

Studies on antiviral effect of fermented wheat germ extract (Avemar) in feline AIDS model

K. R. Tarcsai^{1*}
I. Kapran¹
M. Hidvégi²
B. Stercz^{1,3}
K. Nagy¹
J. Ongrádi^{1,3}

1. Semmelweis Egyetem Orvosi
Mikrobiológiai Intézet,
H-1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.

*e-mail: tarcsai.katalin-reka@
med.semmelweis-univ.hu

2. Országos Rabbiképző-Zsidó Egyetem,
Budapest

3. Semmelweis Egyetem
Közegészségtani Intézet,
Budapest

Fermentált búzacsíra-kivonat (Avemar) antivirális hatásának vizsgálata macska AIDS modellben

Tarcsai Katalin Réka^{1*}, Kapran Igor¹, Hidvégi Máté², Stercz Balázs^{1,3}, Nagy Károly¹, Ongrádi József^{1,3}

ÖSSZEFOGLALÁS

Az AIDS kórfejlődésének vizsgálatára alkalmas modellállat a macska. Az ember és a macska immundeficienciáját okozó vírusok (HIV és FIV) hasonlóak, egyéb vírusaik, mint a macska-adenovírus, elősegítik a betegség progresszióját, együttes kezelésük nehéz. A szerzők vizsgálataiban a fermentált búzacsíra-alapú Avemar granulátum daganatellenes készítmény gátolta az akut és krónikus fertőzési modellekben a FIV szaporodását, apoptózis révén pusztította a FIV-termelő sejteket. Az Avemar a macska-adenovírus replikációját normál sejtekben igen, daganatos sejtekben minimálisan gátolta. A daganatos sejtekben és a vírus-szaporodásban egyaránt szerepet játszó ribonukleotid reductáz gátlása lehet a közös pont a gátlási folyamatokban.

SUMMARY

Background: To study the disease following human immunodeficiency virus (HIV) infection, the feline AIDS model is suitable. Human and feline immunodeficiency viruses (FIV) show a high degree of similarity; cats harbour numerous AIDS promoting homologous viruses, such as feline adenovirus (FeAdV). Antiviral therapy can be supplemented with fermented wheat germ extract anticancer medical food (Avemar granules), utilizing its antitumor and immunostimulant effects.

Objectives: To model acute and chronic immunodeficiency virus infection in human and feline cell lines. To characterize the effect of Avemar on feline immunodeficiency virus strains, and feline adenovirus.

Materials and Methods: Normal feline lymphoid (MBM) and kidney cell lines (CrFK) were infected with American and European FIV strains; furthermore, FL-4 lymphoid cells, permanently producing FIV, were cultured. Human cervical carcinoma (HeLa) and CrFK cells were infected with FeAdV. Cell cultures were treated with series of Avemar concentrations. Toxic effect was monitored by photometric assay and the virus burden by cytopathic effect. Viruses were quantitated by TCID₅₀ calculation.

Results and Discussion: Avemar below 2000 µg/ml concentration, in a dose dependent manner, increased the replication of normal lymphoid cells; decreased the production of American and European FIV strains, simultaneously destroying infected cells. FeAdV replication in normal kidney cells was inhibited in dose dependent manner, but only minimally, in cervical carcinoma cells. Avemar inhibits both acute and chronic feline immunodeficiency virus infections, possibly through inhibiting ribonucleotide reductase and nuclear poly(ADP-ribose)-polymerase. The infected cells were destroyed by apoptosis. Avemar inhibits adenovirus replication in normal cells, but destruction of tumours through AIDS progression can eradicate adenoviruses. Simultaneous antiviral and antitumoral effects of Avemar can improve conditions of humans and cats suffering from AIDS.

VIROLÓGIA

A humán immundeficiencia vírus (human immunodeficiency virus, HIV) által okozott szerzett immunhiányos tünetegyüttes (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) megjelenése óta már ismert, hogy a HIV-fertőzött személyekben előforduló egyéb fertőző ágensek képesek felgyorsítani az AIDS progresszióját (27). Ilyenek például – több, egyéb DNS-vírus mellett – az adenovírus okozta fertőzések, amelyek a CD4⁺ T-sejtszám csökkenése miatt gyakran okoznak opportunistá fertőzést. A nagy hatékonyságú antiretrovirális terápia (highly active antiretroviral therapy, HAART) bevezetése előtt a HIV-fertőzöttek jelentős aránya gyomor-bélrendszeri fertőzésben hunyt el (10). Az adenovírusok korai, E1A és E1B géntermékei képesek transzaktiválni a HIV long terminal repeat (LTR) szekvenciáit, serkentve a HIV replikációját, sejtek közötti terjedését és az AIDS előrehaladását (35).

A HIV-fertőzött személyekben előforduló egyéb fertőző ágensek képesek felgyorsítani az AIDS progresszióját

A macska FIV-fertőzése ideális modell az emberi AIDS tanulmányozására

A HIV és a heterológ vírusok kölcsönhatásának AIDS-ben játszott szerepének *in vivo* vizsgálatához nyújt ideális körülményeket a macska (feline) AIDS-modell, jelenleg az egyetlen, nemzetközileg széles körben ilyen célra használt kisállat-modell (27). Hasonlóan a humán kórlefolyáshoz, a macskák szerzett immunhiányos tünetegyüttesét a macska immundeficiencia vírus (FIV) váltja ki. A FIV is a *Retroviridae* család *Lentivirus* nemzetségébe tartozik. Természetes körülmények között háziastított és nem háziastított macskákat egyaránt fertőz, a kórlefolyás pedig hasonló az emberben tapasztaltakkal (16, 24, 39). A FIV-fertőzés heveny szakaszát a CD4⁺ T-lymphocyták hirtelen megemelkedése jellemzi enyhe vagy közepesen súlyos tünetekkel. A tünetmentes szakasz elhúzódik, ezalatt a vírus szintje stabil, majd a CD4⁺ T- és más immunsejtek száma fokozatosan csökken (CD4⁺:CD8⁺ sejtek aránya is csökken), a kialakuló immundeficiencia következtében pedig a FIV-fertőzött állatok is fogékonyabbá válnak az opportunistá fertőzések iránt (24). A leggyakoribb klinikai tünetek között szerepelnek szájüregi opportunistá fertőzések, mint gingivitis, stomatitis és periodontitis, de kialakulhat immun-mediált glomerulonephritis, krónikus rhinitis vagy dermatitis is. Esetenként rosszindulatú daganatok, például B-sejtes lymphoma, vagy fibrosarcoma is kialakulhatnak (16, 21, 24, 39).

