

Las lectinas en las investigaciones del SIDA

Nancy María Ruiz Gutiérrez.

Departamento de Inmunotecnología, Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil, Apartado Postal 23031, Marianao 14, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 31 de enero del 2000. Aceptado: 15 de agosto del 2000.

Palabras clave: lectinas, VIH, SIDA.
Key words: lectins, HIV, AIDS.

RESUMEN. En la lucha contra la pandemia del SIDA, se han estudiado y se estudian de manera creciente compuestos de origen natural y no han sido desalentadores los resultados encontrados. En este artículo se presenta una revisión acerca del empleo de las lectinas en las investigaciones relacionadas con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, con énfasis en las de las plantas, ya que han sido estudiadas con mayor amplitud y además, resultan de fácil obtención. Las lectinas son proteínas que se unen específicamente y reversiblemente a azúcares y que aglutinan células. Ellas atraen el interés de muchos investigadores, fundamentalmente porque sirven de herramientas incalculables en áreas de las investigaciones biológicas y médicas. Debido a sus propiedades de unión a los carbohidratos, han resultado de gran utilidad en el estudio de algunas características estructurales de las glicoproteínas del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), así como del mecanismo de infección de este agente. También se han empleado en sistemas inmunoenzimáticos de ELISA para el diagnóstico y el seguimiento, pues se han encontrado glicoproteínas del virus en los sueros de personas infectadas, además de anticuerpos contra estas glicoproteínas, los cuales son importantes dado que perduran durante toda la infección. Además, estas proteínas han resultado útiles para el estudio de tejidos de personas infectadas. Adicionalmente, se ha observado que estas proteínas causan diferentes efectos sobre la infección del VIH y se han obtenido drogas antirretrovirales en las que ellas constituyen el ingrediente activo. En la actualidad, se explora también la posibilidad de utilizarlas para la prevención de la infección. Se ratifica la importancia que presentaría la introducción de las lectinas en los estudios de VIH/SIDA en Cuba.

ABSTRACT. In the struggle against AIDS pandemic disease, compounds of natural origins have been and are increasingly being studied and the results obtained have been very encouraging. The present paper presents a review of the use of lectins in research related with the Acquired Immunodeficiency Syndrome, with emphasis being made on the use of plant lectins as these have been widely studied in addition to the fact that they are very easy to obtain. Lectins are proteins that bind sugars specifically and reversibly and that agglutinate cells. They are attracting much interest, primarily because they serve as invaluable tools in diverse areas of biological and medical research. Because of their carbohydrate binding properties, they have proved to be very useful in the knowledge of some of the structural characteristics of glycoproteins of the Human Immunodeficiency Virus and of the infection mechanism of this agent. Lectins have also been used in ELISA immunoenzymatic systems for the diagnostic and follow up of the infection due to the fact that virus glycoproteins have been found in the sera of infected individuals, in addition to glycoproteins antibodies which are important as they last during the whole infection process. Moreover, lectins have proved very useful in the study of tissues from infected persons. Additionally it has been noticed that lectins cause several effects over HIV infection and therefore several products have been obtained such as drugs having lectins as active ingredients. At present, scientists are exploring the possibilities of using lectins in the prevention of HIV infection. For all the above mentioned facts, the importance of introducing lectins in the AIDS/HIV in Cuba is ratified.

INTRODUCCION

Desde su aparición, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) ha causado gran impacto en la sociedad por ser una enfermedad de propagación rápida que afecta no sólo a homosexuales y usuarios de drogas, sino prácticamente a todas las personas con vida sexual activa, siendo esta la principal vía de transmisión, además, por la ausencia de tratamientos eficaces, lo que la hace una enfermedad mortal y por el enorme gasto que significa para los sistemas de salud debido a la atención especial que requieren estos pacientes. Es por ello que muchos investigadores han volcado sus esfuerzos en la búsqueda de una solución, ya sea terapéutica o preventiva.

En el tratamiento de la infección por VIH y SIDA, lo más empleado y que más éxito ha demostrado ha sido el tratamiento con drogas antirretrovirales, sin embargo, no se ha encontrado un medicamento totalmente efectivo, los existentes pueden llegar a producir resistencia debido a la generación de diversidad viral en la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y además, son muy costosos, por lo que no están al alcance de todos.

