

**2022–2026 M. MOKSLINIŲ TYRIMŲ IR EKSPERIMENTINĖS PLĖTROS PROGRAMA  
„KAMIENINIŲ IR AUKŠTESNĖS DIFERENCIACIJOS LAŠTELIŲ TECHNOLOGIJOS  
REGENERACINEI MEDICINAI IR AUDINIŲ INŽINERIJAI“**

**1. 2022–2026 m. mokslinių tyrimų ir eksperimentinės plėtros programos „Kamieninių ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių technologijos regeneracinei medicinai ir audinių inžinerijai“** (toliau – programa) vykdytojas – Valstybinių mokslinių tyrimų institutas Inovatyvios medicinos centras (toliau – Centras).

**2. Programos tikslas** – Kamieninių ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių, organoidų ir jų produkuojamų veiksnių panaudojimas kuriant naujas lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų terapijos ir tyrimų strategijas.

**3. Programos uždaviniai:**

3.1. Žmogaus kamieninių ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių pagrindu sukurtuose *in vitro* ir *in vivo* modeliuose tirti lėtinių degeneracinių ligų patogenezės mechanizmus, ieškoti naujų taikinių terapijai ir diagnostikai.

3.2. Kurti ir rengti technologijų perdavimui naujus lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų biomodelius *in vitro* ir *in vivo*.

Kurti ir rengti technologijų perdavimui naujas lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų terapijos ir diagnostikos strategijas, panaudojant žmogaus kamienines ar aukštesnės diferenciacijos ląsteles ir (ar) jų produkuojamus veiksnis.

**4. Programos tikslo bei keliamų uždavinių pagrindimas**

**Metodologinis tyrimų pagrindimas:**

4.1. Žmogaus kamieninių ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių technologijos ir fundamentiniai tyrimai Centre plėtojami jau seniai ir jau įsitvirtino tarp vyraujančių kryptų. Kiekvienu 5 metų MTEP tematikos vykdymo laikotarpiu šioje temoje mokslininkai užsitikrindavo po keletą stambių konkursiniu būdu finansuojamų projektų. Susidomėjimas šia sritimi auga, nes vis daugiau sužinoma apie imunomoduliacines ir regeneracines žmogaus mezenchiminių ir kitų kamieninių ląstelių (toliau – KL) savybes, jos ne tik tiriamos, bet jau kliniškai pradedamos taikyti įvairioms ligoms (lėtinėms uždegiminėms, degeneracinėms, užsitęsusi COVID-19) gydyti. Be to, Centre kamieninės ir aukštesnės diferenciacijos ląstelės bei indukuojamas pliuripotentes kamienines ląsteles (toliau – iPKL) naudojamos audinių inžinerijoje, kuriant produktus regeneracinei medicinai ir *in vitro* naudojimui. Ši tema atitinka tiek *Horizon Europe*, tiek Lietuvos mokslo prioritetus. Ji yra prieš tai vykdytos programos „Naujos kamieninių ląstelių ir rekombinantinių molekulių technologijos audinių inžinerijai ir regeneracinei medicinai“ tęsinys, tolesniam įgyvendinimui pasirenkant progresyviausias tyrimų kryptis ir atsisakant Centre gana mažai plėtotų rekombinantinių baltymų, kitų molekulių ir technologijų kūrimo. Sukaupėme daug patirties KL panaudojimo regeneracinei medicinai ir audinių inžinerijai srityje, tad darbus suplanavome naujausiose ir žmonijai šiuo metu aktualiausiose probleminėse srityse:

- neurodegeneracijų patogenezės mechanizmų ir terapinių strategijų tyrimų;
- beląstelių technologijų, kur KL veiksniai naudojami terapijai ir diagnostikai;
- širdies ir kraujagyslių sistemos ligų;
- atramos ir judamojo aparato degeneracijų;
- plaučių ligų (ypač susijusių su oro taršos poveikiu, COVID-19 ir panašiais veiksniais).

