

NATURALNE IMMUNOSTYMULATORY EGZOGENNE*

NATURAL EXOGENOUS IMMUNOSTIMULATORS

Łukasz ZAPAŁA, Witold LASEK

Zakład Immunologii, Centrum Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie: Naturalne immunostymulatory egzogenne to preparaty pochodzenia bakteryjnego, roślinnego bądź pozyskiwane z grzybów, pobudzające układ odpornościowy. Obecne badania naukowe ukierunkowane są na poznanie dokładnych mechanizmów ich działania oraz polepszenie ich efektywności przy jednoczesnej redukcji nielicznych objawów ubocznych. Wydaje się, że efekty terapeutyczne preparatów bakteryjnych i izolowanych z grzybów wynikają w dużej mierze z aktywacji receptorów Toll-podobnych (TLR). Z kolei biologicznie czynne związki chemiczne izolowane z roślin aktywują komórki dzięki nieswoistej interakcji z ich powierzchnią. W pracy omówiono najważniejsze związki z wymienionych grup: bakteryjne – BCG, LPS; roślinne – jeżówkę (*Echinacea* spp.), jemiolę (*Viscum album*); pochodzące z grzybów – lentinan, schizofylian, krestin. Zwrócono uwagę na kierunki ich działania oraz zaznaczono obecne bądź potencjalne użycie w terapii. Spośród wymienionych preparatów najpowszechniej w medycynie stosowana jest BCG i preparaty jeżówki. BCG używana jest do leczenia powierzchniowych guzów pęcherza moczowego. Efekt przeciwnowotworowy BCG wynika z wywoływania lokalnej reakcji zapalnej bądź z reakcji krzyżowej przeciwciał przeciw BCG z komórkami raka pęcherza. Z kolei jeżówka i wyizolowane z niej aktywne biologicznie związki, oprócz właściwości immunostymulujących wynikających z wpływu na nieswoistą odpowiedź immunologiczną, działają antyseptycznie i przeciwzapalnie. Właściwości immunostymulujące pozostałych omawianych preparatów są z reguły słabe. Preparaty te są okazjonalnie stosowane jako uzupełnienie konwencjonalnej terapii.

Słowa kluczowe: immunomodulacja, immunostymulatory, BCG, LPS, *Echinacea*, *Viscum album*, lentinan, schizofylian, krestin.

Summary: Natural exogenous immunostimulators are preparations isolated from bacteria, plants or fungi that activate immunological system. Present research is aimed at understanding the exact mechanism of their action and improving their efficacy in parallel with reducing minor side effects. It appears that in the majority therapeutical effects of the bacterial and fungal preparations result from the activation of Toll-like receptors (TLR). However, biologically active substances isolated from plants can activate cells through non-specific interaction with their surface. In the present work, the most important biologically active compounds were discussed: bacterial – BCG, LPS; isolated from plants – purple coneflower (*Echinacea* spp.), mistletoe (*Viscum album*); and fungal – lentinan, schizophyllan, krestin. The mode of their actions with both the present and potential therapeutic applications were discussed. Among groups

*Temat pracy własnej Akademii Medycznej w Warszawie nr 1M19/W2/07.

mentioned above, the most commonly used in medicine are BCG and purple coneflower preparations. BCG is applied in the treatment of superficial bladder cancer. Anticancer effect of BCG results from either eliciting local inflammation or cross-reaction of antibodies specific for BCG with bladder tumor cells. As far as purple coneflower and biologically active substances isolated from the plant are concerned, they have immunostimulating properties because of their effect on non-specific immune response and can act in the antiseptic and antiinflammatory way. The immunostimulating properties of other preparations are generally low. The preparations can be used occasionally as a supplement of the conventional therapy.

Keywords: immunomodulation, immunostimulators, BCG, LPS, purple coneflower (*Echinacea* spp.), mistletoe (*Viscum album*), lentinan, schizophyllan, krestin.

WSTĘP

Naturalne środki immunostymulujące stanowią liczną grupę preparatów pozyskiwanych z bakterii, grzybów oraz niektórych roślin. Różnorodne kierunki ich działania powodują, że nie ma jednej właściwej nazwy, w której można by ująć wszystkie ich właściwości. W literaturze określane są jako naturalne immunostymulatory, immunomodulatory, immunoaugmentory bądź modyfikatory odpowiedzi biologicznej – BRM (ang. *biological response modifiers*). Choć wciąż do końca nie został zbadany ich potencjał terapeutyczny, jak i działania niepożądane, są one stosowane w prewencji i leczeniu chorób zakaźnych, terapii nowotworów oraz niedoborach odporności.

W końcu XIX stulecia, nowojorski chirurg William Coley zastosował preparaty bakteryjne o udokumentowanym działaniu immunostymulującym. Były to tzw. toksyny Coleya, oparte na żywych bakteriach (początkowo), a później na zabitych bakteriach z rodzaju *Streptococcus* i *Serratia*. Wykazywały one pewien efekt przeciwnowotworowy [59], przede wszystkim u pacjentów z mięsakami. Po kilkudziesięciu latach zaniechano terapii toksynami Coleya, czego głównymi powodami były: niepowtarzalność wyników, efekty toksyczne oraz wzrastająca skuteczność chemioterapii i radioterapii nowotworów.

Do niedawna mechanizm działania preparatów bakteryjnych i izolowanych z grzybów na układ odpornościowy był słabo poznany. Obecnie wiadomo, że na komórkach układu odpornościowego, zwłaszcza odpowiedzi nieswoistej (do której zaliczają się m.in. makrofagi) obecne są receptory rozpoznające wzorce molekularne mikroorganizmów, z których najważniejszą grupę stanowią receptory Toll-podobne – TLR (*Toll-like receptors*) [28, 40]. Niektóre z nich obecne są również na komórkach nabłonkowych. Receptory TLR rozpoznają szeroki wachlarz strukturalnych elementów drobnoustrojów oraz charakterystyczne cechy kwasów nukleinowych mikroorganizmów (tab. 1). Aktywacja receptorów TLR daje w wyniku wytwarzanie cytokin, które z jednej strony wzmagają aktywność komórek odpowiedzi immunologicznej nieswoistej, z drugiej – indukują i ułatwiają odpowiedź swoistą [49, 35]. Wydaje się, że w dużym stopniu efekty terapeutyczne preparatów bakteryjnych i izolowanych z grzybów wynikają właśnie z aktywacji receptorów TLR.