Otros enfoques terapéuticos son los basados en las terapias inmunomoduladoras,^{1,4} que persiguen el reforzamiento del sistema inmunológico, además de las terapias complementarias, que no pretenden sustituir a las tradicionales, sino sumarse a ellas y las basadas en los genes.⁵

Entre los componentes dirigidos a la quimioterapia de la infección por VIH-1 se encuentran derivados de las plantas que inhiben diferentes

fases del ciclo replicativo viral.^{6,7} Entre estos derivados se encuentran las lectinas que son proteínas de origen no inmune que poseen la propiedad de unirse reversiblemente y con elevada afinidad a los mono u oligosacáridos específicos que se encuentran en glicoproteínas, glicolípidos y polisacáridos.⁸ Estas proteínas se encuentran en animales, microorganismos y plantas⁹ siendo las últimas, las más estudiadas. Sus especificidades por el componente sacarídico de algunas moléculas se exploran de manera creciente en las investigaciones bioquímicas y se ha demostrado que son herramientas muy valiosas y precisas como reactivos biológicos, ya que han sido empleadas en el aislamiento y caracterización de glicoproteínas, en la secuenciación de oligosacáridos, en las investigaciones y terapia de mal funcionamiento de tejidos, en el esclarecimiento de la estructura y función de la membrana plasmática, donde residen los receptores y otras.¹⁰

El VIH infecta varios tipos de células,^{11,12} se une a través de la glicoproteína (gp) de la envoltura (gp120) a los receptores que se encuentran sobre las superficies de dichas células y es este el paso clave en el comienzo de la infección.^{13,14}

La gp de la envoltura está fuertemente glicosilada¹⁴⁻¹⁸ y fue por el posible papel que desempeñan los carbohidratos en la infectividad del virión,^{19,20} que se introdujeron las lectinas en el campo de las investigaciones del SIDA.²¹

APLICACION EN EL DIAGNOSTICO

Debido a que el mecanismo de infección en su primera fase involucra a una gp viral que se une al receptor CD4 en los linfocitos, monocitos-macrófagos y algunas poblaciones de células dendríticas,^{12,22} las lectinas se han empleado con éxito en el conocimiento de la estructura de los carbohidratos de dicha gp²³⁻²⁶ y en el esclarecimiento de la función de estos glicanos en el reconocimiento y la infección de las células hospedadoras por el VIH-1.²⁷

Además, las interacciones que se establecen entre los sacáridos de la gp de la envoltura y algunas lectinas han permitido el empleo de estas en técnicas de ELISA para la detección cuantitativa de glicoproteínas de la envoltura^{28,29} en cultivos infectados *in vitro*. Estos estudios han demostrado que la gp120 aparece en el medio después de la infección, an-

tes que la p24 y la transcriptasa inversa³⁰ y que su concentración en el medio de cultivo es de 6 a 10 veces mayor que la de p24. También mediante ELISA se han detectado componentes que bloquean la función de unión de la gp120, así como la presencia de esta gp en el suero de individuos infectados por el VIH, ya que está en concentraciones tan elevadas como las de p24.

Se han detectado anticuerpos contra la envoltura en sueros humanos, lo que ha sido útil para el seguimiento de la infección del virus y para probar los inhibidores potenciales de su replicación. Este último ELISA es importante, ya que la presencia de anticuerpos contra la envoltura en el suero es uno de los marcadores serológicos más consistentes de la infección del VIH.³¹

Las técnicas cromatográficas, específicamente, la cromatografía de afinidad empleando lectinas, también han sido útiles para la purificación de las gp naturales y recombinantes del VIH y para confirmar los resultados concernientes a la interacción de varias lectinas con la gp120 del virus,²⁵ así como para la caracterización estructural de los oligosacáridos de dicha gp.³²

Las lectinas también han constituido herramientas importantes en estudios histoquímicos de tejidos de pacientes de SIDA³³⁻³⁷ y en la estimulación de células infectadas con VIH.^{34,38}

