджуваних речовин показала, що найсуттєвіший вплив спровали агоністи TRPV1 та канабіноїдних CB1 та CB2 рецепторів. Модуляція даних рецепторів призводила до достовірного зменшення набряку легенів, вмісту загального білку у бронхолегеневому лаважі, концентрації прозапальних цитокінів (IL1 β , IL6, TNF- α , IL10). Значним чином покращувались морфометричні параметри легенів у відповідь на дію агоністів TRPV1, CB1 та CB2 рецепторів. Так, мікроскопічний та морфометричний аналіз тканини легень продемонстрував структурні зміни, які

вказують на суттєву втрату функціональних можливостей легень в групі тварин із моделюванням ГРДС. А саме: в результаті скорочення м'язової оболонки бронхіол відбулося значне зменшення площин їх просвіту (%Wab), що затрудняє приплив кисню та виведення вуглекислого газу з організму; набряк та лейкоцитарна інфільтрація сприяли деформації стінок бронхіол (підвищення показників %Tao, %Wao та %TAt), а також потовщення міжальвеолярних перегородок і як результат, зниженню об'єму альвеолярного простору. Всі речовини, які вводились на фоні гіпервентиляції в тій чи іншій мірі впливали на розвиток пошкодження в легенях дослідних тварин, проте CBD та налбуфін проявили найбільш виражений ефект, в деякій мірі, попереджуючи звуження просвіту дрібних бронхіол та лейкоцитарну інфільтрацію, яка є суттєвим фактором розвитку запалення. Це може свідчити про те, що CBD та налбуфін в деякій мірі сприяють збереженню цілісності аерогематичного бар'єра, запобігаючи порушенням судинного ендотелію, альвеолярного епітелію і їх базальних мембрани. Зниження значень параметрів, які характеризують ремоделювання стінок бронхіол, в свою чергу, вказують на здатність CBD та налбуфіну пригнічувати прозапальні процеси в легенях експериментальних тварин. Електрофізіологічні дослідження показали істотне зменшення частоти імпульсної активності вагусного нерву, що іннервує легені, у відповідь на дію агоністів CB1 та CB2 рецепторів. Агоністи транзієнтних TRPV8 рецепторів та агоністи і антагоністи каннабіноїдних CB1 і CB2 рецепторів показали статистично достовірну анти-ноцицептивну дію на легеневі первинні аферентні волокна блукаючого нерву. Агоністи опіоїдних κ-рецепторів показали сильну, але відносно короткотривалу знеболювальну дію. З усіх досліджених речовин, у концентраціях що тестувались, найефективніші анти-ноцицептивні властивості мав CBD. Комбінація найефективніших речовин, а саме агоністів TRPV1 та CB1/CB2 рецепторів не виявила покращення перебігу ГРДС по жодному із показників. Можна зробити висновок, що найбільший протизапальний ефект від модуляції досліджуваних типів рецепторів досягається в умовах окремого їх застосування.

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

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

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

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

В ході досліджень було отримано адекватну модель гострого респіраторного дистрес-синдрому – найчастішої причини смертності серед пацієнтів із вірусними пневмоніями. Моделювання в біомедицині відіграє життєво-важливу роль практично в усіх крупних медичних досягненнях: від антибіотиків і вакцинації – до трансплантації і хіміотерапії. Практично кожний сучасний протокол профілактики, лікування, контролю захворювань базується на знаннях, отриманих за допомогою досліджень на тваринних моделях. В ході виконання Проекту ми розробили інноваційну методику одночасної реєстрації електрофізіологічних показників вагусного нерву, що іннервує легені, та показників дихальної системи. Це перша в світі модель, яка дозволяє інтегрувати дані функціонування нервової та дихальної систем. На нашій моделі було підтверджено залучення нервової системи у реалізацію запального процесу, що розвивається внаслідок ГРДС. Даний висновок дає перспективи до відкриття нових механізмів, що підтримують чи пригнічують запальні процеси у легенях та дихальних шляхах. Розроблена модель дозволить вченим випробовувати різноманітні експериментальні терапії для лікування ГРДС і екстраполювати отримані результати у клінічних дослідженнях на пацієнтах. З нашого боку, розробка даної моделі дозволила виявити, що ефект модуляторів TRPV1 та каннабіноїдних рецепторів вагусного нерву спрямлює потужний протизапальний ефект протягом розвитку гострого респіраторного-дистрес синдрому, практично повертаючи показники імунної відповіді близько до контрольних значень,

покращуючи морфологічні характеристики дихальної системи, нормалізуючи імпульсну активність вагусного нерву. Втілення результатів дослідження може полегшити наслідки ГДРС, що викликаний SARS-CoV-2, чи іншими вірусними інфекціями. Дана експериментальна розробка може бути використана будь-якою фармакологічною компанією, яка має спочатку провести доклінічні випробування.

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

Науковий керівник Проекту
Провідний науковий співробітник
Дмитро ІСАЄВ

(підпись)