TABELA 1. Receptory Toll-podobne (TLR) rozpoznające wzorce molekularne (PAMP – *patogen-associated molecular patterns*) składników drobnoustrojów zidentyfikowane u człowieka

Receptor (lokalizacja)	Rozpoznawany składnik drobnoustroju
TLR1* (powierzchnia komórki)	Triacylowane lipopeptydy i czynniki rozpuszczalne niektórych bakterii (np. <i>Mycobacterium</i>)
TLR2* (powierzchnia komórki)	– lipoproteiny i lipopeptydy – peptydoglikan (<i>Staphylococcus aureus</i>) – kwas lipotejchowy – lipoarabinomannan (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>) – zymosan (<i>Candida</i>) – glikolipidy
TLR3 (wewnątrzkomórkowo, w fagolizosomach?)	dwuniciowy RNA wirusów
TLR4 (powierzchnia komórki)	– lipopolisacharydy (bakterie gramujemne) – białka niektórych wirusów
TLR5 (powierzchnia komórki)	flagellina rzęsek bakteryjnych
TLR6* (powierzchnia komórki)	diacylowane lipopeptydy (<i>Mycoplasma</i>)
TLR7 (wewnątrzkomórkowo, w fagolizosomach)	jednoniciowe RNA wirusów bogate w G+U
TLR8 (wewnątrzkomórkowo, w fagolizosomach)	jednoniciowe RNA bogate w G+U
TLR9 (wewnątrzkomórkowo, w fagolizosomach)	niemetylowane sekwencje CpG w bakteryjnym i wirusowym DNA
TLR10	?

*Receptory TLR mogą tworzyć heterodimery, np. TLR1/TLR6 i TLR2/TLR6, przez co zwiększa się spektrum rozpoznawanych przez nie związków

W przypadku preparatów roślinnych sytuacja wygląda nieco inaczej. W trakcie ewolucji, w związku z brakiem bezpośrednich zagrożeń zdrowotnych ze strony roślin (w przeciwieństwie do czynników zakaźnych, takich jak: bakterie, wirusy, a także pasożytów wielokomórkowych) organizmy wyższe – w tym człowiek – nie wykształciły mechanizmów obronnych. Rośliny są jednak źródłem olbrzymiej ilości biologicznie czynnych związków chemicznych, które dzięki nieswoistej interakcji z powierzchnią komórek układu odpornościowego, niejako „przypadkowo” aktywują komórki (np. określonego rodzaju polisacharydy roślinne identyfikowane są przez komórkowe receptory o charakterze lektyn).

Z licznych preparatów będących w centrum zainteresowania badaczy na całym świecie wybrano i krytycznie omówiono najpopularniejsze:

- bakteryjne (BCG, LPS),
- roślinne preparaty izolowane z jeżówki (*Echinacea* spp.), jemioli (*Viscum album*),
- izolowane z grzybów (lentinan, schizofylian, krestin).

IMMUNOSTYMULATORY BAKTERYJNE

BCG (*bacillus Calmette-Guérin*) to atenuowany prątek gruźlicy, adoptowany jako szczepionka przeciw gruźlicy. W 1904 r. *Mycobacterium bovis* została wyizolowana od krowy z gruźliczym zapaleniem wymion. Aby zapobiegać adhezji prątków, Calmette i Guérin dodawali do pożywki żółć. Skutkiem był spadek wirulencji – po 231 pasażach uznano hodowlę za awirulentną i została nazwana ku pamięci swoich odkrywców szczepem *bacillus Calmette-Guérin* [wg 42].

Już na początku XX wieku zaobserwowano, że zachorowanie na gruźlicę koreluje odwrotnie z zachorowaniem na nowotwory. Pearl donosił w pracy z 1929 r. fakt niższej zapadalności na nowotwory pacjentów chorych na gruźlicę [50]. 40 lat później Mathe i wsp. zastosowali terapeutycznie użycie BCG w białaczkę limfoblastyczną. W pracy opublikowanej w 1969 r. przedstawili obiecujące wyniki, których niestety nie udało się powtórzyć innym zespołom [41].

Z kolei Coe i Feldman, po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń, zaobserwowali miejscową reakcję nadwrażliwości typu późnego w pęcherzu moczowym świnek morskich *in vivo* [13]. Przełomowe okazały się badania Moralesa i wsp. z 1976 r., w których demonstrowano znaczący spadek nawrotów powierzchownego raka pęcherza moczowego u 9 pacjentów po podaniu dopęcherzowo BCG [46]. Obserwacje te zostały potwierdzone przez Lamma i wsp. w badaniach z 1980 roku [33].

Obecnie BCG używana jest do leczenia powierzchownych guzów pęcherza moczowego i w profilaktyce nawrotów nowotworu. Preparat BCG próbowano stosować także w leczeniu innych nowotworów. Wykazano np., że nastrzykiwanie doguzowe BCG zmian skórnych czerniaka prowadzi do regresji w 90% przypadków, a w kilkunastu procentach proces regresji dotyczy również zmian odległych [45]. O wiele bardziej odporne na tego rodzaju leczenie okazały się przerzuty wewnętrzne czerniaka. Mimo kontynuowania prób klinicznych, nie wprowadzono preparatu BCG do standardów terapii czerniaka. Wykorzystywany jest on jednak jako adiuwant w terapii szczepionkami przeciwnowotworowymi bazującymi na autologicznych komórkach raka jelita grubego w niektórych krajach Europy (szczepionka OncoVax®). Istnieją też sugestie, że kolejnym nowotworem, w którego leczeniu skutecznymi były BCG, jest rak prostaty [10]. Dostępnych jest kilka szczepów BCG. Są to: Tice – Organon Technika, IVM (*Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene*) – Bilthoven, Connaught – Connaught Laboratories, Pasteur, Tokyo, Armand Frappier, a także polski Onco-BCG – Biomed, Lublin [42].

Uważa się, że mechanizm działania BCG odpowiada za wywoływanie lokalnej reakcji zapalnej, powodowanej przez cytokiny wydzielane przez komórki nabłonka i układu odpornościowego.

Kontakt z komórkami nowotworowymi powierzchni pęcherza zachodzi poprzez białko fibronektynę, dzięki której następuje internalizacja BCG [70]. Wykazano, że komórki nabłonka pęcherza moczowego (urotelium) przejawiają ekspresję różnych receptorów TLR, między innymi: TLR2, TLR3, TLR4, a także TLR9, za pomocą których mogą być aktywowane [44]. W warunkach *in vitro* stwierdzono zdolność wydzielania IL-6 i IL-8 przez komórki ustalonej ludzkiej linii komórek urotelium [44]. Niewątpliwie, te i inne cytokiny, a także uczestniczący w mechanizmach obrony przeciwnowotworowej tlenek azotu (NO) wytwarzane są w wyniku bezpośredniego oddziaływania BCG na komórki żerne, typu makrofagi i monocyty [6, 27].

