

Наименование проекта: «Экспериментальное обоснование создания лекарственного препарата для местного лечения ожогов на основе наносеребра и ингибитора протеиназ»

Титульная страница проекта

Название проекта: Экспериментальное обоснование создания лекарственного препарата для местного лечения ожогов на основе наносеребра и ингибитора протеиназ		Номер проекта: 0039
Вид конкурса	Эстафета вузовской науки 2014	
Технологическая платформа	Фармакология	
Наименование организации	Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского	
Руководитель проекта:	Кубышкин Анатолий Владимирович, доктор медицинских наук, профессор	
Год начала проекта	2015	
Год окончания проекта	2017	
Запрашиваемый объем финансирования, руб.	3 000 000	
Число членов научного коллектива / из них до 35 лет	6/3	
Суммарное количество публикаций / из них в зарубежных изданиях	27/5	

1. Соответствие проекта тематике заявленной научной платформы

Проект предлагается к выполнению в рамках технологической платформы «Фармакология» и направлен на решение следующих целей и задач, поставленных в технологической платформе:

- Разработка новых лекарственных форм существующих препаратов, в том числе с применением нанотехнологий, с целью оптимизации их практического использования.
- Разработка комбинированных лекарственных форм, в том числе с применением нанотехнологий.

2. Актуальность исследования

Цель проекта направлена на экспериментальное изучение и обоснование возможности использования предлагаемой комбинации наносеребра и ингибитора протеиназ аprotинина для местного лечения ожогов. В ходе выполнения проекта планируется выявить влияние предлагаемой комбинации на общие закономерности и механизмы формирования повреждения кожи при развитии ожогов разной степени, изучить локальное и системное изменение состояния неспецифических протеиназ и их ингибиторов, определить характер морфологических и ультраструктурных изменений в процессе восстановления тканей после термического повреждения.

Ожоговый травматизм является важной медицинской и социальной проблемой. По данным Всемирной организации здравоохранения, термические повреждения занимают третье место в структуре травм мирного времени и на их долю приходится 10-12% всех травматических повреждений (Атясов И.Н., Атясова М.Л., 2011; Peck M.D. et al., 2011).

В России ежегодно получают ожоги более 400 тысяч человек. Общеизвестно, что наибольшую опасность для жизни представляют обширные глубокие ожоги, сопровождающиеся развитием тяжелой ожоговой болезни, поэтому традиционно наибольшее внимание в комбустиологии уделяется этой проблеме. Однако в настоящее время отмечается прогрессивный рост локальных глубоких ожогов, при которых зона поражения не превышает 10% поверхности тела (Гильмутдинова И.Р. и соавт., 2013)

При повреждении кожи и подлежащих тканей, вызванном термическим, химическим, электрическим факторами, лучевой энергией или их комбинацией, высвобождаются различные химические медиаторы воспаления. Развитие воспалительных реакций в коже приводит к изменению баланса между протеиназами и их ингибиторами. Показано, что увеличение активности протеиназ как в коже, так и в сыворотке крови обнаружены при ихтиозах, аллергическом дерматите, пузырчатке, грибковых поражениях кожи (Liu Z., 2001.; Жерносек В.Ф., 2013; Давыдова А.В. и соавт., 2013; Федотова М.А. и соавт., 2010).

Однако данных об активности протеиназ послеожоговых ран на местном уровне и их значении для развития ожогов в научной литературе представлено недостаточно. Например, изучение коллагенолитической (матриксные металлопротеиназы — ММП) и трипсиноподобной (сериновые протеиназы — сериновые протеиназы — СП) активности в слезной жидкости больных с травмой глаза, полученной в результате химического и термического ожогов роговицы (Рыжакова О.С. и соавт., 2012) показало, что активность ММП при ожогах повышается в 100–1000 раз, активность СП — в 4000–10000 раз. Это приводит к разрушению роговицы, развитию глубоких язв роговицы и служит причиной потери зрения. Также имеются исследования, показывающие роль протеиназ в патогенезе хронических незаживающих ран, где они дезактивируют факторы роста и цитокины, необходимые для процесса репарации. Под их действием деградируют компоненты внеклеточного матрикса (Meyer F.J., 2008; Ladwig G.P. et al., 2005; Schults S.G., 2005).

