ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ
ІМ. Д.К. ЗАБОЛОТНОГО НАН УКРАЇНИ

Цикл наукових праць
на здобуття щорічної премії Президента
України для молодих учених по темі

ОСОБЛИВОСТІ РЕПРОДУКЦІЇ ВІРУСІВ ГЕРПЕСУ В УМОВАХ ЗМІШАНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА РОЗРОБКА ПЕРСПЕКТИВНИХ ЗАСОБІВ АНТИВІРУСНОЇ ДІЇ

Київ 2019

Автори циклу робіт

Білявська Любов Олексіївна - кандидат біологічних наук, науковий співробітник відділу репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Науменко Кристина Сергіївна - кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник відділу репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

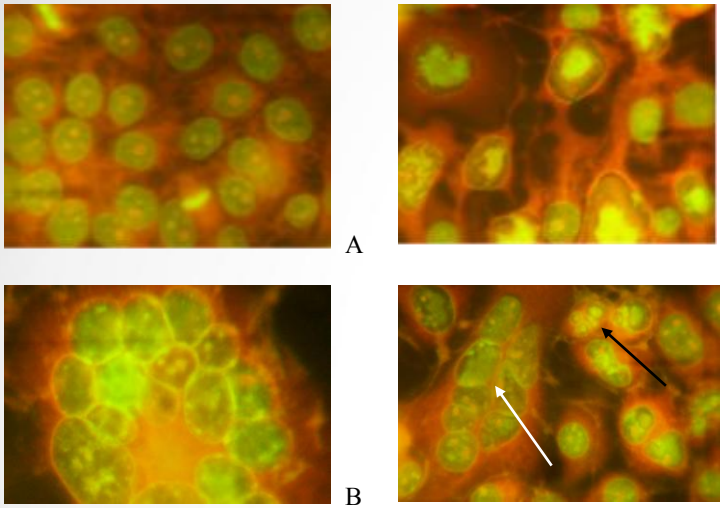
Шидловська Ольга Андріївна - кандидат біологічних наук, провідний інженер відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Метою роботи було вивчити особливості репродукції вірусів герпесу в умовах змішаної інфекції та розробити ефективні противірусні засоби на основі наночасток діоксиду церію, фторовмісних аналогів нуклеозидів, нуклеотидів та похідних амінокислот.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання:**

- Створити модель адено-герпетичної інфекції епітеліальних клітин MDBK та вивчити особливості репродукції вірусів-асоціантів.
- Вивчити морфолого-функціональні властивості коінфікованих клітин.
- Провести порівняльний аналіз антивірусної та антиоксидантної активності ряду наноматеріалів: наночасток діоксиду церію, оксиду заліза, золота та комплексних лантанвмісних наночасток в системі *in vitro*.
- Модифікувати рІФН α-2b та рФНП-α за допомогою наночасток діоксиду церію, оцінити біологічну активність отриманих нанобіокомпозитів.
- Вивчити імуногенність протигрипозної вакцини Vaxigrip®, модифікованої наночастками діоксиду церію.
- Оцінити антигерпетичну активність фторовмісних сполук
- Дослідити антивірусну та апоптозмодулюючий потенціал фторовмісних сполук у ВЕБ-трансформованих клітинах та за умов індукції літичної ВЕБ-інфекції.
- Проаналізувати антивірусну та імуномодулюючу активності похідних триазолів на моделі герпетичної інфекції мишей.
- Дослідити ефективність нових перспективних противірусних засобів за умов змішаної інфекції.

У коінфікованих клітинах MDBK виявляли специфічні внутрішньоядерні включення обох вірусів. (Люмінісцентна мікроскопія, фарбування 0,01% акридиновим оранжевим, х280).



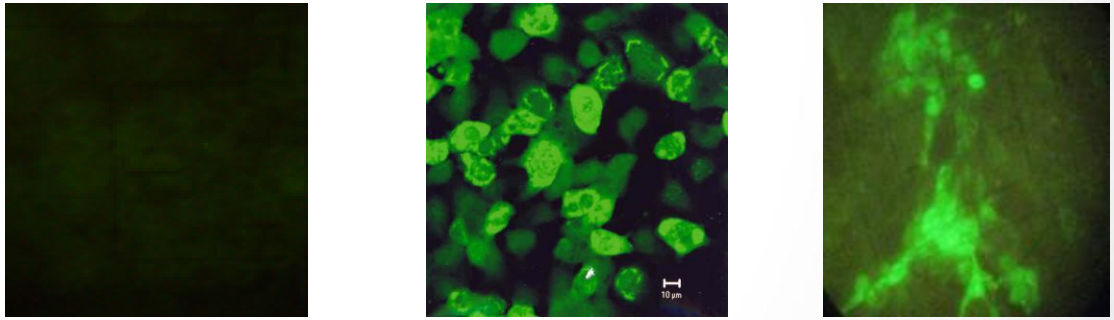
А – неінфіковані клітини MDBK, Б – інфіковані Ад-5; В – інфіковані ВПГ-1, Г – ко-інфіковані Ад-5 та ВПГ-1 з герпетичними (біла стрілка) та аденовірусним включенням (чорна стрілка).

Аналіз репродукції аденовірусу людини 5 типу (Ад-5) та вірусу простого герпесу (ВПГ-1) у розробленій моделі змішаної інфекції клітин MDBK

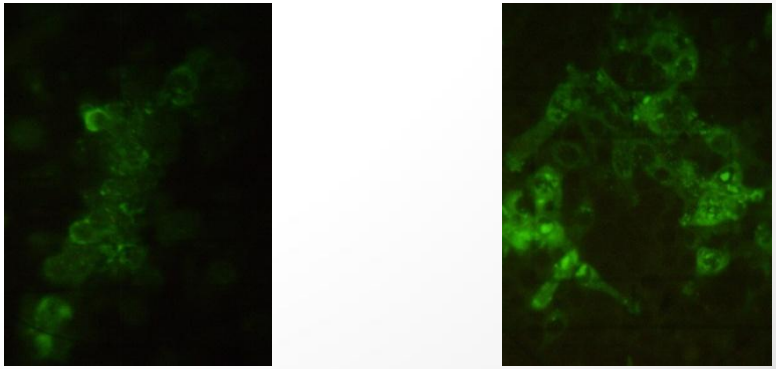
Варіант інфікування клітин	Інфекційний титр вірусу, lg ВУО/мл		Інгібування реплікації ДНК вірусів, %	
	Ад-5	ВПГ-1	Ад-5	ВПГ-1
Моноінфекція	7,5±0,9	5,4±0,8	–	–
Коінфекція	4,9±0,7	3,8±0,6	3±0,6	6±0,8

Дослідження локалізації та динаміки накопичення капсидних білків вірусів за умов змішаної інфекції клітин

(Імунофлюоресцентний аналіз клітин MDBK (збільшення х400)



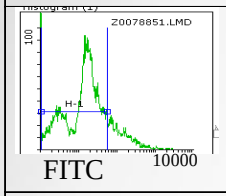
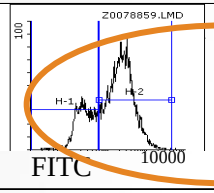
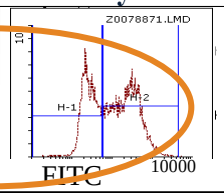
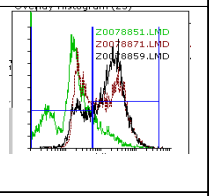
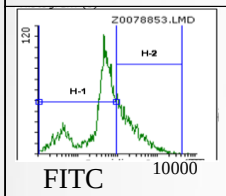
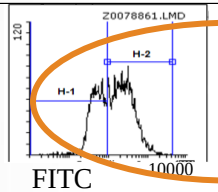
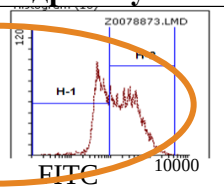
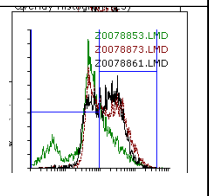
А **Б** **В**

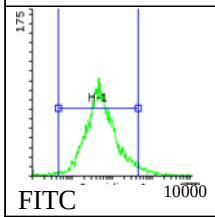
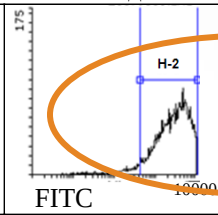
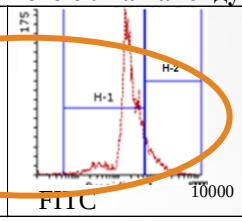
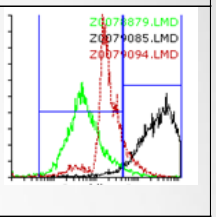
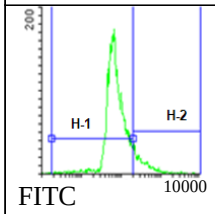
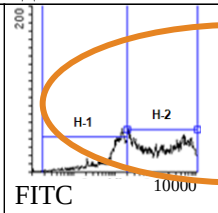
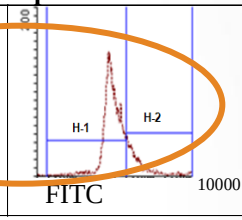
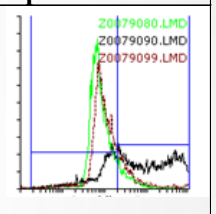


