

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 27 ноября 2014 года № 14.604.21.0148 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014- 2020 годы» на этапе № 1 в период с 27 ноября 2014 года по 31 декабря 2014 года в соответствии с «План-графиком исполнения обязательств» по Соглашению выполнялись следующие работы:

- 1 Проведение аналитического обзора информационных источников по теме проекта.
- 2 Проведение патентных исследований по теме проекта.
- 3 Обоснование выбора направления исследований.
- 4 Разработка научных и технологических основ создания биорезорбируемого микроносителя для направленной доставки клеток.
- 5 Подготовка материальной базы (закупка расходных материалов, сырья, реактивов) для выполнения работ последующих этапов.

При этом были получены следующие результаты:

В связи с краткосрочностью 1 этапа проекта на данном этапе были выполнены только теоретические исследования и проведены патентные исследования. В ходе теоретической работы выполнен анализ более чем 15 научно-информационных источников за период 2009 – 2013 гг. по теме проекта, проведена систематизация сведений, создан обзор научных информационных источников по тематике исследуемой проблемы. Приведены варианты возможных решений поставленной проблемы с учетом результатов исследований, проводившихся по аналогичной тематике. На основе анализа научно-технической литературы и результатов выполненных ранее проектов были разработаны научно-технологические основы создания биорезорбируемого микроносителя для направленной доставки клеток.

В ходе теоретической работы проведена систематизация сведений об исследуемой проблеме, создан обзор научных информационных источников по тематике исследуемой проблемы. Приведены варианты возможных решений исследуемой проблемы с учетом результатов исследований, проводившихся по аналогичной тематике.

Использование клеточных технологий в терапии повреждений различных органов и тканей является перспективным направлением исследований, поскольку восстановление или замена поврежденного участка, а также нормализация функций происходит за счет оптимального соотношения вводимых клеточных факторов, что ускоряет этот процесс и делает его более эффективным. При лечении обширных повреждений методы клеточной терапии могут существенно сократить время заживления. При терапии ран кожи такой подход позволяет уменьшить вплоть до полного исчезновения образование рубцовой ткани. В результате того, что восстановление происходит путем индукции миграции и пролиферации клеток с соседних участков, восстановленная ткань практически не отличается по своим свойствам от окружающей здоровой ткани. Кроме того, такой подход снижает хирургическую нагрузку на пациента и является менее трудоемким для медицинского персонала. В настоящее время активно развивается направление использования клеток и биосовместимых материалов, выступающих в роли

носителей. Такие материалы должны обеспечивать доставку, дифференцировку и миграцию клеток в месте повреждения, а кроме того впоследствии должны замещаться клетками нормальной ткани пациента, быть биологически безопасными и обладать адекватными механическими характеристиками. Для проверки свойств такой системы носитель-клетки, клетки и материал должны использоваться вместе, что дает возможность оценить биосовместимость, их взаимодействие и деградацию побочных продуктов. Простота в использовании конечного продукта будет иметь большое значение в его клиническом применении. Одним из наиболее перспективных направлений тканевой инженерии и регенеративной медицины в настоящее время является разработка, исследование и клиническое использование комплексов, состоящих из искусственного внеклеточного матрикса и клеток, использующих матрикс как субстрат в результате их нанесения и культивирования *in vitro* или спонтанного заселения *in vivo*. Матрикс представляет собой изделие, которое отвечает таким требованиям, как биосовместимость, определенные механические, физические свойства и предоставляет субстрат для нормального функционирования клеток. Многими научными группами продолжается поиск адекватных носителей для трансплантируемых клеток, позволяющих упростить технологию трансплантации и усовершенствовать методики лечения заболеваний, обусловленных дефектами клеточных структур и тканей. Особое внимание уделяется разработке подходов к регенерации труднодоступных органов и тканей. Принципиальная возможность создания универсального биорезорбируемого изделия в виде суспензии пористого микроносителя, способного поддерживать жизнеспособность клеток разных типов, позволяет прогнозировать заметный прорыв в области регенеративной медицины. С помощью этой технологии ведутся работы по восстановлению крупных костных фрагментов, утраченных в результате травмы или заболевания, а также по ускорению васкуляризации различных трансплантатов. Эта технология актуальна и для лечения нейродегенеративных заболеваний, поскольку центральная нервная система имеет очень ограниченные возможности для самовосстановления, и введение в нее здоровых клеток может существенно повысить успешность лечения.

Микроносители – это частицы от 100 до 400 мкм в диаметре, которые изготавливаются из различных материалов и могут использоваться для прикрепления клеток и последующего введения в рану. Впервые такой подход был описан в 1967 году van Wezel и соавт. Данные последних исследований в этой области показывают, что введение в кожные раны пористых биорезорбируемых микроносителей, загруженных культивированными кератиноцитами человека, способствовало не только оптимальной реэпителизации раны, но и стимулировало регенерацию всех поврежденных слоев кожи. Таким образом, разработка биорезорбируемых материалов для создания суспензионных препаратов для эффективного лечения глубоких дефектов кожи является чрезвычайно актуальной задачей.

