

УДК 611.11:612.089.61+57.084
doi: 10.22494/cot.v8i2.110

Оцінка біосумісності децелюляризованого бичачого перикарду



Сокол А. А.^{1,2}, Греков Д. А.^{1,2}, Ємець Г. І.¹, Галкін О. Ю.², Щоткіна Н. В.^{1,2}, Руденко Н. М.¹, Ємець І. М.¹

¹ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України», Київ, Україна

²Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Київ, Україна

e-mail: cardiotissue@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Потенційне використання децелюляризованого перикарда великої рогатої худоби як природного каркаса для імплантатів є багатообіцяючим підходом в галузі тканинної інженерії та регенеративної медицини. Реакція «трансплантат проти хазяїна» на децелюляризовані імплантати залежить від їх біосумісності, яка повинна бути перевірена в експерименті *in vivo* перед застосуванням у клінічній практиці.

МЕТА: оцінити біосумісність імплантатів з бичачого перикарда, які були децелюляризовані ферментом трипсином та аніонним детергентом додецилсульфатом натрію (*sodium dodecyl sulfate, SDS*).

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ. Перикард було отримано від биків віком 12-18 місяців. Децелюляризацію тканини проводили з використанням 0,25 % розчину трипсину та 1 % SDS для групи I та 0,1 % SDS для зразків групи II. Імплантацію проводили щуром лінії Wistar підшкірно. Зразки тканини фарбували для гістологічного аналізу гематоксиліном і еозином, конго червоним та трихромом по Массону.

РЕЗУЛЬТАТИ. В групі 1 через 3 місяці після підшкірної імплантації щуром децелюляризованого бичачого перикарду було відмічено його деградацію та запалення в оточуючій тканині. За таких самих умов у тварин групи 2 було відмічено заміщення імплантатів новоутвореною незрілою сполучною тканиною. Крім того, біоімплантат цієї групи не деградував, а інтегрувався у тканини щурів.

ВИСНОВКИ. Наші результати показали, що децелюляризований бичачий перикард з використанням 0,1 % SDS може стати альтернативним матеріалом для тканинної інженерії та має потенціал для подальшого використання в кардіохірургії у людини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бичачий перикард; децелюляризація; імплантація; регенеративна медицина

Потенційне використання децелюляризованого перикарда великої рогатої худоби як природного каркаса для імплантатів є перспективним підходом у галузі тканинної інженерії та регенеративної медицини. Бичачий перикард може бути використаний в тканинній інженерії як біоматеріал для реконструкції вроджених вад серця та виготовлення серцевих клапанів, судинних протезів та природних латок [1, 2]. У всьому світі щороку виконується понад 300 000 замін серцевих клапанів та понад 570 000 аортокоронарних шунтувань, тому існує велика потреба у розробці нових каркасних біопротезів [3]. Більше того, вроджені вади серця трапляються з частотою близько 9 % [4]. На сьогоднішній день бичачий перикард, оброблений глутаральдегідом, широко застосовується в серцево-судинній хірургії для оперативного лікування набутих та вроджених вад серця (закриття дефектів міжпередсердної та міжшлуночкової перегородки); виготовлення тристулкових, мітральних та аортальних клапанів; протезування та пластики судин, стулок клапанів, тканин перикарда; профілактики спайок середостіння; біопротезування та пластики магістральних судин (висхідної аорти, кореня аорти) [5-10]. Незважаю-

чи на низку переваг цього біоматеріалу, проблема його кальцифікації та дегенерації *in vivo* досі не вирішена [11]. Тому триває активний пошук нових протоколів децелюляризації перикарда.

Отже, **МЕТОЮ ДОСЛІДЖЕННЯ** було оцінити біосумісність імплантатів з бичачого перикарда, який було децелюляризовано за допомогою фермента трипсину та аніонного детергента додецилсульфата натрію (*sodium dodecyl sulfate – SDS*) в різних концентраціях.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Виділення та обробка тканин. Дослідження проводили відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Страсбург, Франція, 1985 р.) та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (у поточній редакції від 2009 р.). Перикард отримували від 12-18-місячних биків на бійні ТОВ «Антонівський м'ясокомбінат». Перикардальні сумки розтинали, а неволоконисті компоненти видаляли. Зразки тканини розрізали



Рис. 1. Мікрофотографії гістологічних зрізів децелюляризованого бичачого перикарда перед імплантацією; забарвлення гематоксилином/еозином, світлова мікроскопія, $\times 200$. А – нативний перикард; Б – група 1 (трипсин + 1 % SDS); В – група 2 (0,1 % SDS).