Г **Д**

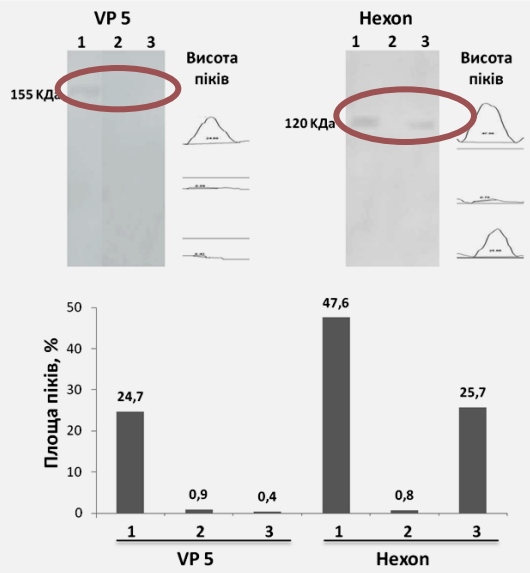
А – неінфіковані клітини; Б – клітини інфіковані Ад-5 (оброблені антитілами до гексону аденовірусу); В – клітини інфіковані ВПГ-1 (оброблені антитілами до капсидних білків ВПГ-1); Г – ко-інфіковані клітини (оброблені антитілами до гексону аденовірусу); Д – ко-інфіковані клітини (оброблені антитілами до капсидних білків ВПГ-1)

Вплив змішаної інфекції клітин на рівень синтезу деяких мажорних білків вірусів (Проточна цитометрія)

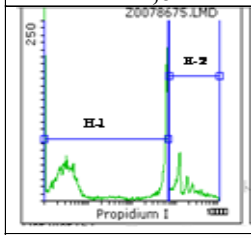
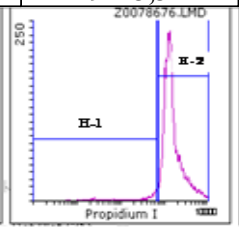
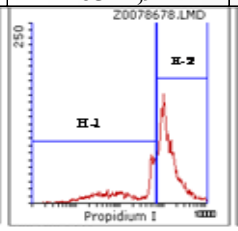
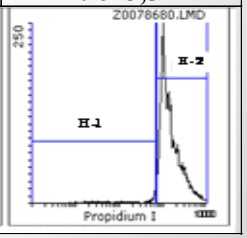
Контроль клітин	Інфіковані Ад-5	Коінфіковані клітини	Суміщення гістограм
антитіла до гексону			
			
	Відсоток інфікованих клітин		
	72,3±3,8	**59,9±2,7**	
антитіла до відростку			
			
	Відсоток інфікованих клітин		
	37,94±2,1	**37,92±2,5**	

Неінфіковані клітини	ВПГ-1 інфекція	Змішана інфекція	Суміщення гістограм
антитіла до основного білка капсиду			
			
	Відсоток інфікованих клітин		
	94±4,2	**16±1,3**	
антитіла до основних глікопротеїнів оболонки віріона			
			
	Відсоток інфікованих клітин		
	68,9±2,8	**25±1,7**	

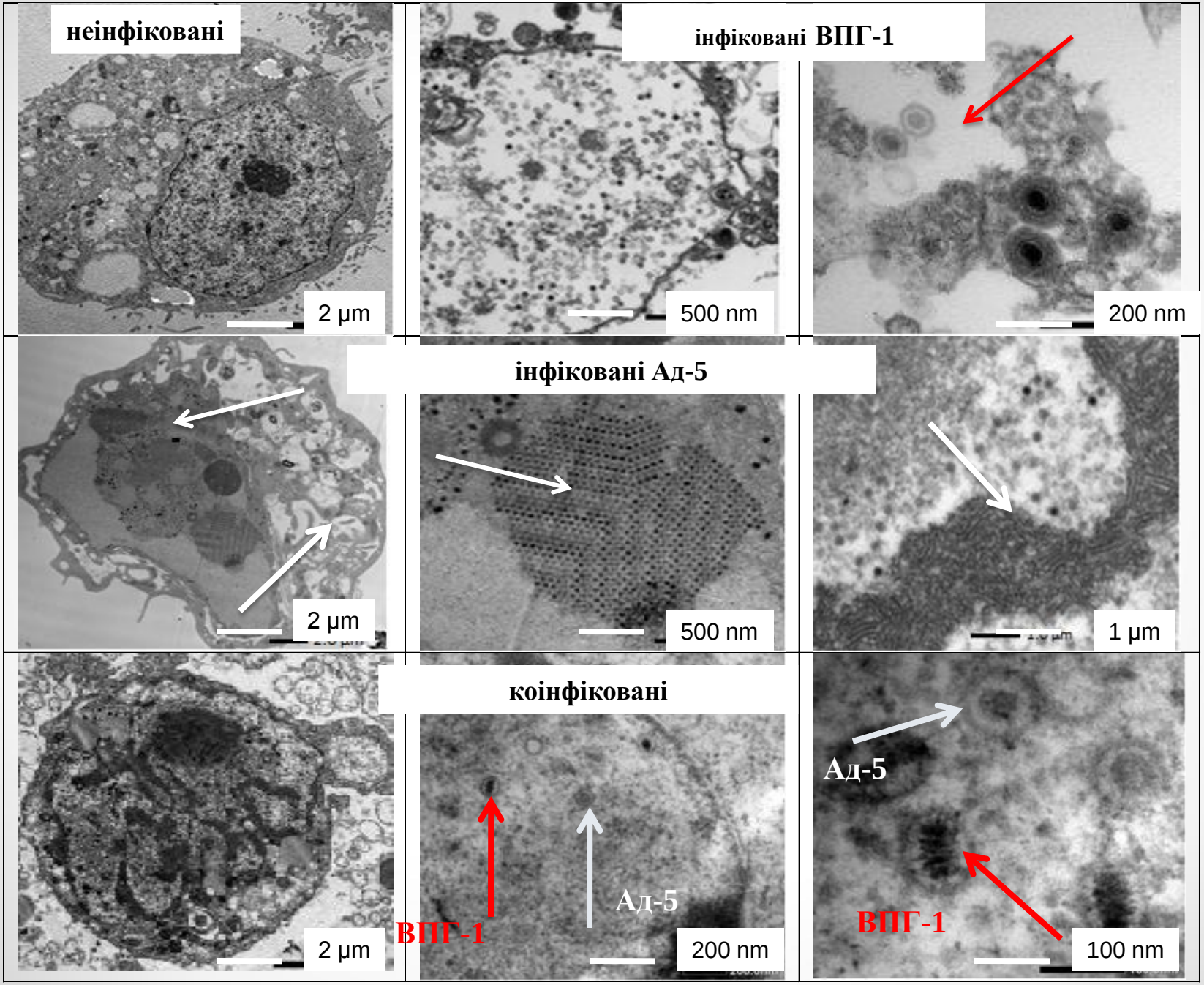
Імуноблотинг білків вірусів за моно- та змішаної інфекції (оброблені антитілами до основного капсидного білка ВПГ-1 та до гексона Ад-5). Треки: 1 – клітини інфіковані ВПГ-1 чи Ад-5, 2 - неінфіковані клітини; 3- ко-інфіковані клітини.



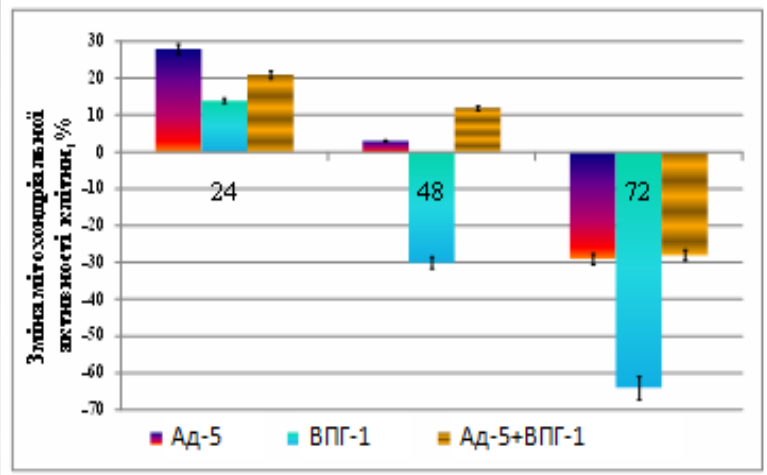
Рівень накопичення ДНК у ко-інфікованих клітинах (Проточна цитометрія)

Неінфіковані клітини	Інфіковані Ад-5	Інфіковані ВПГ-1	Коінфіковані клітини
Інтенсивність накопичення ДНК, %			
24±1,6	**94±3,3**	**65±2,9**	**96±3,5**
			

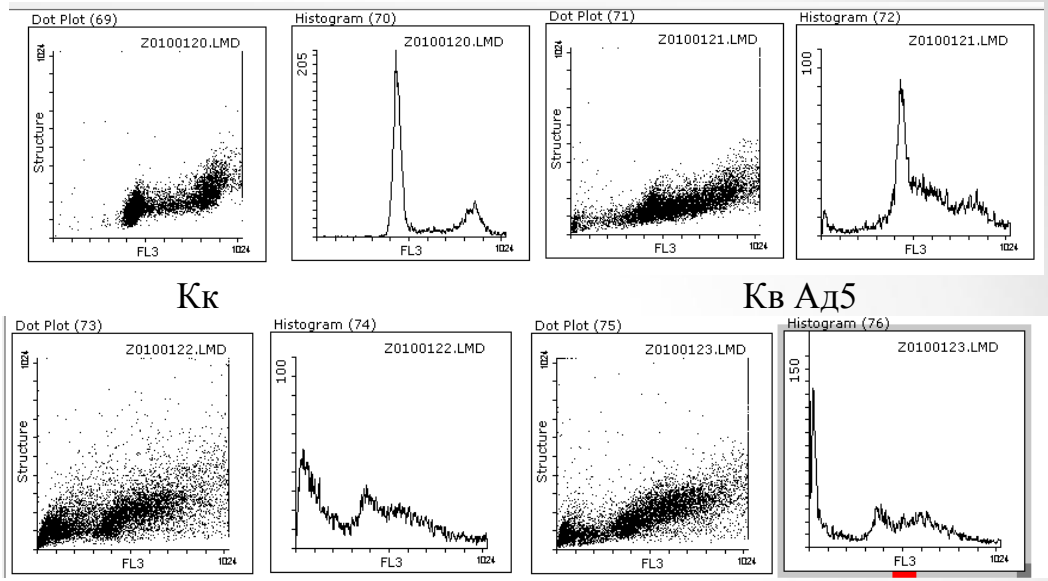
Аналіз ультраструктури інфікованих вірусами клітин та вірусного морфогенезу (Електронна мікроскопія)