Анализ выявленных в соответствии с заданием патентного поиска по определению патентоспособности предполагаемого изобретения документов показал следующее: на дату проведения настоящего исследования объект «Биорезорбируемые микроносители для доставки клеток в область заживления и регенерации ран» на территории стран, в отношении которых проводился данный поиск абсолютно идентичных решений найдено не было, поскольку все действующие на сегодняшний день на территории Российской Федерации патенты

раскрывают решения, значительно отличающиеся от предлагаемого и, соответственно, не препятствуют его производству.

Данное изобретение также может быть признано патентоспособным в случае подготовки заявки на патент, поскольку настоящее изобретение не имеет недостатков, присущих ниже представленному прототипу.

Наиболее близким аналогом предлагаемого изобретения на территории Российской Федерации является документ RU 2104039 C1 (Нэшнл Ресеч Консил оф Канада (СА)), прекративший действие 24.04.2007, раскрывающий заменитель живой кожи, включающий биосовместимый носитель и культуру клеток кожи, отличающийся тем, что он содержит в качестве биосовместимого носителя микросферы из ресорбирующего *in vivo* материала, имеющие средний диаметр 50 - 500 мкм, предпочтительно 80 - 250 мкм, и культуру клеток кожи в виде покрытия, нанесенного на поверхность этих микросфер.

Существенным недостатком является использование в качестве материала микросфер полигидроксibuтирата, сополимера полигидроксibuтирата и полигидроксивалериата, полимеров лактидогликолидов, полилактонов, полиэфиров, полилактидов, полиглюколидов, полиангидридов, коллагена и желатина, поскольку использование биостабильных материалов отрицательно сказывается на их биосовместимости и удорожает их. Недостатком использования коллагеновых матриц является быстрое и нерегулируемое время биodeградации, ограничивающее срок функционирования коллагеновых изделий до 1 месяца.

При сравнении с наиболее близкими аналогами, выявленными в патентных базах США (US), Китая (CN), Великобритании (GB), Европейского патентного ведомства настоящее изобретение также имеет ряд преимуществ, которые могут выступать в качестве технического результата изобретения:

- размер микроносителей составляет 50 - 300 мкм, что позволяет вводить препарат в виде инъекций и, соответственно, повышать потенциал регенерации участков глубоких повреждений органов и тканей;
- применение в качестве материала частиц фиброина шелка позволяет добиться высокой биосовместимости, определяет биodeградируемость и биостимулирующие свойства препарата;
- способ получения микроносителей является простым и эффективным, а также имеет экономическое преимущество перед известными аналогами.

Таким образом установлено, что разработка биоресорбируемых материалов для создания суспензионных препаратов для эффективного лечения глубоких дефектов кожи является чрезвычайно актуальной задачей.

Исследуемые объекты относятся к изделиям медицинского назначения, а именно к микроносителям на основе фиброина шелка, предназначенным для доставки клеток в область заживления и регенерации ран, обеспечивая тем самым быстрое и эффективное лечение глубоких повреждений кожи.

В результате реализации проекта будут разработаны научно-технические основы для создания отечественного микроносителя, предназначенного для целевой доставки клеток, обеспечивающих ускорение репарационных процессов и процессов регенерации. В качестве основы для создания микроносителя будут использованы фиброин шелка и другие биоресорбируемые полимеры. Полученные микроносители будут охарактеризованы в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний. С использованием методов световой и электронной микроскопии будет произведен анализ структуры микроносителя. *In vivo* будет

исследован рост клеток разных типов, включая кератиноциты, макрофаги и фибробласты, на макроносителях. Влияние микроносителя на регенеративный потенциал будет изучен в моделях полнослойных ран кожи лабораторных мышей. Процессы заживления и регенерации будут изучены с использованием комбинации биометрических, гистологических и гистохимических методов. По результатам выполненных исследовательских испытаний будет проведена оценка эффективности и безопасности применения микроносителей и даны прогнозы о перспективах их использования для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

Все полученные на 1 этапе данные и документы, содержащие конструктивные и технологические (методические) решения, будут использованы для реализации последующих этапов и выполнения ПНИ в целом.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом:

Использование средств субсидии в размере 3 000 000 (Три миллиона) рублей, предоставленных Получателю субсидии по Соглашению с Минобрнауки России от 27 ноября 2014 г. №14.604.21.0148 на этапе № 1 Плана-графика исполнения обязательств условиям Соглашения с Минобрнауки России соответствует.

Работы по Соглашению о предоставлении субсидии от 27 ноября 2014 г. №14.604.21.0148 на этапе №1 Плана-графика исполнения обязательств выполнены в установленный срок и удовлетворяют условиям данного Соглашения, в том числе Техническому заданию и Плану-графику исполнения обязательств