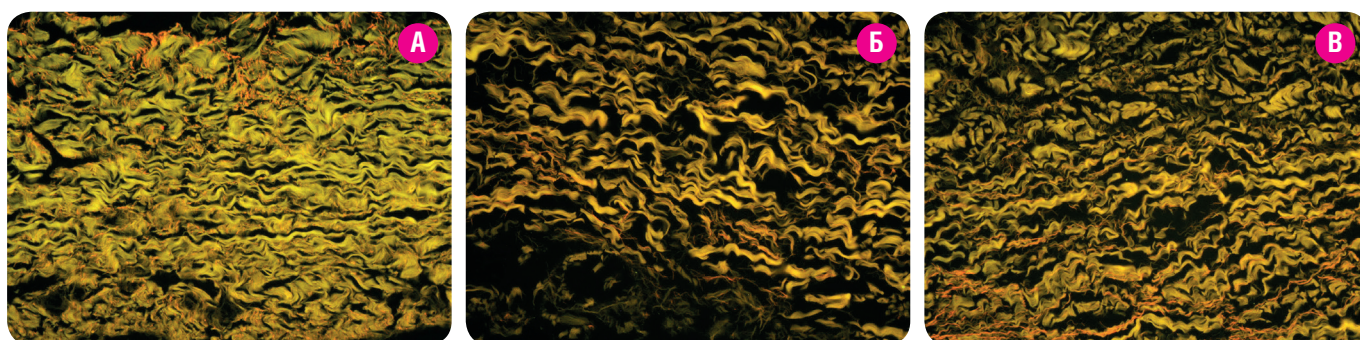


Рис. 2. Мікрофотографії гістологічних зрізів децелюляризованого бичачого перикарду перед імплантацією; забарвлення конго червоним, люмінесцентна мікроскопія $\times 200$. А – нативний перикард; Б – група 1 (трипсин + 1 % SDS); В – група 2 (0,1 % SDS).

на шматочки розміром 40×40 мм. В дослідженні були протестовані три групи зразків перикарда ($n = 5$ у кожній), які включали два способи децелюляризації та нативну тканину.

Децелюляризація. Перший етап обробки вилученої тканини був загальним для обох груп: зразки піддавали осмотичному шоку, поміщаючи в стерильну дистильовану воду (5 штук на 500 мл розчину) при 4°C та перемішували на шейкері при 200 об/хв протягом 72 годин. Воду міняли кожні 6-8 годин.

Зразки групи 1 обробляли 0,25 % розчином трипсину при 24°C , постійно струшуючи протягом 3 годин при 50 об/хв. Потім зразки цієї групи поміщали в 1 % розчин детергента додецилсульфата натрію. Зразки групи 2 готували з використанням SDS з низькою концентрацією 0,1 %. Розчин детергенту замінювали кожні 24 години. Загалом процес децелюляризації тривав 30 днів. Детоксикацію зразків проводили промиванням у стерильній дистильованій H_2O протягом 7 днів при температурі $+4^\circ\text{C}$, постійно перемішуючи при 200 об/хв. Заміна H_2O проводилась кожні 12 годин. Наступним кроком була стабілізація та фіксація отриманих зразків. Ми забезпечили стабілізацію та фіксацію всіх отриманих зразків у 70 % етанолі протягом 24 год при $+4^\circ\text{C}$ при постійному перемішуванні при 200 об/хв. Потім усі фрагменти децелюляризованого перикарду промивали стерильним 0,9 % розчином NaCl протягом 24 год при $+4^\circ\text{C}$ при постійному перемішуванні при 200 об/хв. Додаткова стадія хімічної децелюляризації була досягнута за допомогою методу зшивання з використанням розчину EDC/NHS: 10 ммоль 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду гідрохлориду (EDC), 10 ммоль N-гідроксисукциніміду (NHS) та 0,05 ммоль 2-морфоліноетансульфонової кислоти (MES) при pH 5,6 [12]. Нещелюляризовані тканини перикарда слугували контролем.