EFFECTOS DE ALGUNAS LECTINAS EN LA INFECCION DEL VIH

También se ha observado que las lectinas causan diferentes efectos sobre la infección del VIH, por ejemplo: la concanavalina A (Con A) y la concanavalina A succinilada lo inactivan completamente mientras que la aglutinina de *Lens culinaris* (LCA), la aglutinina de germen de trigo (WGA) y la fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* (PHA) sólo lo hacen sustancialmente.¹⁴ La lectina de *Gerardia savaglia* (GSL) previene la infección de células H9 con VIH-1 e inhibe la formación de sincicios en el sistema célula Jurkat HTLV-III³⁹ y bloquea también la infección a nivel de célula diana.⁴⁰ Las aglutininas de *Cymbidium* (CA), de *Epipactis helleborine* (EHA) y la de *Urtica dioica* (UDA) han probado ser inhibidores potentes de la formación de sincicios entre células HUT 78 infectadas persistentemente con VIH-1 y VIH-2 y células CD4 super (+) Molt/4 (clon 8) y se supone que interactúan a nivel de la fusión del

virión con la célula diana,⁴¹ y la Con A neutraliza la infectividad del VIH-1 para células monocíticas y linfoides, comportándose como los anticuerpos neutralizantes que no interfieren con la unión de la gp120 al receptor CD4, pero sí con algún evento tardío que conduce a la entrada del virus.⁴² La aglutinina de *Galanthus nivalis* (GNA) bloquea la infección a nivel de célula diana. Se usaron dos aislamientos de VIH-1, LAV y NDK, representando un virus prototipo y uno muy citopático, respectivamente, que se difundieron preferiblemente a través del contacto célula-célula. Se emplearon como diana, células MT4 y se determinó la infección por la formación de sincicios. El pretratamiento de las células con la lectina antes de la adición del virus o de células infectadas, también bloquea la infección. Se concluyó que la GNA además de bloquear la infección a nivel de célula diana, neutraliza la infección por unión al virión.⁴³

Se encontró que la jacalina (JFL), que interactúa con el antígeno de superficie CD4, inhibe la infección *in vitro* por VIH-1,^{44,45} siendo capaz de bloquear la infección por VIH de las células linfoblastoides CD4+, pero no inhibe la formación de sincicios que requiere interacciones gp120-CD4,⁴⁶ además, su unión al CD4 se inhibe por azúcares que interactúan con su sitio lectínico. También se demostró que la jacalina se une al receptor CD4 mediante interacciones proteína-proteína, independientes del azúcar y es capaz de bloquear la infección *in vitro* por VIH-1 de células linfoides y monocíticas, no por interacciones lectina-gp120, ni por bloqueo de la infección del virus al receptor CD4. Se supuso que la lectina podía interferir con mecanismos celulares necesarios para la infección y se mostró que la jacalina es capaz de disparar señales celulares a través del CD4, induciendo eventos celulares similares a los que se producen por la unión de la gp120 al CD4 en células monocíticas y linfocíticas. Por esto, se plantea que la jacalina podría ser una herramienta farmacológica interesante para el estudio de los mecanismos celulares involucrados en la infección del VIH.⁴⁷

Como se dijo anteriormente, la unión de la gp120 al receptor CD4 de los linfocitos y de otras células¹¹ es el paso clave para el comienzo de la infección, pero existen dudas sobre la participación de los glicanos de las glicoproteínas en la infectividad del

VIH. Se ha planteado que la interferencia de las lectinas con los sitios funcionales de gp120/gp41 es por cambios conformacionales o por enmascaramiento de sitios que son necesarios para la interacción con CD4 o para eventos postunión⁴² y se han desglucosilado la gp120 y la gp41 presentes sobre la superficie del virus y no se ha eliminado la infectividad para algunos tipos celulares.²⁰ Además, en los inicios toda la fuerza de la unión glicoproteína-receptor recaía sobre el receptor CD4 que se encuentra sobre los linfocitos y sobre células de la línea de los macrófagos,^{48,49} pero se han acumulado evidencias de que se requieren otros factores celulares adicionales para este proceso,⁵⁰⁻⁵⁵ incluso la observación de las propiedades de unión de las glicoproteínas de la envoltura a residuos de carbohidratos, sugiere que además de la interacción proteína-proteína, existen interacciones carbohidrato-lectina entre la gp120 y ligandos carbohidrato de la superficie celular⁵⁶ y que estas interacciones pueden estar involucradas posiblemente en la unión a un supuesto correceptor del virus,⁵² o sea, que los mecanismos por los cuales las lectinas son capaces de inhibir la infección por VIH no están totalmente explicados, ni se comprende la cuestión de la participación directa de los sacáridos en la interacción virus-célula,²¹ aunque varias veces se ha señalado su participación en la unión al receptor.^{13,53}

