

## РЕФЕРАТ РОБОТИ

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

виконаної колективом авторів у складі  
к.б.н., н.с. Білявської Любові Олексіївни  
к.б.н., м.н.с. Науменко Кристини Сергіївни  
к.б.н., пров. інж. Шидловською Ольгою Андріївною

**Актуальність теми:** Захворювання викликані представниками родини *Herpesviridae* входять до числа найбільш поширених і погано контрольованих інфекцій людини. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) до 90% населення планети інфіковано герпесвірусами, зокрема вірусом простого герпесу 1 типу (ВПГ-1) та вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ). Герпесвіруси здатні довічно персистувати в організмі людини після первинного зараження в лімфоїдній тканині асоційованій із слизовими оболонками та нервових гангліях, внаслідок ухилення від взаємодії з імунною системою, викликати гострі та хронічно рецидивуючі інфекції з ураженням слизових оболонок, внутрішніх органів, центральної нервової системи; викликати трансплацентарні інфекції з ураженнями плоду; лімфопроліферативні захворювання. Реактивація даних вірусів відбувається, як в періоди пригнічення імунної системи внаслідок використання імуносупресивних препаратів чи асоційованих з хворобою стресів, так і при її активації, внаслідок розвитку запальних процесів чи коінфікування іншими патогенами. Рядом дослідників відмічено факт активації герпетичної інфекції у вагітних жінок і новонароджених та показано високий відсоток ускладнень протікання вагітності, зокрема при одночасному перебігу з аденовірусною інфекцією. Тропізм вірусів до одних і тих же тканин створює можливість одночасного інфікування організму-хазяїна з розвитком змішаної вірусної інфекції, що є однією з актуальніших проблем сучасної біології та медицини. Показано, що такі інфекції протікають клінічно значно важче та на їх фоні частіше виникають різні ускладнення.

Слід зауважити, що дослідження розвитку інфекційного процесу за умов змішаного інфікування на рівні організму сьогодні ведуться досить активно, однак, на клітинному рівні майже не досліджено форми, механізми та наслідки взаємодії між вірусами-асоціантами. В той же час ці знання важливі для розуміння особливостей еволюції, мінливості та патогенезу вірусів, розвитку гострих інфекцій на фоні вже існуючих латентних, дії антивірусних препаратів та розробки нових більш ефективніших засобів боротьби з вірусними інфекціями. Крім того, актуальним питанням залишається пошук та розробка препаратів, які б проявляли високу ефективність відносно вірусів не лише за

умов моноінфекції, а і за змішаної інфекції, інгібуючи їх репродукцію та передачу.

Існуючі противірусні препарати є досить сильними інгібіторами репродукції вірусів, але всі вони мають ряд недоліків: високі показники токсичності, низьку біодоступність, високий рівень розвитку резистентних штамів вірусів, часті рецидиви захворювань та недієвість відомих препаратів відносно латентної форми інфекції, що спонукає науковців до пошуку нових нестандартних та безпечних засобів їх профілактики та лікування.

Новітнім підходом для лікування вірусних хвороб є застосування наночасток металів. Так наночастки діоксиду церію (НДЦ) є малотоксичними речовинами, які володіють високою активірувальною та антиоксидантною активністю, а магнітні наночастки та наночастки золота володіють протипухлинною активністю. Відповідно це дає змогу розглядати їх як перспективні препарати для лікування вірусних захворювань.

Ще одним перспективним класом противірусних засобів є фторовмісні сполуки. Завдяки синтетичній доступності і високій хімічній та біологічній стабільності вони є популярними білдінг-блоками з точки зору медичної хімії. Фторовані аналоги біологічних молекул є корисними інструментами для дослідження і модифікації функції біологічних систем, та відіграють значну роль у лікуванні раку та вірусних інфекцій, як селективні інгібітори ферментів, необхідних для реплікації вірусів та як індуктори апоптозу, що обумовлює протипухлинний ефект. Встановлено, що введення атома фтору в біологічно активну молекулу може впливати не тільки на її фармакокінетичні властивості, але і на розподілення в тканинах, шлях та швидкість метаболізму сполуки, а також її фармакодинаміку і токсикологію. Всі ці фактори відіграють ключову роль у створенні лікарських препаратів на основі фторовмісних аналогів нуклеозидів, нуклеотидів та амінокислот, а пошук серед них сполук з антигерпетичною активністю є актуальним завданням сьогодення.

