

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина

## АНТИАДЕНОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИИ И ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ РИБАМИДИЛА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

*Ингибирующий эффект рибамидила на репродукцию аденовируса был исследован при определении числа клеток с вирус-индуцированными ДНК-содержащими внутриядерными включениями и антигеном гексона, выявлении синтеза аденовирусных белков и инфекционного вируса.  $EC_{50}$  субстанции рибамидила составляет 4–8 мкг/мл, но полное подавление экспрессии аденовирусного генома было выявлено при добавлении рибамидила после адсорбции вируса в концентрациях 500–125 мкг/мл. Оригинальное влияние рибамидила на экспрессию аденовирусного генома было обнаружено при воздействии его в концентрации 31 мкг/мл. При этих условиях формировались внутриядерные вирус-индуцированные включения только раннего типа. Синтез структурных вирусных полипептидов, включая полипептид гексона (II) и неструктурный полипептид 100К, участвующий в тримеризации гексона, происходил интенсивно, но без формирования иммунологически активного гексона. Ингибирующий эффект официальной формы рибамидила был менее выраженным в сравнении с субстанцией ( $EC_{50}$ : 62 мкг/мл). Результаты данной работы свидетельствуют, что терапевтический эффект рибамидила (рибавирина) при лечении аденовирусных инфекций может быть достигнут в случае использования его в дозе выключающей экспрессию аденовирусного генома.*

*Ключевые слова:* рибамидил, антиаденовирусная активность, внутриядерные вирусные включения, антиген гексона, аденовирусные полипептиды.

Аденовирусы представляют большое семейство ДНК-содержащих вирусов, выделенных от человека, животных и птиц [1]. Аденовирусы человека (51 серотип) вызывают различные за клиническими проявлениями и тяжестью течения респираторные, кишечные и глазные инфекционные заболевания. Они способны также сохраняться в организме человека длительное время в латентном состоянии. У взрослых заболевание протекает обычно легко, тяжелые формы заболевания отмечают у детей, особенно младшего возраста. У лиц с иммунодефицитным состоянием, особенно у реципиентов после пересадки внутренних органов, костного мозга и стволовых клеток, и у онкобольных может развиваться диссеминированная аденовирусная инфекция [12–14, 17, 18] часто со смертельным исходом, достигающим иногда 60 % [18].

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в последние годы в химиотерапии вирусных инфекций, лицензированный антиаденовирусный препарат пока отсутствует на мировом рынке [2, 10].

Рибавирин (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide) – препарат с широким спектром антивирусного действия, проявивший эффект *in vitro* и в отношении аденовирусов человека [16]. Активность его в отношении аденовирусов была показана в культуре клеток по подавлению цитопатогенного действия (ЦПД), оказываемого вирусом на структуру монослоя клеток, и проявляющегося в округлении клеток и группировании в гроздьях спустя несколько циклов репродукции. Используемые позже в скрининговых исследованиях метод бляшек и МТТ-метод (MTS-метод), основаны также на ЦПД вируса.

Благодаря простоте учета они позволяют выявить антивирусный эффект препарата, установить эффективную концентрацию ( $EC_{50}$ ), но не могут выявить полное блокирование репродукции вируса, которая может продолжаться в части клеток без проявления ЦПД. Таких недостатков лишены используемые нами для оценки антиаденовирусовой активности веществ количественные цито- и иммуноморфологические методы, позволяющие выявлять в монослое даже единичные инфицированные клетки по наличию в ядрах вирусных ДНК-содержащих включений и вирусного антигена, соответственно [3, 4].

Рибавирин разрешён для лечения детей с тяжелыми формами респираторно-синцитиальной вирусной инфекции и для применения в комбинации с  $\alpha$ -интерферо-

ном при гепатите С. Имеются как положительные, так и отрицательные результаты об использовании его в терапии диссеминированных аденовирусных инфекций, которые развивались у пациентов после трансплантации органов [5, 7, 9, 11, 12, 15]. Несмотря на проведенное лечение рибавирином, течение болезни в некоторых случаях заканчивалось летально.