Az immunszuppressziót leginkább a helper típusú T-lymphocyták számának csökkenése okozza

A HIV és a FIV szerkezeti, genetikai és biológiai tulajdonságaikat tekintve is számos hasonlóságot mutat

A HIV és a FIV nem csak a betegség lefolyásában, de szerkezeti, genetikai és biológiai tulajdonságaikat tekintve is számos hasonlóságot mutat. Mindkét vírus pozitív, egyszálú RNS-sel és lipidburokkal rendelkezik, és mindkét vírusnak több altípusa fordul elő világszerte, amelyek közül az első, amerikai izolátum, ill. az európai izolátumok laboratóriumi vizsgálata (pl. antivirális szerek, vakcina előállítás) a leggyakoribb (9, 24). Bár a FIV receptora a CD134, ellentétben a HIV CD4 receptorával, a HIV-hez hasonlóan a FIV is CXCR4 kemokin ko-receptort igényel. A genom szerkezetét tekintve ugyan a FIV LTR régiója kis mértékben különbözik a HIV-től, a TAT és TAR elemek pedig hiányoznak, mégis minden replikációhoz szükséges molekulát tartalmaz az ORF2 régió (16, 24, 27).

A macskákban számos, az emberben előfordulókkal nagyban hasonló kórokozó fordulhat elő

A modell előnye továbbá, hogy házimacskák több olyan vírust és egyéb kórokozót is hordozhatnak, amelyek homológok, vagy nagyban hasonlítanak az emberben előfordulókkal – ilyenek a feline adenovírus (FeAdV), feline leukaemia vírus (FeLV), feline herpesvirus-1 (FHV-1), feline coronavirus (FCoV), feline calicivirus (FCV), számos baktérium, gomba és parazita (pl. mycobacteriumok, *Cryptococcus spp.*, *Toxoplasma gondii*) – így lehetővé válik ezen mikroba és retrovírusok kölcsönhatásainak természetes vizsgálata is (27). Figyelemreméltó, hogy mind az emberi, mind a macska AIDS lefolyása során gyakran alakulnak ki rosszindulatú daganatos elváltozások. Az adenovírusok egyes típusai pedig onkogén képességgel is rendelkeznek (35).

A macska-adenovírus az 1-es típusú humán adenovírussal (HAdV-1) mutat közeli rokonságot

Az említett vírusok közül az egyik legkülönlegesebb a macska-adenovírus. Korábbi kísérleteink szerint az 1-es típusú humán adenovírussal (HAdV-1) mutat közeli rokonságot; emberi és macskasejteken kívül több állatfaj sejtjeiben is képes

A WHO 2018-as adatai szerint 37,9 millió ember HIV-fertőzött világszerte, ebből 3700 magyarországi

A fermentált búzacsíra-kivonat hozzájárul a sejt immunitás fokozott működéséhez, daganatellenes és antimikrobiális hatású

Az Avemar FIV-és FeAdV-ellenes hatását vizsgálták in vitro rendszerekben

szaporodni (26). Jelenleg kérdéses, hogy esetében zoonózisról vagy reverz zoonózisról lehet-e beszélni, szeroepidemiológiai vizsgálataink szerint Magyarországon és Európában a szabadon járó macskák 10–20%-a szeropozitív, az Amerikai Egyesült Államokban zárt tenyészetekben 80%-ot is elért az átfertőzöttség aránya (26). Ennek főleg macskatenyésztők, ill. a HIV-fertőzött macskatartók körében lehet jelentősége. Az előbbi esetben az állatok esetleges betegségei és elhullása, az utóbbi esetben pedig fennállhat a FeAdV háziállatról a gazdába történő átjutása, így akár a betegség gyorsabb és súlyosabb lefolyása is bekövetkezhet (20, 26).

A WHO 2018-as adatai szerint 37,9 millió ember HIV-fertőzött világszerte, ebből 3700 magyarországi (12, 13). Mivel a fertőzöttség egy egész életre szól, a teljes gyógyulás nem lehetséges, a jelenlegi kezelés drága, a gyógyszerek ellen kialakuló rezisztenciával és ellenérzésekkel pedig számolni kell, ezért a HIV napjainkban is jelentős probléma. Ilyen okok miatt kezdik manapság egyre inkább előnyben részesíteni az emberek a természetes alapú készítményeket, amelyek aktiválják és helyreállítják az immunrendszert, háttérbe szorítva ezzel a kezelések kellemetlen mellékhatásait és a fokozatosan növekvő rezisztenciát.

Ilyen előnyösen alkalmazható szer lehet a fermentált búzacsíra-kivonatból Magyarországon megalkotott, szabadalmaztatott, sőt az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerengedélyeztetési Hivatal (Food and Drug Administration, FDA) által szabályozott GRAS státuszban (Generally Recognized as Safe, általánosan biztonságosnak elismert) elfogadott, gyógyászati célra szánt élelmiszer, az Avemar granulátum. Antimikrobiális tulajdonságait eddig kevesen vizsgálták, de számos tanulmány említi a tumorellenes és autoimmun betegségekben kifejtett jótékony hatásait (1, 30). A malmi búzacsíra jelentős fehérjetartalmú, vitaminokban és ásványi anyagokban gazdag, a benne fellelhető kinonok pedig tumorellenes hatásokkal rendelkezhetnek. A fermentált búzacsíra-kivonat nagy kinontartalmú, természetes alapú, félszintetikus koncentrátum. A gyártás közbeni kivonás és fermentáció során a benzokinon-származékok felszabadulnak, ezáltal hatékonyságuk is megnő. A hatásokért felelős fő komponensei a metoxi-helyettesített benzokinon vegyületek, mivel azonban ezek nem tudják önállóan biztosítani a pozitív hatásokat, ezért a többi összetevőnek is fontos szerepe van (1, 4). Az Avemar Magyarországon 1998 novembere óta van forgalomban, 2002-ben törzskönyvezték daganatos betegek tápszereként, a Biopharma gyógyszergyár gyártja és forgalmazza (11). Egy változata az állatgyógyászatban is használatos, immunstimuláló hatású Immunovet készítmény (18, 30, 36).

Az Avemar immunmoduláló, hozzájárul a sejt immunitás fokozott működéséhez, növeli a természetes ölősejtek (NK-sejtek) aktivitását és a Th1-cytokinek (IL-2, IFN- γ) termelését, indukálja az ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1) kifejeződését, gátolja a gyulladáshoz vezető mediátorok termelődését, elősegíti a tumor- és leukémiás sejtek apoptózisát, csökkenti a daganatos sejtek felszínén az MHC-I-expressziót, anyagcsere-szabályzó és antimikrobiális hatású, amelyek alapján feltételezhetően vírusellenes hatása is lehet (3, 5, 17, 19, 34).