**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**:

1. Створити модель адено-герпетичної інфекції епітеліальних клітин MDBK та вивчити особливості репродукції вірусів-асоціантів (зміни реплікації ДНК вірусів, синтезу вірусних білків та рівень інфекційного вірусу).
2. Вивчити морфолого-функціональні властивості коінфікованих клітин (життєздатність, особливості клітинного циклу, місця синтезу вірусів та накопичення вірусних продуктів).
3. Провести порівняльний аналіз активірувальної та антиоксидантної активності ряду наноматеріалів: наночасток діоксиду церію, оксиду заліза, золота та комплексних лантановмісних наночасток в системі *in vitro*.

4. Модифікувати рекомбінантний інтерферон альфа-2b (pIFN  $\alpha$ -2b) та рекомбінантний фактор некрозу пухлин альфа (pФНП- $\alpha$ ) за допомогою НДЦ, оцінити біологічну активність отриманих нанобіокомполімерів.
5. Вивчити імуногенність протигрипозної вакцини Vaxigrip®, модифікованої наночастками діоксиду церію.
6. Оцінити антигерпетичну активність фторовмісних сполук
7. Дослідити апоптозмодулюючий потенціал фторовмісних сполук у ВЕБ-трансформованих клітинах та за умов індукції літичної ВЕБ-інфекції.
8. Проаналізувати антивірусну та імуномодельную активності похідних триазолів на моделі герпетичної інфекції мишей.
9. Дослідити ефективність нових перспективних противірусних засобів за умов змішаної інфекції.

У роботі перше розроблено інноваційну модель змішаної адено-герпетичної інфекції епітеліальних клітин, охарактеризовано репродукцію вірусів-асоціантів та проведено структурно-функціональний аналіз взаємодії вірус-вірус-клітина. Показано, що інфікування клітин MDBK вірусом простого герпесу 1 типу (ВПГ-1, мої 0,01 БУО/кл) та аденовірусом людини 5 серотипу (Ад-5, мої 6 ВУО/кл) призводить до значного зниження кількості клітин з вірусіндукованими внутрішньоядерними включеннями обох вірусів (до 40%). Проведено дослідження повноцінності та інфекційності вірусів-асоціантів, а саме визначено титр вірусів отриманих *de novo* та рівень реплікації їх ДНК. За умов змішаної інфекції, виявлено зниження титрів ВПГ-1 та Ад-5 на 1,6 lg та 2,6 lg, тоді як реплікація ДНК обох вірусів знижувалася незначно (до 6%).

Синтез структурних компонентів віріону є одним із ключових моментів репродукції вірусів, адже недостатня їх кількість гальмує процес вірусного морфогенезу та утворення нових інфекційних вірусних часток. Відомо, що одним із механізмів взаємного пригнічення процесу утворення білків може бути інгібування трансляції мРНК в інфікованій клітині. Віруси родин адено-, пікорна-, ортоміксо-, параміксовірусів можуть призводити до інтерференції репродукції вірусу простого герпесу, що закінчується абортивною інфекцією. Проведено аналіз локалізації та динаміки накопичення капсидних білків вірусів і виявлено зниження їх кількості у ядрах коінфікованих клітин в порівнянні з моноінфекціями. Тому використовуючи різні методи білкового аналізу (імуноблотинг, проточна цитометрія та метод флуоресціюючих антитіл) досліджено рівень синтезу деяких мажорних білків вірусів за умови коінфікування клітин, виявлено значне інгібування синтезу основного капсидного білка та глікопротеїнів оболонки вірусу герпесу (83% та 64%, відповідно) і менш виражене зниження кількості білка гексону аденовірусу (17%). Таким чином можна зробити висновок, що пригнічення репродукції вірусів за умов змішаної інфекції може відбуватися на етапі трансляції.