En la actualidad, existe una necesidad imperiosa de desarrollar microbicidas anti VIH para prevenir la transmisión sexual de dicho patógeno, tomando en consideración que todavía no se avizora vacuna alguna.^{57,58} Además de otros compuestos de origen natural aislados, se siguen empleando las lectinas en las investigaciones del SIDA y en la búsqueda de una herramienta eficaz para combatirlo, un ejemplo de ello son los trabajos de captura de gp120 y de viriones de VIH-1 por el uso de lectinas inmovilizadas sobre nanopartículas de poliestireno, para la prevención de la transmisión viral, que resulta en un decrecimiento significativo de la infectividad de la suspensión viral.^{59,60} Otro ejemplo es el Iscador, extracto acuoso de aglutinina de *Viscum album* o mistletoe europeo, que se ha usado para tratar ciertos tumores sólidos de cáncer, pero a finales de los ochenta, investigadores en San Francisco condujeron el trabajo clínico más extenso de VIH relacionado con esta droga.

El Dr. Taseem A. Khwaja observó que bloquea la formación de sincicios *in vitro* y sugirió que Iscador puede inhibir la unión del virus libre a los receptores de las células no infectadas. Trabajos más recientes reportan el empleo de *Viscum album* como inmunomodulador en individuos sanos y VIH positivos y que puede inhibir la progresión del SIDA.⁶¹ Existen patentes sobre el uso de mistletoe europeo y coreano para el tratamiento del SIDA y el cáncer.^{62,63} También se han patentado otras drogas antirretrovirales cuyo ingrediente activo son lectinas de plantas.^{64,65}

CONCLUSIONES

En Cuba, la lectinología es un campo poco explorado y teniendo en cuenta la importancia de las lectinas por su vasta aplicación en las investigaciones biomédicas, su utilidad para despejar incógnitas en el mecanismo de la infección por VIH, así como en las estrategias terapéuticas y preventivas, además de la obtención relativamente fácil y barata de las que provienen de fuentes vegetales, sería útil incorporarlas en los estudios del SIDA.

BIBLIOGRAFIA

- Ritts R.E. Antibiotics as biological response modifiers. **J. Antimicrob. Chemother.**, 26, 31, 1990.
- Steinman R.M. Dendritic cells and immune-based therapies. **Exp. Hematol.**, 24, 859, 1996.
- Parren P.W.H.I., Burton D.R. Antibodies against HIV-1 from phage display libraries: mapping of an immune response and progress towards anti-viral immunotherapy. **Chem. Immunol.**, 65, 18, 1997.
- Wimer B.M., Morris R.E. Theoretical benefits of mitogen applications for HIV-1 infections. **Cancer Biother. Radiopharm.**, 12, 213, 1997.
- Deyton L. Importance of Surrogate Markers in Evaluation of Antiviral Therapy for HIV Infection. **JAMA**, 276, 159, 1996.
- Vlietinck A.J., De Bruyne T., Apers S., Pieters L.A. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection. **Planta Medica**, 64, 97, 1998.
- Cowan M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, 12, 564, 1999.
- Pewman W.J. & Van Damme E.J.M. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiol.**, 109, 347, 1995.
- Shandu R.S., Reen R.S. Phytolectins- A Review. **Annu. Res. Plant Sciences**, 2, 1, 1980.
- Sharon N., Lis H. Legume lectins- a large family of homologous proteins. **The FASEB Journal**, 4, 3198, 1990.
- Eibl M.M., Kupcu Z., Mannhalter J.W., Eder G., Schaff Z. Dual tropism of HIV-1 IIIB for chimpanzee lymphocytes and monocytes. **AIDS Res.**

