

Винахід належить до вірусології та мікробіології, а точніше - до бактерійного сіалоспецифічного лектину, який може бути застосований в якості засобу проти враження людей вірусом імунодефіциту (ВІЛ) та посилення імунного захисту.

Відомий препарат азидотимідин (АЗТ) використовується для лікування людей, інфікованих вірусом імунодефіциту [1], однак АЗТ має виражену імунодепресивну дію, а тому посилює імунодефіцитний стан, викликаний ВІЛ-інфекцією.

Описано рослинні маннозоспецифічні лектини (РМЛ) [2], що блокують тільки ранні стадії розвитку гострої ВІЛ-інфекції. Але вони не забезпечують ефективного гальмування репродукції ВІЛ, досить токсичні, не мають імуностимулюючих властивостей і це обмежує їх використання.

В основу винаходу поставлено завдання одержати малотоксичний препарат з високим інгібіторним впливом на репродукцію вірусу імунодефіциту людини та з імуностимулюючими властивостями і підвищити таким чином противірусну ефективність препарату.

Поставлене завдання вирішено шляхом використання сіалоспецифічного лектину із бактерій *Bacillus subtilis* 668 IMB (лектин 668) як інгібітора репродукції ВІЛ.

Приклад 1. Визначення інгібіторної активності сіалоспецифічного лектину бактерійного походження на репродукцію ВІЛ.

Сіалоспецифічний лектин одержують з культури сапрофітної бактерії *Bacillus subtilis* 668 IMB; препарат отримують відомим методом екстрагування сульфатом амонію при 70% насичення [3].

Інгібіторну дію на репродукцію ВІЛ визначають *in vitro* в культурі MT-4 з ВІЛ-1, продукованим культурою MT-4/ВІІІ, визначаючи потім кількість синтезованого вірусного антигену р24 у тест-системі фірми Abbott.

Інтактні клітини MT-4 обробляють бактерійним лектином у концентрації 5мкг/мл і через 15хв заражають їх ВІЛ-1. Після інкубації протягом 5 діб при 37°C в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> визначають рівень експресії р24 та інфекційний титр вірусу.

Результати дослідження інгібіторної активності лектину 668 і деяких відомих препаратів на репродукцію ВІЛ подано в таблиці 1.

Таблиця 1

Інгібіторна дія сіалоспецифічного лектину 668 і деяких відомих препаратів на репродукцію ВІЛ

Назва препарату	Доза, мкг/мл	Експресія білка ВІЛ р24	Інфекційний титр, lg ID <sub>50</sub>	Титр інгібіції, lg
Лектин 668	5	<10	<1,0	5,5
РМЛ	1	<10	<1,0	5,5
АЗТ	10	200	1,0	4,5
Контроль	-	400	5,5	-

З наведених даних видно, що запропонований препарат інгібує репродукцію ВІЛ на рівні лектину рослинного походження і в 1,5 рази активніше за АЗТ.

Приклад 2. Визначення імуномодулюючої дії лектину 668.

Для визначення проводять дослідження впливу бактерійного лектину на різні етапи імунної відповіді.

Дію препарату на міграцію стоволових клітин вивчають за відомою методикою [4] на мишах ліній СВА і С57В1/6F, оцінюючи активність дії за кількістю колоній в селезінці, утворених зі стоволових клітин, що мігрують з кісткового мозку. Результати визначення наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Дія лектину 668 на міграцію стоволових клітин

Назва препарату	Кількість мігруючих стоволових клітин	p	% змін по відношенню до контролю
Лектин 668	35,0±0,15	<0,05	+44,6
Контроль	24,2±1,9	<0,05	-

Отримані дані свідчать про значну імуностимулюючу активність лектину 668. На це вказують також дослідження лімфотоксичності і мітостатичності дії препарату. Використовують модель, де відтворено два одночасних процеси [5]: розмноження кровотворних стоволових клітин і аллотрансплантаційну реакцію лімфоцитів проти них у опромінених мишей. Результати вираховують за кількістю ендогенних колоній в селезінці мишей. Результати досліджень подано в таблиці 3.

Таблиця 3

Мітостатична та лімфотоксична дія лектину 668

Препарат	Середня	Інгібіція	Середня	Лімфотоксична
----------	---------	-----------	---------	---------------

	кількість КУО на селезінку сублетально опромінених мишей після введення препарату	КУО, %	кількість КУО після введення лімфоцитів і препарату	активність, виживання КУО, %
Лектин 668	29,6±0,08	+59,1	0	0
РМЛ	18,6±0,11	-	-	-

Примітка: КУО- колоніє-утворююча одиниця.

Наведені дані свідчать про значну імуностимулюючу дію лектину і відсутність лімфотоксичності. Ці його властивості підтверджено при вивченні впливу препарату лектину 668 на Т- і В-лімфоцити, на їх міграцію та дію на В-лімфоцити селезінки.

Приклад 3. Визначення токсичності лектину 668.

Для визначення токсичності бактерійного лектину проводять дослідження на білих нелінійних мишах та пацюках за методом визначення LD<sub>50</sub> [6]. Результати досліджень подано в таблиці 4.

Таблиця 4

Токсичність лектину 668 при різних шляхах  
введення

Шлях введення лектину 668	Середня доза LD <sub>50</sub> , мк/кг	
	миші	пацюки
внутрішньом'язевий	68 (46-101)	не визначали
підшкірний	71 (59-84)	не визначали
внутрішньочеревний	89 (75-106)	71 (62-80)
внутрішньовенний	37(26-54)	52 (45-59)

Отримані дані свідчать про низьку токсичність запропонованого препарату.

Список використаної літератури

1. Mitsuya H., Weinhold K.J., St.Clair M.H et al. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III lymphadenopathy-associated virus in vitro //Proc.Natl.Acad. USA. - 1985. - 82. -P. 7096-7100.

2. Favero J., Corbeau P., Nicolas M. et al. The lectin jacalin interacts with CD4 cell surface antigen and prevents HIV infection of limphoid cells//13 th Int. Lectin Meeting. INTERLEC 13. Aug. 11-17, 1991, Berlin. Abstracts. Part 1. - 1991.-P.8.

3. Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Симоненко И.А. Лектины бактерий. - К.: "Наукова думка", 1992. - 203 с.

4. Хаитов Р.М. Рециркуляция стволовых и лимфоидных клеток в организме; значение для иммуногенеза //Общие вопросы патологии. - М.: "Медицина". -1971. - 3. - С.217-254.

5. Петров Р.В., Мальков В.М., Хаитов Р.М., Сеславина Л.С. Экспериментальная модель одновременного определения митостатического и лимфотоксического действия цитостатиков и иммунодепрессантов // Цитология. -1972. -14, № 1. - С.121-127.

6. Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс -метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // Фармакология и токсикология. -1978. - 41, № 4. -С.497-502.