Целью данной работы было:

изучить в культуре клеток специфичность антиаденовирусного действия субстанции рибамидила (аналога рибавирина), исследуя следующие показатели экспрессии аденовирусного генома в клетке: образование вирус-индуцированных внутриядерных ДНК-содержащих включений, синтез полипептидов структурных вирусных белков, образование иммунологически активного антигена мажорного белка капсида вириона – гексона и инфекционных вирионов;

изучить в культуре клеток антиаденовирусную активность лекарственной формы рибамидила.

**Материалы и методы. Вирус и клетки.** Использовали аденовирусы человека типа 1 и 2, которые культивировали в перевиваемых эпителиальных линиях клеток HeLa или Her-2. Инфекционный титр вируса определяли, как описано нами ранее [3, 4], по наличию в инфицированных клетках внутриядерных вирусных включений и выражали в включение образующих единицах в мл (ВОЕ/мл).

**Антивирусные вещества.** На антиаденовирусную активность исследовали субстанцию рибамидила (рибавирин, ресинтезированный в Институте органического синтеза Академии наук Латвии) и его лекарственную инъекционную форму. Препараты растворяли в среде Игла, стерилизовали фильтрацией, используя фильтры (Millipore) с размером пор 0,2 мкм, и хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$

**Определение цитотоксичности и антивирусной активности веществ.** Цитотоксичность рибамидила определяли по влиянию его на жизнеспособность неинфицированных клеток, используя колориметрический МТТ-метод [4], и исследуя методом люминесцентной микроскопии морфологию клеток флюорохромированных акридиновым оранжевым (0,01 %).

Для определения антивирусной активности рибамидила культуру клеток HeLa или Her-2 выращивали в пробирках с полосками покровных стёкол (для цитоморфологических исследований) или без них (для определения инфекционного титра и синтезируемых вирусных полипептидов). Через сутки роста клетки инфицировали аденовирусом, используя инфицирующую дозу 10 ВОЕ на клетку. Адсорбцию вируса проводили при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа, после чего клетки отмывали от неадсорбированного вируса раствором Хенкса и в пробирки вносили среду Игла, содержащую рибамидил в разных 2-кратных концентрациях, начиная с максимальной нетоксичной для клеток 500 мкг/мл. На каждую концентрацию вещества использовали 3 пробирки с инфицированными клетками. В качестве положительного контроля использовали инфицированные вирусом клетки не обработанные веществом. Через 48 ч клетки фиксировали этиловым спиртом ( $96^{\circ}$ ) и определяли антиаденовирусную активность рибамидила разработанным в нашей лаборатории цитоморфологическим методом, основанным на определении количества инфицированных клеток с внутриядерными вирусными ДНК-содержащими включениями. Включения выявляли методом люминесцентной микроскопии, просчитывая по 500 клеток в каждом из 3 стёкол с каждой концентрацией препарата. Ингибирование репродукции вируса веществом выражали в процентах по отношению к контролю. Определяли  $\text{EC}_{50}$  вещества – эффективную концентрацию, в которой исследуемое вещество уменьшало количество инфицированных клеток на 50 % [4]. В пробирках без стёкол после 3-кратного замораживания-оттаивания клеток определяли инфекционный титр вируса [3, 4].

**Иммунофлюоресцентный анализ.** Был использован непрямой метод флюоресцирующих антител (МФА). Через 48 ч после инфицирования клетки промывали раствором Хенкса, полоски покровных стёкол извлекали из пробирок, подсушивали на воздухе и фиксировали ацетоном при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 10 минут. В качестве

первичных антител использовали полученную нами кроличью антисыворотку к мажорному капсидному белку — гексону. Вторичными антителами были ФИТЦ-меченые козы антикроличьи Ig (JCN Biochemical Inc, Auogo). Клетки инкубировали с антителами по 45 мин при температуре 37°C. Для отмывки использовали забуференный физиологический раствор. Определяли процент клеток с флюоресценцией антигена в ядре в контроле (инфицированные клетки не обработанные препаратом) и при воздействии рибамидила в разных концентрациях. Ингибирующий эффект препарата относительно контроля выражали в процентах.