Не до конца понятная роль клеточных протеиназ и их эндогенных ингибиторов в патогенезе ожогов не позволяет в полной мере использовать подходы, направленные на коррекцию этого важного патогенетического механизма. В настоящее время тактика местного лечения ожогов направлена на очищение раны от некротических тканей и борьбу с инфекцией. Первая задача решается путем ранней хирургической обработки, которая призвана уменьшить воспалительный ответ на ожоговое повреждение, т.к. вместе с некротизированными тканями удаляются провоспалительные медиаторы. Раннее хирургическое лечение ожоговой травмы является приоритетным, снижает летальность тяжелообожженных больных, существенно сокращает сроки лечения (Алексеев А.А. и соавт., 2014).

Кроме того, для очищения ожоговой раневой поверхности широко используются сериновые протеиназы (трипсин, химотрипсин), которые призваны лизировать компоненты внеклеточного матрикса в зоне коагуляционного некроза ожоговой раны (Klasen H.J., 2001). Под воздействием ферментных препаратов, происходит расщепление и разложение денатурированного белка, наступает расплавление влажного струпа и рассасывание гнойно-фибринозных наложений, что приводит к быстрому и безболезненному очищению раны от остатков нежизнеспособных тканей (Ефименко Н.А., 2005).

Однако, применение ферментов начиная со второй стадии раневого процесса как правило не показано, т.к. протеолитические ферменты разрушают грануляционный барьер в ране и создают условия для генерализации инфекционного процесса и замедления репаративных процессов (Александрова А.В., 2011., Глянец С.П., 2004). При этом

уровень протеиназ, высвобождающихся из лейкоцитов, поврежденных тканей и микроорганизмов может оставаться высоким и способствовать поддержанию высокого уровня деструкции тканей.

Кроме того, при массивных ожогах, а также при выраженной инфекционной составляющей, действие протеиназ клеточного и бактериального происхождения может приводить к истощению системы ингибиторов протеиназ. Причем, основной причиной развития осложнений и смертельных исходов при ожогах остается инфекция (Bajaj-Nava LA., 2013). Помимо непосредственной угрозы для жизни больного, инфекция приводит к задержке образования грануляционной ткани при глубоких ожогах, лизису вновь образованного эпителиального покрова, углублению ран и избыточному рубцеванию при поверхностных ожогах (Rafla K., Tredget E.E., 2011; Привольнев В.В., Каракулина Е.В., 2011).

Таким образом, формируются две проблемы, влияющие на скорость регенерации послеожоговых ран и развитие осложнений, одна из которых - контроль уровня протеиназ в фазе формирования грануляций, другая – борьба с инфекционными агентами. Исходя из этого, можно считать, что ингибирование чрезмерной протеолитической активности ферментов, а так же профилактика раневой инфекции, являются ключевыми направлениями в создании новых препаратов для ускорения регенерации послеожоговых ран.

В качестве компонента для лечения термических ожогов с антипротеиназным механизмом действия планируется использовать ингибитор протеиназ «апротинин», механизм действия которого заключается в блокировании активности тканевых протеаз - ферментов, осуществляющих гидролиз пептидных связей в молекулах белков и пептидов. В основе ингибирующего действия антипротеиназ лежит образование устойчивых комплексов с ферментами, в составе которых последние утрачивает свою активность, что создаст благоприятный фон для созревания грануляционной ткани (Нетюхайло Л.Г., 2012). Кроме того, большая роль в лечении ожоговых травм глаз отводится ингибиторам протеолитических ферментов, а именно, ингибиторам сериновых протеаз и металлопротеиназ. Их использование уменьшало экссудацию, проявляющуюся снижением выпота фибрина в переднюю камеру и стекловидное тело, оказывало противовоспалительное, противоотечное действие, предотвращало изъязвление и перфорацию роговицы (Капитанов Ю.А., 2002).

Для борьбы с инфекциями основным приоритетом остаются антибиотики, однако устойчивость к ним микроорганизмов является одной из основных проблем, с которыми сталкиваются врачи в терапии послеожоговых ран. В связи с этим, во всем мире активно ведутся исследования по нахождению альтернативного антисептического агента. Одним из таких агентов может быть нитрат серебра, а модификация серебра с использованием нанотехнологий позволяет в сотни раз снизить концентрацию металла при сохранении всех его бактерицидных свойств. За счет большей удельной поверхности наночастиц увеличивается адсорбционная емкость наночастиц, что значительно усиливает способность наносеребра связываться с микроорганизмами, тем самым повышая его бактерицидные свойства (Гусев А.И., 2008; Чекман и др, 2008). Серебро в наноразмерном диапазоне обладает выраженным бактерицидным действием по отношению к широкому спектру патогенных микроорганизмов, в том числе имеются указания на противовоспалительные эффекты наносеребра (Рибачук А.В., Чекман I.C., 2009; Babanin A.A. et al., 2014; Patricia L Nadworny et al., 2010). В частности, показана способность наносеребра снижать активность провоспалительных медиаторов при моделировании термического повреждения кожи (Prabhu S., Poulouse E., 2012).