SAJÁT VIZSGÁLATOK

A macska AIDS-modell alkalmas a kórokozó, a FIV, valamint a heterológ transzaktiváló és opportunisták elleni szerek együttes vizsgálatára *in vitro* és *in vivo*. Jelen munkánk célja elsőként *in vitro* rendszerben a fermentált búzacsíra-kivonat FIV-és FeAdV-ellenes hatását vizsgálni. Többféle HIV-törzs fertőzésének modellezéseként két eltérő FIV-törzset használtunk, egyúttal vizsgálva az Avemar heveny, ill. idült fertőzésre kifejtett hatását is. A FeAdV emberi és macska fertőzésének modellezéseként humán és macskaeredetű sejtvonalakon párhuzamosan vizsgáltuk az Avemar hatását.

ANYAG ÉS MÓDSZER

SEJTVONALAK

Három macskaeredetű sejtvonal segítségével végeztük a kísérleteinket. Az MBM egy IL-2-dependens T-sejt vonal (23), az FL-4 pedig IL-2 independens macska T-lymphocytá sejtvonal, amely cytopathiás hatás (CP) nélkül folyamatosan termeli a FIV Petaluma (FIV-Pet) törzsét (28). A CrFK macska-vesehámsejtvonal (ATCC® CCL-94™). Ezekon kívül emberi méhnyakrák eredetű (HeLa) sejtvonalat (ATCC® CCL-2™) használtunk. Az MBM- és a CrFK-sejtek a heveny, az FL-4-sejtek az idült FIV-fertőzés modellezésére alkalmasak, a HeLa- és CrFK-sejtek pedig FeAdV-fertőzésére és mennyiségi meghatározására, a CrFK-sejtek a FIV mennyiségi meghatározására (titrálásra).

SEJTKULTÚRÁK

A szuszpenziós MBM- és FL-4-sejteket 10% hőinaktivált borjúsavót (FBS), 1% penicillin-streptomycint, 1% L-glutamint és 25 mM Hepes puffert tartalmazó RPMI-1640 tápfolyadékban tenyésztettük. A monolayer (egyrétegű) CrFK- és HeLa-sejteket 10% hőinaktivált FBS-t, 4,5 g/L glükózt és L-glutamint, 1% penicillin-streptomycint tartalmazó DMEM tápfolyadékban szaporítottuk (BioWhittaker® Verviers, Belgium; Lonza™ Walkersville, USA) 25 cm²-es sejtenyésztő edényben.

VÍRUSOK

Az európai eredetű FIV-Pisa/M2 (22) és az amerikai eredetű FIV-Petaluma (28) törzset, valamint a FeAdV magyarországi izolátumát (25) vizsgáltuk. A FIV-izolátumokat MBM-, CrFK- és FL-4-, a FeAdV-izolátumot pedig CrFK- és HeLa-sejteken termeltük és titráltuk. Mind a szuszpenziós, mind a 90% konfluenciát mutató monolayer sejteket fertőztük 1 fertőző egység vírusmennyiségű (multiplicity of infection, MOI) FIV-, ill. FeAdV-vírussal. A jellegzetes CPH kialakulásakor a sejteket centrifugáltuk (1000 g, 5 perc), majd a felülúszót és a vírust tartalmazó sejteket külön-külön -80 °C-on tároltuk.

FERMENTÁLT BÚZACSÍRA-KIVONATBÓL ELŐÁLLÍTOTT KÉSZÍTMÉNY (AVEMAR)

Az Avemar granulátum összetétele a következő (29): fermentált búzacsíra kivonat, maltodextrin, fruktóz, természetes narancsaroma, csomósodást gátló anyag (kolloid SiO₂), nátrium klorid.

Az Avemar granulátum készítményt fiziológiás sóoldatban vettük fel, majd a fertőzetlen sejtekre kiterjedő esetleges toxikus hatását EZ4U sejt proliferációs és cytotoxikus fotometriás assay (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Bécs) segítségével vizsgáltuk. A különböző sejteket 4 × 10⁴/lyuk koncentrációban 96 lyukú lemezekben tenyésztettük, majd 0 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml, 2000 µg/ml, 3000 µg/ml és 4000 µg/ml koncentrációjú Avemar-hígításokkal kezeltük a sejteket, hogy a sejtenyésztő edény lyukaiban a végtérfogat 150 µl legyen. Minden esetben három párhuzamos vizsgálatot végeztünk. Az egyszeri Avemar-kezelés hatását 7 napon keresztül monitoroztuk, az 1., 2., 3. és 7. napon mintát vettünk a sejtkultúrákból, és fotometriás assay segítségével vizsgáltuk a sejtproliferációt a vizsgált Avemar-koncentrációk függvényében. A sejtek életképességét tripánkek festékekkel ellenőriztük. Az Avemar antivirális tulajdonságainak tanulmányozása érdekében a toxicitási eredményeket figyelembe véve hígítási sorozatot készítettünk (10, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/ml), ezután kezeltük a különböző fertőzött vagy fertőzetlen sejteket.

Az MBM-sejteket előkezeltük a különböző Avemar koncentrációkkal, majd 4 óra elteltével fertőztük a két különböző FIV-törzsszel. A fertőzést követő 11. napon a felülúszókból mintát vettünk, de a vírushatást 17 napon keresztül

A vizsgálatokhoz három macskaeredetű és egy humán sejtvonalat használtak

Az európai Pisa/M2, az amerikai Petaluma FIV-törzseket, valamint a FeAdV magyarországi izolátumát vizsgálták