Вплив змішаної Ад-5 – ВПГ-1 інфекції на мітохондріальну активність клітин (МТТ-аналіз)



Профілі клітинних циклів за умов моно- та змішаної інфекції (Проточна цитометрія)



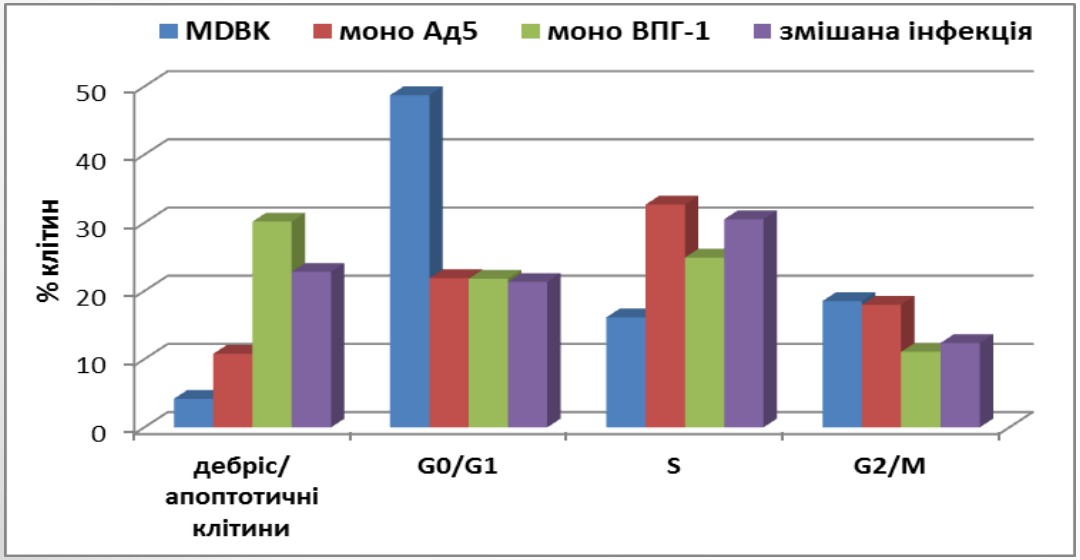
Кк

Кв Ад5

Кв ВПГ-1

Кв Змішана інфекція

Особливості клітинного циклу моно- та ко-інфікованих клітин (Проточна цитометрія)



Таким чином, вперше розроблено модель змішаної адено-герпетичної інфекції епітеліальних клітин, охарактеризовано репродукцію вірусів-асоціантів та проведено структурно-функціональний аналіз взаємодії вірус-вірус-клітина.

Антивірусна активність цитрат-стабілізованих НДЦ на моделі ST/ВВС (лікувальна схема)

концентрація НДЦ	титр ВВС (lg)	зниження титру ВВС (lg)
0 (контроль ВВС)	7,7 [7,5-7,9]**	–
0,1 нМ	6,3 [6,2-6,3]**	1,4 [1,2-1,7]
1,0 нМ	5,4 [5,0-5,4]**	**2,3 [2,1-2,9]**
0,01 мкМ	5,6 [5,3-5,5]**	**2,1 [2,0-2,6]**
0,1 мкМ	5,8 [5,9-6,1]**	**1,9 [1,4-2,0]**
1,0 мкМ	5,8 [5,4-5,7]**	**1,9 [1,8-2,5]**
0,01 мМ	4,5 [4,1-4,9]**	**3,2 [2,6-4,1]**
0,1 мМ	4,8 [4,7-4,9]**	**2,9 [2,6-3,2]**
1,0 мМ	3,2 [2,9-3,1]**	**4,5 [4,4-5,0]**

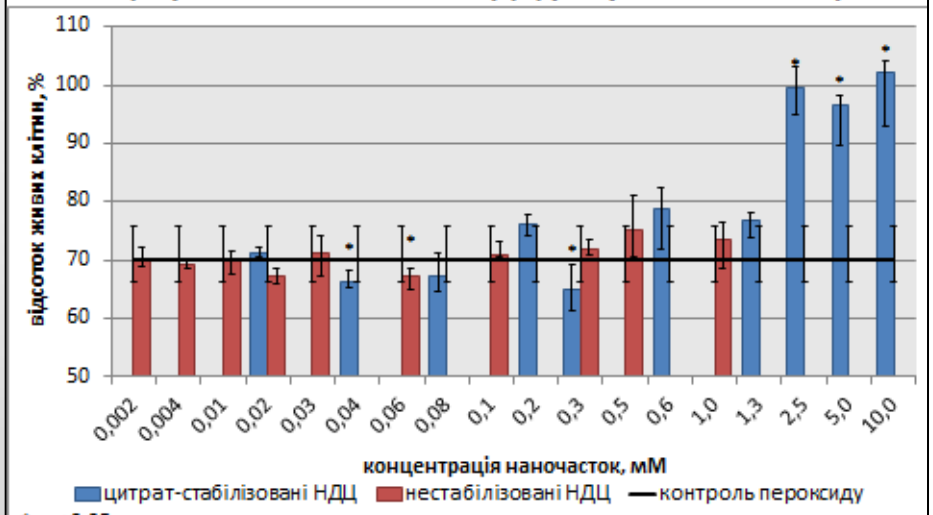
** p < 0.05*

Антивірусна активність наночасток CeO_2 на культурах клітин А549 та Нер-2

Нестабілізовані НДЦ				Цитрат-стабілізовані НДЦ			
Профілактична схема							
А549		Нер-2		А549		Нер-2	
н/а	н/а	н/а	н/а	1,0 мМ	>max	5,0 мМ	3,5
ED_{50}	SI	ED_{50}	SI	ED_{50}	SI	ED_{50}	SI
Лікувальна схема							
А549		Нер-2		А549		Нер-2	
0,25 мМ	12000	н/а	н/а	0,25 мМ	>max	0,31 мМ	52
ED_{50}	SI	ED_{50}	SI	ED_{50}	SI	ED_{50}	SI

*н/а – антивірусна активність проти ВВС на досліджуваних культурах клітин для нестабілізованих НДЦ не виявлена; **>max** – SI не вказаний, оскільки показники токсичності виходять за межі досліджуваних концентрацій.*

Антиоксидантна активність нестабілізованих та цитрат-стабілізованих НДЦ (лікувальна схема)



** p < 0.05*

Вплив освітлення на реалізацію віруліцидної дії наночасток Au на моделі ST/ВВС

назва зразку	медіана логарифму титру вірусу	різниця між логарифмом контролю та зразку
ВВС	4,7 [4,6-4,7]	–
ВВС-Au	3,1 [2,7-3,1]*	1,6 [1,5-2,0]
ВВС- Au після дії світла білого спектру	2,0 [1,9-2,1]*	**2,7 [2,5-2,8]**
ВВС- Au після дії світла червоного спектру	2,1 [2,0-2,1]*	**2,6 [2,5-2,7]**
ВВС- Au після дії світла зеленого спектру	2,3 [2,2-2,3]*	**2,4 [2,3-2,5]**

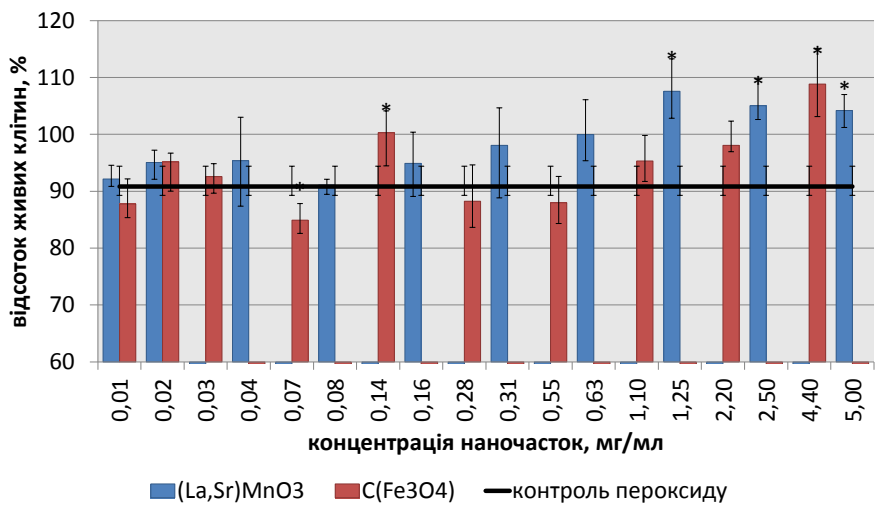
** p < 0.05*

Кратність зміни концентрацій нітрит-іону в клітинному середовищі після інкубації з цитрат-стабілізованими НДЦ