Кроме того, альгинат натрия, входящий в состав композиции в качестве носителя частиц наносеребра, получен из бурых морских водорослей. Этот полимер не обладает антигенностью и аллергенностью, полностью рассасывается и стимулирует процессы заживления, легко сочетается с лекарственными и другими физиологически активными

веществами. Альгинат натрия обладает вязкостью, способностью к набуханию и гелеобразованию, а также способен адсорбировать воду, что также можно эффективно использовать при лечении ожоговой раны с явлениями выраженной экссудации (Юданова Т.Н., Решетов И.В., 2006).

3. Научный коллектив

1. Руководитель проекта: Кубышкин Анатолий Владимирович (Kubyshkin A.V.), 20/02/1959 г.р., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79780280111, email: anatoly2802@gmail.com. Индекс Хирша Scopus – 1, Индекс Хирша РИНЦ – 2.
2. Анисимова Людмила Васильевна (Anisimova L.V.), 20/07/1974 г.р., кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической патофизиологии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79787133987, email: anisanislav@mail.com. Индекс Хирша РИНЦ – 1.
3. Давыдова Александра Александровна (Davydova A.A.), 20/07/1980 г.р., кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79787920081, email: akzag@mail.ru.
4. Чегодарь Денис Владимирович (Chegodar D.V.), 17/12/1977 г.р., ассистент кафедры общей и клинической патофизиологии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79788084836, email: chegodar_d@ukr.net.
5. Баталов Ленур Сейдаметович (Batalov L.S.), 04/12/1988 г.р., аспирант кафедры общей и клинической патофизиологии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79787470278, email: Lenur.Battalov@mail.ru.
6. Боровская Анна Игоревна (Borovskaia A.I.), 14/07/1989 г.р., аспирант кафедры общей и клинической патофизиологии Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского, тел. +79788195447, email: anukobe@i.ua.

4. Финансовая модель

Общий запрашиваемый объем финансирования проекта составляет 3000000 руб.

Финансовая модель расходов по проекту может быть представлена следующим образом.

Ежегодное финансирование – 1000000 руб.

Фонд заработной платы – 500000 руб.

Начисления на заработную плату и налоги – 150000 руб.

Закупка реактивов, расходных материалов и оборудования – 200000 руб.

Накладные расходы – 150000 руб.

После окончания проекта предполагается получить разрешение на клинические испытания предложенного препарата для лечения ожогов и при успешном их проведении последующий коммерческий выпуск. Исходя из предварительных расчетов, стоимость предлагаемого комплекса может составить в пределах 500 руб. за 10 мл. При расчете 400000 ожогов в год только на территории России, потенциальный рынок препарата может составить 200 млн.руб. в год.

5. Конкурентные преимущества и инновационность проекта

Проект направлен на разработку комбинированного препарата для местного лечения ожогов на основе наносеребра и ингибитора протеиназ. Следует отметить, что исследования в данном направлении ведутся в разных направлениях. Так, компания «Johnson&Johnson» выпустила специализированную повязку под названием «Promogran», принцип терапевтического действия которой основывается на связывании и инактивации протеаз за счет сорбции на лиофилизированной комбинации, включающей 45% окисленной восстановленной целлюлозы и 55% коллагена. Ее применение приводит к блокированию негативного влияния протеиназ на факторы роста и развитие грануляционной ткани, что способствует скорейшим темпам эпителизации и заживления ран (Cullen B., Ivins N., 2010; Vin F. et al., 2002; Veves A., et al., 2002; Rayment E.A. et al., 2008 Tausche A.K. et al., 2005; Guarnera G., Restuccia A. et al., 2004). В нашей работе планируется применять ингибитор протеиназ прямого действия, что может быть более эффективным методом антипротеиназной защиты. Кроме того, сочетание ингибитора протеиназ с наносеребром и носителем в виде альгината добавляет препарату дополнительные антибактериальные свойства и снижает риски при профилактике и лечении инфекционных осложнений, устойчивых к антибиотикам.

