



ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор

Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького

Зіменковський Борис Семенович

(підпис)

М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

про виконану роботу у 2021 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок

Центр дослідження ролі нейтрофільних позаклітинних пасток у виникненні тканинних
патологій in vivo

Назва конкурсу: Підтримка досліджень провідних та молодих вчених

Реєстраційний номер Проєкту: 2020.02/0131

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.02/0131; Центр дослідження ролі нейтрофільних позаклітинних пасток у виникненні тканинних патологій in vivo

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21.

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту

Початок – 23.10.2020;

Закінчення – 2022 рік.

Загальна вартість Проєкту, грн. 11 745 400 грн. (одинадцять мільйонів сімсот сорок п'ять тисяч чотириста грн)

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 2 000 000 грн. (два мільйони грн)

2-й рік 4 745 400 грн. (чотири мільйони сімсот сорок п'ять тисяч чотириста грн)

3-й рік 5 000 000 грн. (п'ять мільйонів грн)

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 6 виконавців, з них:

доктори наук 1 ;

кандидати наук 2 ;

інші працівники 3 .

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

Грантоотримувач: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, адреса – Пекарська 69, 79010, Львів, Код ЄДРПОУ 0201079.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Метою проєкту є дослідити роль нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) у виникненні тканинних патологій *in vivo*, створивши для цього центр досліджень, обладнаний обладнанням для візуалізації НПП в клітинах, тканинах та організмі.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

Дослідити участь НПП в ініціації мікрооклюзій жовчних проток, що виникають за ушкоджень печінки, мікрооклюзій судин легень, мозку та інших тканин за дії природних нанокристалів гемозоїну, урату натрію, холестерину. Використати наночастинки, що спричиняють локальне контрольоване утворення НПП, для стимуляції імунної відповіді на рекомбінантні білки патогенів, зокрема SARS-CoV-2.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Поліморфоядерні нейтрофільні гранулоцити вивільняють нейтрофільні позаклітинні пастки (НПП) у відповідь на гостре запалення. Вперше патогенну роль НПП показано у 2012 році і щороку розширюється коло патологій, де виявляється їх залучення. Остання – оклюзія судин легень при COVID-19, що є головною причиною смертності від цього захворювання.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

Авторами проєкту виявлено участь наночастинок в індукції НПП (PNAS, 2017). В ході виконання проєкту вперше планується візуалізувати наночастинки в складі організму тварин за допомогою високотехнологічного обладнання та довести участь НПП в ініціації окремих патологій.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Реалізація проєкту передбачає розробку способів візуалізації наночастинок та НПП в тканинах живого організму шляхом аналізу флуоресценції маркерних молекул наночастинок та/чи НПП. Індуковані НПП будуть використані для створення імунної відповіді до небезпечних патогенів (SARS-CoV-2) та розробку ефективних тестів для детекції антитіл до цих антигенів у зразках слини для масового скринінгу.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ 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)

В ході виконання етапів 1 та 2 проєкту у 2021 році здійснено порівняння 8 пристроїв аналізу флуоресценції в тканинах *in vivo* та підготовлено технічне завдання міжнародного тендеру UA-2021-06-15-002896-с, за результатами якого придбано Аналізатор флуоресценції в тканинах *in vivo* для візуалізації нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП), що складається із модулів Pearl Trilogy та Keyence BZ-X800E та введено їх в експлуатацію. Придбане обладнання використано для доведення ролі нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) в індукції ушкодження тканин печінки

за неалкогольного стеатогепатозу (НАСГ), індукованого дією дієт, що супроводжується зростанням вмісту ендогенних наночастинок (високохолестерина, високофруктозна). Показана роль як ендогенних, так і екзогенних наночастинок в активації НПП в легенях і індукції патологічних процесів. Продовжено дослідження наночастинок-індукторів нейтрофільних позаклітинних пасток для використання у вакцинах проти SARS-CoV-2, доведено їх високу ефективність; показано інкапсуляцію частинок в м'яких тканинах після 60+ днів перебування в тканинах, відсутність некрозу чи локальної запальної реакції. Створена експериментальна партія оптимізованої ІФА тест-системи для виявлення антитіл IgG до SARS-CoV-2 в зразках слини людини та протестовано колекції з 220 парних зразків слина-сироватка. В результаті тестування виявлено раніше невідомі закономірності формування антитіл до коронавірусу у зразках слини, зокрема їх атипово низькі рівні в перший місяць після одужання за умов гострої форми хвороби. Оцінено предикативну цінність системи AUROC = 0.9135 ± 0.02967, p<0.0001.