Az Avemar granulátum készítményt fiziológiás sóoldatban vették fel

Az Avemarból granulátumból készített hígítási sorozatokkal kezelték a sejteket

**Vizsgálták a készítmény
toxicitását és
vírusszaporodást
gátló hatását is**

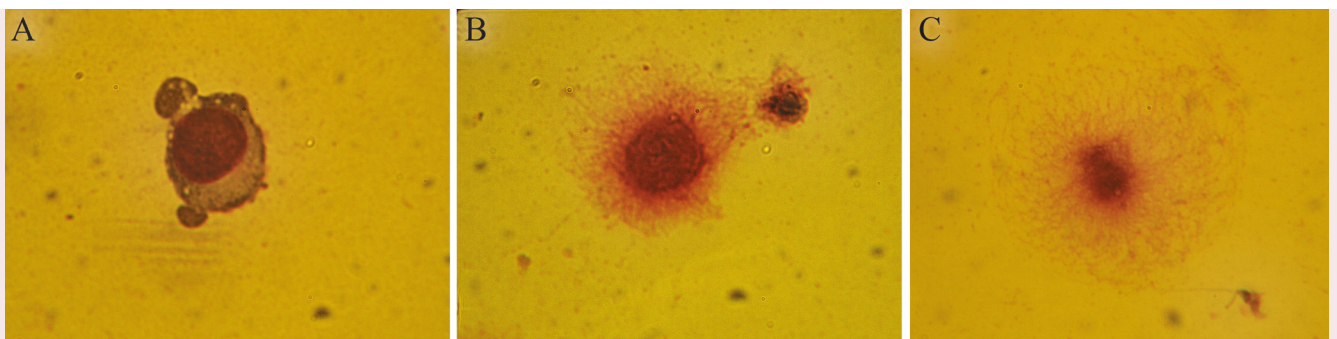
monitoroztuk. FIV-Petaluma törzssel CrFK-sejteket is fertőztünk; 4 órával előbb, azonos időpontban, ill. 4 órával később Avemar-hígítási sor tagjaival kezeltük a sejteket. A tenyésztés 5. és 9. napján vettünk mintákat a felülúszókból és a fagyasztással feltárt sejtmintákból. A FIV-et folyamatosan termelő FL-4 sejtkultúrákon 9 napig követtük a különböző Avemar-dózisok hatását. A kezelést követő 8. napon a feltárt sejtekből és a felülúszókból mintákat vettünk. A monolayer HeLa- és CrFK-sejtek esetén először a sejteket kezeltük egyszeri Avemar-koncentrációkkal, és 4 óra elteltével fertőztük őket 1 MOI FeAdV-mennyiséggel. Ezután fordított sorrendben, azaz 4×10^4 /lyuk koncentrációjú sejtet fertőztünk 1 MOI vírussal, majd 4 óra elteltével kezeltük őket a különböző Avemar-hígításokkal. Azonos időben is végeztünk kezelést és fertőzést. A szer hatását 6 napig monitoroztuk, a 3. és 6. napon vettünk mintákat a feltárt sejtekből, ill. felülúszókból. A fenti mintákat -80°C -on tároltunk, majd a vírusok titerét CrFK-sejteken állapítottuk meg. E célra 96 lyukú lemezekben 4×10^4 /lyuk koncentrációban CrFK-sejteket tenyésztettünk, majd 90%-os konfluencia elérésekor a tápfolyadékot eltávolítottuk, és a különböző fertőzött és kezelt sejtek, ill. felülúszók hígításaival (100–100 μl) fertőztünk. A cytopathiás hatást véghígításig inverz fénymikroszkóp segítségével követtük nyomon, amelynek alapján 50% fertőző dózis (TCID_{50}) egységet számoltunk Reed–Muench módszere alapján, amelyből megállapítottuk egy fertőző egység vírusedménységét (MOI) (31).

Az Avemar-kezelés és a FIV-, ill. a FeAdV-fertőzés sorrendjének változásai átfedő, nem szignifikáns eltérést mutattak a vírusok replikációját gátló hatást illetően. Ezért az eredményeket összevonva a cytopathiás hatás, azaz a reziduális vírusszaporodás arányában mutatjuk be az Avemar gátló hatását.

EREDMÉNYEK

AVEMAR TOXICITÁSI VIZSGÁLAT

Az Avemar 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ koncentrációig nem, 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ felett kifejezetten toxikusan hatott a humán tumor- és a macska-eredetű sejtvonalakra egyaránt. A szer HeLa- és CrFK-sejtek esetében 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ alatt a dózis függvényében gátolta a sejtszaporodást, az MBM-lymphocyták szaporodását viszont kissé fokozta, az FL-4-sejtenyészeteken pedig az idő függvényében egyre gyorsuló sejtpusztulás volt tapasztalható az apoptózis jeleivel (pl. sejtmagok dezintegrációja, apoptotikus testek) (1. ábra).



1. ÁBRA. Avemar hatása FIV-Petaluma-törzset folyamatosan termelő FL-4 sejtekre (A: nem fertőzött, kezeletlen sejtek; B, C: fertőzött, kezelt sejtek). Eredeti nagyítás 400x

FIGURE 1. Effect of Avemar on FIV-Petaluma continuously producing FL-4 cells (A: uninfected, untreated cells; B, C: infected, treated cells). Original magnification 400x

AZ AVEMAR HATÁSA HEVENY FIV-FERTŐZÉSI MODELLBEN

A heveny fertőzés modellezésére alkalmas MBM-sejtek Avemarral történő előkezelése után eredményeink azt mutatták, hogy már egyetlen dózis is képes jelentősen befolyásolni a sejtekben lezajló folyamatokat (1. táblázat). A szer hatása azonban eltérő volt FIV-Pet, ill. FIV-M2 esetén. A FIV-Pet-fertőzött sejtekben a fertőzéstől számított 17. napon is még 250 µg/ml koncentráció elegendő volt a vírus replikációjának csökkentéséhez. FIV-M2-fertőzés esetén viszont kisebb Avemar-mennyiség, 100 µg/ml szer képes volt mérsékelni a sejtkárosító hatást, valamint a vírus szaporodását. A fertőzött sejtek magjának szerkezete fokozatosan felbomlott, a sejtek apoptotikus testek megjelenését követően szétestek (2. ábra).

A CrFK-sejtek FIV-Pet fertőzését követő 5., ill. 9. napon, hasonlóan az MBM-sejteken tapasztaltakkal, 250 µg/ml Avemar-koncentráció már képes lényegesen mérsékelni a vírus termelődését.

*Eltérő mértékben,
de mindkét FIV-törzs
esetében csökkentette
a vírusszaporodást
az Avemar-kezelés*

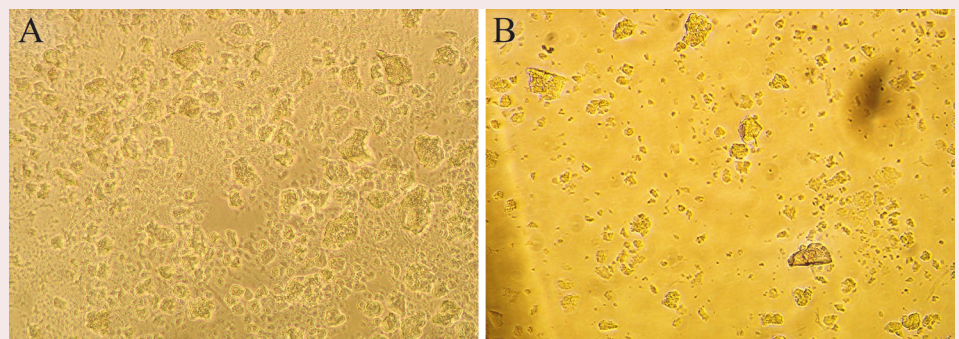
1. TÁBLÁZAT. Az Avemar hatása a FIV-termelésre MBM-sejteken 11 nappal a fertőzést követően

TABLE 1. Effect of Avemar on FIV production by MBM cells 11 days after infection

Felülíró hígítása	FIV-Petaluma			FIV-Pisa/M2		
	0 µg/ml Avemar	50 µg/ml Avemar	100 µg/ml Avemar	0 µg/ml Avemar	100µg/ml Avemar	250µg/ml Avemar
1	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+
0,05	+	+	-	+	+	-
0,001	+	+	-	+	+	-
0,0001	+/-	-	-	-	-	-