Конц. НДЦ, мМ	Тип клітинної лінії				Цитрат**
	I_D			I_I	
	спленоцити	гепатоцити	MDBK	RIN-m5F	
0,01	1,0 [0,8-1,3]	1,3 [0,9-1,7]	1,2 [1,0-1,6]*	0,4 [0,4-0,6]*	1,1 [0,6-1,3]*
0,02	1,0 [0,8-1,7]	1,3 [0,9-1,5]*	1,0 [0,8-1,2]	0,6 [0,5-0,9]*	1,0 [0,6-1,1]*
0,03	1,4 [0,9-1,7]	1,3 [1,0-1,6]	1,1 [0,9-1,4]	0,4 [0,3-0,6]*	0,9 [0,6-1,2]*
0,06	1,3 [0,8-1,7]*	1,3 [1,0-1,7]	1,2 [1,0-1,3]*	0,8 [0,6-1,1]	1,2 [0,8-1,3]*
0,12	**1,7 [1,0-1,9]***	**1,5 [1,1-1,6]**	**2,2 [1,8-2,6]***	0,8 [0,7-1,3]	0,9 [0,3-1,1]*
0,25	**1,9 [1,3-2,8]***	**2,1 [1,7-2,6]**	**2,2 [2,0-2,7]***	1,1 [0,9-1,5]	1,0 [0,4-1,2]*
0,50	**2,3 [1,8-2,6]***	**2,7 [2,1-3,2]***	**3,5 [2,8-4,6]***	**3,6 [3,2-5,4]***	1,0 [0,4-1,1]*
1,00	**4,9 [4,0-5,4]***	**5,1 [3,9-5,6]***	**7,8 [6,1-8,9]***	**8,8 [7,3-11,8]***	0,9 [0,8-1,1]*

** p<0,05.* значення I_D представлені як медіана значень для всіх досліджуваних клітин*

Антиоксидантна активність наночасток $C(Fe_3O_4)$ та $(La, Sr)MnO_3$ (лікувальна схема) на ST



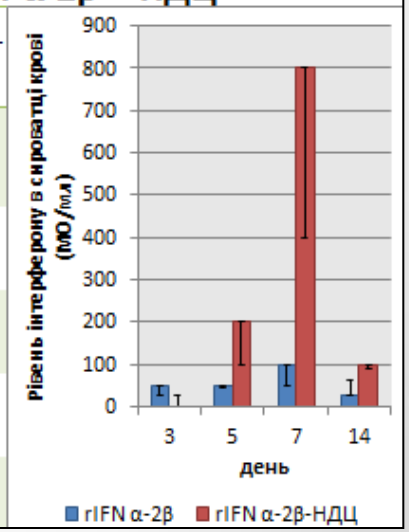
Кратність зміни концентрацій нітрит-іону в клітинному середовищі після інкубації з нестабілізованими НДЦ

Конц. НДЦ, мМ	Тип клітинної лінії			
	I_D			I_I
	спленоцити	гепатоцити	MDBK	RIN-m5F
0,01	1,1 [0,9-1,4]*	1,0 [0,8-1,1]*	1,0 [0,8-1,3]	0,8 [0,6-1,1]
0,02	1,2 [0,9-1,3]*	1,0 [0,8-1,2]*	0,9 [0,7-1,2]	0,3 [0,1-0,4]*
0,03	1,0 [0,8-1,3]*	1,0 [0,8-1,2]*	1,0 [0,8-1,5]	0,6 [0,5-0,8]*
0,06	1,1 [0,9-1,5]*	1,0 [0,8-1,5]*	0,9 [0,7-1,5]	0,9 [0,8-1,8]
0,12	1,3 [1,0-1,9]*	1,0 [0,8-1,1]*	1,5 [1,2-1,8]*	0,3 [0,2-0,6]*
0,25	1,1 [0,8-1,4]*	1,3 [1,0-1,5]*	1,0 [0,9-1,2]	0,9 [0,7-1,4]
0,50	**1,6 [0,9-2,0]***	1,2 [0,9-1,4]*	1,0 [0,8-1,2]	1,3[1,1-1,7]*
1,00	**1,5 [1,2-1,8]***	1,1 [0,8-1,3]*	1,1 [0,9-1,4]*	**2,0[1,5-2,9]***

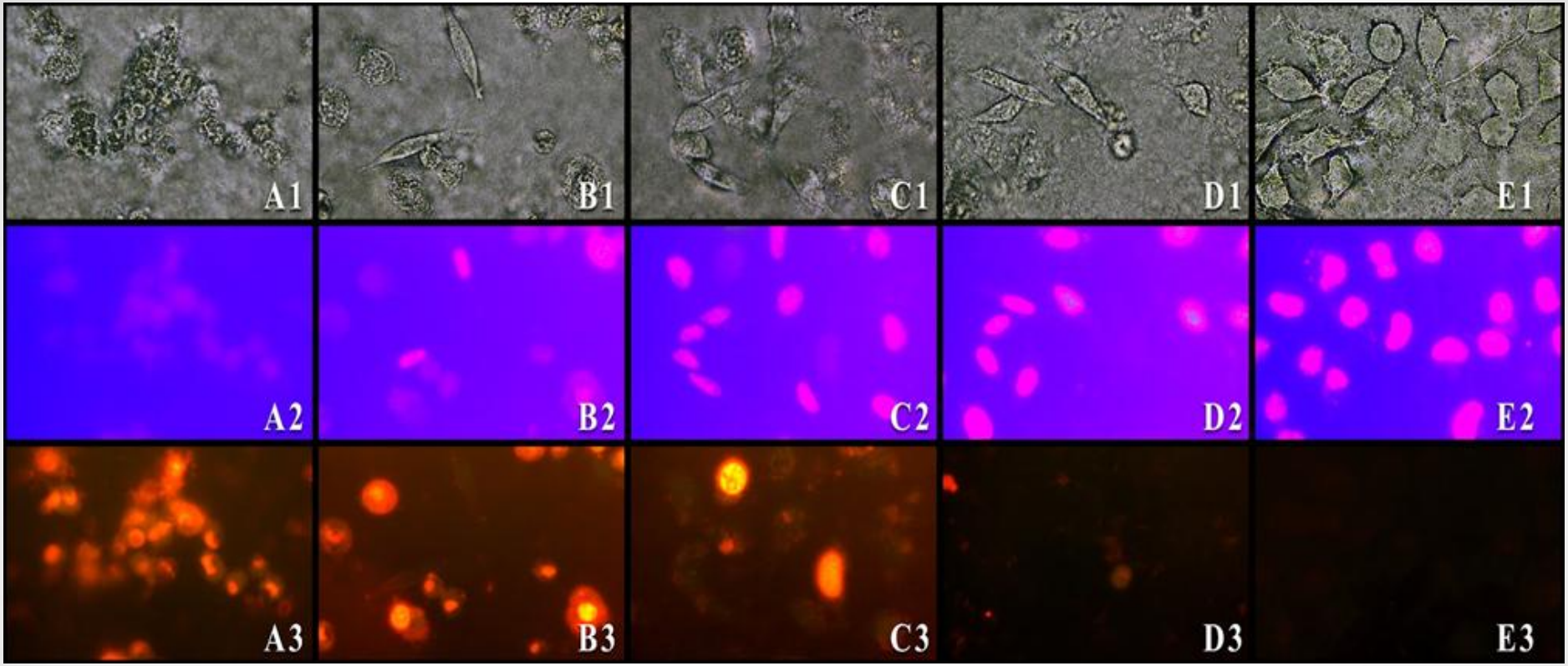
** p < 0.05*

Відповідь системи інтерферону на введення рІФН α-2β та рІФН α-2β – НДЦ

Група	Контроль	рІФН α-2b	рІФН α-2b – НДЦ
день	рівень сироваткового ІФН (МО/мл)		
3-й день	0 [0-0]	**50** [25-50]	**0** [0-25]
5-й день	0 [0-0]	**50** [44-50]	**200** [100-200]
7-й день	0 [0-0]	**100** [50-100]	**800** [400-800]
14-й день	0 [0-0]	**25** [25-63]	**100** [88-100]



Вплив модифікованого та немодифікованого рФНП-Т на життєздатність клітин L929



A1-A3 – рФНП-Т-НДЦ; B1-B3 – рФНП-Т; C1-C3 – НДЦ; D1-D3 – актиноміцин D; E1-E3 – інтактні клітини L929. A1-E1 – денне світло, A2-E2 – 480 нм дихроїчний фільтр, 450 нм пропускаючий фільтр; A3-E3 – 480 нм дихроїчний фільтр, 515 нм пропускаючий фільтр

Активність (AUC) нанобіокомпозитів ФНП-НДЦ на пухлинних культурах клітин

	Hep-2	A-549
рФНП-Т	1317,4 [1315,3-1388,0]	290,0 [285,8-291,9]
рФНП-Т-НДЦ	1475,6 [1473,4-1532,1]*	375,1 [370,4-378,1]*
підвищення активності, %	**12,0 [6,2-16,5]**	**29,3 [26,9-32,3]**

*$p < 0.05$

Динаміка зміни активності (AUC) комплексу ФНП-НДЦ на культурі клітин L929

Назва зразку	Час експозиції немодифікованого ФНП та ФНП-НДЦ нанокомплексу		
	15 хв.	24 год	7 днів
рФНП-α	646.7 [641.4-651.9]	1778.0 [1752.2-1815.4]	1244.2 [1238.0-1250.4]
рФНП-α-НДЦ	800.9 [782.1-819.9]*	1886.6 [1856.7-1905.7]*	1358.0 [1348.7-1367.4]*
підвищення активності, %	23.9 [20.1-27.8]	6.1 [2.3-8.8]	9.2 [7.9-10.5]
рФНП-Т	1479.1 [1475.6-1496.3]	1027.6 [1018.0-1087.0]	996.4 [996.1-998.7]
рФНП-Т-НДЦ	1504.0 [1479.2-1504.9]	1056.7 [996.3-1097.0]	1146.3 [1135.2-1161.4]*
підвищення активності, %	1.7 [0.2-2.0]	2.8 [7.7-7.9]	15.0 [13.7-16.6]