W moczu pacjentów leczonych BCG stwierdza się podwyższony poziom IL-12, odpowiedzialnej za rozwój limfocytów w kierunku Th1 oraz obecność IFN- γ (21). To z kolei skutkuje wzrostem ekspresji cząsteczek adhezyjnych (m.in. ICAM-1), cząsteczek MHC klasy II oraz dominacją limfocytów Th CD4⁺ nad Tc CD8⁺ [51]. Z tych względów wydaje się, że odpowiedzialna za efekt terapeutyczny BCG jest głównie odpowiedź Th1. W moczu oraz surowicy pacjentów identyfikuje się podwyższone stężenia różnych cytokin, np. IL-1, IL-2, IL-8, TNF- α , co może sugerować istnienie reakcji systemowej [63].

Za powodzenie terapii BCG może również odpowiadać reakcja krzyżowa przeciwciał przeciw BCG z komórkami raka pęcherza. U większość ludzi, w tym u chorych, stwierdza się kontakt z prątkami, co jest równoznaczne z narażeniem na działanie antygenów mykobakterii. Wykazano, że bakteryjne białko P64 ma identyczną sekwencję z ludzkim HSP 65. Co więcej, analiza limfocytów T od pacjentów leczonych BCG wykazała, że była to populacja oligoklonalna [71].

Klinicznie, istotny jest brak wznowy nowotworu u 50% pacjentów z powierzchniowym rakiem pęcherza moczowego po 4 latach leczonych za pomocą BCG, a u 30% po 10 latach. Tylko u 15% pacjentów dochodzi do progresji [34, 46]. Terapia wlewkami BCG po przezcewkowej resekcji guza zastępuje cystektomię jako leczenie pierwotne, bardzo okaleczające pacjenta.

BCG jest lekiem dobrze tolerowanym. Może jednak wywoływać objawy dyzuryczne, naglące parcie, częste oddawanie moczu, a u 30% pacjentów pojawia się hematuria. U nielicznych chorych może rozwijać się posocznica [66].

LPS (lipopolisacharyd) jest składnikiem błony zewnętrznej bakterii gramujemnych. Składa się z łańcucha O-specyficznego, części rdzeniowej o charakterze polisacharydu i zakotwiczonego w zewnętrznej błonie lipidu A [1, 7].

Znany jest mechanizm rozpoznawania cząsteczki: po związaniu z krążącym we krwi białkiem wiążącym LPS – LBP (*LPS-binding protein*), kompleks LPS-LBP przyłącza się do kompleksu błonowego CD14 oraz receptora TLR4 związanego z MD2 na komórkach docelowych, spośród których najistotniejsze to makrofagi i monocyty. Następnie dochodzi do wewnątrzkomórkowego przekazania sygnału, podobnie jak ma to miejsce po związaniu ze swoimi receptorami błonowymi IL-1 i IL-18 oraz aktywacji szlaków MAPK i NF- κ B [1, 26]. Efektem jest aktywacja

genów dla różnych cytokin, przede wszystkim TNF- α i IL-6. Podobnie dochodzi do wzmożonej ekspresji syntazy tlenku azotu (iNOS) i jego produkcji [11].

LPS zwiększa ekspresję receptorów TLR2 i TLR9 w makrofagach [26] i wywiera dwójaki wpływ na metabolizm eikozanoidów [11]: krótkotrwała ekspozycja na LPS skutkuje wzrostem chemotaksji i fagocytozy oraz zwiększeniem generowania reaktywnych związków tlenowych, cytokin i leukotrienów, wzrasta także ekspresja COX-2; długotrwała ekspozycja na LPS (np. posocznica) powoduje spadek ekspresji 5-lipooksygenazy (spadek produkcji LTB₄), a także zmianę profilu wydzielanych prostaglandyn na PGE₂ i prostacyklinę.

LPS jest niezwykle silnym stymulatorem nieswoistych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej, z czym wiąże się jednocześnie jego duża toksyczność. Udowodniono, że jest on głównym elementem toksyn Coleya, odpowiedzialnym za ich działanie przeciwnowotworowe. W warunkach *in vivo*, w próbach stosowania LPS do leczenia pacjentów z nowotworami, mierzalny efekt podania LPS u człowieka, ujawniający się stymulacją produkcji cytokin (TNF- α), wywierały dawki rzędu kilku ng/kg masy ciała (po podaniu podskórnym) [19]. Problemem ograniczającym zastosowanie LPS była konieczność podawania coraz wyższych wtórnych dawek w związku z wykształcającym się stanem tolerancji na ten stymulator [19] bądź konieczność dodatkowej aktywacji makrofagów w celu ich uwrażliwienia na LPS [39]. Wydaje się, że długotrwała ekspozycja na niewielkie ilości LPS w powietrzu może aktywować układ odpornościowy wystarczająco, by dać klinicznie korzystne efekty, objawiające się np. zmniejszoną zapadalnością na nowotwory w obrębie płuc [3] lub ograniczonym ryzykiem wystąpienia alergii, przynajmniej u małych dzieci [9].

IMMUNOSTYMULATORY ROŚLINNE

Preparaty jeżówki (*Echinacea* spp.) są jednymi z najczęściej używanych leków ziołowych. Większość ich zastosowań wynika z udokumentowanych właściwości immunostymulujących.

Echinacea spp. należy do rodziny *Compositae*. Spośród 9 znanych gatunków szczególnie dużym zainteresowaniem cieszą się trzy: jeżówka purpurowa (*Echinacea purpurea*), jeżówka biała (*Echinacea pallida*) oraz jeżówka wąskolistna (*Echinacea angustifolia*) [4, 5].

Jeszcze przed jej odkryciem rdzenne ludy Ameryki Północnej (Czarne Stopy, Czejeni, Komancze, Dakota i in.) znały i ceniły właściwości lecznicze jeżówki. Warto wspomnieć, że były one wykorzystywane do leczenia infekcji, ukąszeń węży, drgawek, przy opatrywaniu ran, zwalczaniu gorączki, bólów brzucha. Obecnie preparaty jeżówki wykorzystuje się szeroko na rynkach USA, Kanady, a w Europie w Niemczech [5, 20]. Na przestrzeni lat wielokrotnie donoszono na przemian o działaniu terapeutycznym *Echinacea* bądź braku zasadności użycia preparatów tej rośliny. W 1887 roku jeżówka została wprowadzona do lekospisu Amerykańskiego Towarzystwa Farmaceutycznego. W 1913 r. von Unruh zaobserwował stymulację

fagocytozy prątków gruźlicy przez jeżówkę [65]. W późniejszych latach potwierdzono zdolności aktywacji komórek żernych przez preparaty jeżówki, hamowanie hialuronidazy, udział w generowaniu properdyny i wzrost stosunku limfocytów CD4/CD8 [18, 20, 57].

