

Ocena aktywności immunomodulującej wyciągu alkoholowego z pędów, liści, biomasy komórkowej z kultury zawieszinowej oraz frakcji saponin *Polyscias filicifolia*

Jadwiga Marczevska¹, Janina Drozd¹, Ewa Karwicka¹, Elżbieta Anuszewska¹, Anita Śliwińska², Olga Olszowska², Alexander Nosov³

¹ Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków Narodowy Instytut Leków, Warszawa

² Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

³ Instytut Fizjologii Roślin, Rosyjska Akademia Nauk, Moskwa

Adres do korespondencji: Jadwiga Marczevska, Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków Narodowy Instytut Leków, ul. Chetmska 30/34, 00-725 Warszawa, e-mail: jagodazlw@il.waw.pl

Pomimo stosowania w lecznictwie od setek lat wielu gatunków roślin w celu zapobiegania lub leczenia chorób, współczesnej medycynie brakuje dostatecznej liczby dowodów potwierdzających ich działanie. Tak więc istnieje potrzeba przeprowadzania badań potwierdzających możliwość zastosowania surowców roślinnych, jako potencjalnych surowców farmaceutycznych.

Polyscias filicifolia z rodziny *Araliaceae* należy do rodzaju *Polyscias*, obejmującego około 150 gatunków wiecznie zielonych, zarówno krzewów, jak i dużych drzew. W naturalnych warunkach gatunki *Polyscias* występują w subtropikalnej i tropikalnej strefie klimatycznej. Niektóre z nich są hodowane ze względu na swoje walory ozdobne bądź lecznicze. Z dostępnego piśmiennictwa wiadomo, że gatunki z rodzaju *Polyscias* stanowią bogate źródło saponin triterpenowych pochodzących z β -amaryny. Najlepiej poznanym gatunkiem jest *Polyscias fruticosa*, którego liście i korzenie znalazły zastosowanie w medycynie do wytwarzania produktów o działaniu tonizującym, moczopędnym, przeciwbakteryjnym, przeciwgorączkowym i przeciwbólowym [1]. Znany od dawna w tradycyjnej medycynie Azji Południowo-Wschodniej jest gatunek *Polyscias filicifolia*, zaliczany do roślin o właściwościach adaptogennych i wzmacniających odporność. Gatunek ten wprowadzono do Farmakopei Wietnamskiej jako surowiec farmaceutyczny o działaniu tonizującym i wzmacniającym serce [2].

W 1996 r. produkt „Vitagmal” firmy SMC „Biofarmatox” z Sankt Petersburga, zawierający ekstrakt

Evaluation of the immunomodulating activity of *Polyscias filicifolia* extracts from dried shoots, leaves, cell biomass from suspension culture and saponin fraction

Polyscias filicifolia belonging to the *Araliaceae* family is a plant of adaptogenic and immunomodulating properties. This species is native to Southeast Asia and in our climate zone it is known only as an ornamental pot plant. Since *P. filicifolia* is rare in the wild and it is difficult to obtain its seeds, in the Department of Biology and Pharmaceutical Botany of the Medical University of Warsaw a method of *in vitro* propagation was elaborated. In Russia extracts of cell biomass from *P. filicifolia* suspension cultures grown in bioreactors are used as an adaptogenic and immunostimulating preparation. The aim of the study was to evaluate the activity of *Polyscias filicifolia* extracts from dried shoots, leaves, cell biomass and the fraction of triterpene saponines from dry shoots by testing their effect on the survival rate of mouse thymocytes cultured with hydrocortisone in cytotoxicity test; the increase of the ability of splenocytes to attach to sheep erythrocytes in E-rosette test; increase of IgM + IgG and IgG antibodies level in mouse serum in hemagglutination test. The obtained results indicate that tested extracts of *P. filicifolia* and the saponin fraction show immunomodulating activity. However the obtained results may suggest diversification concerning the quantity and quality of biologically active substances present in tested *Polyscias filicifolia* extracts. We can suppose that the triterpene saponines fraction is not the main factor determining the immunomodulating activity of the extracts. Confirmation of the immunomodulating activity of tested *Polyscias filicifolia* extracts suggests that they may be further used in medical practice.