Cytopathiás hatás: - nincs; + van; +/- részleges

Cytopathic effect: - no; + yes; +/- partial



2. ÁBRA. Avemar hatása FIV-M2-fertőzött MBM-sejtekre

(A: nem fertőzött, kezeletlen sejtek, B: fertőzött, kezelt sejtek). Eredeti nagyítás 400x

FIGURE 2. Effect of Avemar on FIV-M2 infected MBM cells

(A: uninfected, untreated cells, B: infected, treated cells). Original magnification 400x

Az idült fertőzést modellező rendszerben is csökkentette a vírustermelést

AZ AVEMAR HATÁSA IDÜLT FIV-FERTŐZÉSI MODELLBEN

Az idült HIV-fertőzés modellezésére alkalmazható FIV-Petaluma törzset folyamatosan termelő FL-4 T-lymphocytá sejt vonal vírustermelése már kisebb (50–250 µg/ml) Avemar-koncentráció hatására lecsökkent: a kezelt felülúszókkal fertőzött CrFK-sejteken a vírustermelést követő 8. napon sem tapasztaltunk FIV-fertőzésre utaló jeleket, mint például a sejtek fúziója, vagy a sejtpusztulás. A nagyobb (500–1000 µg/ml) Avemar-dózissal kezelt minták vizsgálata során azonban a termelt vírusok a felülúszóba kerültek, ezeket pedig sikeresen át lehetett vinni fertőzetlen sejtekre, ahol a vírus titer megállapíthatóvá vált (2. táblázat). Ez arra enged következtetni, hogy az FL-4-sejteken az Avemar-kezelés alatt is zajlott a vírusok termelése, ezek azonban nem voltak képesek kijutni a sejtekből, viszont a sejtek fokozatosan emelkedő Avemar-koncentráció hatására kialakuló programozott sejthalál következtében szétestek, így az intracellulárisan felhalmozódott vírusrészecskék kiszabadultak.

2. TÁBLÁZAT. Az Avemar hatása FL-4 sejtek FIV-Petaluma tartalmára és termelésére a kezelést követő 8. napon

TABLE 2. Effect of Avemar on FIV-Petaluma content and production of FL-4 cells 8 days after treatment

Hígítás	FIV-Petaluma eredete	Avemar-koncentrációk FL-4 sejteken µg/ml				
		50	250	500	750	1000
0,01	felülúszó	-	-	+	+	+
	FL-4-sejt	++	++	++	++	++
0,001	felülúszó	-	-	-	+	+
	FL-4-sejt	+	+	+	+	+
0,0001	felülúszó	-	-	-	+	+
	FL-4-sejt	+	+	+	+	+
0,00001	felülúszó	-	-	-	+	+
	FL-4-sejt	+	+	+	+	+
0,000001	felülúszó	-	-	-	-	-
	FL-4-sejt	+	+	+	+	+

Cytopathiás hatás mértéke / cytopathic effect: -: 0%; +: 5–25% ; ++: 26–50%

A FeAdV szaporodását az Avemar a macskaeredetű vesehámsejt vonal esetében gátolta

AZ AVEMAR HATÁSA A FEADV-RA

Ebben a kísérletben az Avemar hatásán kívül tanulmányoztuk azt is, hogy a szerrel történő előkezelés és a fertőzés sorrendje, valamint, hogy a vírusokat HeLa- vagy CrFK-sejteken termeltük, befolyásolja-e az eredményt. Egyszeres 10–1000 µg/ml koncentrációjú Avemar-kezelés során a munkafolyamatok sorrendjétől függetlenül ugyanazt az eredményt tapasztaltuk, a gátló hatás azonban a vírus termelésére használt sejt kultúrától függött. HeLa-sejteken termelt vírus esetében egyáltalán nem tapasztaltuk az Avemar gátló hatását: a FeAdV-fertőzés következtében kialakultak a jellemző cytopathiás hatások, a sejtek leváltak a tenyésztő edény faláról. Ezzel ellentétben azonban, CrFK-sejteken a fertőzés első 3 napján nem mutatkoztak a vírusszaporodás jelei abban az esetben, ha a vírust is ezen a sejt kultúrán termeltük, tehát az Avemar gátolta a FeAdV szaporodását (3. táblázat).

3. TÁBLÁZAT. Az Avemar hatása különböző sejteken termelt FeAdV szaporodására CrFK sejteken**TABLE 3.** Effect of Avemar on the proliferation of different FeAdV cultivated on CrFK cells

Avemar-koncentrációk (µg/ml)	FeAdV HeLa-n termelt		FeAdV CrFK-n termelt	
	3 nap	6 nap	3 nap	6 nap
0	+++	++++	+++	+++
10	+++	++++	+	++
50	+++	++++	+	++
100	+++	++++	+	++
250	+++	++++	-	++
500	+++	++++	-	++
750	+++	++++	-	++
1000	+++	++++	T	++T

Cytopathiás hatás mértéke: -: 0%; +: 1-25%; ++: 26-50%; +++: 51-75%; ++++: 76-100 %; T: toxikus hatás

Ratio of cytopathic effect: -: 0%; +: 1-25%; ++: 26-50%; +++: 51-75%; ++++: 76-100%; T: toxic effect

MEGVITATÁS

A HIV-fertőzés kórfejlődése és a következményében kialakuló AIDS-betegség immunmechanizmusai körül még mindig vannak tisztázatlan kérdések. A vírus teljes eliminálását a szervezetből, valamint az immunfunkciók helyreállítását eddig nem sikerült elérni. Ezen kérdések megválaszolására nyújthat lehetőséget az AIDS patomechanizmusának vizsgálatára *in vivo* szolgáló egyetlen természetes kisállatmodell, a macska AIDS-modell. A különböző immunfolyamatok és a szimultán fertőzések kölcsönhatásainak megértésén kívül a modell hasznos lehet további antivirális gyógyszerek kifejlesztéséhez (9), valamint HIV-vakcina előállításához, teszteléséhez. Egyes tanulmányok már foglalkoznak a FIV reverz transzkriptáz 3D struktúrájának vizsgálatával annak érdekében, hogy feltárják a nem-nukleozidgátló gyógyszerekkel szembeni vírusrezisztencia hátterét. Ezen kutatások alapján remélhetőleg előállíthatók olyan új vegyületek, amelyek segítségével hatékonyabbá válhat a kezelés a HIV gyógyszerrezisztens törzseivel szemben (7). Addig is, a HIV-fertőzötteknek, valamint az AIDS talaján kialakuló daganatos betegségben szenvedő embereknek segítségére lehet a magyar hatóságok és számos külföldi hivatal által is jóváhagyott fermentált búzacsíra kivonat, az Avemar.