Szacuje się, że obroty preparatami jeżówki na samym tylko rynku amerykańskim sięgają 300 milionów dolarów rocznie (łącznie: soki wyciskane, ekstrakty, suszone liście i kwiaty) [5].

Krytyczna ocena efektów immunomodulacyjnych jeżówki *in vitro* i *in vivo* nie jest łatwa. Najszerzej opisywany jest efekt stymulacji makrofagów, przejawiający się wzrostem wydzielania toksycznych rodników tlenowych, aktywnością peroksydazy, wydzielaniem tlenku azotu (NO) oraz cytokin: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α [5, 60]. Inną populacją komórek, na które działają preparaty *Echinacea*, są komórki NK – skutkiem jest aktywacja tych komórek [16, 62]. Istotnymi czynnikami mającymi wpływ na właściwości immunomodulacyjne są metody ekstrakcji oraz fakt, z której części rośliny przygotowano preparat [5].

Z jeżówki wyizolowano wiele aktywnych biologicznie związków, z których znaczna część, oprócz właściwości immunostymulujących, działa antyseptycznie i przeciwwzapalnie. Związki te są obecne w różnych ilościach w określonych preparatach, w zależności od metod przygotowania preparatu (wyciągi alkoholowe, wodne, suche ekstrakty), jego źródła (ziele, korzeń), pochodzenia (gatunek jeżówki wybrany do preparatyki), stąd też różne parafarmaceutyki oparte na *Echinacea* (a jest ich na świecie ponad sto) różnią się właściwościami biologicznymi. Najważniejsze ze związków to: alkamidy, polisacharydy (arabinoramnogalaktan, heteroksylany), pochodne kwasu kawowego i chinowego (kwas cykoriowy), glikozydy fenolowe (echinakozyd), flawonoidy (kwercetyna, kempferol, rutozyd) [32, 60]. Poszczególne związki/preparaty mają następujące działanie:

- hydrofilowe ekstrakty – stymulacja fagocytozy, wzrost sekrecji TNF- α , IFN- β , rodników tlenowych [5, 17],
- alkamidy (np. izobutylamid) – udział w stymulacji fagocytozy, inhibicja 5-lipooksygenazy i cyklooksygenazy [5],
- heteroglikany – aktywacja makrofagów u myszy, szczurów i ludzi (np. wzmaganie cytotoksyczności przeciwko komórkom nowotworowym oraz *Candida albicans*, *Leishmania*, *Listeria monocytogenes*) [5, 60],
- kwas cykoriowy – inhibicja hialuronidazy, hamowanie czynności fibroblastów i powstawania kolagenu [5, 43],
- kwas kawowy i echinakozyd – zmiatacze wolnych rodników, chronią błony komórkowe przed oksydacją [5, 43].

Nie wykazano żadnego bezpośredniego wpływu preparatów jeżówki na limfocyty T, natomiast obserwowano pewien słaby wpływ na limfocyty B. Zaobserwowano niewielki wpływ na zahamowanie replikacji wirusa *Herpes in vitro* w hodowli komórek zwierzęcych [58]. Po podaniu domięśniowym lub dożylnym *Echinacea* dochodziło do wzrostu liczby leukocytów u myszy. Efektu tego nie obserwowano po podaniu *per os* [5].

W badaniach klinicznych próbowano szukać różnych zastosowań dla preparatów jeżówki, które potwierdziłyby skuteczność immunomodulacyjną *in vitro* i *in vivo*. W przypadku następujących nowotworów: wątroby, jelita grubego, sutka, nerki, płuc, prostaty, macicy, czy czerniaka, nie odnotowano zmian w aktywności cytokin w surowicy pacjentów ani w czasie przeżycia chorych po stosowaniu tych preparatów [5]. Z kolei Echinacin® hamował nawrót zakażenia w drożdżycy pochwy [5]. W zakażeniach dróg moczowych dochodziło od 10–40% redukcji objawów przy zastosowanym wcześniej leczeniu [5]. W próbach prewencji wywoływanych eksperymentalnie przeziębień przez rynowirusy jeżówka nie zmniejszała zapadalności, nie skracała czasu choroby, ani nie wpływała na jej przebieg [20, 64].

Pojawia się więc pytanie: stosować preparaty jeżówki czy też nie? Mimo pewnych kontrowersji, na to pytanie należy odpowiedzieć raczej twierdząco. Przekonujące jest niedawne doniesienie, o charakterze metaanalizy, podsumowujące kontrolowane badania nad profilaktycznym i leczniczym działaniem preparatów jeżówki w przeziębieniach. Wykazało one 58% spadek zachorowania na typowe przeziębienia oraz skrócenie czasu przeziębienia o 1,4 dnia po stosowaniu preparatów *Echinacea* [56]. Preparaty *Echinacea* są bezpiecznymi lekami ziołowymi, rzadko dającymi reakcje alergiczne. Nie odnotowano zgonów po ich stosowaniu.

Komisja E (departament Ministerstwa Zdrowia Niemiec) ostrzega jednak, by nie zażywać preparatów jeżówki dłużej niż przez 6 tygodni. Wśród przeciwwskazań wymienia się m.in. gruźlicę i stwardnienie rozsiane [5]. Są to chroniczne, postępujące choroby, a mediatory uczestniczące w ich patogenezie mogłyby poddawać się efektom immunomodulacyjnym *Echinacea*.

Jemiola, *Viscum album*, należąca do rodziny *Loranthaceae*, jest półpaszytem rosnącym na drzewach, syntetyzującym własny chlorofil. Jest zależna od gospodarza pod względem zaopatrzenia w wodę i składniki mineralne. W 1916 r. Rudolf Steiner, twórca antropozofii, wprowadził jemiolę do użycia w celach leczniczych w onkologii. Głosił on, iż ciało ludzkie pozostaje pod wpływem różnych sił; niektóre z nich powodują wzrost komórek i ich podziały, a inne kontrolując ten wzrost, tworzą tkanki i organy. Równowaga między tymi siłami stanowi o indywidualnej podatności na nowotwory. *Viscum album* miała hamować te pierwsze, a potęgować drugie [8, 37].