Keywords: *Polyscias filicifolia*, immunomodulation, triterpene saponines, extracts of plants.

© Farm Pol, 2010, 66(8): 531-535

z *Polyscias filicifolia*, został dopuszczony w Rosji do obrotu jako suplement diety o działaniu tonizującym, przeciwstresowym i immunomodulującym [3].

Ponieważ rośliny *P. filicifolia* rzadko zawiązują żywotne nasiona, w Katedrze i Zakładzie Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego opracowano metodę mikrorozmnażania roślin tego gatunku, co umożliwiła uzyskiwanie dużej ilości materiału roślinnego do badań fitochemicznych i biologicznych. Z pochodzących z kultur *in vitro* pędów i liści oraz z biomasy komórkowej przygotowano wyciągi alkoholowe. Ponadto z pędów rosnących *in vitro* otrzymano frakcję saponin triterpenowych.

Saponiny to grupa związków chemicznych należących do glikozydów, wykazujących działanie lecznicze: moczopędne, wzmagające wydzielanie śluzu i procesów wchłaniania składników pokarmowych do krwi. Wykazują także działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe i pierwotniakobójcze [4]. Pobudzają wydzielanie soku żółtkowego i żółci oraz mogą obniżać poziom cholesterolu. Przyłączając się do cholesterolu tworzą stosunkowo stabilne związki, aktywne farmakologicznie. Saponiny mają zdolność wiązania wielu toksyn i metabolitów, dlatego wpływają na proces detoksykacji organizmu, są tzw. składnikami czyszczącymi krew.

Celem pracy była ocena wpływu immunomodulującego wyciągów z wysuszonych pędów, liści, biomasy komórkowej z kultur *in vitro* oraz frakcji saponin triterpenowych uzyskanej z suchych pędów. Biomasa komórkową otrzymano od prof. A. Nosowa z Instytutu Fizjologii Roślin Rosyjskiej Akademii Nauk.

Działanie immunomodulujące ekstraktów i frakcji saponinowej określano na podstawie przeżywalności tymocytów myszy w hodowlach z hydrokortyzonem w teście cytotoxyczności; zwiększenia ilości splenocytów tworzących spontaniczne rozety w teście tworzenia rozet E oraz wzrostu ilości immunoglobulin klas IgM + IgG oraz IgG w surowicy krwi myszy w teście hemaglutynacji czynnej.

Materiał i metody

Zwierzęta:

Do doświadczeń używano myszy, samic szczepu wsobnego Balb-c, 4-tygodniowe, o wadze około 16 g – w teście cytotoxyczności, zaś 6–8-tygodniowe o wadze około 20 g – w teście hemaglutynacji czynnej i w teście tworzenia rozet.

Zwierzęta pozyskiwano z hodowli Państwowego Zakładu Higieny.

Doświadczenia na zwierzętach wykonano za zgodą Komisji Etycznej nr 29/2009.

Płyny hodowlane:

Podłoże hodowlane RPMI-1640, zawierające Hesperes 20 mM/l, PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej, płyn Hanksa (z 0,5% dodatkiem hydrolizatu laktoalbuminy), IITD Wrocław.

Odczynniki:

Hydrokortyzon – (Corhydron) (HC) 100 mg, prozек i rozpuszczalnik, Jelfa.

Krwinki czerwone owcy (SRBC), Biomed, stabilizowane w płynie Alsewera o składzie: glukoza (POCH), cytrynian sodu (POCH), chlorek sodu (POCH), kwas cytrynowy (POCH).

Surowica cielęca płodowa, Bioprodukt

Błękit trypanu, fiolet krystaliczny, Merck

Gradisol L o gęstości 1,077 g/ml, Aqua Medica

Surowce roślinne:

Wyciągi z wysuszonych pędów (A) i wysuszonych liści (B) *Polyscias filicifolia*, wyciąg z biomasy komórkowej (C) *Polyscias filicifolia* oraz frakcję saponin triterpenowych z suchych pędów (D) *Polyscias filicifolia* otrzymano z Katedry i Zakładu Biologii i Botaniki Farmaceutycznej WUM.