Следует отметить, что использование современных технологий оптимизации регенераторных процессов на основе культур фибробластов и стволовых клеток, которые также интенсивно развиваются в последнее время, являются дорогостоящими и экономически доступными только ограниченной категории больных (Шевченко О.М., 2010; Hadliiski O. et al., 2009). Это также является подтверждением преимущества относительно недорого, предлагаемого в данном проекте, лечебного комплекса.

Предлагаемый проект является экспериментальным исследованием, основной целью которого является провести экспериментальное обоснование эффективности использования раствора нанобиосеребра в сочетании с ингибиторами протеиназ для местного лечения ожогов разной степени выраженности. Эксперимент планируется провести на крысах линии «Вистар», у которых будет смоделирован термический ожог разной степени выраженности. В разные сроки развития ожога будет оценена реакция неспецифических протеиназ и их ингибиторов с основным вниманием на локальные изменения. Планируется установить роль неспецифических протеиназ в развитии ожогов на различных стадиях и выявить значение эластазы и коллагеназы в его патогенезе. В параллельных группах будет проведено сравнение различных вариантов лечения ожогов с использованием ингибитора протеиназ и раствора нанобиосеребра.

Для изучения эффектов наносеребра при лечении термических ожогов у лабораторных крыс предполагается использовать раствор наносеребра, разработанный в Таврическом национальном университете им. В.И. Вернадского при участии сотрудников Института биологии южных морей. Представленная нанобиокомпозиция включает наночастицы серебра размером 10 - 20 нм (0,1%) в матрице альгината натрия (0,6%) на водной основе (99,3%) (Юркова И. Н. и др., 2005; В.И.Рябушко и соавт., 2007).

Как компонент с антипротеиназным механизмом будет использован ингибитор протеиназ «апротинин».

Планируется изучение изменений показателей неспецифических протеиназ, их ингибиторов, маркеров воспалительного процесса. Будет проведена морфологическая, иммуногистохимическая и ультраструктурная оценка состояния и восстановления ткани в месте ожога при различных вариантах лечения.

Проект рассчитан на 3 года. На первом этапе работы в 2015 году будут проведены экспериментальные исследования по изучению состояния неспецифических протеиназ и их ингибиторов в месте повреждения и в крови, характер морфологических и ультраструктурных изменений в поврежденной ткани, взаимосвязь состояния различных маркеров с процессами заживления ожоговой раны.

На втором этапе в 2016 году планируется изучить характер изменений состояния маркеров повреждения и восстановления тканевых структур при применении ингибиторов протеиназ и раствора нанобиосеребра для местного лечения ожогов.

На заключительном этапе 2017 года будет проведена разносторонняя оценка эффективности применения предложенного комплекса на основе наносеребра и ингибитора протеиназ для лечения ожогов и установлены оптимальные варианты применяемых концентраций компонентов.

Для проведения исследований у коллектива имеется необходимый для выполнения проекта перечень оборудования:

1. Растровый электронный микроскоп РЭМ-106
2. Трансмиссионный электронный микроскоп ПЭМ-125
3. Микроскоп люминесцентный OLYMPUS BX43F
4. Микроскоп «Olympus CX41»
5. Спектрофотометр «Biomate – 5»
6. Термостаты, микротомы, центрифуги, иономеры, фотоколориметры, дозаторы и другое оборудование
7. Наборы субстратов для определения активности протеиназ и их ингибиторов
8. Наборы для подготовки образцов к электронной и световой микроскопии и иммуногистохимии

Все оборудование прошло метрологическую поверку и экспертизу, лаборатория аттестована на право проведения измерений (Свидетельство об аттестации №021/12 от 12.12.2012 г.)

Для проведения иммуногистохимических исследований в поврежденной ожогом ткани желательна приобретение моноклональных антител к маркерам апоптоза (Bax, Bcl-2, CD95, p53), маркерам воспаления и некроза (IL-18, MMP-9, CD45), маркерам соединительной ткани (коллагены разных типов и фибронектин). Ориентировочная сумма приобретения реактивов и расходных материалов 500000 руб.