Użytecznymi medycznie częściami rośliny są liście i łodyga [37]. Najważniejsze substancje aktywne izolowane z jemioly to:

- lektyny: VAA-I, -II, -III,
- inne białka: wiskotoksyny: VTA-1, -2, -3,
- poli/oligosacharydy: galakturonian, arabinogalaktan; flawonoidy.

Należy podkreślić, że w przeciwieństwie do jeżówki, wyizolowane z jemioly związki wywierają efekt nie tylko immunostymulujący, ale także bezpośrednio toksyczny (np. na komórki nowotworowe). Stąd też preparaty jemioly wykorzystywane są przede wszystkim w onkologii.

Aglutyniny *Viscum* – VAA (*Viscum album agglutinins*) zawdzięczają swą nazwę aglutynacji erytrocytów ludzkich *in vitro*. Są to toksyny o charakterze lektyn z rodziny RIP (*ribosome-inactivating proteins*) typu II, do której należą również rycyna, abryna, i modecyna. Najważniejszą aglutyniną jest VAA-I. Zbudowana jest

ona z łańcucha A o masie cząsteczkowej 29 kDa oraz łańcucha B o masie cząsteczkowej 34 kDa. Aglutynina ta rozpoznaje i wiąże specyficznie cukrową część glikoprotein, glikolipidów, polisacharydów poprzez łańcuch B, który odpowiedzialny jest również za internalizację. Działający toksycznie łańcuch A jest inaktywatorem syntezy białek w podjednostce 28S RNA [22].

VAA-I *in vitro* działa cytotoksycznie na różne komórki nowotworowe. W zależności od dawki, może indukować apoptozę komórek układu odpornościowego lub je aktywować. Co więcej, różna jest wrażliwość komórek układu odpornościowego na aglutyniny jemioli. VAA-I indukuje apoptozę populacji komórek w kolejności: NK[>]CD19⁺>CD8⁺>CD4⁺. Z drugiej strony, indukuje proliferację komórek progenitorowych hemopoezy. W określonych stężeniach VAA-I wywiera aktywujący wpływ na komórki: monocyty (wzrost zdolności fagocytarnych) oraz granulocyty (zwiększenie syntezy związków tlenowych). Jeżeli chodzi o wpływ na profil wydzielanych cytokin przez komórki odpowiedzi immunologicznej, aglutynina indukuje ekspresję genów dla cytokin: IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , a także GM-CSF i IL-10. Nie zaobserwowano zmian w ekspresji IL-2 i IL-5 [22, 25].

W badaniach *in vivo* na myszach VAA-I ograniczał spadek liczby tymocytów po podaniu glikokortykosteroidów [23]. W badaniach klinicznych zaobserwowano wzrost aktywności komórek NK, Tc, Th oraz stężenia białek ostrej fazy i C3 po wstrzyknięciu podskórnym preparatów jemioli u pacjentów z nowotworami [37].

Wiskotoksyny to małe białka bogate w cysteinę, podobne do tionin, które wchodzą w interakcje z fosfolipidami i wywołują wzrost przepuszczalności błony komórkowej. Wykazano, że przyspieszają lizę komórek nowotworowych przez komórki NK. Aktywują limfocyty T $\gamma\delta$ *in vitro* [61].

Ilość oraz biologiczna aktywność substancji izolowanych z jemioli zależą od drzewa-gospodarza, procesu przetwórczego oraz czasu zbioru. Preparaty stosowane to:

- Iscador: IscadorM (jabłoń), IscadorP (sosna), IscadorQ (dąb), IscadorU (wiąz),
- Helixor: HelixorA (świerk), HelixorM (jabłoń), HelixorP (sosna),
- Eurixor (topola).

Szereg badań *in vitro* wykazało bezpośredni efekt cytotoksyczny preparatów jemioli lub izolowanych związków na komórki nowotworowe. Ekstrakty jemioli działały cytotoksycznie na linie nowotworowe Hep-2 i Molt 4 [52, 54]. VAA-I, -II i -III wywierał efekt cytotoksyczny na 6 linii ludzkiego raka sutka oraz hamował wzrost komórek białaczkowych [53, 55]. W innych badaniach eksperymentalnych *in vivo* ekstrakty jemioli hamowały przerzuty czerniaka i powodowały wolniejszy wzrost glejaka [2, 36]. W badaniach klinicznych, w zaawansowanych nowotworach, np. gruczolakoraku nerki o wysokiej złośliwości histopatologicznej (G IV), nie odnotowano żadnego efektu preparatów jemioli, natomiast VAA-I wydłużał czas przeżycia pacjentów z rakiem jelita grubego w porównaniu z grupą kontrolną [8, 30].

IMMUNOSTYMULATORY IZOLOWANE Z GRZYBÓW

Liczba gatunków grzybów na Ziemi szacowana jest na 140 000, z czego tylko około 10% zostało poznanych. Z tej liczby 50% jest jadalna, 700 uznaje się, że ma użyteczne właściwości farmakologiczne, a 651 ma metabolity działające przeciwnowotworowo bądź immunostymulująco. Roczne dochody na świecie z wzbogacania diety grzybami szacuje się na 5–6 miliardów dolarów. Pod tym względem przodują Korea, Chiny, Japonia, Rosja [38, 68].

Immunologicznie czynne składniki grzybów to głównie polisacharydy (β -D-glukany) [12]. W odpowiedzi przeciwnowotworowej istotne znaczenie ma struktura oraz masa cząsteczkowa (cięższe mają przewagę nad lekkimi). Glukany grzybów oddziałują na komórki układu odpornościowego po związaniu przez określone receptory. W grupie tej mieszczą się między innymi: CD11b/CD18 (CR3), laktozylo-ceramid, receptory zmiatacze, TLR2, TLR4 oraz Mac-1 [12, 38].

Inne związki izolowane z grzybów mające działanie immunomodulacyjne to polisacharydopeptydy oraz proteiny [12, 38]. Najszerzej stosowane w medycynie glukany to:

- lentinan (LTN), izolowany z *Lentinus edodes* (Shiitake, twardziak jadalny),
- krestin (PSK), izolowany z *Coriolus versicolor* (wrośniak różnobarwny),
- schizofylan (SPG), izolowany z *Schizophyllum commune* (rozszczepka pospolita).

Najdłużej obecne są na rynku japońskim, tam też wprowadzane są do kliniki [48].