Вивчено вплив змішаного інфікування на морфолого-функціональні властивості клітин MDBK. Відомо, що вірусна інфекція часто призводить до порушення основних клітинних процесів. Блокування фаз клітинного циклу є

добре встановленим механізмом, за допомогою якого віруси створюють найбільш придатні умови для їх репродукції. Зокрема, індукція S-фази є обов'язковою або, щонайменше, вигідною для літичної інфекції ряду вірусів. Аналіз клітинного циклу MDBK виявив зменшення кількості клітин у G1-фазі та її зростання у S-фазі циклу як за умов моно- так і змішаної інфекції, що свідчить про інгібування переходу клітин через мітотичну фазу циклу. Дослідження рівня мітохондріальної активності коінфікованих клітин показало, що відбувається його зростання до 100% в порівнянні з герпетичною моноінфекцією. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії вивчено ультраструктуру неінфікованих і інфікованих вірусами клітин та особливості вірусного морфогенезу. Коінфіковані клітини, характеризуються нижчим рівнем розвитку патоморфологічних змін і наявністю невеликої кількості вірусних капсидів. Крім того, виявлено значну кількість дефектних герпетичних і аденовірусних частинок, що мають меншу електронну щільність нуклеокапсиду, пов'язану з відсутністю нуклеїнової кислоти, що також свідчить про пригнічення репродукції вірусів.

Сучасний стан розвитку технологій, які здатні забезпечувати покращення рівня життя і здоров'я населення, потребує застосування інноваційних матеріалів. Наночастки являють собою дуже цікавий і перспективний об'єкт для дослідження і впровадження. У роботі проведено оцінку антивірусної, антиоксидантної та ад'ювантної дії нестабілізованих та цитрат-стабілізованих НДЦ. Встановлено, що найефективнішу антивірусну дію на культурах клітин A549 та Hep-2 проявляють цитрат-стабілізовані НДЦ як в лікувальній, так і в профілактичній схемі експерименту, тоді як їх антиоксидантна активність виявлена лише за лікувальної схеми внесення.

Одним із важливих механізмів захисту організму від вірусних інфекцій є MAVS-залежна антивірусна відповідь, що реалізується через взаємопов'язані каскади синтезу цитокінів, зокрема інтерферонів та білків родини фактору некрозу пухлин. Також, при розвитку вірусної інфекції важливу роль відіграє розвиток оксидативного та нітрозативного стресу. Тому проведено аналіз впливу НДЦ на продукцію нітрит-іону клітинами. Встановлено, що після 24-х годин інкубації клітин із цитрат-стабілізованими НДЦ (концентрація 0,1 мМ - 1,0 мМ) кількісні значення вмісту нітритів знижуються у 1,7-4,9 разів в порівнянні із контролем (інтактні клітини) на первинних спленоцитах, у 1,5-5,1 разів на первинних гепатоцитах та у 2,2-7,8 разів на культурі MDBK. На культурі клітин RIN-m5F виявлено протилежний ефект цитрат-стабілізованих НДЦ, а саме спостерігали підвищення продукції нітрит-іону в 3,6-8,8 разів у порівнянні з контролем клітин. Отримані результати свідчать про те, що наночастки НДЦ реалізують свою антивірусну та антиоксидантну дію шляхом включення в механізми розвитку нітрозативного стресу. Зокрема, зниження вмісту нітрит іону в нормальних клітинах та підвищення в пухлинних клітинах корелює з відомими механізмами реалізації клітинної антивірусної відповіді та механізмів, що супроводжують розвиток неоплазій.