Tyrimuose naudojame naujausias metodologijas, veikiame tarp disciplinų bendradarbiaudami su fizikos, chemijos ir inžinerijos specialistais, kartu kurdami karkasus, matricas, stimuliacijos metodikas,

diegdami naujausius ląstelių išgryninimo, audinių inžinerijos ir vaizdinimo metodus. Šios Programos vykdytojai mokslininkai nuolat stažuojasi užsienio mokslinių tyrimų institucijose, bendradarbiauja su Europos ir pasaulio šalių mokslininkais, todėl plėtojamas ir tęsiamas platus tarptautinis bendradarbiavimas.

4.2. Įgyvendinant Programą, bus vykdomos šios veiklos:

1. Neurodegeneracinių ligų, t. y. Alzheimerio ir Parkinsono, patogenezės mechanizmų tyrimai panaudojant iPKL, generuotas iš lignonų audinių. iPKL bus diferencijuojamos į įvairių tipų neuronus, astroцитus, oligodendrocitus, mikroglijos, smegenų kraujagyslių endotelio ląsteles-bei skirtingų nervinio audinio tipų ląstelių kokultūrų, sferoidų bei organoidų eksperimentinius modelius.
2. Žmogaus kraujo smegenų barjero (toliau – KSB) modeliavimas *in vitro* panaudojant smegenų kraujagyslių endotelio ir astroцитų ląstelių kokultūras. 3D spausdinimo ir mikrofluidikos technologijas. Patologinių KSB persitvarkymų COVID-19 infekcijos metu, transendotelinio barjero rezistentiškumo (varžos), paraląstelinio laidumo, tampriųjų jungčių baltymų raiškos pokyčių tyrimai.
3. Žmogaus KL ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių sekretomo terapinio poveikio tyrimai, vertinant vezikulinės (ekstraląstelinės vezikulės (EV), egzosomos, mikrovezikulės) ir ekstravezikulinės sekretomo frakcijų sudėtį „ominais“ metodais. Standartizuotų ląstelių platformų, padėsiančių kiekybiškai ir kokybiškai įvertinti KL sekretomo poveikį, sudarymas, panaudojant CRISPR / Cas9 genų redagavimo technologijas ir sukuriant iPKL reporterių linijos, leisiančias monitoruoti uždegiminio atsako, oksidacinio streso, autofagijos ir kt. pokyčius realiu laiku. EV poveikio žmogaus mikroglijos ląstelėms bei jų sąveikos molekulinį mechanizmų, internalizavimo mechanizmų, poveikio uždegiminių mikroglijos atsakui, fagocitozei, migravimui, purinerginiams signaliniams keliams, membraninių žymenų raiškai, metaboliniam perprogramavimui ir kitiems procesams tyrimai. Vezikulinės ir ekstravezikulinės kamieninių ir aukštesnės diferenciacijos ląstelių sekretomo frakcijų terapinio potencialo tyrimai įvairių lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų modeliuose.
4. Žmogaus miokardo pažeidimo ir regeneracijos mechanizmų bei elektrofiiziologijos tyrimai, taikant audinių inžinerijos metodus, elektromechaninės stimuliacijos poveikius, kardiomiogeninei diferenciacijai ir stimuliacijai naudojant pirmines žmogaus ląstelių kultūras, iPKL ir kitas KL, audinių eksplantus bei įvairius karkasus.
5. Žmogaus sąnario kremzlės ir kitų skeleto bei raumenų sistemos audinių bei ląstelių funkcinių pažeidimų, osteoartrito bei kitų artritų patogenezės mechanizmų, uždegiminės aplinkos, mechanotransdukcijos ir jonų kanalų reguliacijos svarbos, hipoksijos, elektros srovės, mechaninės stimuliacijos įtakos tyrimai pirminėse žmogaus ląstelių kultūrose, eksplantuose ir trimačiuose audinių mimetikuose bei šių ir kitų audinių Biobanko kolekcijų kaupimas.
6. Žmogaus kvėpavimo sistemos pažeidimo ir ligų vystymosi taršioje aplinkoje mechanizmų tyrimai. Cito- ir genotoksikologiniams tyrimams reikalingų kvėpavimo sistemos audinių biomodeliai konstravimas, panaudojant įvairių ląstelių ko-kultūras, išmanias medžiagas, trimačius karkasus. Kvėpavimo sistemos audinių modelių tyrimai veikiant įvairiais oro taršos veiksniais ir jų deriniais (žmogaus veiklos kilmės, virusinės/bakterinės kilmės, natūralios gamtinės kilmės), naujų biožymenų (jų kombinacijų) charakterizavimas. Kandidatinių apsauginių bei terapinių strategijas tyrimai.