Test cytotoxyczności

W teście oceniany jest wpływ badanych wyciągów na przeżywalność tymocytów myszy w 18–20-godzinnych hodowlach z hydrokortyzonem [5].

Test przeprowadzano w warunkach jałowych. Czterotygodniowe myszy uśmiercano Narcotanem i pobierano jałowo grasice, które następnie przecierano przez metalowe sito o średnicy oczek około 300 µm. Otrzymane z rozdrobnionych grasic tymocyty trzykrotnie płukano RPMI-1640 i wirowano 7–8 minut przy prędkości 1800 obrotów/minutę. Następnie tymocyty zawieszano w RPMI z dodatkiem 10% płodowej surowicy cielęcej, tak aby uzyskać zawiesinę 4×10⁶ komórek w ml. Zawiesinę tymocytów rozlewano do jałowych probówek po 1 ml i dodawano odpowiednie stężenia wyciągów. Wyciąg z suchych pędów (A) badano w zakresie stężeń 7,81–62,5 µg/ml, wyciąg z liści (B) w zakresie od 31,25 do 125 µg/ml zaś wyciąg z biomasy komórkowej (C) i frakcję saponin z suchych pędów (D) badano w zakresie stężeń 15,62–125 µg/ml. Po upływie 1 godziny dodawano hydrokortyzon HC, w dawce 50 µg/ 1 ml hodowli tymocytów. Tak przygotowane próby inkubowano przez 18–20 godzin w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Po inkubacji i zabarwieniu 0,04% błękitem trypanu, obliczono w każdej hodowli liczbę żywych i martwych komórek. Stosowano hodowle, w których ilość żywych tymocytów stanowiła od 80–95% wszystkich komórek, zarówno żywych, jak i martwych. Wyniki uzyskane w hodowlach prób badanych przedstawiono jako procentowy wzrost lub spadek liczby żywych komórek w stosunku do kontroli, uznanej za 100%.

Test hemaglutynacji czynnej

W teście hemaglutynacji wykorzystuje się reakcję swoistego łączenia przeciwciał z erytrocytami jako antygenem. Komórki łącząc się ze swoistymi przeciwciałami, tworzą kompleksy i wypadają z zawiesiny reakcyjnej w postaci kłaczków.

Do badań w teście hemaglutynacji czynnej i teście tworzenia rozet E wybrano stężenia wyciągów badanych, w obecności których obserwowano najwyższy efekt ochronny na przeżywalność tymocytów myszy.

Test wykonano zgodnie z metodą opisaną przez Adlera [6] z własną modyfikacją [7].

Myszom 6–8-tygodniowym podano dootrzewnowo jednorazową dawkę 0,2 ml 10% zawiesiny SRBC w PBS. Badane wyciągi: z wysuszonych pędów (A), liści (B), biomasy komórkowej (C) i frakcji saponin triterpenowych z suchych pędów (D) odpowiednio w stężeniu: 15,62 µg/mysz, 62,5 µg/mysz, 62,5 µg/mysz i 31,25 µg/mysz podawano podskórnie przez kolejne 5 dni. W 5. dniu po immunizacji myszy usypiano Narcotanem, skrwawiono i separowano surowice [8].

W celu inaktywacji dopełniacza surowice umieszczano w łaźni wodnej, w temperaturze 56°C na 30 minut.

Aby wyodrębnić klasy immunoglobulin IgG+ IgM i IgG, surowice bez dopełniacza dzielono na dwie grupy A i B.

W surowicach grupy A oznaczano poziom przeciwciał klasy IgG, zaś w surowicach grupy B poziom przeciwciał klas IgM i IgG. Surowice z grupy A w celu destrukcji immunoglobulin klasy IgM wstępnie poddano działaniu 0,1 M DMSO w temperaturze 37°C przez 30 min.

Do przygotowanych na mikroptłkach kolejnych rozcieńczeń surowic grupy A i B dodawano 1% zawiesinę SRBC i inkubowano przez 2 godziny w 37°C, a następnie umieszczano w temperaturze 4°C na 18–20 godzin.