Хірургічна процедура. П'ятнадцять самців щурів Wistar віком 4-5 місяців вагою 190-230 г утримували в середовищі, вільному від патогенів. Децелюляризований і стерилізований бичачий перикард імплантували підшкірно у спину щура та експлантували через 3 місяці. Тварин поділили на 3 групи: контрольна група – нативний бичачий

перикард ($n = 5$), група 1 – обробка трипсином + 1 % SDS ($n = 5$), група 2 – бичачий перикард, оброблений 0,1 % SDS ($n = 5$).

Хірургічне поле було поголено та очищено 70 % етиловим спиртом. Операція проводилася в стерильних умовах. Внутрішньом'язову анестезію виконували із застосуванням ксилазіна (*Alfasan*, Нідерланди) у дозі 1 мг/кг маси тіла у поєднанні з кетаміном (*Біолік*, Україна) у дозі 10 мг/кг. На спині тварини робили розріз довжиною 2 см, підшкірні кишені формували гострим шпателем, відокремлюючи жирову клітковину від м'язового шару. Підготовлені імплантати розміром 1×1 см поміщали в кишеню та фіксували в кутах до м'язової тканини за допомогою шовного матеріалу «Кетгут Хром» (*Голніт*, Україна). Шкіру зашивали та обробляли антисептичним 1 % розчином діамантового зеленого (*Галичфарм*, Україна). Імплантати були виділені для гістологічного аналізу через 3 місяці після операції. Евтаназію проводили шляхом передозування диетилового ефіру.

Гістологічний аналіз. Фрагменти вилученої нативної ($n = 5$) та децелюляризованої ($n = 10$) тканини перикарда фіксували в 10 % нейтральному забуференому формаліні (*Sigma-Aldrich*, США) протягом 1 години і занурювали в парафін. З отриманих блоків на мікромомі виготовляли зрізи товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксилином та еозином (*Sigma-Aldrich*, США), конго-червоним (*Sigma-Aldrich*, США) та трихромним барвником по Массону (*Sigma-Aldrich*, США). Забарвлені зразки досліджували за допомогою світлового мікроскопу BX 51 (*Olympus*, Японія) та люмінесцентного мікроскопу BX 40 (*Olympus*, Японія).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Морфологічний аналіз децелюляризованої тканини перикарда. Гістологічний аналіз показав, що децелюляризовані тканини перикарда зберегли компоненти екстрацелюлярного матриксу без клітин та ядер (рис. 1). Забарвлення гематоксилином та еозином свідчить

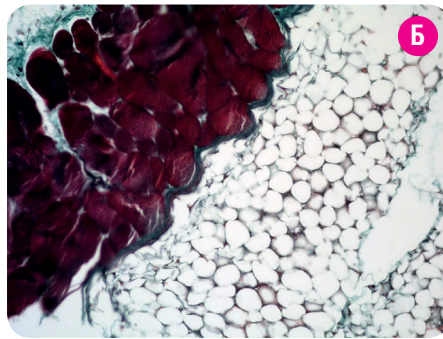
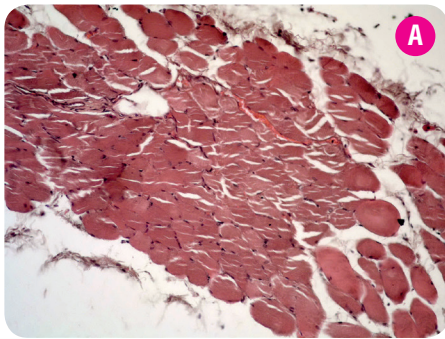


Рис. 3. Мікрофотографії гістологічних зрізів імплантів нативного бичачого перикарда контрольної групи через 3 місяці після підшкірної імплантації щурам; забарвлення гематоксиліном/еозином та трихромом по Массону, світлова мікроскопія, $\times 200$. А – відсутність імплантованого нативного перикарда, інфільтрація тканини лейкоцитами (сині стрілки); Б – відсутність імплантованого нативного перикарда, набряк м'язової тканини (синя стрілка).