Lentinan jest β -1,3-D-glukanem, został opisany jako adiuwant ukierunkowany na limfocyty T [67]. Wzmaga proliferację limfocytów T w odpowiedzi na mitogen konkanawalinę A [38, 67]. Przesuwa równowagę Th1/2 w kierunku Th1 poprzez znaczący wzrost produkcji IL-12 [38]. Wpływa również na monocyty/makrofagi – wzmaga fagocytozę i poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B zwiększa wydzielanie cytokin (szczególnie TNF- α , zarówno *in vitro*, jak *in vivo*) [24, 29]. Aktywujący wpływ lentinanu obserwowano również na populację komórek NK [62]. Lentinan wykazywał także właściwości hamowania układu dopełniacza [38].

W badaniach klinicznych lentinan stymulował odnowę zniszczonego naświetlaniem szpiku [38]. Przedłużał także przeżycie pacjentów z nieoperacyjnymi nowotworami żołądka po zastosowaniu łącznie z chemioterapią [24]. Zmniejszał również efekty uboczne chemioterapeutyków [38].

Lentinan jest nieaktywny doustnie [24]. Dzięki użyciu technik nanotechnologii, które umożliwiają zmniejszenie cząsteczki tego związku do wymiarów zapewniających przejście przez śluzówkę jelita, istnieją sugestie, że może dawać korzystne efekty u pacjentów z alergią, m.in. wywołując spadek IgE, poprzez polaryzację limfocytów w kierunku Th1 przy stosowaniu doustnym [24, 38]. Ostatnio uzyskano pozytywne efekty zastosowania odpowiednio zmodyfikowanej, małowcząsteczkowej formy lentinanu w leczeniu alergii [69].

Krestin (PSK) stanowi polisacharydową frakcję grzyba *Coriolus versicolor*. Wpływa na dojrzewanie fenotypowe i funkcjonalne komórek dendrytycznych z ludzkich komórek CD14⁺. Efekt wywierają jedynie frakcje cięższe niż 100 kDa [47]. W Japonii stosowany jest w onkologii, np. w leczeniu uzupełniającym z chemioterapią (tegafur + uracyl) po operacji raka jelita grubego [15].

Schizofylian (SPG) to stymulator odpowiedzi nie tylko humoralnej, ale i komórkowej [68]. Cechuje się silną aktywacją komórek żernych: powoduje wzrost produkcji reaktywnych związków tlenu, cytokin pozapalnych: IL-6, IL-8 oraz TNF- α , a także zwiększa ekspresję cząsteczek CD11b i CD69L na leukocytach i monocytach [14, 31]. Schizofylian ma potencjalne zastosowanie w onkologii.

PODSUMOWANIE

Przedstawione informacje ilustrują immunomodulujące właściwości związków pochodzenia bakteryjnego, roślinnego oraz izolowanych z grzybów. Odkrycie i identyfikacja nowych bezpiecznych leków, pozbawionych efektów ubocznych, stały się celem badań nauk biomedycznych w wielu ośrodkach. Wymienione preparaty cechują się różnorodnością właściwości modulacji układu odpornościowego. Z reguły właściwości immunostymulujące omawianych preparatów są słabe, co powoduje, że stosowane są one jako uzupełnienie standardowego leczenia.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ALEXANDER C, RIETSCHER ET. Bacterial lipopolisaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res* 2001; **7**: 167–202.
- [2] ANTONY S, KUTTAN R, KUTTAN G. Effect of *Viscum album* in the inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res* 1997; **16**: 159–162.
- [3] ASTRAKIANAKIS G, SEIXAS NS, RAY R, CAMP JE, GAO DL, FENG Z, LI W, WERNLI KJ, FITZGIBBONS ED, THOMAS DB, CHECKOWAY H. Lung cancer risk among female textile workers exposed to endotoxin. *J Natl Cancer Inst* 2007; **99**: 357–364.
- [4] BAŁAN BJ, NARTOWSKA J, SKOPIŃSKA-RÓŻEWSKA E, MIERZWIŃSKA E, SOMMER E, SOKOLNICKA I, DEMKOW U, WASIUTYŃSKI A. Wpływ wyciągów *Echinacea purpurea* na reakcje odpornościowe oraz procesy angiogenezy. W: Endogenne i egzogenne modulatory odporności i angiogenezy. Olsztyn, Studio Przygotowawcze Wydawnictw Edycja 2007.
- [5] BARETT B. Medicinal properties of *Echinacea*: A critical review. *Phytomedicine* 2003; **10**: 66–86.
- [6] BEGUM NA, ISHII K, KURITA-TANIGUCHI M, TANABE M, KOBAYASHI M, MORIWAKI Y, MATSUMOTO M, FUKUMORI Y, AZUMA I, TOYOSHIMA K, SEYA T. *Mycobacterium bovis* BCG cell wall-specific differentially expressed genes identified by differential display and cDNA subtraction in human macrophages. *Infect Immun* 2004; **72**: 937–948.
- [7] BEUTLER B, RIETSCHER ET. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nature Reviews* 2003; **3**: 169–176.
- [8] BRAUN J M, KO HL, SCHIERHOLZ JM, WEIR D, BLACKWELL CC, BEUTH J. Applications of standardized mistletoe extracts augment immune response and down regulates metastatic organ colonization in murine models. *Cancer Letters* 2001; **170**: 25–31.