Toxicitási vizsgálataink azt mutatták, hogy az Avemar a vizsgált vírusellenes tartományban a négy sejtvonalat nem károsította abban az esetben, ha azok nem voltak vírussal fertőzöttek, valamint dóziszfüggő módon stimulálta a T-lymphocytá MBM-sejtvonalat. Mivel a különböző sejtek FIV- és FeAdV-termelő képességét is csökkentette, ezért feltételezhető, hogy rendelkezik olyan antivirális tulajdonságokkal, amelyek HIV-fertőzöttek esetén hasznosnak bizonyulhatnak. Nem ismert még az sem, hogy az Avemar egészséges macskákban milyen biológiai választ vált ki, vajon hasonló-e az emberéhez, vagy eltérő lehet a kísérletekben általánosan használt egerekétől, vagy az Immunovet esetében más állatokban mért hatásoktól (18, 30, 36). Filogenetikailag két igen távol álló fajban a kórokozó retrovírusok és az általuk kiváltott betegség rendkívüli hasonlósága, valamint ugyanazon DNS-vírus iránti fogékonyságuk felveti annak lehetőségét, hogy macskákban az Avemarral kapcsolatos kísérleti eredmények jobban extrapolálhatók lennének emberre, mint pl. a rágcsálókban nyert adatok (további adatok az 1-4, 11, 14, 17 irodalomban).

Heveny FIV-fertőzésekben az Avemar képes volt lényegesen csökkenteni a vírus replikációját. Ennek legfontosabb vonatkozása, hogy a hevenyen fertőzött sejtek pusztulásával a vírus termelésének utánpótlása is megszűnik, így a szer végső soron

Az Avemar nem károsította a vizsgált, fertőzésmentes sejtvonalakat a használt vírusellenes tartományban

Heveny FIV-fertőzésekben az Avemar képes volt lényegesen csökkenteni a vírus replikációját a sejtek elpusztítása révén

FeAdV-fertőzés esetében az Avemar gátló hatása nagyban függött a fertőzött sejtek típusától és a vírus termelési helyétől

A ribonukleotid-reduktáz enzim gátlása nemcsak a daganatok, hanem a HIV és a FIV replikációját is csökkentheti

hozzájárulhat a vírus eliminációjához. Az európai, ill. az amerikai FIV-törzs eltérő érzékenysége az Avemar gátló hatása iránt hasonlóságot mutat a különböző izolátumok antivirális szerekkel, ill. különböző törzseken kifejlesztett vakcinákkal szemben tapasztalt különbségeivel, amely kismértékű genetikai eltérésükön alapul (16). Érdemes lenne további laboratóriumi törzsek, ill. világszerte a fertőzött, kijáró macskák érzékenységét is felmérni, mert utóbbiakban más tényezők, többek között társfertőzések is befolyásolhatják akár az antivirális gyógyszerek (9), akár a vakcinák hatékonyságát (24), amely jelenségekre a HIV/AIDS esetében szintén felhívták a figyelmet (24).

Idült FIV-fertőzésekben az Avemar hatása kétfázisúnak bizonyult: kisebb adagban gátolta a fertőzött sejtekből a FIV kijutását, a nagyobb Avemar-koncentráció pedig kiváltotta a fertőzött sejtek pusztulását. A szervezetre vetítve ez azt eredményezheti, hogy a szer hatására a vírust lappangva hordozó sejtek gátlása megszűnik, de ebben az esetben a sejtek újbóli víruskibocsájtása előnyös, ugyanis ez a folyamat a sejtek pusztulásának részjelenségeként zajlik le. A sejtpusztulás morfológiai jegyei megegyeztek a hevenyen fertőzött kezelt sejteken észleltekkkel, vagyis az Avemarnak a fertőzött különféle sejtekre gyakorolt hatása feltehetőleg azonos, és azonos a daganatsejtekre kifejtett, korábban leírt hatással is.

FeAdV-fertőzés esetében az Avemar gátló hatása nagyban függött a fertőzött sejtek típusától és a vírus termelési helyétől. CrFK-sejteken nagymértékű, míg HeLa-sejtek esetében csak részleges vírusgátló hatást tapasztaltunk. Feltételezhetően ez azért van így, mert a HeLa-sejtekben integrált egyes papillomavírus-gének folyamatosan aktiválhatják a vírusszaporodást, így az Avemar nem tudja kifejteni gátló tulajdonságát. A CrFK-sejtek HeLa-sejteken termelt FeAdV-val való fertőzése esetén is csak minimális gátló hatást tapasztaltunk. Az eltérés felismerése jelentős a FeAdV-fertőzés körfejlődése szempontjából is. A HAdV-1 a vírusfiber gömb részével a Coxsackie-adenovirus receptorhoz (CAR) kötődik, amelyhez a sejtek kapcsolódási pontjaihoz közel eső receptor molekulák autokatalitikus elérhetősége szükséges. A HAdV-1 sejtekbe történő bejutását a pentonbázis RGD (Arginin-Glicin-Aszparaginsav) szekvenciájának $\alpha\beta_3$, ill. $\alpha\beta_5$ integrinekhez történő kötődése katalizálja. A FeAdV-fiberben hasonló szerkezetű RGS (Arginin-Glicin-Szerin) szekvencia található, amely egyes sejteken a CAR elkerülésével egy lépésben, közvetlen bejutást tesz lehetővé (26). Saját és a már említett irodalmi adatok szerint a FeAdV világszerte előfordul. Ezeket a kezdeti vizsgálatokat is érdemes lenne kiterjeszteni FIV-fertőzött macskákra és HIV-fertőzött emberekre, ugyanis egyik fajban sem ismert a FeAdV kórokozó képessége, és a két vírus kölcsönhatásának körtani vonatkozása. Jelenleg a fertőzés diagnosztizálására hexon- és/vagy fiber-specifikus polimeráz láncreakciót követően a termék szekvenálása nyújt lehetőséget (26).