Досліджено можливість використання НДЦ в якості ад'юванту для препаратів інтерферону (ІФН), фактору некрозу пухлин (ФНП) та протигрипозної вакцини. Ця властивість наночасток діоксиду церію розширює спектр їх застосування. Досліджено відповідь інтерференової системи білих інбредних мишей на одноразову ін'єкцію препарату модифікованого НДЦ та немодифікованого рекомбінантного інтерферону альфа-2b (рІФН  $\alpha$ -2b). Відповідь системи ІФН на рІФН  $\alpha$ -2b-НДЦ була дещо пізнішою порівняно з немодифікованим рІФН  $\alpha$ -2b. При введенні модифікованого НДЦ препарату рІФН  $\alpha$ -2b специфічна активація системи ІФН була у 8 разів вищою.

Для підтвердження ад'ювантних властивостей НДЦ для білкових препаратів було досліджено біологічну активність немодифікованих та модифікованих нестабілізованими НДЦ препаратів рифналіну (рФНП- $\alpha$ ) та рефноту (рФНП-Т), яку аналізували на культурі. Встановлено, що найбільш ефективний час експозиції з нестабілізованими НДЦ для рФНП- $\alpha$  склав 15 хвилин – показано збільшення біологічної активності на 23,9%, для препарату рФНП-Т – 7 діб (підвищення біологічної активності на 15%).

Показано, що найбільш чутливою до цитотоксичної дії рФНП-Т була трансформована культура А-549 (29,3%), в порівнянні з Нер-2 (12,0%). Додатково проведено аналіз життєздатності клітин L929, до яких вносили зразки немодифікованого рФНП-Т та модифікованого нестабілізованими НДЦ рФНП-Т за допомогою флуоресцентних фарбників Bisbenzimidazole H 33342 і Propidium iodide. Показано, що підвищена цитотоксичність комплексу ФНП-НДЦ реалізується через некротичний шлях, а не апоптичний, тоді як немодифікований ФНП викликає саме апоптотичну загибель пухлинних клітин.

Досліджено можливість використати НДЦ в якості ад'юванту для спліт-вакцини Vaxigrip®. Встановлено, що при застосуванні оригінальної вакцини Vaxigrip® спостерігається відповідь антитіл відповідно до вимог виробника даної вакцини. Тобто, було виявлено підвищення вмісту антитіл до всіх штамів вірусу грипу (А/Н1N1, А/Н3N2, В), наявних у вакцині. До вірусу грипу В на 63-й день спостережень відбувається повне зниження титру антитіл у сироватці мишей. При використанні вакцини Vaxigrip® модифікованої цитрат-стабілізованими НДЦ спостерігається незначне підвищення титрів антитіл, проте, до вірусу грипу В – найвища антитільна відповідь, а до вірусу грипу А штаму Н3N2 відповідь антитіл не була виявлена взагалі. Вакцина Vaxigrip® модифікована нестабілізованими НДЦ проявила себе найефективнішою – до всіх штамів вірусу грипу, які присутні в цій вакцині відбувається висока відповідь антитіл, що зберігається до 63-го дня спостережень. НДЦ ефективно діють як ад'ювант для вакцини Vaxigrip®. Найбільш ефективним є застосування вакцини Vaxigrip®, модифікованої нестабілізованими НДЦ: після вакцинації відбувається прогресивне, практично 6-ти кратне зростання титру антитіл до всіх штамів вірусів, що входять до складу вакцини, а високі рівні антитіл до всіх штамів вірусу грипу зберігаються більше двох місяців після першої вакцинації.

Основною метою стратегії антивірусної терапії є створення препаратів, які б вибірково пригнічували репродукцію вірусу в інфікованих клітинах, не впливаючи при цьому на метаболічні процеси клітини-хазяїна. Тому у роботі проведено дослідження токсичності та антивірусної дії чотирьох класів новосинтезованих фторовмісних сполук та виявлено ефективні противірусні засоби серед 2-*N*-заміщених-4-тозил-5-поліфторалкіл-1,2,3-триазолів (G8, G9 та G29), нуклеозидних аналогів фторовмісних урацилів (G26 та G27), трифторметил заміщених похідних тіоцукрів (SBIO6 та SBIO7) та похідних ефірів фторованих амінокислот (10S-20, 10S-21, 10S-22, 10S-23 та 10S-24).