- Human Retroviruses**, 8, 69, 1992.
- Mondor I., Ugolini S., Sattentau Q.J. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Attachment to Hela CD4 Cells Is CD4 Independent and gp120 Dependent and Requires Cell Surface Heparans. **J. Virol.**, 72, 3623, 1998.
- Vaniambadi S., Kalyanaraman, P.R., Gallo R.C., Sarngadharan M.G. A Unique Human Immunodeficiency Virus Culture Secreting Soluble gp160. **AIDS Res. Human Retroviruses**, 4, 319, 1988.
- Robinson W.E. JR, Montefiori D.C., Mitchell W.M. Evidence that mannose residues are involved in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) pathogenesis. **AIDS Res. Human Retroviruses**, 3, 45, 1987.
- Kwong P.D., Wyatt R., Robinson J., Sweet R.W., Sodroski J., Hendrickson W.A. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. **Nature**, 393, 648, 1998.
- Wyatt R., Kwong P.D., Desjardins E., Sweet R.W., Robinson J., Hendrickson W.A., Sodroski J.G. The antigenic structure of the HIV gp120 envelope glycoprotein. **Nature**, 393, 705, 1998.
- Wyatt R., Sodroski J. The HIV Envelope Glycoproteins: Fusogens, Antigens, and Immunogens. **Science**, 280, 1884, 1998.
- Biller M., Bolmstedt A., Hemming A., Olofsson S. Simplified procedure for fractionation and structural characterization of complex mixtures of N-linked glycans, released from HIV-1 gp120 and other highly glycosylated viral proteins. **J. Virol. Methods**, 76, 87, 1998.
- Lifson J., Coutré S., Huang E., Engleman E. Role of envelope glycoprotein carbohydrate in human immunodeficiency virus (HIV) infectivity and virus-induced cell fusion. **J. Exp. Med.**, 164, 2101, 1986.
- Gilbert M., Brigido L., Mueller W.E.G., Hansen J.E., Ezekowitz R.A., Mills J. Screening for inhibitors of HIV gp120-CD4 binding using an enzyme-linked immunosorbent assay. **J. Virol. Methods**, 42, 1, 1993.
- Favero J. The role of lectins in AIDS Research- A Review. En: Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry, Vol. 10, Chapter V. E. Van Driessche, J. Fischer, S. Beeckmans, T.C. Bog-Hansen, ed. Textop, Denmark, 69-77, 1994.
- Geijtenbeek T.B., Kwon D.S., Torensma R., van Vliet S.J., van Duynhoven G.C., Middel J. et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. **Cell**, 100, 587, 2000.
- Shilatifard A., Merkle R.K., Helland D.E., Welles J.L., Haseltine W.A., Cummings R.D. Complex-Type N-linked Oligosaccharides of gp120 from Human Immunodeficiency Virus Type 1 Contain Sulfated N-Acetylglucosamine. **J. Virol.**, 67, 943, 1993.
- Robinson J.E., Holton D., Lui J., McMurdo H., Murciano A. et al. A novel Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the detection of antibodies to HIV-1 envelope glycoproteins based on immobilization of viral glycoproteins in microtiter wells coated with Concanava-