*$p < 0.05$

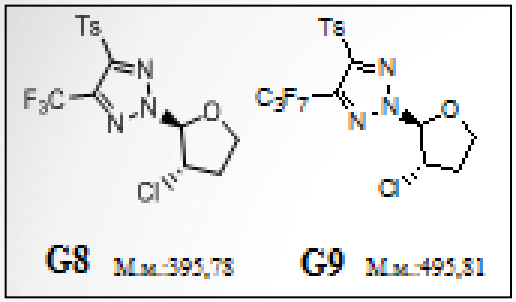
Фактор збільшення середньо-геометричного значення титру антитіл

Штам	День	Невакциновані тварини (контроль)	Vaxigrip®	Vaxigrip® + цитрат-стабілізовані НДЦ	Vaxigrip® + нестабілізовані НДЦ
A/Ukraine/348/2013 (H1N1)pdm – похідний A/California/07/2009 (H1N1)pdm	0				
	10	1,00	1,00	1,22	1,00
	24	1,81	**5,38**	2,14	2,21
	49	1,59	**10,77**	**4,27**	**5,95**
	63	2,00	**5,38**	**4,89**	**5,48**
A/Ukraine/316/2013 (H3N2) – похідний A/Victoria/361/2011 (H3N2)	0				
	10	1,00	1,10	1,49	2,21
	24	1,22	1,35	2,00	**4,88**
	49	1,81	**3,28**	1,44	**5,48**
	63	1,14	**2,63**	1,44	**5,95**
B/Odessa/442/2013 – похідний A/Wisconsin/1/2010-B/Yamagata-branch	0				
	10	1,22	1,32	**3,28**	1,49
	24	1,22	1,96	**4,88**	1,81
	49	1,22	**2,91**	**6,79**	**4,42**
	63	1,00	1,46	**3,39**	**5,90**

Таким чином, проведено оцінку антивірусної, антиоксидантної та ад'ювантної дії нестабілізованих та цитрат-стабілізованих НДЦ. Встановлено, що наночастки реалізують свою антивірусну та антиоксидантну дію шляхом включення в механізми розвитку нітрозативного стресу. Підтверджено стабільне підвищення імуногенності та пролонговану дію модифікованої нестабілізованими НДЦ вакцини Vaxigrip®.

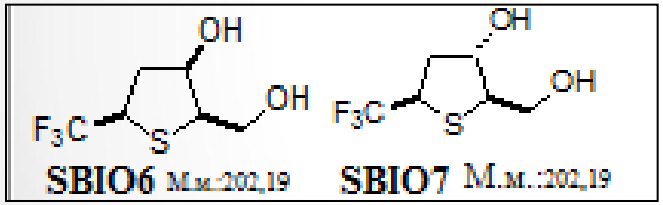
Досліджувані сполуки

2-*N*-заміщені-4-тозил-5-поліфторалкіл-1,2,3-триазоли



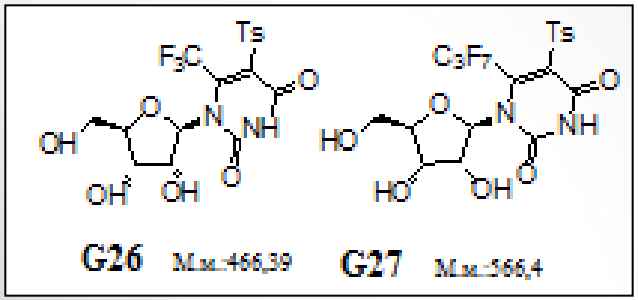
G8 М.м.:395,78 **G9** М.м.:495,81

трифторметил заміщені похідні тіоцукрів



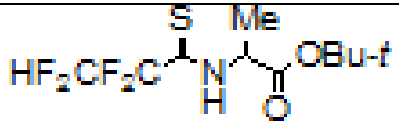
SBIO6 М.м.:202,19 **SBIO7** М.м.:202,19

нуклеозидні аналоги на основі фторвмісних урацилів

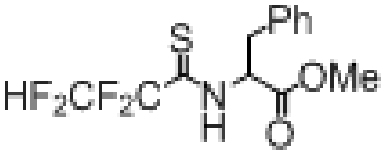


G26 М.м.:466,39 **G27** М.м.:566,4

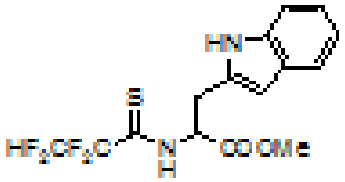
фторовані похідні амінокислот



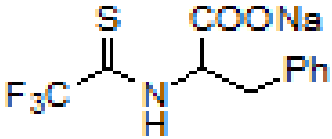
10S20 М.м.: 289,29



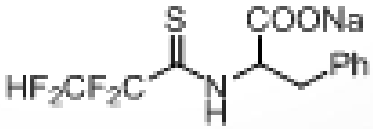
10S21 М.м.: 323,31



10S22 М.м.: 362,34

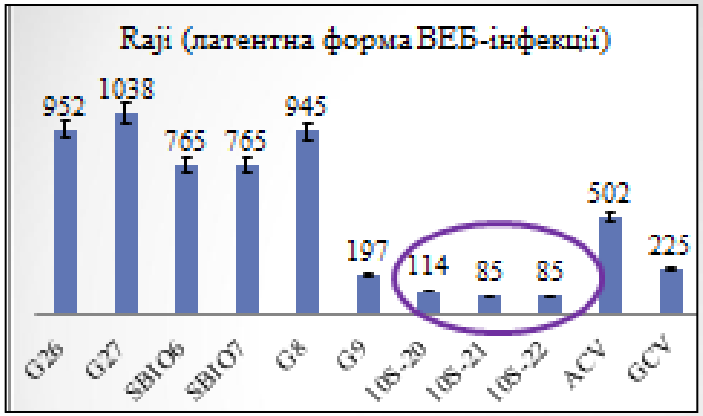


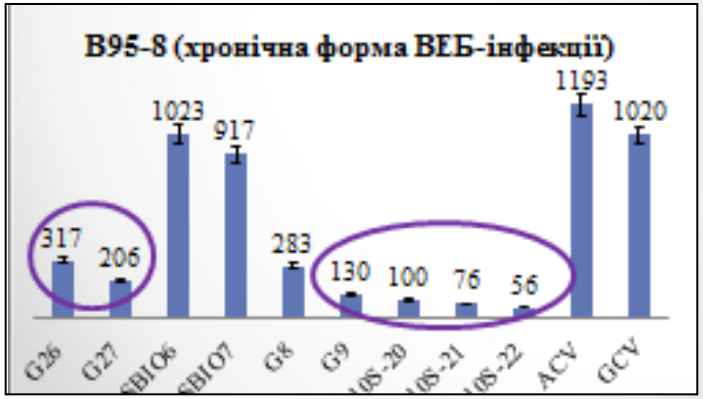
10S23 М.м.: 299,24

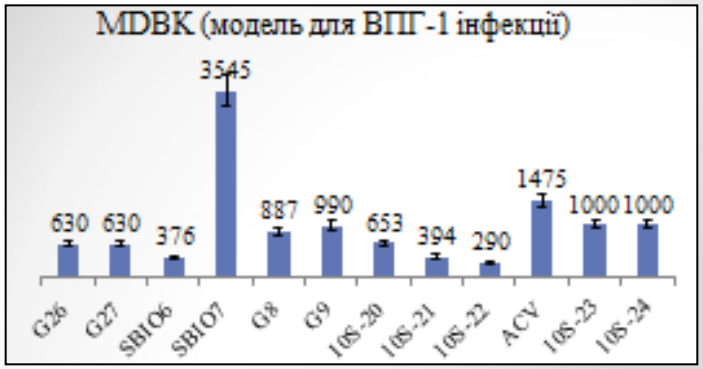


10S24 М.м.: 331,26

Цитотоксичність сполук, показник CC_{50} (мкг/мл) (МТТ-аналіз)

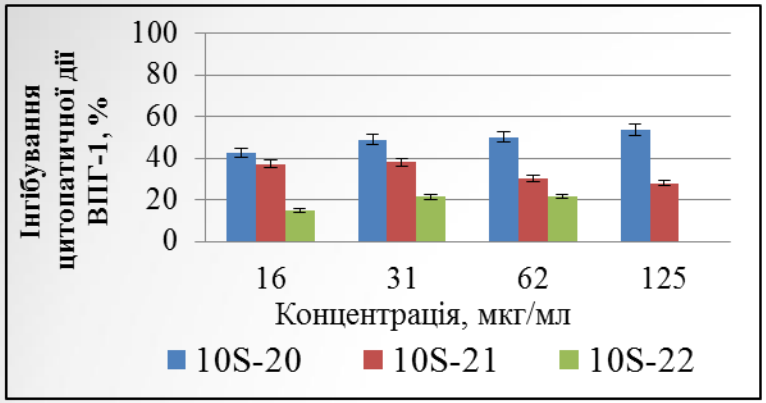


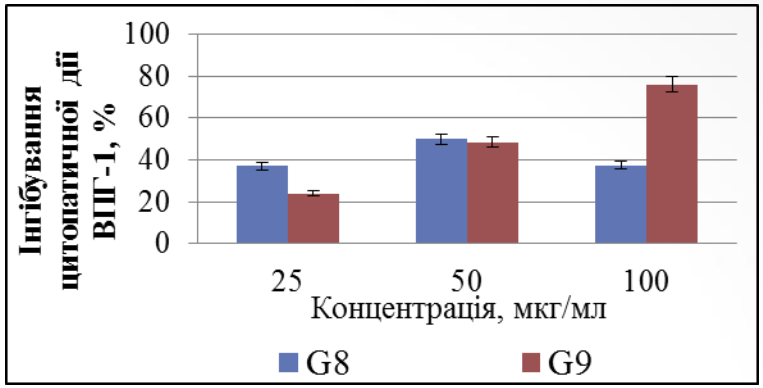




- *CC_{50} – концентрація сполуки, що спричиняє зниження життєздатності клітин на 50 %. ACV – ацикловір; GCV - ганцикловір