- [9] BRAUN-FAHRLANDER C, RIEDLER J, HERZ U, EDER W, WASER M, GRIZE L, MAISCH S, CARR D, GERLACH F, BUFE A, LAUENER RP, SCHIERL R, RENZ H, NOWAK D, VON MUTIUS E. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; **347**: 869–877.
- [10] BRETTON PR, HERR HW, KIMMEL M et al. The response of patients with superficial bladder cancer to a second course of intravesical *bacillus Calmette-Guérin*. *J Urol* 1990; **143**: 710–712.
- [11] BROCK GT, MCNISH RW, MANCUSO P, COFFEY MJ, PETERS-GOLDEN M. Prolonged lipopolysaccharide inhibits leukotriene synthesis in peritoneal macrophages: mediation by nitric oxide and prostaglandins. *Prostaglandins and other Lipid mediators* 2003; **71**: 131–145.
- [12] BROWN G, GORDON S. Fungal β -glucans and mammalian immunity. *Immunity* 2003; **19**: 311–315.
- [13] COE JE, FELDMAN JD. Extracutaneous delayed hypersensitivity, particularly in guinea pig bladder. *Immunology* 1966; **10**: 127–136.
- [14] FALCH BH, ESPEVIK T, RYAN L, STOKKE BT. The cytokine stimulating activity of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucans is dependent on the triple helix formation. *Carbohydr Res* 2000; **329**: 587–596.
- [15] FUJITA H, OGAWA K, IKUZAWA M, MUTO S, MATSUKI M, NAKAJIMA S, SHIMAMURA M, TOGAWA M, YOSHIKUMI C, KAWAI Y. Effects of krestin PSK on drug-metabolizing enzymes with special reference to the activation of FT-201. *Gan To Kagaku Ryoho* 1986; **13**: 2653–2657.
- [16] GAN X H, ZHANG L, HEBER D, BONAVIDA B. Mechanisms of activation of human peripheral blood NK cells at the single cell level by *Echinacea* water soluble extracts: recruitment of lymphocyte-target conjugates and killer cells and activation of programming for lysis. *International Immunopharmacology* 2003; **3**: 811–824.
- [17] GOEL V, CHANG C, SLAMA JV, BARTON R, BAUER R, GAHLER R, BASU TK. Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *Int Immunopharmacol* 2002; **2**: 381–387.
- [18] GOEL V, CHANG C, SLAMA JV, BARTON R, BAUER R, GAHLER R, BASU TK. *Echinacea* stimulates macrophage function in the lung and spleen of normal rats. *J Nutritional Biochem* 2002; **13**: 487–492.
- [19] GOTO S, SAKAI S, KERA J, SUMA Y, SOMA G-I, TAKEUCHI S. Intradermal administration of lipopolysaccharide in treatment of human cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1996; **42**: 255–261.
- [20] GRIM W, MULLER HH. A randomized controlled trial of the effect of fluid extract of *Echinacea purpurea* on the incidence and severity of colds and respiratory infections. *Am J Med* 1999; **106**: 138–143.
- [21] HAAFF EO, CATALONA WJ, RATCLIFFE TL. Detection of interleukin 2 in the urine of patients with superficial bladder tumors after treatment with intravesical BCG. *J Urol* 1986; **136**: 970–974.
- [22] HAJTO T, HOSTANSKA K, BERKI T, PALINKAS L, BOLDIZSAR F, NEMETH P. Oncopharmacological perspectives of a plant lectin: overview of recent results from *in vitro* experiments and *in vivo* animal models, and their possible relevance for clinical applications. *eCAM* 2005; **2**: 59–67.
- [23] HAJTO T, BERKI T, PALINKAS L, BOLDIZSAR F, NEMETH P. Effects of mistletoe extract on murine thymocytes *in vivo* and on glucocorticoid-induced cell count reduction. *Forsch Komplementarmed* 2006; **13**: 22–27.
- [24] HAMURO J. Anticancer immunotherapy with perorally effective lentinan. *Gan To Kagaku Ryoho* 2005; **32**: 1209–1215.
- [25] HARMSMA M, GROMME M, UMMELN M, DIGNEF W, TUSENIUS KJ, RAMAEKERS FC. Differential effects of *Viscum album* extract IscadorQ on cell cycle progression and apoptosis in cancer cells. *Int J Oncol* 2004; **25**: 1521–1529.
- [26] AN H, XU H, YU Y, ZHANG M, QIR, YAN X, LIU S, WANG W, GUO Z, QIN Z, CAO X. Up-regulation of TLR9 gene expression by LPS in mouse macrophages via activation of NF- κ B, ERK and p38 MAPK signal pathways. *Immunology Letters* 2002; **81**: 165–169.
- [27] JANSSON OT, MORCOS E, BRUNDIN L, LUNDBERG JO, ADOLFSSON J, SODERHALL M, WIKLUND NP. The role of nitric oxide in bacillus Calmette-Guérin mediated anti-tumour effects in human bladder cancer. *Br J Cancer* 1998; **78**: 588–592.
- [28] KAISHO T, AKIRA S. Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2006; **117**: 979–987.
- [29] KEREKGYARTO C, VIRAG L, TANKO L, CHIHARA G, FACHET J. Strain differences in the cytotoxic activity and TNF production of murine macrophages stimulated by lentinan. *Int J Immunopharmacol* 1996; **18**: 347–353.