- lin A. **J. Immunol. Methods**, **132**, 63, 1990.
25. Geyer H., Holschbach C., Hunsmann G., Schneider J. Carbohydrates of Human Immunodeficiency Virus. **J. Biol. Chem.**, **263**, 11760, 1988.
 26. Hammar L., Eriksson S., Morein B. Human Immunodeficiency Virus: Lectin Binding Properties. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, **5**, 495, 1989.
 27. Astoul C.H., Peumans W.J., van Damme E.J. Accessibility of the High-Mannose Glycans of Glycoprotein gp120 from Human Immunodeficiency Virus Type 1 Probed by *In Vitro* Interaction with Mannose-Binding Lectins. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **274**, 455, 2000.
 28. Mahmood N., Hay A.J. An ELISA utilizing immobilised snowdrop lectin GNA for the detection of envelope glycoproteins of HIV and SIV. **J. Immunol. Methods**, **151**, 9, 1992.
 29. Gilljam G. Envelope Glycoproteins of HIV-1, HIV-2 and SIV Purified with Galanthus nivalis agglutinin Induce Strong Immune Responses. **AIDS Res. Human Retroviruses**, **9**, 431, 1993.
 30. Weiler B.E., Schacke H., Bachmann M., Brigido L., Gilbert J. et al. Human Immunodeficiency Virus: Novel Enzyme-linked Immunoassay for Quantitation of Envelope Glycoprotein. **J. Virol. Methods**, **32**, 287, 1991.
 31. Constantine N.T., Callahan J.D., Watts D.M. Pruebas para la detección del VIH y control de calidad. Guía para Personal de Laboratorio, Durham: AIDSTECH/Family Health International, 9-11, 1991.
 32. Mizuochi T., Spellman M.W., Larkin M., Solomon J., Basa L.J. et al. Structural characterization by chromatographic profiling of the oligosaccharides of human immunodeficiency virus (HIV) recombinant envelope glycoprotein gp120 produced in Chinese hamster ovary cells. **Biomed. Chromatogr.**, **2**, 260, 1988.
 33. Michaels J., Price R.W., Rosenblum M.K. Microglia in the giant cell encephalitis of acquired immune deficiency syndrome: proliferation, infection and fusion. **Acta Neuropathol. Berl.**, **76**, 373, 1988.
 34. Artigas J., Hadebank S., Franz H., Niedobitek F. Lectin histochemical study of HIV-associated changes in the central nervous system with mistletoe lectin I (MLI). **Pathologie**, **12**, 152, 1991.
 35. Kamada Y., Iwamasa T., Miyasato M., Sunagawa K., Kunishima N. Kaposi Sarcoma in Okinawa. **Cancer**, **70**, 861, 1992.
 36. Butner A., Mehraein P., Weis S. Vascular changes in the cerebral cortex in HIV-1 infection. II. An immunohistochemical and lectin histochemical investigation. **Acta Neuropathol. Berl.**, **92**, 35, 1996.
 37. Belichenko P.V., Miklossy J., Celio M.R. HIV-1 induced destruction of neocortical extracellular matrix components in AIDS victims. **Neurobiol. Dis.**, **4**, 301, 1997.
 38. Pineau N., Brugier J.C., Breux J.P., Becq-Giraudon B., Descamps J.M. et al. Stimulation of peripheral blood lymphocytes of HIV-patients by jacalin, a lectin mitogenic for human CD4+ lymphocytes. **AIDS**, **3**, 659, 1989.
 39. Muller W.E.G., Renneisen K., Kreuter M.H., Schroder H.C., Winker I. The D-mannose-specific lectin From *Gerardia savaglia* blocks binding of human immunodeficiency virus type 1 to cells and human lymphocytes *in vitro*. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, **1**, 453, 1988.
 40. Hammar L., Hirsch I., Machado A., De Mareuil J., Baillon J., Chermann J.C. Lectin effects on HIV-infectivity. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, **724**, 166, 1994.
 41. Balzarini J., Neyts J., Schols D., Hosoya M., Van Damme E. et al. The mannose specific plant lectins from *Cymbidium* hybrid and *Epipactis helleborine* and the (*N*-acetylglucosamine) *n*-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication *in vitro*. **Antiviral Res.**, **18**, 191, 1992.
 42. Gattegno L., Ramdani A., Jouault T., Saffar L., Gluckman J.C. Carbohydrate Interactions and Infectivity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1). **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, **8**, 27, 1992.
 43. Hammar L., Hirsch I., Machado A.A., De Mareuil J., Baillon J.G., Bolmont C., Chermann J.C. Lectin-mediated effects on HIV type 1 infection *in vitro*. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, **11**, 87, 1995.
 44. Lafont V., Dornand J., d'Angeac A.D., Monier S., Alcover A., Favero J. Jacalin, a lectin that inhibits *in vitro* HIV infection, induces intracellular calcium increase via CD4 in cells lacking the CD3/TcR complex. **J. Leukoc. Biol.**, **56**, 521, 1994.