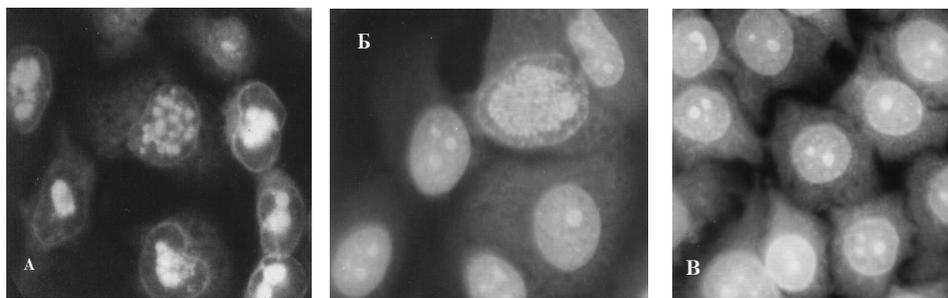
*Анализ синтеза вирусспецифических полипептидов.* Клетки выращивали на дне флаконов для сцинтилляционного счета, инфицировали аденовирусом, как описано выше, и обрабатывали рибамидилом, используя на каждую концентрацию препарата 3 флакона. Через 48 ч после инфицирования клетки промывали раствором Хенкса и в каждый флакон вносили <sup>14</sup>C-гидролизат белка (15μCi/мл) в среде, состоящей из 1 части среды 199, 9 частей раствора Хенкса и содержащей рибамидил в соответствующих концентрациях. Контрольные (не инфицированные и инфицированные) клетки инкубировали в той же среде, но без рибамидила. Инкубацию проводили в течение 1 ч при температуре 37 °С. Монослой клеток промывали несколько раз холодным раствором Хенкса, затем клетки снимали механически стеклянной палочкой и осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Клеточный осадок лизировали в 100 мкл буфера, содержащего 5 % додецилсульфата натрия, 10 % 2-меркаптоэтанола, 6 М мочевины. Образцы прогревали в течение 3 мин при температуре 100 °С и анализировали методом электрофореза в пластине полиакриламидного геля в присутствии додецилсульфата натрия, используя 6 % фокусирующий и 12 % разделяющий гели. После завершения электрофореза гелевую пластинку высушивали и подвергали автордиографии.

**Результаты и их обсуждение.** В концентрации 500 мкг/мл рибамидил не нарушал структуру монослоя не инфицированной культуры клеток, не оказывал цитодеструктивного действия и не вызывал морфологических изменений клеток. В этой же концентрации он не проявил цитотоксичности и при использовании колориметрического МТТ-метода.  $CC_{50}$  рибамидила была выше 500 мкг/мл.

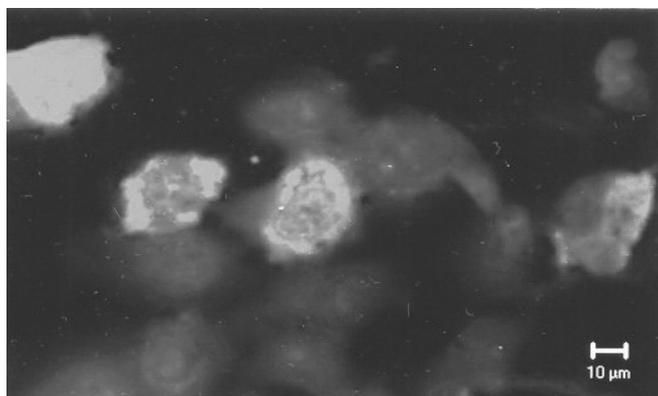
Влияние рибамидила на репродукцию аденовируса оценивали спустя 48 ч после инфицирования клеток и инкубирования их в среде в присутствии препарата, что практически соответствует завершению первого цикла репродукции вируса. Для большей выраженности антивирусного эффекта использовали такую инфицирующую дозу вируса, чтобы к этому времени на завершающей стадии первого цикла репликации вируса находилось 60–80 % клеток монослоя. Морфологически это проявляется в наличии в таких клетках характерных вирусных внутриядерных ДНК-содержащих включений позднего типа [1,3].

