

УДК546.655/54-148:578.28+615.281.8+578.24

НАНОЧАСТИНКИ ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ЯК ОБ'ЄКТ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Студ. М.О. Міщенко, гр. ББТ-16¹

Ст. викл. О.А. Шидловська^{1,2}

Науковий керівник доц. Н.М. Жолобак^{1,2}

¹Київський національний університет технологій та дизайну

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Мета і завдання. Мета роботи – проаналізувати перспективи та можливості застосування наночастинок діоксиду церію (НДЦ) в якості об'єкту для біотехнологічних досліджень. Для досягнення мети були поставлені такі задачі: дослідити біологічні властивості наночастинок діоксиду церію, розглянути можливості застосування їх в якості ад'ювантів та проаналізувати перспективи застосування в якості об'єкту біотехнологічних досліджень.

Об'єкт та предмет дослідження. Об'єктом дослідження є наночастки діоксиду церію. Предметом дослідження – антивірусна, антиоксиданта активність та ад'ювантні властивості наночастинок діоксиду церію.

Методи та засоби дослідження. В роботі використані аналітичні, цитологічні, вірусологічні, серологічні, біохімічні, статистичні.

Наукова новизна та / або практичне значення отриманих результатів. Вперше проведено порівняльну характеристику антивірусної та антиоксидантної дії НДЦ. Продемонстровано здатність цитрат-стабілізованих НДЦ знижувати нітрозативний стрес в первинних і нормальних перещеплюваних культурах клітин та, навпаки, підвищувати продукцію нітрит-іону в культурі клітин пухлин. Вперше продемонстровано підвищення біологічної активності рекомбінантного інтерферону α -2b (рІФН α -2b) та рекомбінантного фактору некрозу пухлин- α (рФНП- α) шляхом їх модифікації нестабілізованими НДЦ. Модифікований НДЦ рІФН α -2b викликає значну та пролонговану активацію системи ІФН у мишей. Вперше створено нанобіокомпозити рФНП та рФНП-Т (з тимозином) з нестабілізованими НДЦ та доведено здатність наночастинок підвищувати активність рФНП- α 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. Продемонстровано перспективи застосування НДЦ у підвищенні активності біотехнологічних препаратів.

Результати дослідження. Нанотехнології є сучасним перспективним напрямком досліджень у різноманітних галузях, таких як біотехнологія, медицина, фізика, біологія і т.д. За визначенням National Nanotechnology Initiative (NNI) нанотехнологія розуміє під собою весь спектр досліджень на атомарному, молекулярному та супрамолекулярному рівні у розмірному діапазоні близько 1-100 нм, направлений на створення матеріалів, приладів і систем та вивчення їх фундаментально нових, розмірно зумовлених властивостей і функцій. Нанотехнології є дуже привабливим напрямком розвитку технології отримання нових матеріалів, оскільки їх перевагами є низька вартість виробництва та зниження забруднення навколишнього середовища [1]. Наночастки діоксиду церію володіють ефективною антивірусною дією, що продемонстровано на різних моделях. Наночастинки CeO_2 знижують титр бактеріофага UZ1 на 4,4 lg, що є високим показником віруліцидної дії. Дослідження проводились із застосуванням бактеріальної матриці-носія, тобто нанорозмірний CeO_2 осаджували на поверхні бактеріальних клітин [2]. Антивірусна активність наночастинок CeO_2 в системі *in vitro* продемонстрована також на моделі культури клітин фібробластів мишей L929 проти вірусу везикулярного стоматиту (VBS) та на моделі нормальних фолікулярних клітин шурів (RF) проти вірусу простого герпесу першого типу (HSV-1). Зниження інфекційного титру вірусу на досліджуваних моделях складало від 2,6 до 4,8 lg [3]. Застосування цитрат-стабілізованих наночастинок CeO_2 в діапазоні концентрацій від 1,0 нМ до 0,1 мМ на моделі культури клітин перещеплюваних тестикул поросят