- [30] KJAER M. Mistletoe (Iscador) Therapy in Stage IV Renal Adenocarcinoma. *Acta Oncologica* 1989; **28**: 489–494.
- [31] KUBALA J, RUZICKOVA J, NICKOVA K, SANDULA J, CIZ M, LOJEK A. The effect of (1→3)-beta-D-glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes *in vitro*. *Carbohydr Res* 2003; **338**: 2835–2840.
- [32] LAMER-ZARAWSKA E. Leki roślinne immunotropowe i adaptogenne. *Wiad Lekarskie* 1997; **10**: 1–7.
- [33] LAMM DL, THOR DE, HARRIS SC. BCG immunotherapy of superficial bladder cancer. *J Urol* 1980; **124**: 38–40.
- [34] LAMM DL, BLUMENSTEIN BA, CRISSMAN JD. Maintenance *bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy for recurrent Ta,T1 and carcinoma *in situ* TCC of the bladder: A randomized SWOG study. *J Urol* 2000; **163**: 1124–1129.
- [35] LANZAVECCHIA A, SALLUSTRO F. Toll-like receptors and innate immunity in B-cell activation and antibody responses. *Curr Opin Immunol* 2007; **19**: 268–274.
- [36] LENARTZ D, ANDERMAHR J, PLUM G, MENZEL J, BEUTH J. Efficiency of treatment with galactose-specific lectin from mistletoe against rat glioma. *Anticancer Research* 1998; **18**: 1011–1014.
- [37] LOEPER M E. Mistletoe (*Viscum album* L.). *Long Herb Task Force* 1999; **10**: 1–15.
- [38] LULL C, WICHERS H J, SVELKOUK HFJ. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. *Mediators of inflammation* 2005; **2**: 63–80.
- [39] MACKENSEN A, GALANOS C, ENGELHARDT R. Modulating activity of interferon- γ on endotoxin-induced cytokine production in cancer patients. *Blood* 1991; **78**: 3254–3258.
- [40] MAJEWSKA M, SZCZEPANIK M. Rola receptorów toll-podobnych w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Post Hig Med Dośw* 2006; **60**: 52–63.
- [41] MATHE G, AMIEL JL, SCHWARZENBURG L. Active immunotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 1969; **i**: 697–699.
- [42] MEYER J-P, PERSAD R, GILLATT DA. Use of *bacilli Calmette-Guérin* in superficial bladder cancer. *Postgrad Med J* 2002; **78**: 449–454.
- [43] MISHIMA S, SAITO K, MARUYAMA H, INOUE M, YAMASHITA T, ISHIDA T, GU Y. Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea*. *Biol Pharm Bull* 2004; **27**: 1004–1009.
- [44] MIYAZAKI J, KAWAI K, OIKAWA T, JOHRAKU A, HATTORI K, SHIMAZUI, AKAZA H. Uroepithelial cells can directly respond to *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin* through Toll-like receptor signaling. *Brit J Urol* 2006; **97**: 860–864.
- [45] MORTON DL, EILBER FR, HOLMES EC, HUNT JS, KETCHAM AS, SILVERSTEIN MJ, SPARKS FC. BCG immunotherapy of malignant melanoma: summary of a seven-year experience. *Ann Surg* 1974; **180**: 635–641.
- [46] MORALES A, NICKEL JC, WILSON JW. Dose response of *bacillus Calmette-Guérin* in the treatment of superficial bladder cancer. *J Urol* 1992; **157**: 1256–1258.
- [47] NIO Y, SHIRAIISHI T, TSUBONO M, MORIMOTO H, TSENG CC, IMAI S, TOBE T. *In vitro* immunomodulating effect of protein-bound polysaccharide PSK on peripheral blood, regional nodes, and spleen lymphocytes in patients with gastric cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1991; **32**: 335–341.
- [48] OOI VE, LIU F. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Curr Med Chem* 2000; **7**: 715–729.
- [49] PADOVAN E, LANDMANN RM. How pattern recognition receptor triggering influences T cell responses: a new look into the system. *Trends Immunol* 2007; **28**: 308–314.
- [50] PEARL R. *Cancer and tuberculosis* 1929; **9**: 97–159.
- [51] PRESCOTT SJK, HARGREAVE TB, CHISHOLM GD, ET AL. Intravesical Evans strain BCG therapy: Quantitative immunohistochemical analysis of the immune response within the bladder wall. *J Urol* 1992; **147**: 1636–1642.
- [52] RIBEREAU-GAYON G, JUNG ML, DISCALA D, BECK J, ANTON R. Identity of the N-terminal sequences of the three A chains of mistletoe (*Viscum album* L.) lectins: homology with ricin-like plant toxins and single-chain ribosome-inhibiting proteins. *Anticancer Drugs* 1992; **3**: 507–511.
- [53] RIBEREAU-GAYON G, JUNG M, FRANTZ M, ANTON R. Modulation of cytotoxicity and enhancement of cytokine release induced by *Viscum album* L. extracts or mistletoe lectins. *Anticancer Drugs* 1997; **8**: s3–s8.
- [54] SAENZ M, AHUMADA M, GARCIA M. Extracts from *Viscum* and *Cratageus* are cytotoxic against larynx cancer cells. *Z Naturforsch* 1997; **52**: 42–44.

- [55] SCHUMACHER U, STAMOULI A, ADAM E, PEDDIE M, PFULLER U. Biochemical, histochemical and cell biological investigations on the actions of mistletoe lectins I, II and III with human breast cancer cell lines. *Glycoconj* 1995; **12**: 250–257.
- [56] SHAH SA, SANDER S, WHITE CM, RINALDI M, COLEMAN CI. Evaluation of Echinacea for the prevention and treatment of the common cold: a meta analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; **7**: 473–480.
- [57] SKOPIŃSKA-RÓŻEWSKA E, SOKOLNICKA I, RADOMSKA-LEŚNIEWSKA D, RADOMSKA-LEŚNIEWSKA D, KAPAŁKA B, SOMMER E, BIAŁAS-CHROMIEC B, FILEWSKA M, DEMKOW U. The *in vivo* effect of *Echinacea purpurea* succus on various functions of human blood leukocytes. *Centr Eur J Immunol* 2003; **28**: 126–130.
- [58] SKWAREK T, TYNECKA Z, GLOWNIAK K, LUTOSTANSKA E. *Echinacea* L. – Inducer of interferons. *Herba Polonica* 1996; **42**: 110–117.
- [59] STARNES CO. Coley's toxins in perspective. *Nature* 1992; **357**: 11–12.
- [60] STIMPEL M, PROKSCH A, WAGNER H, LOHMANN-MATTHES ML. Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. *Infection and Immunity* 1984; **3**: 845–849.
- [61] TABIASCO J, PONT F, FOURNIE JJ, VERCELLONE A. Mistletoe viscotoxins increase natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Eur J Biochem* 2002; **269**: 2591–2600.
- [62] TAKEDA K, OKUMURA K. CAM and NK cells. *eCAM* 2004; **1**: 17–27.
- [63] TANIGUCHI K, KOGA S, NISHIKIDO M. Systemic immune response after intravesical instillation of bacille Calmette-Guérin (BCG) for superficial bladder cancer. *Clin Exp Immunol* 1999; **115**: 131–135.
- [64] TURNER R B, BAUER R, WOELKART K, HULSEY TC, GANGEMI JD. An evaluation of *Echinacea angustifolia* in experimental Rhinovirus infections. *N Engl J Med* 2005; **353**: 341–348.
- [65] VON UNRUH V. *Achinacea angustifolia* and *Inula helenium* in the treatment of tuberculosis. *NEMA* 1913; 63–75 (wg [5]).
- [66] WALSH P C ET AL. Campbell's Urology. Eight edition 2002; **4**: 2789–2792.
- [67] WANG GL, LIN ZB. The immunomodulatory effect of lentinan. *Yao Xue Xue Bao* 1996; **31**: 86–90.
- [68] WASSER SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 2002; **60**: 258–274.
- [69] YAMADA J, HAMURO J, HATANAKA H, HAMABATA K, KINOSHITA S. Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine β -1,3-glucan: A randomized study. *J Allergy Clin Immunol* 2007; **119**: 1119–1126.
- [70] ZHAO W, SCHOREY JS, GROGER R. Characterization of the fibronectin binding motif for a unique mycobacterial fibronectin attachment protein, *FAP*. *J Bio Chem* 1999; **19**: 4521–4526.
- [71] ZLOTTA AR DROWART A, VAN VOOREN JP, SHEKARSARAI H, DE COCK M, PIRSON M, PALFLIET K, JURION F, SIMON J, SCHULMAN CC, HUYGEN K. Superficial bladder tumors and increased reactivity against mycobacterial antigens before *Bacillus Calmette-Guerin* therapy. *J Urol* 1998; **159**: 1885–1891.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 19.09. 2007 r.

Przyjęto: 25.09. 2007 r.

ul. Banacha 1a, Blok F, 02-097 Warszawa

e-mail: wlasek@ib.amwaw.edu.pl