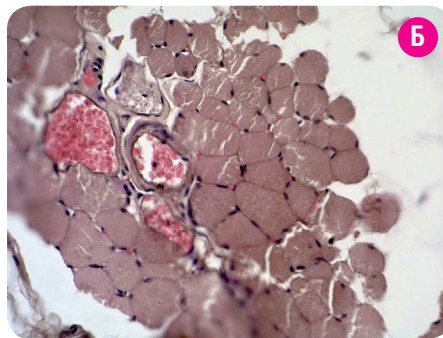
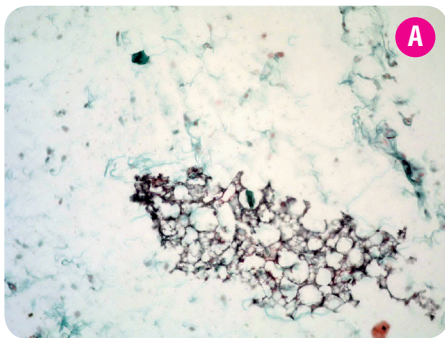


Рис. 4. Мікрофотографії гістологічних зрізів децелюляризованих імплантів бичачого перикарда групи 1 через 3 місяці після підшкірної імплантації щурам; світлова мікроскопія, $\times 200$. А – поперечно-смугаста м'язова тканина щура навколо імплантату з утворенням згустків крові та набряком (синя стрілка); забарвлення гематоксиліном/еозином; Б – деградована частина імплантату (синя стрілка); трихромне забарвлення по Массону.

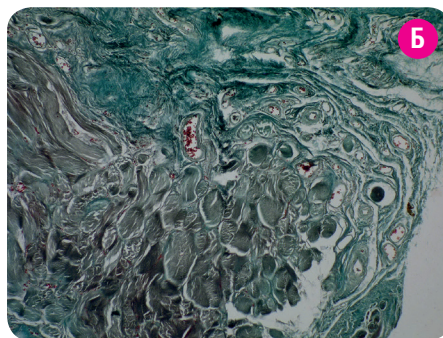
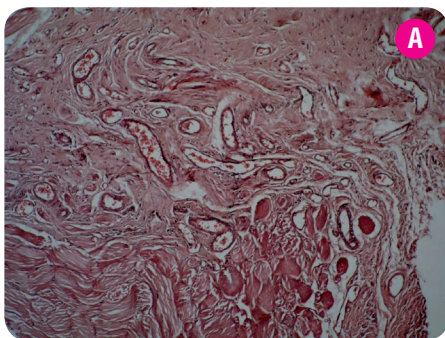


Рис. 5. Мікрофотографії гістологічних зрізів децелюляризованих імплантів бичачого перикарда групи 2 через 3 місяці після підшкірної імплантації щурам; світлова мікроскопія, $\times 200$. А – утворення незрілої сполучної тканини по всій поверхні імплантату; забарвлення гематоксиліном/еозином; Б – утворення незрілої тканини по всій поверхні імплантату та капілярів з еритроцитами (синя стрілка); трихромне забарвлення по Массону.

про присутність видимих ядер клітин у нативному перикарді. Не було очевидної різниці в структурі екстрацелюлярного матриксу, у тому числі розподілі колагенових та еластинових волокон, між нативним та децелюляризованим бичачим перикардом в обох групах.

Фарбування тканин перикарда конго червоним показало, що колагеновий та еластичний компоненти екстрацелюлярного матриксу добре збереглися (рис. 2). На зрізах децелюляризованого бичачого перикарда групи 1 розподіл колагенових волокон виявився менш щільним, ніж в групі 2.

Стійкість децелюляризованої тканини перикарда *in vivo*. Ефективність заміщення та біосумісність децелюляризованого бичачого перикарда оцінювали шляхом підшкірної імплантації в міжлопаткову область щурів Wistar. Всі щури, яким імплантували нативні та децелюляризовані трансплантати, вижили та успішно відновилися після операції. Трансплантати залишалися в щурах Wistar протягом 3 місяців.