## 5. Tyrimų etapai ir jų charakteristika:

### I etapas: pirmieji 2,5 metų.

Šiame etape pagrindinis dėmesys bus skirtas tęstiniam darbams jau žinomose kryptyse kuriant naujus ligų bei audinių modelius ir juose ieškant naujų taikinių terapijai ir diagnostikai. Neurodegeneracijų, senatvinių ir uždegiminių sąnarių ligų, širdies raumens, kvėpavimo sistemos organų pažeidimų mechanizmų tyrimai apims detalius ląstelių sekretomo tyrimus, genų raiškos ir epigenetinių pokyčių paieškas, naujų biožymenų charakterizavimą. Be to, lygiagrečiai, vykdysime regeneracinių mechanizmų bei medžiagų tyrimus. Mūsų turimus biomodelius papildys trimačiai organomimetiniai kvėpavimo takų ir plaučių alveolinio audinio audinio modeliai, širdies raumens modelis, panaudojant naujos kartos 3D spausdinimo ir mikrofluidikos technologijas bus sukurtas naujos kartos kraujo smegenų barjero prototipas, taip pat bus sukonstruotos ląstelių reporterių linijos, leisiančios monitoruoti patologinius procesus realiu laiku. Pažangiųjų terapinių preparatų veikimą tirsime artritų modeliuose. Baigiamas kurti ir pradės veikti žmogaus audinių / ląstelių Biobankas, kuriame saugosime standartizuotai surinktus

biologinius donorų mėginius ir sveikatos informaciją Lietuvos ir pasaulio mokslinei bei industrinei bendruomenei.

## **II etapas: kiti 2,5 metų.**

Šiame etape svarbiausia veikla taps sukurtų modelių panaudojimas užsakomiesiems ir MTEP tyrimams, t. y. įveiklinimas tolesniems moksliniams tyrimams ir naujų terapijos produktų kūrimui bei poveikio vertinimui, inovacijų ir verslo įmonių (startuolių įmonių ir kitų) produktams testuoti, pvz., antivirusinėms medžiagoms, diagnostiniams metodams išbandyti. Ankstesniame etape sukurti biomodeliai, prototipai ir technologijos bus patentuojamos ir komercializuojamos, toliau testuojamos ikiklinikiniuose tyrimų modeliuose bei tiriamos galimybės pradėti jų klinikinius tyrimus.

## **6. Detalus įgyvendinimo planas, kuriame numatomas skirtų lėšų paskirstymas**

### **I. etapas: Programos vykdymui skiriama 1,1 mln. Eur. Pagal uždavinius skiriant:**

1. Lėtinių degeneracinių ligų (neurodegeneracijų, chondrodegeneracijų, raumenų-skeleto sistemos ligų, širdies raumens ligų, kvėpavimo sistemos ligų) patogenezės mechanizmų tyrimams šiame etape skirsime 500 tūkst. Eur. Metodikos: intraląstelinės signalizacijos fosfokinazių aktyvumo tyrimai, epigenetiniai ir genetiniai tyrimai, sekretomo, metabolomo tyrimai biomodeliuose sukeltant tipinius ligų procesus: toksinius pažeidimus, oksidacinį stresą, hipoksiją, mechaninį pažeidimą. Tyrimai apie elektrinės stimuliacijos, jonų osciliacijos ir koncentracijos kitimo svarbą ligos progresavimui, ląstelių diferenciacijos tyrimai įvairių augimo veiksnių, fizikinių poveikių (mechaninio spaudimo, elektros srovės) įtakoje. Mechanotransdukcijos, vaistų, organinių ir sintetinių cheminių medžiagų įtaka ląstelių funkcijoms (proliferacijai, metabolizmui, morfologiniams pokyčiams, žaizdos gijimui).