Антиаденовирусный эффект рибамидила учитывали по уменьшению количества клеток, содержащих внутриядерные ДНК-содержащие включения (рис. 1) и антиген (рис. 2) мажорного структурного белка капсида — гексона, относительно контроля.

Полученные результаты, представленные в таблице 1, свидетельствуют о дозозависимой ингибирующей активности субстанции рибамидила относительно репродукции аденовируса при использовании двух независимых методов исследования. Снижение количества клеток с внутриядерными включениями в зависимости от дозы рибамидила сравнимо с ингибированием синтеза антигена гексона. В наивысших используемых нами концентрациях рибамидила (500–125 мкг/мл) ингибирующий эффект достигал максимальных значений и составлял 100–99 % . В присутствии рибамидила 62 мкг/мл в небольшом числе клеток выявляли формирование вирусных ДНК-содержащих внутриядерных включений раннего типа, описанных детально ранее [3], и наличие в ядре антигена гексона. В небольшом числе клеток включения позднего типа начинают появляться при воздействии рибамидила в концентрации 31 мкг/мл, тем не менее, преобладают включения, характерные для раннего этапа репродукции вируса (рис. 1Б). С уменьшением концентрации вещества (16–4 мкг/мл) увеличивается количество клеток с ДНК-содержащими внутриядерными включениями и антигеном гексона в ядре, однако количество таких клеток было значительно ниже, чем в контроле (в инфицированных не обработанных рибамидилом клетках). В соответствии с международным протоколом



**Рис. 1.** Внутрядерные ДНК-содержащие включения в инфицированных аденовирусом клетках HeLa. Люминесцентная микроскопия клеток, флюорохромированных 0,01 %-ным раствором акридинового оранжевого (объектив 40х): А – инфицированные аденовирусом клетки (48 ч после заражения), в клетках видны индуцированные аденовирусом внутрядерные ДНК-содержащие включения; Б – инфицированные аденовирусом клетки, обработанные после заражения рибавиридом 31 мкг/мл (48 ч после заражения). В одном из ядер содержится индуцированное вирусом мелкозернистое включение раннего типа; между включением и ядерной мембраной узкая темная зона.  
Б – не инфицированные клетки



**Рис. 2.** Выявление антигена гексона в инфицированных аденовирусом клетках непрямым методом флюоресцирующих антител через 48 ч после заражения (объектив 40х)

EC<sub>50</sub> рибавирида, т.е. эффективная концентрация вещества снижающая количество инфицированных клеток на 50 %, становила 8 мкг/мл для аденовируса серотипа 1 и 4 мкг/мл для аденовируса серотипа 2 (табл. 1, 2).

**Таблица 1**

**Влияние субстанции рибавирида на количество инфицированных аденовирусом типа 1 клеток HeLa, выявляемых двумя методами**

Концентрация вещества, мкг/мл	Количество клеток с вирусными ДНК-содержащими внутрядерными включениями, %				Выявление антигена гексона (МФА)	
	С ранним типом	С поздним типом	Общий процент клеток с включениями	Ингибирование, %	Процент клеток, содержащих антиген	Ингибирование, %
500	0	0	0	100	0	100
250	0	0	0	100	0	100
125	1	0	1	99	0	100
62	3	0	3	95	8	90
31	16	5	21	68	13	84
16	19	10	29	56	24	70
8	20	13	33	51	35	57
4	18	17	35	47	69	23
0 (контроль)	27	38	65		81	

Сравнение влияния субстанции и инъекционной формы рибамидила на репродукцию аденовируса типа 2 в культуре клеток Нер-2