(ST) викликає зниження титру ВВС на 2,3-4,5 lg [4]. При розвитку вірусної інфекції відбувається індукція розвитку оксидативного стресу, тому важливим є проаналізувати антиоксидантну дію НДЦ. На моделі *in vitro* цитрат-стабілізовані наночастки CeO_2 здатні знижувати нітрозативний стрес в первинних спленоцитах та гепатоцитах, нормальній перещеплюваній культурі клітин Madin-Darby бичачої нирки (MDBK) у 5-8 разів та, навпаки, у 8-9 разів підвищувати продукцію нітрит-іону в культурі клітин щурячої інсуліноми RIN-m5F. Така вибіркковість дії може частково пояснити механізм протипухлинної дії НДЦ. На моделі стресу в міокарді при терапевтичному застосуванні наночастинок CeO_2 відбувається інгібування моноцитів та макрофагів, а також пригнічується продукція прозапальних цитокінів (ФНП- α , IL-1 β , IL-6, і MCP-1) [4]. На моделі пневмонії у щурів при терапії іммобілізованими на наночастки кремнезему наночастинок CeO_2 , спостерігається зменшення кількості пошкоджень легеневої тканини, зниження генерації активних форм кисню (АКМ) в крові та легеневій тканині, а також зменшення рівня експресії прозапальних цитокінів (ФНП- α та IL-6) [5]. Таким чином, втсановлена ефективна антиоксидантна дія НДЦ та зв'язок біологічної дії з впливом на цитокінову ланку імунітету. Для наночастинок діоксиду церію продемонстровані ефективні ад'ювантні властивості. Застосування препарату рекомбінантного інтерферону (рІФН α -2b), модифікованого нестабілізованими наночастиками CeO_2 , в порівнянні з немодифікованим рІФН α -2b викликає значну та пролонговану активацію системи інтерферону мишей: показано 8-кратне збільшення титру ІФН в сироватці крові після однократного введення препарату. Також, для наночастинок діоксиду церію показана здатність підвищувати активність рекомбінантного фактору некрозу пухлин-альфа (рФНП) в системі *in vitro* на 15-20%. На моделі протигрипозної вакцини Vaxigrip® показано, що модифікації її нестабілізованими наночастиками CeO_2 підвищує ефективність у 5 разів, ніж використання оригінальної (немодифікованої) вакцини та модифікованої цитрат-стабілізованими наночастиками CeO_2 , а також супроводжується тривалою (до 9 тижнів після вакцинації) активацію гуморальної ланки імунної відповіді.

Висновки. В роботі показано ефективне застосування наночастинок CeO_2 на різних моделях в якості антивірусного препарату та антиоксиданту. Наночастки діоксиду церію ефективно знижують титри вірусів герпесу та везикулярного стоматиту на 2,3-4,8 lg. Продемонстровано ефективність застосування наночастинок діоксиду церію в якості ад'юванту для рекомбінантних білкових препаратів. При однократному введенні препарату рІФН α -2b, модифікованого нестабілізованими наночастиками CeO_2 спостерігається значна (8-кратне збільшення титру ІФН в сироватці крові) та пролонгована (до двох тижнів) активація системи інтерферону мишей. Нанобіокомпозити на основі рФНП та рФНП-Т з наночастинками CeO_2 володіють на 15-20% вищою активністю. Нанобіокомпозит на основі вакцини Vaxigrip® та наночастинок CeO_2 володіє в 5 разів більшою імуногенністю та тривалою (до 9 тижнів після вакцинації) активацією гуморальної ланки імунної відповіді. НДЦ володіє яскравими біологічними властивостями, що відкриває перспективу застосування його для підвищення активності біотехнологічних препаратів.

Ключові слова: наночастки діоксиду церію, біотехнологія, нанобіотехнологія, ад'ювант, антивірусна дія

ЛІТЕРАТУРА

1. Roco, M. C. The long view of nanotechnology development: The National Nanotechnology Initiative at 10 years. *Journal of Nanoparticle Research*. 2011. Vol. 13, № 2. P. 427–445.
2. Virus Removal by Biogenic Cerium / Gussemе, B. et al. *Environmental Science & Technology*. 2010. Vol. 44. № 16. P 6350–6356.
3. Antiviral effectivity of ceria colloid solutions / Zholobak, N., et al. *Antiviral Research*. 2011. Vol 90. № 2. P. A67.
4. Шидловська О. А. Антивірусна дія наночастинок діоксиду церію та нанобіокомпозитів на його основі : дис. ... канд. біол. наук : 03.00.06 / Інститут мікробіології вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, 2018. 165 с.
5. Anti-inflammatory and antioxidant effect of cerium dioxide nanoparticles immobilized on the surface of silica nanoparticles in rat experimental pneumonia / Serebrovska, Z. et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. V. 92, P. 69–77.