Анти-ВПГ-1 активності фторованих сполук

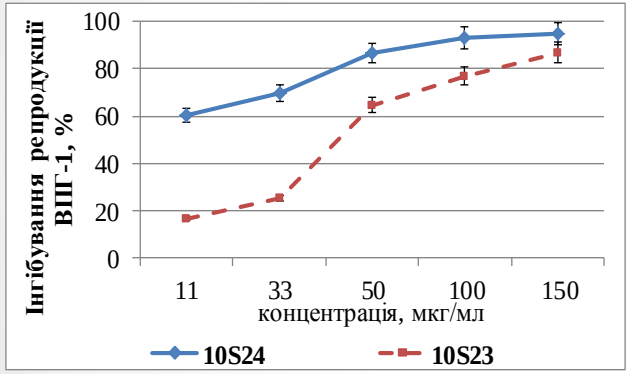


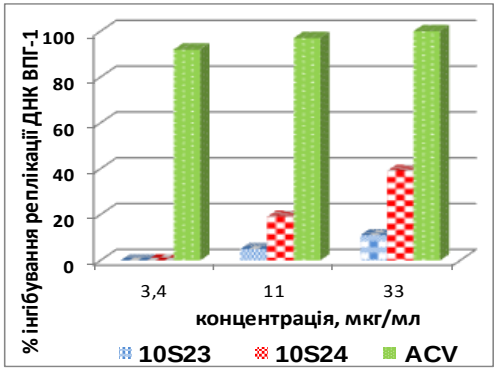


Антигерпетична дія похідних триазолів в системі *in vivo*

Індекс ефективності,%
100
G8 - 0,4 мг/кг
G9 - 0,5 мг/кг
ACV - 1 мг/кг

Вплив сполук на різні етапи репродукції вірусу





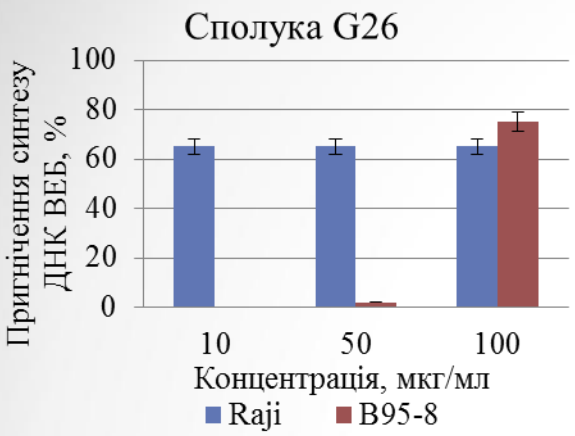
Концентрація сполук, (мкг/мл)		ВПГ-1 (moi 0.2)	
		Титр вірусу БУО/мл	% інгібування
10S-23	100	$8,0 \times 10^5$	98,03
	50	$11,0 \times 10^6$	97,31
	33	$6,7 \times 10^6$	83,45
	11	$6,9 \times 10^6$	83,05
	3,4	$6,9 \times 10^6$	83,05
10S-24	100	$8,0 \times 10^4$	99,80
	50	$6,7 \times 10^4$	99,84
	33	$1,7 \times 10^4$	99,57
	11	$9,2 \times 10^5$	97,73
	3,4	$2,5 \times 10^6$	93,76
Контроль вірусу		$4,1 \times 10^7$	-

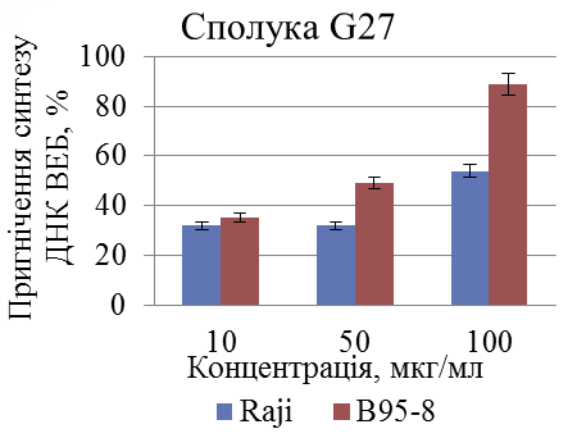
Концентрація (мкг/мл)		*Сполуки вносили:*			
		30 хв. до адсорбції	*2 год. до адсорбції*	*Під час адсорбції*	*Під час проникн.*
		% пригнічення репродукції			
10S-23	33	2.91±0.57	24.02±1.63	21.24±1.54	18.54±1.43
	11	2.94±0.57	2.01±0.47	0	12.36±1.17
	3.7	2.96±0.58	0	0	0
10S-24	33	0	8.84±1.03	6.18±0.87	25.92±1.70
	11	0	6.95±0.92	4.08±0.67	2.57±0.53
	3.7	0	4.91±0.77	2.03±0.48	0

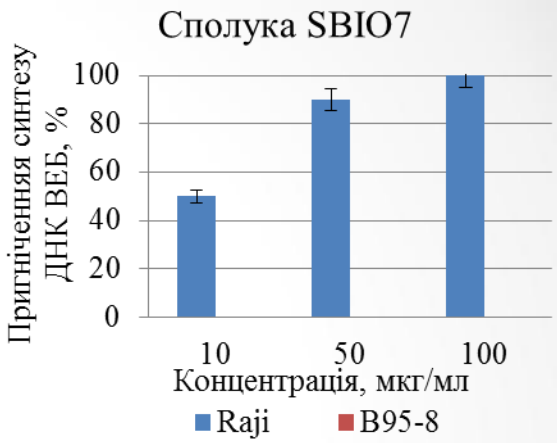
Критерії оцінки ефективності препаратів відносно вірусу

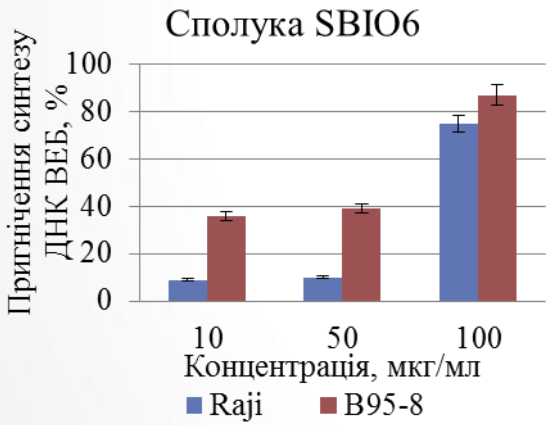
Зниження титру вірусу %	**≤98**	**≥98**	**≥99**
Ефективність препарату	**Відносна активність**	**Помірна активність**	**Виражена активність**

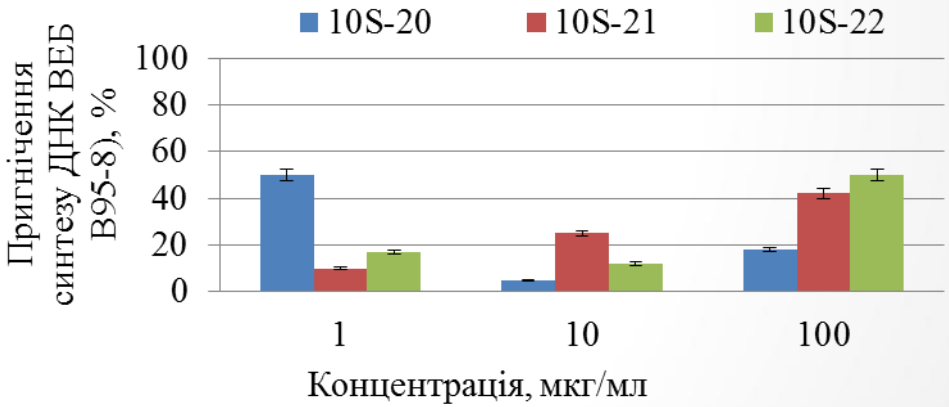
Антивірусна дія фторовмісних сполук проти вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) на моделях гострої (суперінфіковані клітини Raji) та хронічної (клітини B95-8) інфекцій (ПЛР)











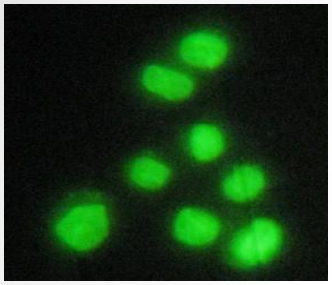
Індекс селективності (співвідношення CC_{50} до EC_{50})							
	G26	G27	SBIO6	SBIO7	10S-20	10S-21	10S-22
Гостра ВЕБ-інфекція	19	10	11	77	114	4	1
Хронічна ВЕБ-інфекція	4	3	16	-	-	-	-

EC_{50} - ефективна концентрація сполуки, при якій рівень реплікації вірусу в клітинах пригнічується на 50 %

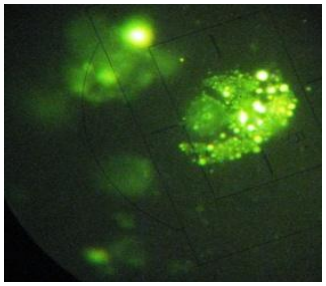
Апоптоз-індукуюча дія фторовмісних сполук

