

Streszczenie

Wirusy opryszczki typu 1 i 2 należą do najbardziej rozpowszechnionych patogenów zakażających człowieka, szacuje się, że zainfekowanych nimi jest nawet do 90% populacji. Objawy zakażenia, choć nieprzyjemne, są zwykle niegroźne i ograniczają się do pęcherzy i owrzodzeń występujących w obrębie jamy ustnej lub narządów płciowych, jednak u dzieci, osób starszych, czy osób z obniżoną odpornością wirusy te mogą powodować znacznie poważniejsze schorzenia, takie jak wirusowe zapalenie rogówki, mogące prowadzić do znacznego pogorszenia widzenia lub nawet ślepoty, czy wirusowe zapalenie mózgu, skutkujące często nieodwracalnymi zmianami neurologicznymi lub śmiercią. Cechą charakterystyczną herpeswirusów jest zdolność do latencji, czyli trwania w organizmie gospodarza w stanie utajonym. Infekcja latentna jest nieuleczalna i trwa do końca życia, a okresowo może ulegać reaktywacji samoistnej lub indukowanej przez czynniki stresowe, takie jak gorączka, światło słoneczne czy menstruacja.

Leki obecnie zatwierdzone do terapii zakażeń herpeswirusowych to głównie analogi nukleozydów. Mechanizm ich działania opiera się na hamowaniu aktywności wirusowej polimerazy DNA, co skutkuje zatrzymaniem replikacji wirusa. Działanie takie pozwala złagodzić objawy chorobowe oraz zmniejszyć ryzyko transmisji wirusa, nie umożliwia jednak zapobiegania zakażeniu, ani usunięcia infekcji z organizmu. Coraz częściej obserwuje się także pojawianie się szczepów HSV-1 i HSV-2 opornych na aktualnie stosowane leki. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania nowych substancji o działaniu przeciwwirusowym o innym mechanizmie działania, które mogły posłużyć do zwalczania zakażeń opornych na leczenie lub jako uzupełnienie i wzmocnienie efektów konwencjonalnej terapii.

Celem niniejszej pracy było poszukiwanie nowych polielektrolitów, potencjalnych inhibitorów infekcji wirusami opryszczki. Znany jest mechanizm hamowania zakażenia wirusowego przez makrocząsteczki polimerów, obdarzonych ładunkiem dodatnim lub ujemnym. Makrocząsteczki polikationów wiążą się z występującymi na powierzchni komórki cząsteczkami stanowiącymi receptory adhezji i wejścia dla wirusów, w ten sposób uniemożliwiając przyłączenie się wirusa do błony komórkowej. Makrocząsteczki polianionów natomiast oddziałują bezpośrednio z wirusowymi glikoproteinami odpowiedzialnymi za interakcję z komórką, blokując je i tym samym dezaktywując cząstki wirusowe.

W ramach pracy doktorskiej określono potencjalną toksyczność, zdolność hamowania infekcji HSV-1 i HSV-2 w modelu komórkowym, mechanizm aktywności przeciwwirusowej, a także wpływ struktury makrocząsteczek na aktywność biologiczną wybranych polimerów. Związki o najsilniejszej aktywności przeciwwirusowej przetestowano również w zwierzęcym modelu infekcji herpeswirusowej. Wyselekcjonowano w ten sposób związki o wybitnej zdolności do hamowania infekcji, wykazujące bardzo niską toksyczność zarówno w modelu *in vitro* jak i *in vivo*. Ze względu na mechanizm aktywności odmienny od tego charakteryzującego stosowane obecnie leki, związki te mogą być traktowane jako obiecujący kandydaci do zastosowania w terapii zakażeń wirusami opryszczki.



Kierownik Studiów Doktoranckich z Biochemii,
Biofizyki, Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ



Prof. dr hab. Jerzy Kruk



Abstract

Herpes simplex viruses type 1 and 2 are among the most widespread pathogens in the human population; it is estimated that up to 90% of people are infected with one or both of them. The symptoms of infection, although unpleasant, are usually mild and limited to watery blisters and ulcers appearing in the area of lips and oral mucosa (“cold sore”) or genitals. However, in children, the elderly, and immunocompromised individuals, these viruses can cause much more severe diseases, like stromal keratitis, which may lead to severe vision impairment or even blindness, or viral encephalitis, which often causes permanent neurological damage, and if left untreated is almost certainly fatal. A hallmark of the *Herpesviridae* family is the ability to enter latency, a dormant state in which the virus is inactive and does not replicate but is not cleared from the organism. The latent infection is lifelong and incurable and is readily reactivated either spontaneously or by stress stimuli, such as fever, sunlight, or menstruation.

Drugs currently approved for the treatment of herpes simplex infections are mainly nucleoside analogs. Their mechanism of action relies on inhibiting viral DNA polymerase, which results in suppressing the viral replication. Such a mode of action may soothe infection symptoms and reduce the risk of virus transmission but does not prevent the infection or clear the latent virus. The emergence of HSV-1 and HSV-2 strains resistant to commonly used antivirals is also becoming a problem. The need to develop novel virus inhibitors, engaging different molecular targets seems more and more urgent. Such compounds could supplement conventional therapy or treat herpes virus infections resistant to nucleoside analogs.

This work aimed to develop novel polyelectrolytes able to hamper HSV-1 and HSV-2 infection. Compounds carrying positive or negative charges are known to inhibit viral infection by a mechanism dependent on their characteristics – polycations bind to moieties present on the cell surface, which serve as attachment or entry receptors of viruses, thus protecting the cell from infection, while polyanions act directly on the virus particles, binding their surface glycoproteins essential for interaction with the host cell, consequently blocking their activity and inactivating the virus.

In the course of the project, a large library of positively and negatively charged polymers was screened. Initially, the compounds were tested for cytotoxicity and ability to inhibit HSV-1 and HSV-2 in an *in vitro* infection model. Subsequently, their mechanism of antiviral activity and the influence of compound structure on their biological properties were investigated. Most potent inhibitors were then assessed in an animal HSV-1 infection model. Selected polymers

exhibit exceptional antiviral potency as well as very low cytotoxicity both *in vitro* and *in vivo*. Considering that these compounds' mode of action is different from currently approved anti-HSV drugs, they make promising drug candidates for future use in therapy of herpes simplex infections.



Kierownik Studiów Doktoranckich z Biochemii,
Biofizyki, Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ



Prof. dr hab. Jerzy Kruk