Концентрация вещества, мкг/мл	Субстанция рибамидила			Инъекционная форма рибамидила		
	Количество клеток с включениями, %	Ингибирование, %	Титр вируса, ВОЕ/мл	Количество клеток с включениями, %	Ингибирование, %	Титр вируса, ВОЕ/мл
125	0	100	н.о.	0	100	н.о.
62	0	100	н.о.	44 (только ранние)	51	$5,3 \times 10^6$
31	15	83	$1.0 \times 10^5$	59	39	$3,3 \times 10^7$
16	21	76	н.и.	63	28	н.и.
8	26	71	$2.0 \times 10^6$	80	9	н.и.
4	41	53	н.и.	89	0	н.и.
0 (контроль)	87		$1.0 \times 10^8$	87		$1.0 \times 10^8$

Примечание: н.о. — не обнаружен, н.и. — не исследован.

На наш взгляд представляют интерес данные о пассировании в культуре гомогената клеток параллельных образцов с неполным исключением функционирования аденовирусного генома, когда при воздействии рибамидила вирусные включения выявляли в небольшом числе клеток. Так, если при воздействии рибамидила в концентрациях 62 мкг/мл и 31 мкг/мл вирусные включения были выявлены в 3 % и 21 % клеток (соответственно) и преимущественно раннего типа, то уже в первом пассаже включения как раннего, так и поздних типов были выявлены в значительно большем числе клеток, соответственно в 30 % и 80 % клеток монослоя.

Электрофоретический анализ меченых белков, синтезируемых через 48 ч в инфицированных аденовирусом клетках в присутствии разных концентраций рибамидила, представлен на рис. 3. В высоких концентрациях (500, 125 мкг/мл) рибамидил полностью подавлял синтез вирус-индуцированных и вирусных структурных полипептидов. В присутствии рибамидила в концентрации 31 мкг/мл в инфицированных клетках отмечен интенсивный синтез всех вирусных полипептидов, как и в инфицированных клетках не обработанных препаратом, хотя синтез структурного полипептида IIIa был несколько ослаблен.

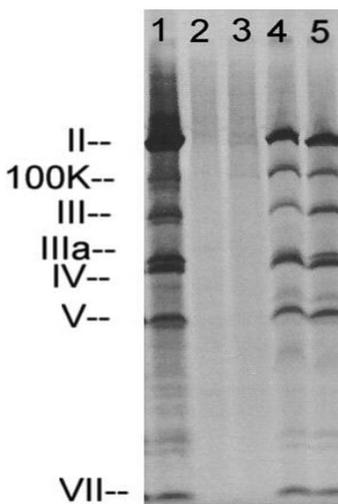


Рис. 3. Синтез аденовирусных белков в инфицированных аденовирусом клетках обработанных рибамидилом в разных концентрациях. Электрофорез экстрактов инфицированных аденовирусом клеток в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия. Через 48 ч после заражения клетки инкубировали 1ч с  $^{14}\text{C}$ -гидролизатом белка. Авторадиограмма. Треки: 1— инфицированные клетки (контроль), 2—5 — инфицированные клетки, обработанные рибамидилом в разных концентрациях: 500(2), 125(3), 31(4) и 1(5) мкг/мл;

II, III, IIIa, IV, V, VII — структурные аденовирусные полипептиды, 100К — неструктурный вирусный полипептид.

Лекарственная инъекционная форма рибамидила также оказывает ингибирующий эффект на репродукцию аденовируса в культуре клеток (табл. 2), что выражалось в снижении количества инфицированных клеток и инфекционного титра вируса. Однако эффект, сравнимый с действием субстанции, мог быть достигнут при воздействии лекарственной формы в более высокой концентрации.  $\text{EC}_{50}$  исполь-

зуемой нами лекарственной формы рибамидила становила 62 мкг/мл, т.е. превышала  $EC_{50}$  субстанции в 8–16 раз.