Фарбування Hoescht 33342
(Люмінесцентна мікроскопія, Н)

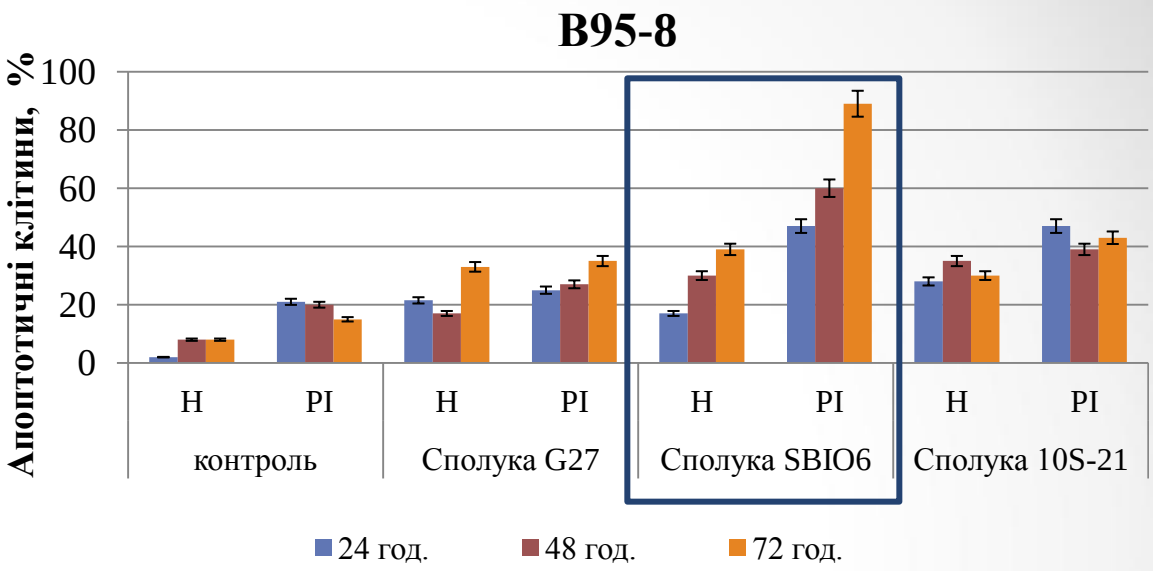
1



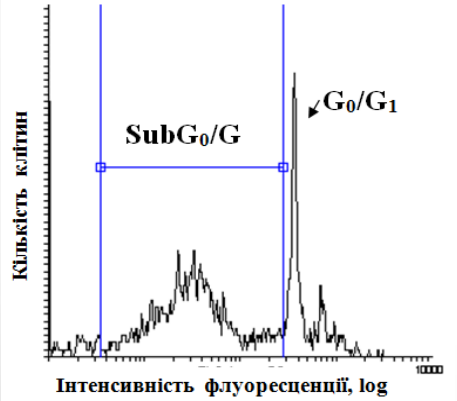
2

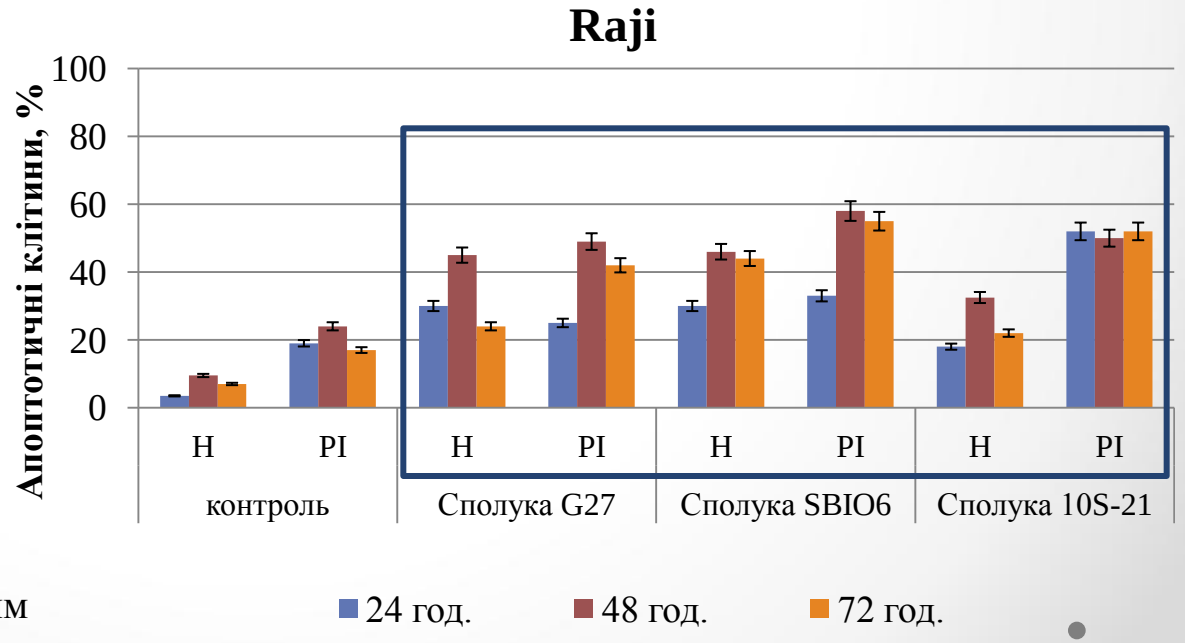


1 – клітини з нормальними ядрами
2 – клітини з фрагментацією ядра «апоптотичні тільця», х800



Фарбування пропідіумом йодид
(Проточна цитометрія, PI)

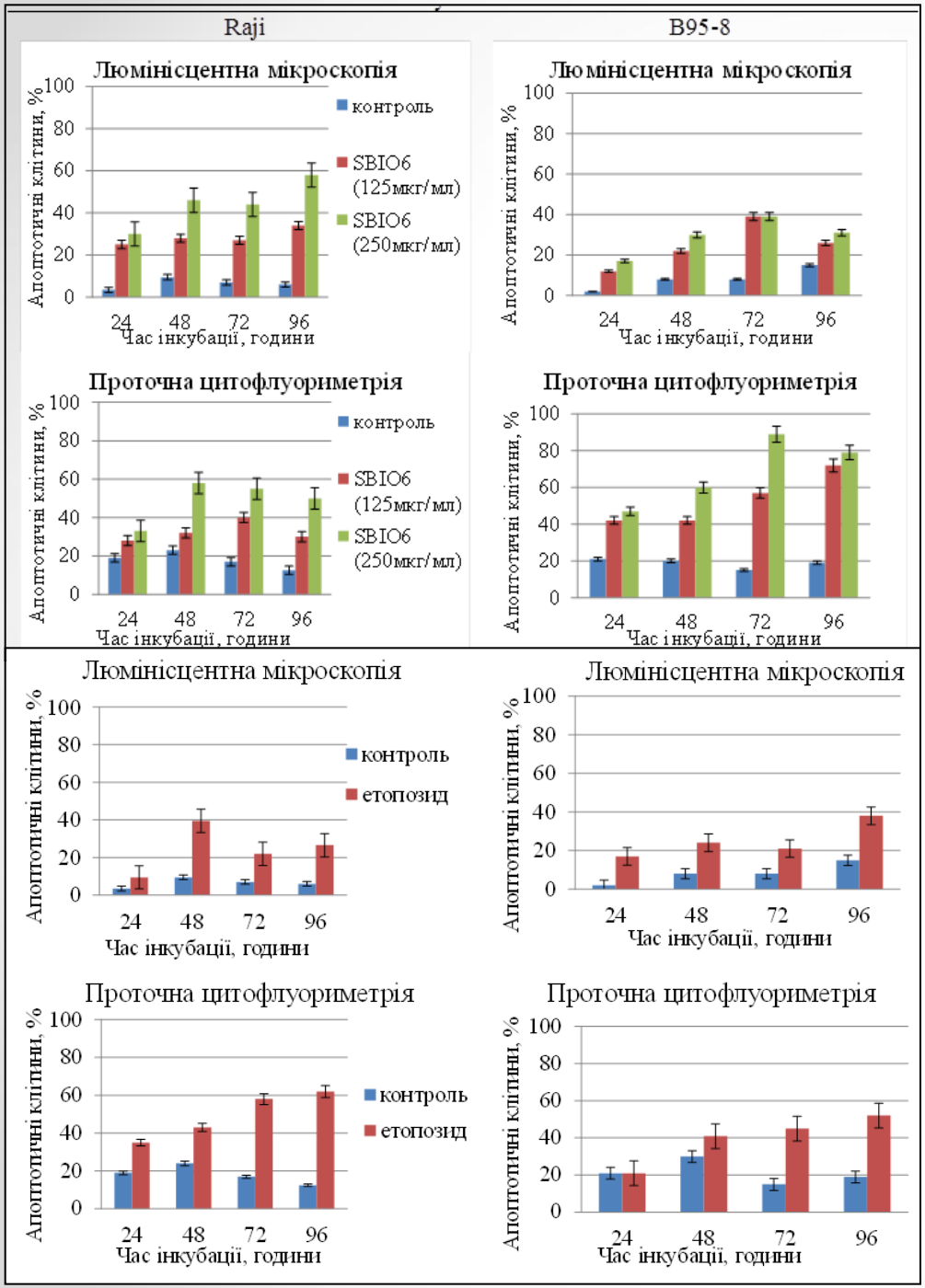


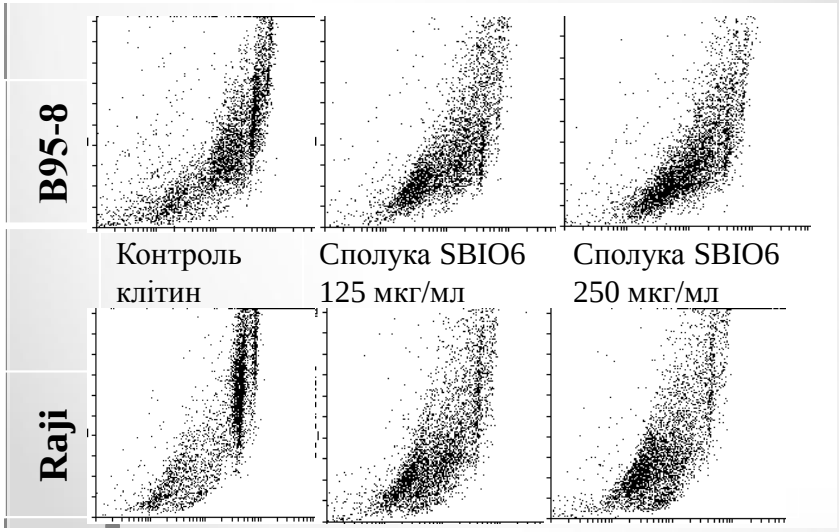


$subG_0/G_1$ – зона апоптотичних клітин
G_0/G_1 – зона фаз клітинного циклу, 600 нм