Za miano aglutynacyjne surowicy (szacunkowa ilość przeciwciał w surowicy) uważa się największe rozcieńczenie surowicy, w którym obserwowana jest jeszcze aglutynacja.

Wszystkie otrzymane wyniki po zlogarytmowaniu poddano ocenie statystycznej stosując program komputerowy Medistat [9], obliczono SE – standardowy błąd średniej oraz statystyczną istotność różnic dla dwóch prób powiązanych.

Test rozetowy

Przyjmuje się, że wszystkie limfocyty T mają receptory dla krwinek czerwonych owcy [10, 11]. Zdolność limfocytów T do łączenia się z krwinkami owcy i tworzenia z nimi spontanicznych rozet (tzw. rozety E) zależy od wiązania się struktur glikolipidowych na powierzchni błony komórkowej limfocytów z lipidami powierzchniowymi krwinek czerwonych owcy. Odkrycie zjawiska spontanicznego tworzenia rozet przez

komórki śledziony myszy w środowisku czerwonych krwinek barana stało się podstawą do opracowania testu analitycznego do badania aktywności limfocytów T w warunkach laboratoryjnych [7].

W czasie przeprowadzania testu zarówno wszystkie badane próby, jak i wykorzystywane podłoża były przechowywane w lodzie. Przy wirowaniu wykorzystano wirówkę z chłodzeniem.

Myszy wykorzystane w teście hemaglutynacji były również źródłem splenocytów. Zwierzęta jednorazowo immunizowano dawką 0,2 ml 10% zawiesiny SRBC w PBS.

Otrzymane ze śledziony splenocyty homogenizowano, nawarstwiano na Gradisol L o gęstości 1,077 g/ml i wirowano 15 minut przy 3000 obr./min. Uzyskane z granicy faz limfocyty dwukrotnie ptukano w płynie Hanksa, ponownie wirowano i zawieszano w podłożu, uzyskując końcową liczbę komórek 2×10^6 w 1 ml hodowli. Następnie do hodowli splenocytów dodawano 1% zawiesiny SRBC w płynie Hanksa. Po 15 minutowej inkubacji w temperaturze 37°C hodowle umieszczano na 20 godzin w temperaturze 4°C. Po zabarwieniu 0,1% roztworem fioletu krystalicznego, zliczano pod mikroskopem odsetek splenocytów, wokół których utworzyły się rozety.

Za rozetę uważano splenocyt ściśle otoczony, co najmniej trzema erytrocytami owcy.

Wszystkie otrzymane wyniki poddano ocenie statystycznej stosując program komputerowy Medistat [9], obliczono SE – standardowy błąd średniej oraz statystyczną istotność różnic dla dwóch prób powiązanych.

Omówienie wyników:

Do oceny działania immunomodulującego wybrano trzy testy *in vivo/in vitro*: test tworzenia rozet E oraz test cytotoksyczności, dające informacje o odpowiedzi komórkowej, natomiast do oceny odpowiedzi humoralnej zastosowano test hemaglutynacji czynnej.

Wyniki uzyskane w testach przedstawiono w **tabelach 1–3**.

W teście cytotoksyczności wykorzystuje się fakt, że niedojrzałe tymocyty posiadają na swojej powierzchni receptory dla sterydów, przez co są wrażliwe na lityczne działanie hydrokortyzonu, który indukuje aktywny proces autodestrukcji, wywołując apoptozę [12, 13]. Podczas dojrzewania i nabywania przez limfocyty kompetencji immunologicznych, komórki tracą te receptory i stają się sterydooporne. Hodowle tymocytów są dobrym modelem doświadczalnym dla szybkiego testowania różnych czynników, mogących przyspieszać dojrzewanie limfocytów T, a więc wywierających działanie tymomimetyczne, podobne do działania hormonów grasicy.