Таким образом, проведенные нами исследования с использованием нескольких вирус-специфических тестов позволили выявить некоторые ранее неизвестные стороны антиаденовирусного действия рибавирина. В одноцикловом эксперименте показан ингибирующий эффект рибамидила при использовании высокой инфицирующей дозы вируса (10 ВОЕ/клетку), степень выраженности эффекта зависела от концентрации препарата.

Полное ингибирование экспрессии генома аденовируса происходит в присутствии 500–125 мкг/мл рибамидила, что выражалось в отсутствии в клетках вирусных внутриядерных ДНК-содержащих включений и антигена гексона, в отсутствии синтеза вирусных полипептидов и инфекционных вирионов. С уменьшением концентрации препарата появляются инфицированные клетки, содержащие вирусные включения и антиген капсидного белка, но количество их было уменьшено по сравнению с контролем.

Представляют интерес результаты сопоставления данных, полученных разными методами, при воздействии рибамидила 31 мкг/мл. Как мы уже отмечали, спектр структурных вирусных белков, синтезируемых в присутствии данной концентрации вещества, такой же, как и при продуктивной инфекции при отсутствии в среде вещества, но в отличие от контрольных инфицированных клеток в ядрах формируются преимущественно включения, характерные для ранней стадии репродукции аденовируса [1, 3]. Кроме того, несмотря на интенсивный синтез полипептида структурного белка гексона (полипептид П), выявляемого в виде мономера, и синтез вирусиндуцированного полипептида 100К, играющего важную роль в формировании тримеров (капсомеров) гексона, МФА отмечено снижение образования иммунологически активного гексона, способного реагировать с антителами, полученными к тримерам гексона аденовируса. Свечение комплекса антиген-антитело было выявлено в ядрах 13 % клеток против 81 % клеток контроля (в инфицированных клетках не обработанных рибамидилом). Выявленные нами особенности в антиаденовирусном действии рибамидила согласуются с ранее описанным нарушением тримеризации гексона у ts-мутантов аденовируса типа 5 [8], несмотря на наличие синтеза полипептида гексона и полипептида 100 К. Очевидно, в антиаденовирусном действии рибамидила важно влияние его на образования функционально полноценных вирусных белков.

Следует отметить, что установленная нами минимальная эффективная концентрация ( $EC_{50}$ ) рибамидила, как и определенная другими исследователями в многоцикловом опыте [6, 16] для рибавирина, в несколько раз ниже концентрации в которой препарат, по нашим данным, способен полностью блокировать репродукцию аденовируса. Полагаем, что выявленные неудачи лечения рибавирином диссеминированных аденовирусных инфекций [7, 9, 12] связаны не только с поздно начатым лечением, по мнению авторов, но и с использованием препарата в недостаточной дозе, при которой он снижает, но полностью не блокирует репродукцию вируса. Полагаем, если после применения рибавирина (рибамидила) в организме пациента с иммуносупрессией остаются даже единичные инфицированные клетки, то после отмены препарата и вследствие недостаточного синтеза у таких больных типоспецифических вируснейтрализующих антител может наступить рецидив заболевания. В пользу такого предположения свидетельствуют наши данные по пассированию гомогената клеток, обработанных рибамидилом в концентрации полностью не блокирующей репродукцию аденовируса. Так, если в присутствии рибамидила 62 мкг/мл вирусные включения были выявлены в 3 % клеток монослоя, то в первом пассаже гомогената клеток параллельных образцов вирусные включения были выявлены после первого цикла репродукции в 30 % клеток. Поэтому определение эффективной терапевтической дозы препарата имеет большое значение в химиотерапии аденовирусных инфекций. Лечебный эффект применения рибавирина при диссеминированной аденовирусной инфекции может зависеть и от активности применяемой лекарственной формы препарата. Нельзя также исключить вероятность инфицирования таких больных в конце лечения рибавирином аденовирусом другого серотипа, учитывая иммунодепрессивное состояние больных и типоспецифичность вируснейтрализующих антиаденовирусных антител.