Як показало забарвлення гематоксиліном/еозином та трихромом по Массону, через 12 тижнів після операції нативні імплантати контрольних груп резорбувались, а тканина, здебільшого, була інфільтрована макрофагами. На рис. 3 представлені результати гістологічного дослідження вилученого імплантату у щурів контрольної групи, яким імплантували необроблений нативний бичачий перикард. Як і слід було очікувати, перикард повністю деградував і елімінувався, залишилась лише сполучна і м'язова тканина тварини-реципієнта. Тканина інфільтрована лейкоцитами, що свідчить про запальні процеси в цій області.

В групі 1 візуальна оцінка показала нижчий рівень інфільтрації лейкоцитами в децелюляризованих тканинах перикарда порівняно з нативними тканинами контрольної групи (рис. 4). Наявність нових судин та незрілої тканини на всій поверхні трансплантата групи 2 свідчить про потенціал ремоделювання трансплантата при тривалій імплантації. У тварин 1 групи, де імплантований перикард обробляли трипсином та 1 % розчином SDS, в поперечно-смугастих м'язах, що оточували імплантат, спостерігали набряк м'язових волокон та незначну інфільтрацію лімфоцитами, що свідчить про розвиток запалення. Область руйнування імплантату добре видно. У поперечно-смугастій м'язовій тканині спостерігався набряк м'язових волокон і застій, що свідчить про зупинку або уповільнення кровотоку в мікроциркуляторних судинах (головним чином в капілярах). Також в деяких ділянках зафіксовано явища сладж-феномену, який характеризується адгезією еритроцитів і лейкоцитів, що призводить до ускладнень перфузії крові по судинах мікроциркуляторного русла і утворення тромбів.

У тканинах групи 2 відзначали заміщення імплантів зростаючою незрілою сполучною тканиною по всій поверхні трансплантата. Також в області імплантату спостерігалася посилена васкуляризація сполучної тканини, а також новоутворені капіляри, заповнені еритроцитами (рис. 5). В частині капілярів спостерігався застій еритроцитів. Біоімплантати групи 2 не деградували, більше того, вони інтегрувались в навколишні тканини експериментальних щурів.

Головною метою цього дослідження було використання сучасних підходів тканинної інженерії для отримання ксеногенних тканинних

трансплантатів, придатних для трансплантації. Оскільки децелюляризація забезпечує біоматеріал механічною стабільністю, функціональною надійністю, неімунногенністю та здатністю підтримувати ріст клітин, наступним етапом дослідження було тестування ксеногенної тканини на біосумісність *in vivo*. Отже, два зразки тканини бичачого перикарда, децелюляризованих за двома різними протоколами порівнювали з нативною тканиною перикарда, з подальшою оцінкою здатності до біодеградації. В ідеальному імплантаті не повинно бути жодних клітин, оскільки вони містять потенційні антигени, які можуть провокувати імунну відповідь з розвитком реакції «трансплантат проти хазяїна». При цьому такі каркаси мають мати достатню стабільність і здатність витримувати механічні навантаження протягом тривалого часу, зберігаючи структуру екстрацелюлярного матриксу [13, 14]. Однією з найважливіших вимог до безпеки скафолдів є біосумісність, яка є комплексною властивістю біоматеріалу та реакції оточуючих тканин *in vivo* [15, 16]. Модель підшкірної імплантації щурів була використана для оцінки локальних реакцій тканини після імплантації двох типів децелюляризованих мембран бичачого перикарда, призначених для використання в кардіохірургії. Через 3 місяці після імплантації ознак відторгнення не спостерігалось для 2 типів децелюляризованих імплантатів. Тим не менше, різні реакції тканини щурів на два типи носіїв, оброблених в різний спосіб, відображені в гістологічних зрізах на **рис. 4 і 5**.

Таким чином, тестування матеріалу групи 1 не дало очікуваних позитивних результатів *in vivo*. Імплантат деградував і викликав запальні реакції в навколишній тканині реципієнта. Такі результати виключають можливість подальшого використання його в кардіохірургії [17-21].