Виражену анти-ВПГ-1 дію проявляють фторовані похідні триазолів (G8, G9) та амінокислот (10S-20, 10S-23 та 10S-24) інгібуючи репродукцію ВПГ-1 та розвиток цитопатичної дії вірусу на клітини на 22 - 76%, індекси селективності сполук (SI) в діапазоні 18 - 130. Проведено детальний аналіз механізмів дії перспективних сполук, та виявлено пригнічення реплікації ДНК ВПГ-1 при дії сполуки 10S-24 до 40% та зниження титр вірусу, синтезованого *de novo*, більше ніж на 99%. З отриманих даних можна зробити висновок, що сполука впливає на пізні стадії репродуктивного циклу вірусу, а саме на реплікацію ДНК вірусу, синтез білків або збирання капсиду вірусу.

На моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей досліджено антивірусну дію сполук G8 та G9. При застосуванні ацикловіру у концентрації 1 мг/кг та досліджуваних сполук G8 та G9 у концентраціях 0,4 мг/кг та 0,5 мг/кг, відповідно, загибель тварин не спостерігали, що вказує на їх високу антивірусну ефективність *in vivo* (IE=100%) та перспективність проведення подальших доклінічних досліджень. Також виявлено, що сполуки G8 та G9 здатні індукувати прозапальні цитокіни (ІНФγ та ІЛ-2), що забезпечує активацію противірусного захисту клітин та розвиток клітинної імунної відповіді.

Встановлено, що похідні урацилу та тіоцукрів, здатні ефективно пригнічувати ВЕБ та мають апоптоз-моделюючі властивості. Показано, що сполуки G26, G27, SBIO6 та SBIO7 проявили значну анти-ВЕБ активність за умов як гострої так і хронічної форм інфекції, SI становить 10 - 77. Виявлено, що сполука 10S-20 ефективно інгібуює синтез ДНК ВЕБ, а її EC<sub>50</sub> - 1 мкг/мл значно нижча за показник EC<sub>50</sub> для референс-препарату ганцикловір (5 мкг/мл). Крім того виявлено, що сполуки G27, SBIO6 та 10S-21 ефективно індукують апоптоз на моделі ВЕБ-трансформованих клітин Raji та V95-8, які хронічно продукують вірус (латентна та хронічна інфекції), про що свідчить збільшення кількості апоптотичних клітин на 20 - 26% уже на 24 годину експозиції та до 80% на 72 год.

Одним з важливих елементів лікування ВЕБ асоційованих захворювань є застосування протипухлинних препаратів за умов індукції літичної ВЕБ інфекції тому проведено дослідження апоптоз-моделюючого потенціалу при індукції літичної ВЕБінфекції сполукою SBIO6. Вже через 24 год. після застосування сполуки детектували 40% та 33% апоптотичних клітин V95-8 та

Raji, відповідно. Слід зазначити, що сполука SBIO6 була ефективнішою за референт-препарат етопозид.

Успіх виявлення ефективних антивірусних препаратів залежить не тільки від створення базової структури сполуки, її дизайну і докінгу у віртуальну мішень, але й вдалого використання стандартної моделі вірусної інфекції. Тому розроблену інноваційну модель змішаної інфекції клітин було використано для дослідження ефективності відомих противірусних препаратів Ацикловір (ACV), Рибавірин (Rib), Цидофовір (Cdfv), Ганцикловір (GCV) та нових фторовмісних сполук G8, 10S-24, G29 які за попередніми дослідженнями показала виражену та помірну протигерпетичну і протиаденовірусну дію. Всі досліджувані речовини проявили високу антивірусну активність відносно вірусу простого герпесу та аденовірусу за умов моноінфікування та мали високий індекс селективності (18 – 1333), однак виявлено значну зміну їх антивірусної дії за умов змішаної інфекції. Встановлено, що використання ACV при змішаній інфекції призводить до втрати його ефективності відносно ВПГ-1 до 46%, тоді як дія GCV не змінюється. Застосування сполук G8 та 10S-24 за умов змішаної інфекції призводить до зниження їх ефективності відносно ВПГ-1 до 43% та 57%, відповідно, у порівнянні з герпетичною моноінфекцією. Таким чином, виявлена нами аномальна дія препаратів у випадку коінфікування 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.