## **АНТИАДЕНОВІРУСНА АКТИВНІСТЬ СУБСТАНЦІЇ І ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ РИБАМІДИЛУ В КУЛЬТУРІ КЛІТИН**

### **Резюме**

Інгібуєчий ефект рибамідилу на реплікацію аденовірусу було досліджено при визначенні кількості клітин із вірус-індукованими ДНК-вмісними внутрішньоядерними включеннями і антигеном гексону, синтезу аденовірусних білків та інфекційного вірусу.  $EC_{50}$  субстанції рибамідилу становила 4–8 мкг/мл, але повне блокування експресії аденовірусного геному було виявлено при використанні рибамідилу в концентраціях 125–500 мкг/мл. Оригінальний вплив рибамідилу на експресію аденовірусного геному було виявлено при застосуванні його в концентрації 31 мкг/мл. За цих умов формувались внутрішньоядерні вірус-індуковані включення тільки раннього типу. Синтез структурних вірусних поліпептидів, включаючи поліпептид гексону (II) та неструктурний поліпептид 100K, який бере участь в утворенні тримерів гексону, проходив інтенсивно, але без формування імунологічно активного гексону. Інгібуєчий ефект офіціальної форми був менше виражений порівняно з субстанцією ( $EC_{50}$ : 62 мкг/мл).

Результати даної роботи свідчать, що терапевтичний ефект рибамідилу (рибавіріну) при лікуванні аденовірусних інфекцій може бути досягнутим в разі використання його в дозі, при якій він блокує експресію аденовірусного геному.

**Ключові слова:** рибамідил, антиаденовірусна активність, внутрішньоядерні вірусні включення, антиген гексону, аденовірусні поліпептиди.

*L.N. Nosach, N.S. Dyachenko, V.L. Zhovnovata*

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

## **ANTIADENOVIRUS ACTIVITY OF A SUBSTANCE AND MEDICAL FORM OF RIBAMYDIL IN THE CELL CULTURE**

### **Summary**

The inhibiting effect of ribamydil on adenovirus reproduction was studied under the determination of the number of cells with virus-induced DNA-containing intranuclear inclusion bodies and hexone antigen, the synthesis of adenovirus proteins and the infection virus by the investigation.  $EC_{50}$  of ribamydil substance is 4–8  $\mu\text{g/ml}$ , but complete suppression of adenovirus genome expression was found when adding ribamydil after the virus adsorption, in concentrations of 125–500  $\mu\text{g/ml}$ . The original effect of ribamydil on the expression of adenovirus genome was found under its effect in concentration of 31  $\mu\text{g/ml}$ . Intranuclear virus-induced inclusion bodies of the early type only were found under these conditions. Synthesis of the structural virus polypeptides, including hexone polypeptide (II) and non-structural polypeptide 100K, taking part in hexone trimerization, proceed intensively but without formation of immunologically active hexone. The inhibiting effect of officinal form of ribamydil was less expressed as compared with the substance ( $EC_{50}$ : 62  $\mu\text{g/ml}$ ).

The work results prove that the therapeutic effect of ribamydil (ribavirin) under treatment of adenovirus infections may be achieved in case when it is used in a dose excluding the expression of the adenovirus genome.

The paper is presented in Ukrainian.

**Key words:** ribamydil, antiadenovirus activity, intranuclear inclusion bodies, hexone antigen, adenoviral polypeptides.

**The author's address:** *L.N. Nosach, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine*

1. *Аденовірус*, клетка, організм / Дяченко Н.С., Нас І., Беренчи Д., Носач Л.Н., Ванцак Н.П., Тарасишин Л.А, Адам Е. — Киев: Наук. думка, 1988. — 232с.
2. *Носач Л.М.* Сучасний стан антивірусної хіміотерапії // Вісн. фармакології та фармацевції. — 2004. — №2. — С. 6–9.
3. *Носач Л.Н., Дяченко Н.С.* Цитопатологія аденовірусної інфекції. — Киев: Наук. думка, 1982. — 124 с.
4. *Носач Л.М., Повниця О.Ю.* Доклінічні дослідження антивірусної дії лікарських засобів у культурі клітин на моделі аденовірусу. Методичні рекомендації // Вісн. фармакології та фармацевції. — 2007. — №9. — С. 52–64.