Добре відомо, що SDS є іонним детергентом, здатним зв'язуватися з колагеновими волокнами, тим самим руйнуючи їх та сприяючи набряку тканини, спричиненому потенційним розривом водневих зв'язків колагенових волокон [14, 16]. Як відомо, SDS дуже сильно взаємодіє з білками екстрацелюлярного матриксу, що ускладнює його повне видалення [22]. Виходячи з цього факту, Courtman та ін. припустили, що використання SDS як реагенту для децелюляризації може, ймовірно, змінити термостабільність вмісту колагену та глікозаміногліканів [17]. Ning Lia та ін. також зазначили, що залишковий SDS у децелюляризованих тканинах може призвести до недостатньої їх репопуляції клітинами реципієнта після імплантації, що зменшує строк служби імплантату та пригнічує ріст тканин. Ці показники чітко корелювали у дослідженнях на щурах, де некроз навколо підсадженого носія був виявлений приблизно у 1 % імплантатів, оброблених SDS [23].

У той же час гістологічні дані свідчать про успішну інтеграцію імплантату у щурів групи 2. У цьому випадку ми використовували 0,1 % розчин SDS, що в десять разів менше, ніж в попередньому варіанті для групи 1. Наші результати співпали з попередніми даними інших авторів, демонструючи, що 0,1 % SDS є кращим для децелюляризації перикарда, ніж 3 % або 0,5 % SDS, оскільки біологічні властивості зберігаються краще [24]. На основі цих спостережень можна припустити, що безклітинний перикардальний каркас, виготовлений із застосуванням 0,1 % SDS, може бути потенційно придатним для клінічної імплантації людям.

ВИСНОВКИ

Таким чином, бичачий перикард був успішно децелюляризований 0,1 % розчином SDS з використанням зшиваючого агента NHS/EDC та зберіг свої первинні біологічні властивості після підшкірної імплантації щурам. Загалом, децелюляризована тканина бичачого перикарда є багатобіччюю для її застосування у виробництві біоінженерних замінників тканин для кардіохірургії.

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nordmeyer S., Murin P., Schulz A., et al. Results of aortic valve repair using decellularized bovine pericardium in congenital surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2018. **54**. P. 986-992. DOI: 10.1093/ejcts/ezy181.
2. Bell D., Prabhu S., Betts K., et al. Durability of tissue-engineered bovine pericardium (CardioCel®) for a minimum of 24 months when used for the repair of congenital heart defects. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2019. **28**, № 2. P. 284-290. DOI: 10.1093/icvts/ivy246.
3. Biasi G. M., Sternjakob S., Mingazzini P. M., Ferrari S. A. Nine-year experience of bovine pericardium patch angio-plasty during carotid endarterectomy. *J Vas. Surg*. 2002. **36**. P. 271-277. DOI: 10.1067/mva.2002.123685.
4. Hoffman J. I. E., Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2002. **39**, № 12. P. 1890-900. DOI: 10.1016/s0735-1097(02)01886-7.
5. Cunanan C. M., Cubbling C. M., Dinh T. T., et al. Rutledge 3rd and M.C. Fishbein, Tissue characterization and calcification potential of commercial bioprosthetic heart valve. *Ann Thorac Surg*. 2001. **71**. P. 417-421. DOI: 10.1016/S0003-4975(01)02493-6.
6. Karpenko A. A., Kuzhuget R. A., Starodubtsev V. B., et al. Immediate and long-term results of various methods of carotid bifurcation reconstruction. *Circulatory pathology and cardiac surgery*. 2013. **1**. P. 21-24.
7. Mueller C., Dave H., Prêtre R. Surgical repair of aorto-ventricular tunnel. *Multimed Man Cardiothorac Surg*. 2012. P. 1093-97.
8. Chesnov U. M. Biocompatibility of xenopericardium fixed with epoxy compounds in *in vitro* and *in vivo* experiments. *Current issues of cardiology: Sat. scientific tr. Manak NA, editor. Minsk: Encyclopedia, 2002*. **2**. P. 188-90.
9. Nonaka M., Iwakura A., Yamanaka K. Technique to treat extensive abscesses in double valve replacement for prosthetic valve endocarditis. *J Heart Valve Dis*. 2013. **22**, № 4. P. 575-7.
10. Akhmedov S. D., Afanasyev S. A., Dyakova M. L., et al. Use of a cell-free matrix for the formation of new blood vessels and heart by tissue engineering. *Cell transplantology and tissue engineering*. 2009. **4**, № 2. P. 32-9.
11. Salameh A., Greimann W., Vondryš D., Kostelka M. Calcification or Not. This Is the Question. A 1-Year Study of Bovine Pericardial Vascular Patches (CardioCel) in Minipigs. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2018. **30**, № 1. P. 54-59. DOI: 10.1053/j.semctvs.2017.09.013.
12. Park S., Kim S.H., Lim H.G., et al. The Anti-calcification Effect of Dithiobispropionimidate, Carbodiimide and Ultraviolet Irradiation Cross-linking Compared to Glutaraldehyde in Rabbit Implantation Models. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013. **46**, № 1. P. 1-13. DOI: 10.5090/kjctcs.2013.46.1.1.
13. Simões I. N., Vale P., Soker S., et al. Acellular Urethra Bioscaffold: Decellularization of Whole Urethras for Tissue Engineering Applications. *Sci Rep*. 2017. **7**. P. 41934. DOI: 10.1038/srep41934.
14. Gilbert W. T., Sellaro L. T., Badylak F. S. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006. **27**. P. 3675-3683. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.014.