6. Информация о профильных публикациях, грантах и соисполнителях

У коллектива имеется значительный опыт по изучению по изучению эффективности применения протеиназ и их ингибиторов при различных патологических состояниях с изучением молекулярных механизмов, сопровождающих развития патологии и ее лечения. Причем акцент при проведении исследований делался на изучение местных изменений при формировании патологии. В течение трех лет коллективом кафедры выполнялась научная работа в рамках госзадания «Разработка подходов к оценке патогенетической роли тканевых протеиназ и их ингибиторов при системных и локальных патологических процессах». В последнее время коллектив проводит активные исследования по изучению эффектов применения нанобиосеребра при лечении различных воспалительных процессов. Понимание механизмов, происходящих на местном уровне при развитии патологии с участием протеиназ и их ингибиторов и полученные результаты по изучению биологической активности препарата наносеребра позволили предложить проект, направленный на создание препарата для местного лечения ожогов на основе наносеребра и ингибитора протеиназ.

К проведению исследований планируется привлечь в качестве соисполнителей разработчиков препарата нанобиосеребра руководителя отдела аквакультуры и морской фармакологии Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, доктора биологических наук В.И.Рябушко и старшего научного сотрудника кафедры ботаники, физиологии растений и биотехнологий кандидата технических наук Н.И.Юркову.

Основные публикации по теме проекта:

1. Fedosov, M.I., Kubyshkin, A.V., Zhukova, A.A., Fomochkina, I.I. Use of proteinase inhibitors and antioxidants for pharmacological correction of experimental reperfusion syndrome // *New Armenian Medical Journal.*, 2013, N 7 (2) PP. 60 – 65. ИФ журнала в Scopus (SJR 2013): 0,188.
2. Бугаенко О.А., Федосов М.И., Фомочкина И.И., Влахов А.К., Кубышкин А.В., Острый панкреатит: биохимические маркеры и патогенетические подходы к лечению с использованием ингибиторов протеиназ // *Клиническая хирургия*, 2009, N (10) с. 47 – 53. Входит в базы Scopus, PubMed
3. Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. Влияние способа введения ингибиторов протеиназ на эффективность подавления активности протеолиза при воспалении легких // *Физиологический журнал*, 2009, N 55 (1) с. 43 - 48. Входит в базы Scopus, PubMed
4. Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких // *Укр.биохим.журн.*- 2008.-т.80.-№1.-с.89-95.
5. Babanin A.A., Kubyshkin A.V., Ermola Yu.A., Chegodar D.V., Yurkova I.N., Fedosov M.I. Changes of nonspecific proteinases and free-radical oxidation processes in treatment of experimental peritonitis with the nanobiosilver solution // *New Armenian Medical Journal*, 2014, V. 8, N 1, p. 46-51. ИФ журнала в Scopus (SJR 2013): 0,188.
6. Коваленко Е.П., Татарчук Т.Ф., Кубышкин А.В., Филоненко Т.Г. Гиперплазия эндометрия и воспаление: оценка лейкоцитарной инфильтрации и уровня провоспалительных цитокинов // *Здоровье женщины.*-2011.-№7 (63).-с.142-145.
7. Анисимова Л.В., Кубышкин А.В., Семенец П.Ф., Можаяев П.Н. Взаимосвязь протеолитических и морфологических изменений слизистой оболочки при экспериментальной язве желудка // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.*-2011.-№1.-с. 8-12.
8. Щербак В.В., Кубышкин А.В. Изменение активности протеиназ и процессов свободнорадикального окисления при экспериментальном повреждении легких различной этиологии // *Общая патология и патологическая физиология.* – 2011. – Том 6. – №2. – С. 98-104.
9. Бугаенко О.А. Анисимова Л.В., Кубышкин А.В. Состояние протеиназ-ингибиторного баланса перитонального секрета у больных с панкреатитом и другими формами острой абдоминальной патологии // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2012. – Т. 15, № 3, ч.2 (59). – С. 51-54.
10. Прохоров Д.В., Притуло О.А., Анисимова Л.В., Кубышкин А.В. Сравнительное изучение протеиназ-ингибиторного потенциала у пациентов с диспластическими невусами и меланомой кожи / // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2012. – Т. 15, № 3, ч.2 (59). – С. 209-211.
11. Щербак В. В., Кубышкин А.В. Влияние применения ингибиторов протеолиза и антиоксидантов на формирование воспаления при экспериментальной пневмонии // *Общая патология и патологическая физиология.* – 2011. – Том 6. – № 3. – С. 57-63.
12. Щербак В.В., Кубышкин А.В., Алиев Л.Л., Федосов М.И. Изменение показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов при выздоровлении после острой и хронической экспериментальной пневмонии // *Український медичний альманах.* – 2011. – Том 14. - № 6. – С. 61-64.
13. Щербак В.В., Кубышкин А.В., Филоненко Т.Г., Алиев Л.Л. Изменение процессов протеолиза и течения экспериментальной пневмонии при фармакологической модификации воспаления легких // *Таврический медико-*