1. Įvairių degeneracinių ir uždegiminių ligų veiksnių atranka ir kompleksiniai tyrimai: toksinių medžiagų, oksiduojančių veiksnių, senėjimo, struktūrinių baltymų pokyčių, genetinių ir epigenetinių veiksnių tyrimai *in vitro*.
2. Papildomų veiksnių: elektromechaninės stimuliacijos, jonų osciliacijos ir koncentracijos kitimo tyrimai, ląstelių diferenciacijos įvairiuose poveikiuose tyrimai, augimo veiksnių, fizikinių poveikių (mechaninio spaudimo, elektros srovės) veiksnių tyrimai nustatant degeneracinių ir uždegiminių ligų mechanizmus.
3. Vaistų, organinių ir sintetinių cheminių medžiagų, kitų substancijų įtakos tiriamiems patologiniams procesams vertinimas.

2. Naujus ligų ir audinių biomodelių *in vitro* ir *in vivo* kūrimui šiame etape numatome skirti 300 tūkst. Eur. Metodikos: pirminių ląstelių, iPKL ir ląstelių linijų kultūrų, organoidų kultivavimas įvairiose organotipinėse, trimatėse sąlygose, biocheminių ir geometrinių faktorių įtakos vertinimas, fizikinių faktorių panaudojimas *in vivo* sąlygų atkartojimui. Laboratorinių gyvūnų biomodelių vystymas sukurtant lėtinės obstrukcinės plaučių ligos, cukrinio diabeto, sąnarių ligų, Alzheimerio ir kitų ligų tipinius pažeidimus. Modeliai karkasuose, sferose ir didelio tankio sistemose. Mechaninių apkrovų modeliavimas trimatėms kultūroms naudojant „Flexcell“ sistemą. Diferencijuotų ląstelių-lakštų auginimas ant specialių paviršių. Audinių eksplantų tyrimai panaudojant tiek išorinę stimuliaciją (elektromechanotransdukciją), tiek įvairias organines ir / arba sintetines medžiagas. Organų ant lustų („Organ-on-Chip“) modelių kūrimas, naudojant iš biologinės medžiagos išskirtas ląsteles, karkasus ir audinių eksplantus. Įvairių ląstelių konstruktyvų/karkasų / hidrogelių tyrimai transplantuojant *in vivo*.

1. Audinių ir ligų modelių *in vitro* kūrimas ir tobulinimas naudojant pirmines ląsteles, iPKL ir ląstelių linijas. Gaunamų modelių kultivavimas organotipinėse sąlygose; biocheminių ir geometrinių faktorių įtakos tyrimai, keičiant biocheminius, standumo, laidumo, elastingumo rodiklius, ląstelių skaičių ir santykį, papildomas medžiagas.
2. Organotipinių modelių palyginimas ir išbandymai. Mechaninių apkrovų modeliavimas: spaudimo ir tempimo poveikių įtakos tyrimai. Audinių eksplantų tyrimai mechaninės stimuliacijos ir cheminių medžiagų poveikyje.