5. Arav-Boger R., Echavarrá M., Forman M., Charache P., Persaud D. Clearance of adenoviral hepatitis with ribavirin therapy in a pediatric liver transplant recipient// *Antiviral Res.* — 2001. — **52**. — P. 281–288.
6. Baba M., Mori S., Shigeta S., De Clercq E. Selective inhibitory effect of (S) – 9 – (3 – hydroxy – 2 – phosphonylmethoxypropyl) adenine and 2' – nor – cyclic GMP on adenoviruses replication in vitro // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1987 – **31** – p. 337–339
7. Bordignon P., Carret A.S., Venard V., Witz F., Faou A.L. Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation// *Clin. Infect. Dis.* — 2001. — **32**. — P. 1290–1297.
8. Cepko C.L., Sharp P.A. Analysis of Ad5 hexon and 100K ts-mutants using conformation-specific monoclonal antibodies//*Virology.* —1983. — **129**. — P. 137–154.
9. Gavin P.J., Katz B.Z. Intravenous ribavirin treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children//*Pediatrics.* — 2002. — **110**. — P. 1–8.
10. Kinchington P.R., Romanovski E.G., Gordon J.I. Prospect for adenovirus antivirals//*J. Antimicrob. Chemother.* — 2005. — **55**. — P. 424–429.
11. Lankester A.C., Heemskerk B., Claas E.C.J., Schilham M.W., Bliersma M.F.C., Bredins R.G.M., van Tol M.J.D., Kroes A.C.M. Effect of ribavirin on the plasma viral DNA load in patients with disseminating adenovirus infection//*Clin. Infect. Dis.* — 2004. — **38**. — P.1521–1525.
12. La Rosa A.M., Champlin R., Mirza N., Gajewski J., Giral S., Rorlston K.V., Raad I., Jacobson K., Kontoyannis D., Elting L., Whimbey E. Adenovirus infections in adult recipients of blood and marrow transplants//*Clin. Infect. Dis.* — 2001. — **32**. — P. 871–876.
13. Leen A.M., Rooney C.M. Adenovirus as an emerging pathogen in immunocompromised patients// *Br. J. Haematol.* — 2005. — **128**. — P. 135–144.
14. Runde V., Ross S., Trensche R., Lagemann E., Basu O., Renzing – Köhler K., Schaefer U.W., Roggendorf M., Holler E. Adenoviral infection after allogeneic stem cell transplantation (SCT) report on 130 patients from a single SCT unit involved in a prospective multi centre surveillance study // *Bone Marrow Transplantation.* — 2001. — **28** – P. 51 – 57.
15. Scheleuning M., Buxbaum-Conradi H., Jager G., Kolb H.J. Intravenous ribavirin for eradication of respiratory syncytial virus (RSV) and adenovirus isolated from the respiratory and/or gastrointestinal tract in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants//*Hematol. J.* — 2004. — **5**. — P. 135–144.
16. Sidwell R.W. In vitro and in vivo inhibition of DNA viruses by ribavirin// *Clinical applications of ribavirin /* Ed. by R.A. Smith, V. Knight, J.A.D. Smith. Academic Press, New York – London, 1984. — P. 19 – 32.
17. Wang W.H., Wang H.L. Fulminant adenovirus hepatitis following bone marrow transplantation. A case report and brief review of the literature//*Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2003. — **127**. — P. 246–248.
18. Walls T., Shankar A.G., Shingadia D. Adenovirus: an increasingly important pathogen in pediatric bone marrow transplant patients//*Lancet.Infect. Dis.* — 2003. — **3**. — P. 79–86.

Отримано 20.05.2008