Az Avemar daganatellenes hatásainak tanulmányozása során kimutatták, hogy különböző tumorsejtek akár 85%-ában (pl. HT29 humán vastagbél-, emlő-, gyomor-, hasnyálmirigycarcinoma-sejtek) elősegíti az apoptosist lezajlását, gátolja a HL-60 promyelocytás leukémia sejtek növekedését (33,14). A nyugalmi mononuclearis sejtekkel ellentétben apoptosist indukál a lymphoid tumorsejtekben is (14). Jurkat sejtekben az Avemar kezelés hatására lecsökkent oxidatív ribózsintézis nem képes ellátni a tumorsejtek metabolikus szükségleteit, amelyek pedig nagyban hozzájárulnának a DNS-replikáció során a ribonukleotidok dezoxiribonukleotidokká (dNTP) történő redukciójának sikerességéhez (2). A ribonukleotid-reduktáz (RR) – a *de novo* DNS-szintézis kulcsenzime – szignifikánsan túltermelt a daganatsejtekben, hogy ezáltal ezen gyorsan szaporodó sejtek növekvő dNTP iránti igénye biztosítva legyen. Az Avemar jelentősen csökkenti a RR *in situ* aktivitását, ami kulcsfontosságú enzimeket gátol. Mivel ezek az enzimek kritikus jelentőségűek a nukleinsavakhoz szükséges ribózsintézis és zsírsav-előállítás során, így az RR kiváló célpont lehet a kemoterápiában (2, 33). A HIV-1-vírusreplikáció érzékeny a perifériás vér mononuclearis sejtjeinek intracelluláris dNTP-koncentrációjára. Egy RR-inhibitor, a hidroxikarbamid, képes gátolni HIV-replikációt dNTP-kimerülés révén (38). Az Avemar azáltal, hogy képes csökkenteni a RR *in situ* aktivitását, nemcsak a daganatokkal szemben,

de a HIV- és a nagymértékben hasonló FIV-fertőzés kezelésben is hatékony lehet.

A RR-en kívül egy másik enzim működésére is hatással lehet a fermentált búzacsíra kivonat. A sejtmagi poli(ADP-ribóz)-polimeráz (PARP) enzim szerepet játszik a DNS-javítási folyamatban, aktiválódását a DNS-szál törések indítják el (38). A PARP akár 200 ADP-ribóz-csoportot képes nukleáris fehérjékhez kapcsolni. A fokozott aktiváció miatti NAD⁺-vesztés következtében azonban csökken az ATP-termelés, ez pedig a sejtek energiahányában bekövetkezett halálához vezet (8).

A provirális DNS integrálása a gazdasejt genomjába a retrovirális életciklus jellemző tulajdonsága. Ez a folyamat magában foglalja a koordinált DNS-szál törés kialakulását és az újraegyesülő reakciókat (6). A PARP részt vesz a retrovírusok integrációjának szabályozásában, így a HIV-1 génexpresszióban is, valamint fontos szerepet játszik az NF-κB-függő targetének, beleértve a HIV LTR aktivációjában (15). Mivel a retrovírus-fertőzések integráz-katalizált DNS-száltörést igényelnek, a PARP-gátlók hatásosak lehetnek a HIV-vel szemben az antiretrovirális kezelésekben, hozzájárulva a vírusterhelés csökkentéséhez (32). A PARP számos gént is szabályoz a különböző transzkripciósfaktorokkal való kölcsönhatása révén, így gátlása erős gyulladáscsökkentő eszköznek is bizonyult. A HIV-1-ről pedig ismert, hogy a különféle sejtekben és szervekben (pl. az agyvelőben, a tüdőben, a bélben és a vesében) gyulladást okoz (32). A PARP gátlása megakadályozta a HIV-1 által a sejtvezeték átrendeződését, amely fontos szerepet játszik a vírus sejtbe való jutásában és replikációjában (37). Ezenkívül a PARP, mivel az NF-κB koaktivátora, megakadályozta a HIV-1 gén transzkripcióját azáltal, hogy gátolta a HIV-1 LTR aktivációját. A PARP-gátlók közül a talazoparib és az olaparib is elnyomó hatást mutatott a HIV-1 replikációjára (32). Jurkat sejteken Avemar hatására a kaszpáz-3 és kaszpáz-7 hasítja a PARP-enzimet. Ez a folyamat általánosságban lezajlik a kaszpázok által mediált apoptózis során is, tehát a szer sejtthalt indukál (2).

Ezen adatok függvényében eredményeink arra engednek következtetni, hogy Avemar hatására a PARP-enzim elvesztette funkcióját, ezért a FIV nem tudott replikálódni a sejtekben, így a szer sikeresen csökkentette a FIV-partikulák mennyiségét heveny fertőzés során. Az Avemar ugyancsak gátló hatású a FIV folyamatos termelésére is. A FIV és a HIV számos hasonlóságát figyelembe véve ez a fermentált búzacsíra-kivonat az emberi szervezetben is hozzájárulhat a vírusterhelés csökkentéséhez, valamint az immunfunkciók visszaállításához. Az Avemar AIDS-ben szenvedő emberek és macskák egészséges sejtjeiben közvetlenül gátolja az adenovírus szaporodását, viszont a betegség során gyakran kialakuló daganatokban csak azok elpusztításával szüntethető meg az adenovírusok termelése. Az Avemar vírusellenes és daganatellenes hatásainak együttese előnyös lehet a betegek számára.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetet mondanak DR. LAPIS KÁROLY egyetemi tanár, akadémikus értékes szakmai javaslatáért. Ugyancsak köszönetet mondanak KÖVESDI FERENCNÉ laboratóriumi asszisztensnek, aki a SE mindkét intézetében technikai és adminisztratív közreműködéssel segítette a kutatás kivitelezését. A kísérletes munkákat a Semmelweis Egyetem Start-up pályázata (No. 11725) és a Biopharma Kft. (Kunfehértó) támogatta. A számítógépeket a Magyar Telekom Nyrt. (Budapest) bocsájtott rendelkezésre.

IRODALOM

1. BOROS, L. G. – NICHELATTI, M. – SHOENFELD, Y.: Fermented wheat germ extract (Avemar) in the treatment of cancer and autoimmune diseases. *Ann. N Y. Acad. Sci.*, 2005. 1051. 529–542.
2. COMIN-ANDUIX, B. – BOROS, L. G. et al.: Fermented wheat germ extract inhibits glycolysis/pentose cycle enzymes and induces apoptosis through poly(ADP-ribose) polymerase activation in Jurkat T-cell leukemia tumor cells. *J. Biol. Chem.*, 2002. 277. 46408–46414.
3. EHRENFELD, M. – BLANK, M. – SHOENFELD, Y. – HIDVÉGI, M.: Avemar (a new benzoquinone-containing natural product) administration interferes with the Th2 response in experimental SLE and promotes amelioration of the disease. *Lupus*, 2001. 10. 622–627.
4. EICH, K. P. J.: Untersuchungen in vitro zur therapeutischen Wertigkeit von 2,6-dimethoxy-1,4-benzochinonen im supportivprodukt Avemar. *Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg*. Würzburg, 2013.