3. Priartinimas prie taikymo: ląstelių lakštų; organų ant lustų, t. y. supaprastintų žmogaus organų biomimetikų specifiniams rodikliams matuoti, kūrimas.
  4. Biomodelių vystymas *in vivo*: naujo pelių lėtinės obstrukcinės plaučių ligos modelio kūrimas (veikiant policiklinių aromatinių angliavandenilių mišiniu, kitais oro taršos komponentais), nauji ir / ar atnaujinti neurodegeneracijų, artrito ir / ar kitų skeleto-raumenų ir sąnarių ligų gyvūnų modeliai.
  5. Specializuotų (kamieninių ląstelių, audinių ir kt.) donorų biologinių mėginių kolekcijų kaupimas Biobanke tolesniems tyrimams.
3. Naujų lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų terapijos ir diagnostikos strategijų, kur naudojamos žmogaus kamieninės, aukštesnės diferenciacijos ląstelės ir (ar) jų produkuojami veiksniai, transliacijai skirsime 300 tūkst. Eur. Metodikos: ląstelių, ląstelių sekretuojamų faktorių, audinių inžinerijos konstrukčių ir kitų strategijų nuoseklus testavimas ikiklinikiniuose, laboratorinių gyvūnų ir klinikiniuose tyrimuose, skirtuose artritų / osteoartritų, kvėpavimo sistemos ligų, širdies raumens degeneracinių, Alzheimerio, Parkinsono ir kitų ligų gydymui bei diagnostikai. Nanobiosensorinės sistemos skirtos diagnostinių biologinių žymenų (osteoartrito terapijos personalizavimui) multipleksinei analizei kūrimas.
1. Ląstelių, ląstelių sekretuojamų faktorių, audinių inžinerijos konstrukčių ir kitų strategijų paruošimas gyvūnų ir kitiems ikiklinikiniams tyrimams, t. y. *in vitro* prototipų kūrimas artritų/osteoartritų, širdies elektrofiziologijos, kvėpavimo sistemos ligų, neurodegeneracinių ir kitų ligų gydymui bei diagnostikai.
  2. Prototipų ir strategijų (pvz., įvairių ekstravezikulinių preparatų, probiotikų mišinių, jonų kanalų reguliatorių išbandymas standartizuotose ląstelių / audinių kultūrose ar gyvūnų modeliuose.
  3. Patikrintų ir pasiteisinusių diagnostikos ir terapijos strategijų perkėlimas į klinikinius tyrimus.

## **II etapas: šiame etape Programai vykdyti skirsime 1,1 mln. Eur. Pagal uždavinius:**

1. Lėtinių degeneracinių ligų patogenezės mechanizmų tyrimui (testiniams pirmojo etapo darbams) – 500 tūkst. Eur. Naujai atrastų biožymenų tinkamų diagnostikai bei naujų taikinių terapijai validacija testiniuose tyrimuose, duomenų publikavimas. Naujų metodų ir strategijų atranka klinicinei praktikai. Specializuotų (kamieninių ląstelių, audinių ir kt.) donorų biologinių mėginių kolekcijų kaupimas Biobanke tolesniems tyrimams.
  - Tolesnės ligų patologinių procesų stebėjimo ir valdymo galimybių paieškos (biožymenų deriniai, terapinių strategijų personalizavimo galimybių tyrimai, įvairūs skaitmeniniai sprendimai ir kt.).
  - Testiniai tyrimai, duomenų publikavimas, patentavimas, viešinimas. Naujų metodų ir strategijų atranka transliacijai ir klinicinei praktikai. Mokslo populiarinimas, politinių rekomendacijų ir gairių teikimas remiantis tyrimų rezultatais.
  - Specializuotų (kamieninių ląstelių, audinių ir kt.) donorų biologinių mėginių kolekcijų kaupimas Biobanke tolesniems tyrimams.
2. Ligų biomodelių *in vitro* ir *in vivo* kūrimui (testiniams darbams) skirsime 300 tūkst. Eur. Metodikos: Laboratorinių gyvūnų biomodelių bei *in vitro* biomodelių panaudojimas vystant bei testuojant įvairias inovacijas: Centro bei klientų produktus, pvz., įvairias mažos molekulinės masės medžiagas, fitocheminius junginius, probiotikus, prebiotikus, kitus terapinius sprendimus neurodegeneracijų, plaučių ligų, sąnarių ligų, kardiomiopatijų, kitų ligų atvejams.
  - Naujų *in vitro* biomodelių pritaikymas ir panaudojimas vystant bei testuojant įvairias inovacijas: Centro tyrėjų bei klientų produktus, pvz., įvairias mažos molekulinės masės medžiagas, fitocheminius junginius, probiotikus, prebiotikus, kitus terapinius sprendimus. Tuo pačiu modelius nuolat tobulinant ir atnaujinant, t. y. panaudojant vis naujas pažangias medžiagas, ląstelių technologijas bei tyrimo metodus.