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

За отриманими результатами опубліковано 3 статті:

1. Rabets, A.; Bila, G.; Grytsko, R.; ..., Bilyu, R.. The Potential of Developing Pan-Coronaviral Antibodies to Spike Peptides in Convalescent COVID-19 Patients. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2021, 69, 5, doi:10.1007/s00005-021-00607-8, IF = 4.29
2. Ackermann, M.; Anders, H.-J.; Bilyu, R.; et al.; et al. Patients with COVID-19: in the dark-NETs of neutrophils. *Cell Death and Differentiation* 2021, doi:10.1038/s41418-021-00805-z, IF =15.82
3. Bilyu, R.; Pagneux, Q.; François, N.; Bila, G.; et al. Rapid Generation of Coronaviral Immunity Using Recombinant Peptide Modified Nanodiamonds. *Pathogens*. 2021, 10, doi:10.3390/pathogens10070861, IF=3.49

Розділ монографії:

4. Bila G, Rabets A, Bilyu R. Nano- and Microparticles and Their Role in Inflammation and Immune Response: Focus on Neutrophil Extracellular Traps. In: *Biomedical Nanomaterials*. Cham: Springer International Publishing; 2022. p. 149–70. Doi: 10.1007/978-3-030-76235-3_6

Опубліковано 2 тез в міжнародних наукових журналах:

5. Bilyu R, Bila G. Plasma membrane and nanoparticles: love, hate and immune regulation. *FEBS Open Bio*. 2021;11(S1):66–7.
6. Bila G, Vishchur O, Vari S, Bilyu R. Neutrophil Extracellular Traps during high fructose diet leads to low-grade inflammation and direct liver damage. *Eur J Immunol*. 2021;51(S1):337.

Також опубліковано 1 тези Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції, представлено 1 пленарну доповідь, 1 сесійну доповідь на конгресі FEBS та надано 2 інтерв'ю ЗМІ.

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

Розроблені діагностичні тести ІФА для виявлення антитіл IgG до SARS-CoV-2 в слині (та сироватці) є високо затребуваними для неінвазивної оцінки гуморального імунітету осіб в умовах пандемії та оцінки ефективності вакцинації. Виявлені закономірності впливу НПП на ушкодження тканин печінки при неалкогольному стеатогепатозі дозволять розробити нові ефективні підходи для запобігання цій патології.

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

Створення інфраструктури для візуалізації НПП в тканинах за допомогою проточного цитометру та пристрою візуалізації флуоресценції *in vivo* дозволить проаналізувати їх про- запальний та патологічний вплив у клітинах *ex vivo*. Розроблені шляхи індукції стійкої імунної відповіді до SARS-CoV-2 в лабораторних тварин буде використано для оцінки впливу різних чинників, зокрема тих, що ушкоджують легені, на ефективність утворення імунної відповіді. Можливим є використання запропонованого нами підходу до НПП-індукованого утворення імунної відповіді до SARS-CoV-2 для імунізації норок на тваринницьких фермах України, нами показано збереження стійкого титру антитіл аж до 240 днів після вакцинації. Розроблені тести на антитіла до SARS-CoV-2 в слині є наразі єдиним відомим нам інструментарієм для неінвазивної оцінки ефективності утворення імунної відповіді до антигенів вірусу внаслідок вакцинації (або для оцінки імунної відповіді перед вакцинацією). Ефективність тест-систем доведена при тестуванні 220 пар зразків слина-сироватка, предикативна цінність системи визначена як AUROC = 0.9135 ± 0.02967, p<0.0001.

Науковий керівник Проєкту

д.б.наук, професор

(посада)

Білий Р.О.

ПІБ



(підпис)