 45. Lafont V., Hivroz C., Carayon P., Dornand J., Favero J. The lectin jacalin specifically triggers cell signaling in CD4+ T lymphocytes. **Cell Immunol.**, **181**, 23, 1997.
 46. Corbeau P., Haran M., Binz H., Devaux C. Jacalin, a lectin with anti HIV-1 properties, and HIV-1 gp120 envelope protein interact with distinct regions of the CD4 molecule. **Mol. Immunol.**, **31**, 569, 1994.
 47. Favero J., Corbeau P., Nicolas M., Benkirane M., Trave G., Dixon J.F. et al. Inhibition of human immunodeficiency virus infection by the lectin jacalin and by a derived peptide showing a sequence similarity with gp120. **Eur. J. Immunol.**, **23**, 179, 1993.
 48. Kowalski M., Potz J., Basiripour L., Dorfman T., Goh W.C. et al. Functional regions of the envelope glycoprotein of Human Immunodeficiency Virus type 1. **Science**, **237**, 1351, 1987.
 49. Lasky L.A., Nakamura G., Smith D.H., Fennie C., Shimasaki C. et al. Delineation of a region of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. **Cell**, **50**, 975, 1987.
 50. Larkin M., Childs R.A., Matthews T.J., Thiel S., Mizuochi T. et al. Oligosaccharide-mediated interactions of the envelope glycoprotein gp120 of HIV-1 that are independent of CD4 recognition. **AIDS**, **3**, 793, 1989.
 51. Batinic D., Robey F.A. The V3 Region of the Envelope Glycoprotein of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Binds Sulfated Polysaccharides and CD4-derived Synthetic Peptides. **J. Biol. Chem.**, **267**, 6664, 1992.
 52. Mbemba E., Carré V., Atemezem A., Saffar L., Gluckman J.C. et al. Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Infection of CD4+ Cells by CD4-Free Glycopeptides from Monocytic U937 Cells. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, **12**, 47, 1996.
 53. Roderiquez G., Oravec T., Yanagishita M., Bou-Habib D.C., Mostowski H., Norcross M.A. Mediation of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Binding by Interaction of Cell Surface Heparan Sulfate Proteoglycans with the V3 Region of Envelope gp120-gp41. **J. Virol.**, **69**, 2233, 1995.
 54. Trkola A., Dragic T., Arthos J., Binley J.M., Olson W.C., Allaway G.P. et al. CD4-dependent, antibody-sensitive interactions between HIV-1 and its coreceptor CCR-5. **Nature**, **384**, 184, 1996.
 55. Wu L., Gerard N., Wyatt R., Choe H., Parolin C., Ruffing N. et al. CD4-induced interaction of primary HIV-1 gp120 glycoproteins with the chemokine receptor CCR-5. **Nature**, **384**, 179, 1996.
 56. Banks W.A., Kastin A.J., Akerstrom V. HIV protein gp120 crosses the blood-brain barrier: role of adsorptive endocytosis. **Life Sci.**, **61**, 119, 1997.
 57. Esser M.T., Mori T., Mondor I., Sattentau Q.J., Dey B., Berger E.A. et al. Cyanovirin-N Binds to gp120 To Interfere with CD4-Dependent Human Immunodeficiency Virus Type 1 Virion Binding, Fusion, and Infectivity but Does Not Affect the CD4 Binding Site on gp120 or Soluble CD4-Induced Conformational Changes in gp120. **J. Virol.**, **73**, 4360, 1999.
 58. Elias C.J., Coggins C. Female-controlled methods to prevent sexual transmission of HIV. **AIDS**, **10**, 543, 1996.
 59. Hayakawa T., Kawamura M., Okamoto M., Baba M., Niikawa T. et al. Concanavalin A-Immobilized Polystyrene Nanospheres Capture HIV-1 virions and gp120: Potential Approach Towards Prevention of Viral Transmission. **J. Med. Virol.**, **56**, 327, 1998.
 60. Akashi M., Niikawa T., Serizawa T., Hayakawa T., Baba M. Capture of HIV-1 gp120 and virions by lectin immobilized polystyrene nanospheres. **Bioconjugate Chemistry**, **9**, 50, 1998.
 61. Gorter R.W., van Wely M., Reif M., Stoss M. Tolerability of an extract of European mistletoe among immunocompromised and healthy individuals. **Altern. Ther. Health Med.**, **5**, 37, 1999.
 62. Khwaja T.A. University of Southern California, assignee. WO Patent 9,632,121. Pharmaceutical preparations derived from european mistletoe. October 17, 1996.
 63. Khwaja T.A. University of Southern California, assignee. WO Patent 9,632,123. Pharmaceutical preparations derived from korean mistletoe. October 17, 1996.
 64. Sugita N., Niimura K., Ogushi Y., Hirose K., Matsunaga K. Kureka Kagaku Kogyo Kahushiki Kaisha, assignee. US Patent 4,985,543. Lectins and antiretroviral drugs containing the lectins as active ingredient. January 15, 1991.
 65. Stewart D., Forrest J.M.S., Muller W., Scottish Crop Research Institute, assignee. US Patent 5,462,853. Detection of components of RNA viral glycoproteins using a mannose-specific lectin binding assay. October 31, 1995.