#### **Наукова новизна:**

В роботі вперше розроблено модель змішаної вірусної інфекції та охарактеризовано особливості репродукції вірусу герпесу в даних умовах, вплив вірусів-асоціантів на структурно-функціональний стан клітин, досліджено активність деяких офіційних антивірусних препаратів та новосинтезованих перспективних фторовмісних сполук. Залежно від схеми та множинності інфікування вірусів, змішана інфекція призводить до значного пригнічення репродукції вірусів-асоціантів, оскільки відмічено зміну титрів інфекційності вірусів отриманих *de novo*, рівня реплікації ДНК та синтезу деяких мажорних білків вірусів. Також за умов змішаного інфікування клітин охарактеризовано деякі морфолого-функціональні зміни клітин в порівнянні з моноінфекціями, що пов'язано зі зниженням цитопатичного ефекту вірусів на коінфіковані адено- та герпесвірусами клітини. Нами вперше встановлено, що ефективність дії деякі офіційні противірусних препаратів, серед них ацикловір цидофовір та рибамідил, в умовах коінфікування клітин вірусами знижується на 20 – 100%. Виявлена аномальна дія препаратів у випадку коінфікування клітин вірусами, вказує на те, що скринінг препаратів повинен проходити не лише на експериментальних моно-, але і на змішаних інфекціях, оскільки мова йде не лише про утворення резистентних штамів в процесі репродукції вірусів (в наслідок утворення рекомбінантів, псевдотипових вірусів, мутантів тощо), а і

про інгібування функціональної активності специфічних мішеней при репродукції вірусів-асоціантів.

В роботі вперше проведено систематичне дослідження антивірусної та антиоксидантної активності наночасток діоксиду церію. Вперше продемонстровано здатність цитрат-стабілізованих НДЦ знижувати нітрозативний стрес в первинних і нормальних перещеплених культурах клітин та підвищувати продукцію нітрит-іону в культурі клітин пухлин. Показано ефективне застосування НДЦ в якості антивірусного препарату та антиоксиданту. Вперше продемонстровано підвищення біологічної активності рІФН  $\alpha$ -2b та рФНП- $\alpha$  шляхом їх модифікації нестабілізованими НДЦ. Модифікований НДЦ рІФН  $\alpha$ -2b викликає значну та пролонговану активацію системи ІФН у мишей. Вперше створено нанобіокомпозити рФНП та рФНП-Т з нестабілізованими НДЦ, відпрацьовано оптимальні умови їх отримання та доведено здатність НДЦ підвищувати активність рФНП- $\alpha$  в системі *in vitro*. Вперше використано НДЦ як ад'ювант для вакцини Vaxigrip® та встановлено, що застосування модифікованої нестабілізованими НДЦ вакцини є ефективнішим, ніж оригінальної (немодифікованої) вакцини та супроводжується значною і тривалою активацією гуморальної ланки імунної відповіді.

Вперше досліджено цитотоксичну дію та протівірусну активність фторованих сполук на моделях ВПГ-1 і ВЕБ-інфекцій. Виявлено серед них перспективні протівірусні та протипухлинні засоби, встановлено їх індекси селективності та вивчено механізми дії. Вперше показано ефективну антивірусну дію похідних триазолу на моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей. Встановлено збільшення рівнів інтерферону  $\gamma$  та інтерлейкіну 2, як за умов інфікування ВПГ-1, так і в контрольних зразках, що свідчить про імуномодулюючий потенціал сполук. Вперше в лімфобластоїдних культурах клітин показана здатність досліджуваних сполук запускати апоптоз за умов латентної, хронічної та індукованої літичної ВЕБ-інфекції.