- Mokslo populiarinimas, politinių rekomendacijų ir gairių teikimas remiantis tyrimų rezultatais.
- Laboratorinių gyvūnų biomodelių pritaikymas ir naudojimas užsakomiesiems tyrimams (pvz., ligos stadijos, pažeidimo sukėlėjo, tyrimo metodų atranka) vystant bei testuojant Centre sukurtus ar užsakovų produktus, pvz., įvairias mažos molekulinės masės medžiagas, fitocheminius junginius, probiotikus, prebiotikus, kitus terapinius sprendimus.
- Specializuotų (kamieninių ląstelių, audinių ir kt.) donorų biologinių mėginių kolekcijų kaupimas Biobanke tolesniems tyrimams.

3. Naujų lėtinių degeneracinių ir uždegiminių ligų terapijos ir diagnostikos technologijų perdavimui (testiniams darbams) numatyta 300 tūkst. Eur. Metodikos: tolesnis ląstelių, ląstelių sekretuojamų faktorių, audinių inžinerijos konstrukčių ir kitų strategijų testavimas ikiklinikiniuose, laboratorinių gyvūnų ir klinikiniuose tyrimuose, prototipų gamyba, intelektinės išradimų nuosavybės apsauga.

- Tolesnis pasiteisinsusių ląstelių, ląstelių sekretuojamų faktorių, audinių inžinerijos konstrukčių ir kitų strategijų patikrinimas ikiklinikiniuose, laboratorinių gyvūnų ir klinikiniuose tyrimuose, prototipų gamyba.
- Intelektinės išradimų nuosavybės apsauga.

**7. Numatomi rezultatai:** per numatytą Programos įgyvendinimo laikotarpį numatoma parengti:

- Moksliniai straipsniai žurnaluose, turinčiuose cituojamumo rodiklį (angl. *Journal Impact Factor*) *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazėje: apie 10 / per metus.
- Mokslinių tyrimų ir eksperimentinės plėtros darbai (MTEP): apie 1–2/ per metus.
- Užsakomieji tyrimai (verslo subjektų užsakymai): apie 1 / per metus.
- Pranešimai Lietuvos ir užsienio mokslinėse konferencijose, seminaruose: po 7–10 / per metus.
- Surengtos mokslinės konferencijos / seminarai (>30 dalyvių): po 1 / per metus.
- Mokslo populiarinimo straipsniai ir laidos Lietuvos ar užsienio žiniasklaidoje: 2 / per metus..
- Tarptautiniai projektai —1 / per metus.
- Centre parengti studentų baigiamieji darbai (magistro ir bakalauro studijų) – 5 / per metus.
- Duomenų bazės / duomenų rinkiniai / Biobanko kolekcijos: 2–3 / per 5 metus.

**8. Rezultatų sklaidos priemonės:**

- Tyrimų rezultatai bus publikuojant ir viešinami tarptautinėse konferencijose, seminaruose.
- Publikuojami populiarūs straipsniai, laidos ir interviu apie publikacijas ir tyrimus.
- Žinios apie pasiekimus ir progresą platinimas socialinių tinklų Centro paskyroje, Centro interneto svetainėje.
- Bendradarbiavimas su nevyriausybinėmis organizacijomis ir asociacijomis, bendri renginiai, publikacijos.

**9. Programai vykdyti skirtos lėšos 2 200000,00 Eur (du milijonai du šimtai tūkstančių eurų) :**

	2022 m.	2023 m.	2024 m.	2025 m.	2026 m.	Visai programai skirta Eur
Lėšos programai vykdyti	440 000	440 000	440 000	440 000	440 000	2 200000

**10. Programos vadovas skelbiamas** centro interneto svetainėje [www.imcentras.lt](http://www.imcentras.lt).