Tabela 1. Wpływ badanych wyciągów z wysuszonych pędów (A), wysuszonych liści (B) biomasy komórkowej z kultury *in vitro* (C) oraz frakcji saponin triterpenowych z suchych pędów (D) *Polyscias filicifolia* na żywotność tymocytów myszy w hodowlach z hydrokortyzonem w teście cytotoksyczności

Stężenie wyciągu µg/ml	Żywotność tymocytów (%)			
	A	B	C	D
7,81	101,3±4,19	–	–	–
15,62	120,6±3,88**	–	94,3±1,09	100,8±3,02
31,25	110,3±4,03*	100,8±2,13	101,0±4,85	113,7±3,18**
62,50	103,7±4,98	113,0±3,37*	111,2±3,77*	112,8±2,12***
125,00	–	96,0±5,78	103,4±5,59	104,7±2,06

*; p<0,05

**; p<0,001

***; p<0,0001

Tabela 2. Wpływ badanych wyciągów z wysuszonych pędów (A), wysuszonych liści (B) biomasy komórkowej z kultur *in vitro* (C) oraz frakcji saponin triterpenowych z suchych pędów (D) *Polyscias filicifolia* na poziom przeciwciał anti-SRBC w surowicy myszy w teście hemaglutynacji

Klasa immunoglobulin	Średni log ₂ miana ±SE				
	Kontrola (100%)	A	B	C	D
IgM+IgG	6,9±0,22	7,2±0,14 (124%)*	6,3±0,23 (66%)	6,7±0,22 (87%)	6,2±0,31 (90%)*
IgG	3,5±0,32	3,6±0,23 (107%)	3,2±0,34 (81%)	4,1±0,19 (151%)*	3,2±0,31 (91%)

*; p<0.0001

Tabela 3. Wpływ badanych wyciągów z wysuszonych pędów (A), wysuszonych liści (B) biomasy komórkowej z kultur *in vitro* (C) oraz frakcji saponin triterpenowych z suchych pędów (D) *Polyscias filicifolia*, odpowiednio w stężeniu: 15,62 µg/mysz, 62,5 µg/mysz, 62,5 µg/mysz i 31,25 µg/mysz, na zwiększenie zdolności splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych owcy w teście

tworzenia rozet E

Badany wyciąg	Zdolność splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych (%)
0	100
A	131±19,14
B	180±17,71**
C	242±22,30*
D	166,4±18,69***

*; p<0,001

**; p<0,01

***; p<0,05

Wyniki uzyskane w teście cytotoksyczności przedstawiono w **tabeli 1**. Na podstawie wyników uzyskanych w teście cytotoksyczności oceniono wpływ badanych wyciągów na przeżywalność tymocytów myszy w 18–20 godzinnych hodowlach z hydrokortyzonem. Ocenę przeprowadzono w odniesieniu do hodowli kontrolnych bez badanych substancji, uznając żywotność tymocytów za 100%.

Do badań aktywności cytotoksycznej wybrano stężenia wyciągów zarówno poniżej, jak i powyżej wartości stężeń, w obecności których obserwowano

najwyższy efekt cytotoksyczny w hodowlach komórek linii L929, w badaniach *in vitro* [14].

Zaobserwowano, że wszystkie badane wyciągi zwiększają efekt ochronny wobec tymocytów myszy w hodowlach z hydrokortyzonem, wpływając na żywotność tymocytów. Znamiennej statystycznie wzrost żywotności tymocytów, wynoszący 120,6% i 110,3% zaobserwowano przy zastosowaniu wyciągu A w stężeniu 15,62 µg/ml i 31,25 µg/ml. Wyciąg D wykazuje jednakowy efekt ochronny w stosunku do tymocytów w stężeniu 31,25 µg/ml i 62,5 µg/ml. Wyciągi: B i C tylko w stężeniu 62,5 µg/ml zwiększały żywotność tymocytów, odpowiednio do 113,0% i 111,2%.

Wyniki uzyskane w teście cytotoksyczności wskazują, że wyciąg A w stężeniu 15,62 µg/ml wykazuje silniejszy efekt ochronny w stosunku do tymocytów w hodowlach z hydrokortyzonem.

Wyniki otrzymane w teście hemaglutynacji przedstawiono w **tabeli 2**.

W teście hemaglutynacji czynnej oznaczając miano przeciwciał uzyskujemy informację o aktywności limfocytów B w odpowiedzi na działanie antygeny.