Feltételezhető, hogy az Avemar hatására a PARP-enzim elvesztette funkcióját, ezért a FIV nem tudott replikálódni a sejtekben

5. FARKAS E.: Fermentált búzacsíra kivonat (Avermar) alkalmazásának lehetőségei a családorvosi gyakorlatban. *Medicus Universalis*, 2006. 39. 19–31.
6. GÄKEN, J. A. – TAVASSOLI, M. et al.: Efficient retroviral infection of mammalian cells is blocked by inhibition of poly(adp-ribose) polymerase activity. *J. Virol.*, 1996. 70. 3992–4000.
7. GALILEE, M. – ALIAN, A.: The structure of FIV reverse transcriptase and its implications for non-nucleoside inhibitor resistance. *PLoS Pathog.*, 2018. 14. e1006849.
8. HA, H. C. – JULURI, K. et al.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is required for efficient HIV-1 integration. *Proc. Natl. Acad. Sci., U S A.* 2001. 98. 3364–3368.
9. HARTMANN, K. – WOODING, A. – BERGMANN, M.: Efficacy of antiviral drugs against feline immunodeficiency virus. *Vet. Sci.*, 2015. 2. 456–476.
10. HIERHOLZER, J. C.: Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1992. 5. 262–274.
11. <https://www.avemar.hu>
12. <https://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/hungary>
13. <https://www.who.int/gho/hiv/en/>
14. ILLMER, C. – MADLENER, S. et al.: Immunologic and biochemical effects of the fermented wheat germ extract Avermar. *Exp. Biol. Med.*, 2005. 230. 144–149.
15. KAMEOKA, M. – NUKUZUMA, S. et al.: Poly(ADP-ribose)polymerase-1 is required for integration of the human immunodeficiency virus type 1 genome near centromeric alphoid DNA in human and murine cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005. 334. 412–417.
16. KENYON, J. C. – LEVER, A. M.: The molecular biology of feline immunodeficiency virus (FIV). *Viruses*, 2011. 3. 2192–2213.
17. KIM, M. H. – JO, S. H. et al.: Antimicrobial activities of 1,4-benzoquinones and wheat germ extract. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010. 20. 1204–1209.
18. KÓSA, E. – JAKAB, L. – NAGY, G.: Effect of a prebioticum „IMMUNOVET-HBM™” on the health status and production of Hungarian turkey flocks. In: *Turkey production: Current challenges*. Ed. HAFEZ, H. M.. Mensch Buch Verlag, Berlin, 2007. pp. 174–182.
19. KÖVESDI, V. – STERCZ, B. – TOMPA, A. – ONGRÁDI, J.: Effect of fermented wheat germ extract on feline viruses (a pilot study). *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 2009.
20. LAKATOS B. – FARKAS J. – ÁDÁM É. – JARRET, O. – EGBERINK, H. F. – BENDINELLI, M. – NÁSZ I. – ONGRÁDI J.: Data to the adenovirus infection of European cats. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 1996. 51. 543–545.
21. MAGDEN, E. – QUACKENBUSH, S. L. – VANDEWOUDE, S.: FIV associated neoplasms a mini-review. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2011. 143. 227–234.
22. MATTEUCCI, D. – BALDINOTTI, F. et al.: Detection of feline immunodeficiency virus in saliva and plasma by cultivation and polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1993. 31. 494–501.
23. MATTEUCCI, D. – MAZZETTI, P. et al.: The feline lymphoid cell line MBM and its use for Feline immunodeficiency virus isolation and quantitation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1995. 46. 71–82.
24. MILLER, C. – ABDO, Z. et al.: Applications of the FIV model to study HIV pathogenesis. *Viruses*, 2018. 10. 206.
25. ONGRÁDI, J.: Identification of a feline adenovirus isolate that replicates in monkey and human cells in vitro. *Am. J. Vet. Res.*, 1999. 60. 1463.
26. ONGRÁDI, J. – CHATLYNNE, L. G. – TARCSAI, K. R. – STERCZ, B. – LAKATOS, B. – PRING-ÅKERBLOM, P. – GOOSS SR., D. – NAGY, K. – ABLASHI, D. V.: Adenovirus isolated from a cat is related to Human Adenovirus 1. *Front. Microbiol.*, 2019. 10. 1430.
27. ONGRÁDI, J. – STERCZ, B. – KÖVESDI, V. – NAGY, K. – MAURO, P.: Interaction of FIV with heterologous microbes in the feline AIDS model. In: SAXENA, SK. (szerk.) *Current perspectives in HIV infection*. InTech, Rijeka, 2013. 447–469.
28. PEDERSEN, N. C. – HO, E. W. et al.: Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiencylike syndrome. *Science*, 1987. 235. 790–793.
29. Pharmindex / Tápszerindex (2007): Avermar.
30. RAFAI, P. – PAPP, Z. – JAKAB, L. – TUBOLY, T. – JURKOVICH, V. – BRYDL, E. – ÓZSVÁRI, L. – KÓSA, E.: The effect of fermented wheat germ extract on production parameters and immune status of growing pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 2011. 20. 36–46.
31. REED, L. J. – MUNCH, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.*, 1938. 27. 493–497.
32. ROM, S. – REICHENBACH, N. L. et al.: The dual action of poly(ADP-ribose) polymerase -1 (PARP-1) inhibition in HIV-1 infection. HIV-1 LTR inhibition and diminution in Rho GTPase Activity. *Front. Microbiol.*, 2015. 6. 878.
33. SAIKO, P. – OZSVAR-KOZMA, M. et al.: Avermar, a nontoxic fermented wheat germ extract, induces apoptosis and inhibits ribonucleotide reductase in human HL-60 promyelocytic leukemia cells. *Cancer Lett.*, 2007. 250. 323–328.
34. STERCZ, B. – NAGY, K. – PISTELLO, M. – ONGRÁDI, J.: A fermented wheat germ extract (Avermar) inhibits the feline immunodeficiency virus and the feline adenovirus. *11th International Feline Retrovirus Research Symposium, Leipzig, Germany, 26-29 August 2012, Abstract Book p. 137-138.*
35. STERCZ B. – TARCSAI K. R. – ONGRÁDI J.: Adenovírus fertőzések újonnan felismert vonatkozásai. *Orvostovábbképző Szemle*, 2017. 11. 44–46.
36. STIPKOVITS, L. – LAPIS, K. – HIDVÉGI, M. – KÓSA, E. – GLÁVITS, R. – RESE-TÁR, A.: Testing the efficacy of fermented wheat germ extract against *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Poultry Sci.*, 2004. 83. 1844–1848.
37. STOLP, B. – FACKLER, O. T.: How HIV takes advantage of the cytoskeleton in entry and replication. *Viruses*, 2011. 3. 293–311.
38. SZEKERES, T. – FRITZER-SZEKERES, M. – HOWARD, L. E.: The enzyme ribonucleotide reductase: target for antitumor and anti-HIV therapy. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 1997. 34. 503–528.
39. SZILASI A. – BALKÁ, GY.: A macskák retrovírus-fertőzései: Feline Immunodeficiency Virus (FIV). *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2015. 137. 351–360.

Közlésre érck.: 2020. júl. 14.