15. *Aamodt J. M., Grainger D. W.* Extracellular matrix-based biomaterial scaffolds and the host response. *Biomaterials*. 2016. **86**. P. 68-82. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.02.003.
16. *Oswal D., Korossis S., Mirsadraee S., et al.* Biomechanical characterization of decellularized and cross-linked bovine pericardium. *J Heart Valve Dis*. 2007. **16**. P. 165-174.
17. *Courtman D., Pereira C., Kashef V., McComb D.* Development of a pericardial acellular matrix biomaterial: Biomechanical and mechanical effects of cell extraction. *J Biomed Mater Res*. 1994. **28**. P. 655-666. DOI: 10.1002/jbm.820280602.
18. *Luo J., Korossis S., Wilshaw S. P., et al.* Development and characterization of acellular porcine pulmonary valve scaffolds for tissue engineering. *Tissue Eng. A*. 2014. **20**. P. 2963-2974. DOI: 10.1089/ten.tea.2013.0573.
19. *Korossis S., Wilcox H., Watterson K., et al.* In-vitro assessment of the functional performance of the decellularized intact porcine aortic root. *J Heart Valve Dis*. 2005. **14**. P. 408-422.
20. *Yeh H. S., Keller J. T., Brackett K. A., et al.* Human umbilical artery for microvascular grafting. Experimental study in the rat. *J Neurosurg*. 1984. **61**. P. 737.
21. *Schmidt C. E., Baier J. M.* Acellular vascular tissues: Natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials*. 2000. **21**. P. 2215. DOI:10.1016/S0142-9612(00)00148.
22. *Andre' e B., Bela K., Horvath T., et al.* Successful re-endothelialization of a perfusable biological vascularized matrix (BioVaM) for the generation of 3D artificial cardiac tissue. *Basic Res Cardiol*. 2014. **109**. P. 441.
23. *Ning Lia, Yang Lia, Dejun Gong, et al.* Efficient decellularization for bovine pericardium with extracellular matrix preservation and good biocompatibility. *ICVTS*. 2018. **26**. P. 768-776. DOI: 10.1093/icvts/ivx416.
24. *Tran H. L. B., Dihn T. H., Nguyen T. N., et al.* Preparation and characterization of acellular porcine pericardium for cardiovascular surgery. *Turk J Biol*. 2016. **40**. P. 1243-1250. DOI: 10.3906/biy-1510-44.



СТАТТЯ НА САЙТЕ
[TRANSPLANTOLOGY.ORG](https://www.transplantology.org)

Автори заявили про відсутність потенційного конфлікту інтересів щодо дослідження, авторства та/або публікації даної статті.

ФІНАНСОВА ПІДТРИМКА

Дослідження підтримано Міністерством охорони здоров'я України, НДР № 0119U001437