люмінісцентна мікроскопія (Н) та проточна цитофлуориметрія (PI)

Апоптоз-моделюючий потенціал сполук при індукції літичної ВЕБ-інфекції





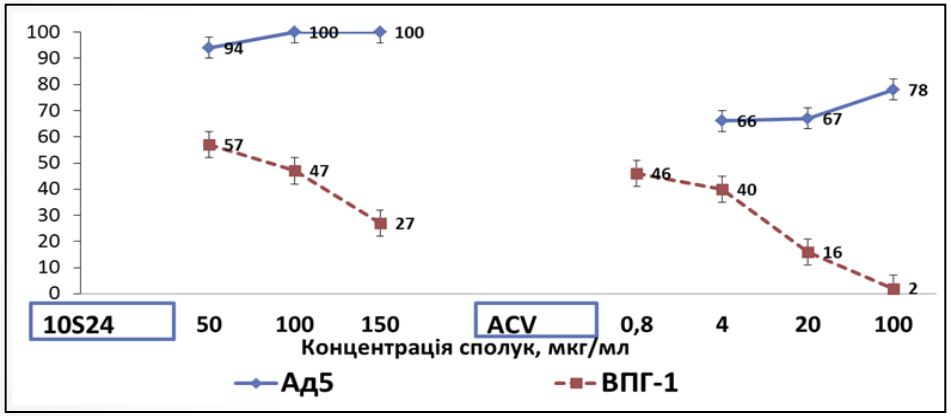
Таким чином, досліджено цитотоксичну дію та противірусну активність фторованих сполук на моделях ВПГ-1 і ВЕБ-інфекцій. Виявлено серед них перспективні противірусні та протипухлинні засоби, встановлено їх індекси селективності та вивчено механізми дії. Показано ефективну антивірусну дію похідних триазолу на моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей та здатність досліджуваних сполук запускати апоптоз за умов латентної, хронічної та індукованої літичної ВЕБ-інфекції.

Дослідження антивірусної активності сполук за умов моно- та змішаної інфекції клітин MDBK

Варіант інфікування	Інгібування реплікації ДНК вірусів, %							
	Цидофовір		Рибамідил		Ганцикловір		G8	
	ВПГ-1	Ад-5	ВПГ-1	Ад-5	ВПГ-1	Ад-5	ВПГ-1	Ад-5
Моноінфекція + препарат	67±2,7	4±0,7	92±3,2	100	60±3,0	5±0,6	100	51±2,4
Коінфекція + препарат	38±2,1	1±0,2	83±3,1	0*	61±2,9	25±1,9	57±2,5	0*

Примітка: * – інгібування відсутнє

% зниження ефективності сполук у порівнянні з моно інфекціями



Концентрація, мкг/мл	Зниження ефективності G29 в порівнянні із моно інфекцією, %	
	Ад-5	ВПГ-1
125	43±3	73±9
62	50±5	71±7
31	57±4	94±11

Таким чином, використовуючи розроблену інноваційну модель змішаної інфекції клітин досліджено ефективність відомих противірусних препаратів Ацикловір, Рибавірин Цидофовір, Ганцикловір та нових фторовмісних сполук G8, 10S-24, G29 та виявлено значну зміну їх антивірусної дії.

Виявлена аномальна дія препаратів у випадку ко-інфікування клітин вірусами, вказує на необхідність використання змішаної інфекції при вивченні перспективних антивірусних речовин, оскільки може попередити неефективність їх застосування в медичній практиці та розвиток резистентності вірусів.

У роботі вирішена актуальна науково-практична проблема - досліджено функціональні закономірності взаємодії вірус-клітина-противірусний препарат на моделі герпесвірусів людини та встановлено, що за умов змішаної інфекції відбувається суттєва зміна ефективності дії антивірусних сполук, зокрема і етіотропних препаратів, що свідчить про необхідність поглибленого вивчення розвитку вірус-вірусних взаємодій та необхідність застосування моделей змішаних інфекцій для скринінгу противірусних засобів. Виявлено ефективні антивірусні засоби на основі нових класів хімічних сполук, наночасток та нанокомпозитів.

Висновки:

1. Створено оригінальну модель змішаного Ад-5 – ВПГ-1 інфікування епітеліальних клітин MDBK, за допомогою якої охарактеризовано взаємодію між вірусами-асоціантами, вірусами і клітиною та отримано якісну і кількісну характеристику ефективності антивірусної дії речовин.
2. Досліджено особливості репродукції вірусів за умов змішаного інфікування клітин: виявлено пригнічення синтезу мажорних білків вірусів-асоціантів та зниження інфекційного титру Ад-5 на 2,6 lg та ВПГ-1 на 1,6 lg.
3. Виявлено пригнічення розвитку змін структурно-функціонального стану клітин за умов їх змішаного інфікування, що пов’язано із зниженням цитопатичного ефекту вірусів на коінфіковані клітини.
4. Показано, що найефективнішим в якості антивірусного препарату та антиоксиданту в порівнянні з наночастками Au, Fe_3O_4, $(La,Sr)MnO_3$ є застосування цитрат-стабілізованих наночасток CeO_2. В діапазоні концентрацій від 1,0 нМ до 0,1 мМ застосування наночасток CeO_2 викликає зниження титру вірусу везикулярного стоматиту на 2,3-4,5 lg. Цитрат-стабілізовані наночастки CeO_2 знижують нітрозативний стрес в первинних і нормальних перещеплюваних культурах клітин у 5-8 разів та, навпаки, у 8-9 разів підвищувати продукцію нітрит-іону в культурі клітин пухлин RIN-m5F.
5. Використання в якості ад’юванту нестабілізованих наночасток CeO_2 ефективно підвищує біологічну активність рІФН α-2b у 8 разів в системі *in vivo*, препаратів рФНП та рФНП-Т на 15-20% в системі *in vitro*.

6. Показано, що використання вакцини Vaxigrip®, модифікованої нестабілізованими наночастками CeO_2 у 5 разів ефективніше, ніж використання оригінальної (немодифікованої) вакцини та модифікованої цитрат-стабілізованими наночастками CeO_2, а також супроводжується тривалою (до 9 тижнів після вакцинації) активацію гуморальної ланки імунної відповіді.

7. Встановлено, що фторовані похідні триазолів (G8, G9) та амінокислот (10S-20, 10S-23 та 10S-24) значно пригнічують репродукцію ВПГ-1. Виявлено виражену противірусну активність сполук G8 та G9 на моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей і визначено роль цитокінів в цьому процесі шляхом активування синтезу інтерферону γ та інтерлейкіну 2. Показано що за гострої ВЕБ-інфекції ефективно пригнічували реплікацію ДНК вірусу похідні на основі урацилу, тіоцукру та амінокислот (інгібування досягало 100%).

8. Встановлені нові ефективні індуктори апоптозу ВЕБ-асоційованих лімфобластоїдних клітин при латентній, хронічній та індукованій літичній ВЕБ-інфекціях. При латентній та хронічній ВЕБ-інфекціях за умов внесення похідних урацилу, тіоцукру та амінокислот відсоток клітин з апоптотичними проявами зростав вже через 24 години і становив 25% - 52%. Похідне тіоцукру SBIO6 призводило до збільшення кількості апоптотичних клітин на 48 годину до 40 – 57% за умов індукції літичної ВЕБ-інфекції.

9. Вперше за умов змішаного адено-герпетичного інфікування клітин показано зниження ефективності дії офіцинальних антивірусних препаратів (ганцикловір, цидофовір, рибамідил, ацикловір) на 20 – 100 %, що може призводити до неефективного їх застосування у лікарській практиці.

Кількість публікацій: 63, в т.ч. за тематикою роботи 22 статі (12 – у зарубіжних виданнях), 40 тез доповідей. Загальна кількість посилань на публікації авторів/h-індекс роботи згідно баз даних складає відповідно: Scopus – 12/2; Google Scholar – 18/3. Отримано патент України на корисну модель.

ЦИКЛ НАУКОВИХ РОБІТ НА ТЕМУ ОСОБЛИВОСТІ РЕПРОДУКЦІЇ ВІРУСІВ ГЕРПЕСУ В УМОВАХ ЗМІШАНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА РОЗРОБКА ПЕРСПЕКТИВНИХ ЗАСОБІВ АНТИВІРУСНОЇ ДІЇ НА ПРЕМІЮ ПРЕЗИДЕНТА УКРАЇНИ ПОДАЄТЬСЯ ВПЕРШЕ.