#### **Практична значимість:**

Сучасні медико-біологічні дослідження захворювань людини неможливо уявити без застосування експериментального моделювання патології. Вибір відповідної моделі для вивчення вірус-асоційованих захворювань *in vitro* важливий для адекватної екстраполяції отриманих даних на процеси, що протікають в живому організмі. Розроблена та охарактеризована нами інноваційна модель змішаної інфекції, що не має аналогів у Світі, дозволить використати її для доклінічних досліджень нових сполук з потенційною протівірусною активністю, аналізу сучасного арсеналу протівірусних препаратів та отримання нових даних про роль вірус-вірусних взаємодій в розвитку механізмів резистентності вірусів до дії відомих етіотропних сполук (що допоможе уникнути негативних наслідків від застосування недієвих ліків і збитків від їх виробництва).

Вивчення нових препаратів вказують на те, що наночастки діоксиду церію



(НДЦ) характеризуються як власною високою антивірусною активністю, так і здатністю потенціювати активність рІФН  $\alpha$ -2b та рФНП/рФНП-Т, а також можуть діяти як ефективний ад'ювант для вакцин. Встановлені властивості НДЦ дозволяють рекомендувати створення високоефективних протівірусних засобів на їх основі та їх застосування у терапії вірусних інфекцій.

Результати роботи створюють підґрунтя для розуміння механізмів антивірусної дії перспективних фторовмісних сполук, а також взаємодії між клітиною, вірусом та протівірусним препаратом на моделі ВПГ-1 та ВЕБ-інфекцій. Отримані дані по апоптозмоделюючій дії сполук можуть бути використані при створенні нових препаратів для лікування ВЕБ-асоційованих захворювань.

### **Висновки:**

У роботі вирішена актуальна науково-практична проблема - досліджено функціональні закономірності взаємодії вірус-клітина-протівірусний 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 протівірусних засобів. Виявлено ефективні антивірусні засоби на основі нових класів хімічних сполук, наночасток та нанокмпозитів.

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<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, (La,Sr)MnO<sub>3</sub> є застосування цитрат-стабілізованих наночасток CeO<sub>2</sub>. В діапазоні концентрацій від 1,0 нМ до 0,1 мМ застосування наночасток CeO<sub>2</sub> викликає зниження титру ВВС на 2,3-4,5 lg. Цитрат-стабілізовані наночастки CeO<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> ефективно підвищує біологічну активність рІФН  $\alpha$ -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  $\text{CeO}_2$  у 5 разів ефективніше, ніж використання оригінальної (немодифікованої) вакцини та модифікованої цитрат-стабілізованими наночастками  $\text{CeO}_2$ , 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 протівірусну активність сполук G8 та G9 на моделі герпетичного менінгоенцефаліту мишей і визначено роль цитокінів в цьому процесі шляхом активування синтезу інтерферону  $\gamma$  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 зростає 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 офіційних антивірусних препаратів (ганцикловір, цидофовір, рибамідил, ацикловір) на 20 – 100 %, що може призводити до неефективного їх застосування у лікарській практиці.

Загальна кількість публікацій – 94, з них за темою роботи – 63. Цикл робіт включає 23 статті, 12 з яких опубліковані у міжнародних наукових журналах та збірках, 11 – у вітчизняних профільних виданнях, а також 1 патент України на корисну модель та 40 тез доповідей на міжнародних конференціях.

Загальна кількість посилань на публікації авторів за темою роботи: 18 (Google Scholar), 12 (Scopus). h-index: 9 (Google Scholar), 4 (Scopus).

\_\_\_\_\_ / к.б.н., н.с. Білявська Л.О. /  
(підпис)

\_\_\_\_\_ / к.б.н., м.н.с. Науменко К.С. /  
(підпис)

\_\_\_\_\_ / к.б.н., пр.інж. Шидловська О.А. /  
(підпис)