- биологический вестник. – 2012. – Т. 15. - № 1. – С. 295-300.
14. Щербак В. В., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Изменения неспецифических протеиназ и их ингибиторов при коррекции течения экспериментального воспаления легких антибиотиками, ингибиторами протеиназ и антиоксидантами // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч.1. – С. 383-387.
 15. Ермола Ю. А., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Локальные и системные изменения показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов при экспериментальном перитоните // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Т. 15, № 5. - С. 80-82.
 16. Ермола Ю. А., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Эффективность применения ингибиторов протеиназ и антиоксидантов в лечении экспериментального перитонита // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 37-43.
 17. Ермола Ю. А., Кубышкин А.В., Юркова И.Н., Рябушко В.И. Изменения в системе перекисного окисления липидов при применении нанобиосеребра в лечении экспериментального перитонита // Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 164-170.
 18. Ермола Ю. А., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И., Юркова И.Н., Рябушко В.И. Изменения неспецифических протеиназ и их ингибиторов при применении нанобиосеребра в лечении экспериментального перитонита // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 3 – С. 22-24.
 19. Фомочкина И. И., Кубышкин А.В. Патогенетическое значение протеиназ-ингибиторной системы в развитии локальной и системной патологии // Патологія. – 2012. – N. 2 (25). - С. 50-54.
 20. Литвинова С. В., Коваленко Е.П., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Сравнительная эффективность использования протеиназ и цитокинов для определения выраженности воспалительного процесса при гиперплазиях эндометрия // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч.2 (59). – С. 153-158.
 21. Смолиенко В.Н., Анисимова Л.В., Притуло О.А., Кубышкин А.В. Роль процессов протеолиза в развитии трофических язв при варикозной болезни // Актуальные проблемы транспортной медицины.-2013.-Т ом 2.- № 2.- С. 57-60.
 22. Шкорботун В.А., Кубышкин А.В. Патогенетическое обоснование комбинированной терапии при аллергическом рините // Український медичний часопис. - 2(94) – III/IV 2013. – С. 79-82.
 23. Татарчук Т.Ф., Коваленко Е.П., Захаренко Н.В., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. Изменения активности неспецифических протеиназ, их ингибиторов и провоспалительных цитокинов в маточных смывах женщин с гиперплазией эндометрия на фоне аденомиоза // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 4. – С. 351-354.
 24. Ермола Ю. А., Кубышкин А.В. Протеолиз и свободнорадикальное окисление при использовании ингибиторов протеиназ и антиоксидантов в лечении экспериментального перитонита // Актуальные проблемы транспортной медицины. -2013.- Т.2.- № 2. - С. 117-123.
 25. Биркун А.А., Кубышкин А.В. Оценка влияния комбинированной сурфактант-антибактериальной терапии на патогенез пневмонии, вызванной *pseudomonas aeruginosa* // Вестник КазНМУ.-2013.-№ 5 (1).- С.58-63.
 26. Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Типы реагирования неспецифических протеиназ и их эндогенных ингибиторов при локальных и системных патологических процессах // Вестник КазНМУ.-2013.-№ 5 (1).- С.259-263.
 27. Мальченко О.А., Анисимова Л.В., Кубышкин А.В., Харченко В.З. Состояние

неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и мышечной ткани крыс при экспериментальном реперфузионном синдроме // Актуальные проблемы транспортной медицины. -2014.- Т.2.- № 2. - С. 30-35.

По результатам проведенного исследования планируется опубликовать не менее 10 статей, из которых не менее 3 в журналах, входящих в базу Scopus; увеличить цитированность и индекс Хирша участников проекта не менее чем на 25-30 процентов; получить как минимум 1 патент; сделать доклады на 1-2 конференциях международного уровня.

Руководитель проекта,
д.м.н., профессор

А.В.Кубышкин