W pierwotnej odpowiedzi humoralnej, w której dziewiczy, genetycznie zdeterminowany klon immunologicznie kompetentnych komórek styka się po raz pierwszy z antygenem grasiczozależnym, obserwuje się wytwarzanie immunoglobuliny klasy IgM, a dopiero wtórnie zaczyna pojawiać się immunoglobulina klasy IgG.

Limfocyty B po kontakcie z antygenem przekształcają się w plazmocyty produkujące określone immunoglobuliny (przeciwciała) skierowane wybiórczo przeciw danemu antygenowi. Oznaczanie wpływu badanych wyciągów na nasilenie odpowiedzi humoralnej (miano przeciwciał) może być czułym wskaźnikiem ich wpływu na układ odpornościowy. Wpływu badanych wyciągów na wzrost miana przeciwciał klasy IgM+IgG oraz IgG oceniano stosując stężenia wyciągów, w obecności których obserwowano najwyższą przeżywalność tymocytów myszy w hodowlach z hydrokortyzonem (**tabela 1**).

Wyniki przedstawione w **tabeli 2** wskazują, że wyciąg A w stężeniu 15,62 µg/mysz wpływa na wzrost miana przeciwciał klasy IgM + IgG (124%), ale nie zaobserwowano wpływu na poziom przeciwciał klasy IgG. Wyciąg C w wybranym do badania stężeniu (62,5 µg/mysz) zwiększa tylko miano przeciwciał klasy IgG do 151%. Wyniki otrzymane dla pozostałych wyciągów nie wykazują wzrostu miana aglutynacyjnego surowicy krwi myszy.

W **tabeli 3** zamieszczono wyniki uzyskane w badaniach wpływu wyciągów z: wysuszonych pędów (A), wysuszonych liści (B), biomasy komórkowej (C) oraz frakcji saponin triterpenowych z suchych pędów (D) *Polyscias filicifolia*, na zwiększenie zdolności splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych owcy, w teście tworzenia rozet E.

Test tworzenia rozet przez długie lata, z rekomendacji WHO, był najważniejszym, najtańszym i najprostszym, a jednocześnie bardzo dokładnym testem ilościowym, odnoszącym się do populacji limfocytów T człowieka [15]. Wobec wysokich kosztów aparatury i odczynników w cytometrii przepływowej, test rozetowy E może być szeroko stosowany jako test przesiewowy, będący wstępem do bardziej zaawansowanych badań immunologicznych. Test rozetowy został uznany za przydatny we wstępnej diagnostyce immunologicznej, jak i monitorowania zmian ilościowych będących efektem stosowanego leczenia immunotropowego [16].

Zmiana ilości limfocytów zdolnych do tworzenia rozet E (limfocyty otoczone erytrocytami) pod wpływem badanego związku wskazuje na wzrost lub spadek uczulonych limfocytów T.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane wyciągi w wybranym zakresie stężeń zwiększają zdolność splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych owcy w teście tworzenia rozet. Znamienny statystycznie wzrost zdolności splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych owcy w teście tworzenia rozet E zaobserwowano dla wyciągów B i C w stężeniu 62,5 µg/mysz. Wyciąg B powoduje wzrost ilości rozet do 180%, zaś wyciąg C do 242%. Wyciąg D w stężeniu 31,25 µg/mysz powoduje wzrost zdolności splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych do 166% w stosunku do kontroli.

W tym teście wyciąg A nie powodował znamiennej statystycznej zmiany zdolności splenocytów do przyłączania krwinek czerwonych.

Na podstawie wyników uzyskanych w badaniach przeprowadzonych testami immunologicznymi możemy stwierdzić, że badane wyciągi w różnych zakresach stężeń powodują wzrost przeżywalności tymocytów myszy w hodowlach z hydrokortyzonem, zwiększenie miana aglutynacyjnego surowicy krwi oraz zwiększenie zdolności tworzenia rozet E, co sugerują aktywność immunostymulacyjną badanych wyciągów z *Polyscias filicifolia*.

Wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach, przy zastosowaniu testów *in vivo/in vitro*, świadczą o zróżnicowanej odpowiedzi: komórkowa – humoralna i mogą sugerować różną zawartość, zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym, substancji aktywnych biologicznie w badanych wyciągach *Polyscias filicifolia*. Można przypuszczać, że frakcja

saponin wyizolowanych z suchych pędów *Polyscias filicifolia* nie jest głównym czynnikiem warunkującym aktywność immunomodulującą.

Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę identyfikacji substancji chemicznych znajdujących się w badanych wyciągach, co będzie odrębnym zadaniem badawczym.

Otrzymano: 2009.12.03 · Zaakceptowano: 2010.01.20

Piśmiennictwo

1. Huan V.D., Yamamura S., Ohtani K., Kasai R., Yamasaki K., Nham N.T., Chau H.M.: Oleanane Saponines from *Polyscias fruticosa*. *Phytochemistry*. 1998, 47: 451–457.
2. Śliwińska A., Olszowska O., Furmanowa M., Nosov A.: Rapig multiplication of *Polyscias filicifolia* by secondary somatic embryogenesis. *In vitro Cell. Dev. Biol. – Plant* 2008, 44: 69–77.
3. Furmanowa M., Nosov A.M., Oreshnikov A.V., Klushin A.G., Kotin M., Starościk B., Śliwińska A., Guzewska J., Bloch R.: Antimicrobial activity of *Polyscias filicifolia* cell biomass extracts. *Pharmazie*. 2002, 57(6): 424–426.
4. Sparg S.G., Light M.E., Van Staden J.: Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004, 94: 219–243.
5. Trainin N., Levo Y., Rotter V.: Resistance to hydrocortisone conferred upon thymocytes by a thymic humoral factor. *J. Immunol.* 1974, 4: 634.
6. Adler F.L.: Studies on mouse antibodies. I. The response to sheep red cell. *J. Immunol.* 1965, 95: 26.
7. Sawicka T., Prosińska J., Drozd J.: Wpływ wybranych kwasów porostowych na odpowiedź komórkowa i humoralną układu immunologicznego myszy. *Biuletyn Instytutu Leków*. 1997, 41: 17–24.
8. Drozd J., Anuszevska E.: Effects of bilberry fruit aqueous extract and selected antibiotics on immune response in mice. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 2009, 66(2): 181–184.
9. Sęk S., Skierski J.: Wprowadzenie do metod statystycznych, teoria i praktyka – mikrokomputerowy system Medistat. CMKP, Warszawa, 1990.
10. Kuratowska Z., Lutyński A., Dwilewicz-Trojaczek J.: Wybrane zagadnienia immunologii klinicznej, PZWL, Warszawa, 1982.
11. Bach J.G., Dardenne M.: Antigen recognition by T lymphocytes. *Cell Immunol.* 1972, 3(1): 1–21.
12. Fearnhead H.O., Chwaliński M., Snowden R.T., Omerod M.G., Cohen G.M.: Dexamethasone and etoposide induce apoptosis in rat thymocytes from different phase of the cell cycle. *Biochem. Pharmacol.* 1994, 48: 1073–9.
13. Ahmed S.A., Sriranga N.: Differential effects of dexamethasone on the thymus and spleen: alternation programmed cell death, lymphocyte subsets and activation of T cells. *Immunopharmacol.* 1994, 28: 55.
14. Marczevska J., Karwicka E., Drozd J., Anuszevska E., Śliwińska A., Olszowska O., Nosom A.: Ocena aktywności cytotoksycznej i genotoksycznej wyciągu alkoholowego z pędów, liści, tkanki galusowej oraz frakcji saponin *Polyscias filicifolia*. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research – Publikacja przygotowana do druku*.
15. Stasiak-Barmuta A., Żak J., Wiwatowska U.: Ocena wiarygodności testu rozetowego E w konfrontacji z metoda ilościowej oceny komórek CD2+ techniką fluorocytometryczną. *Alergia Astma Immunologia*. 1998, 3(4): 234–238.
16. Stasiak-Barmuta A., Piotrkowska T., Hofman J.: Evolution of the selected immunological parameters in children with atopic bronchial asthma and concomitant infections of the respiratory tract. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.* 1995, 1(5): 33–38.