

Perspektywy wykorzystania immunoterapii w zwalczaniu oraz zapobieganiu grzybic u zwierząt

Hematopoetyczne czynniki wzrostu

Komórki efektorowe, czyli leukocyty wielojądrzaste, odpowiedzialne są za produkcję cytokin, takich jak: IL-1, IL-12, TNF- γ , GM-CSF, M-CSF oraz G-CSF [22]. Wśród dużej liczby czynników warunkujących wzrost populacji granulocytów najlepiej poznaną grupą są tzw. hematopoetyczne czynniki wzrostu (CSF – *colony stimulating factors*), zwane glikoproteinami. Można tu zaliczyć: G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*) pobudzający granulocyty, M-CSF (*macrophage-colony stimulating factor*) pobudzający makrofagi oraz GM-CSF (*granulocyte macrophage-colony stimulating factor*) pobudzający jednocześnie granulocyty i makrofagi (tab. 1, 2, 3).

Zastosowanie w immunoterapii znalazły preparaty GM-CSF (Leukomax) oraz G-CSF (Granocyte, Neupogen) [18]. Głównym składnikiem aktywnym Leukomaxu jest molgramostim, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów pochodzenia rekombinowanego ludzkiego czynnika (rHuGM-CSF). Jest to glikozylowane rozpuszczalne białko o zawartości 127 aminokwasów i masie cząsteczkowej 14477 daltonów. Czynnik ten wytwarzany jest przez szczep *E. coli*, a w badaniach *in vitro* wykazano, że stymuluje on proliferację i różnicowanie komórek krwiotwórczych progenitorowych, które powodują wytwarzanie monocytów, granulocytów, limfocytów T oraz makrofagów. W badaniach doświadczalnych na małpach stwierdzono, że dożylnie lub podskórnie podanie molgramostimu powoduje znaczące zwiększenie liczby leukocytów [17, 26, 27]. Leucomax może być dawkowany do 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, co dosyć skutecznie zapobiega neutropenii.

Marian Flis¹, Jacek Piórkowski²,
Albert Kołodziejski¹

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

¹Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,
Katedra Zoologii, Ekologii Zwierząt i Łowiectwa,

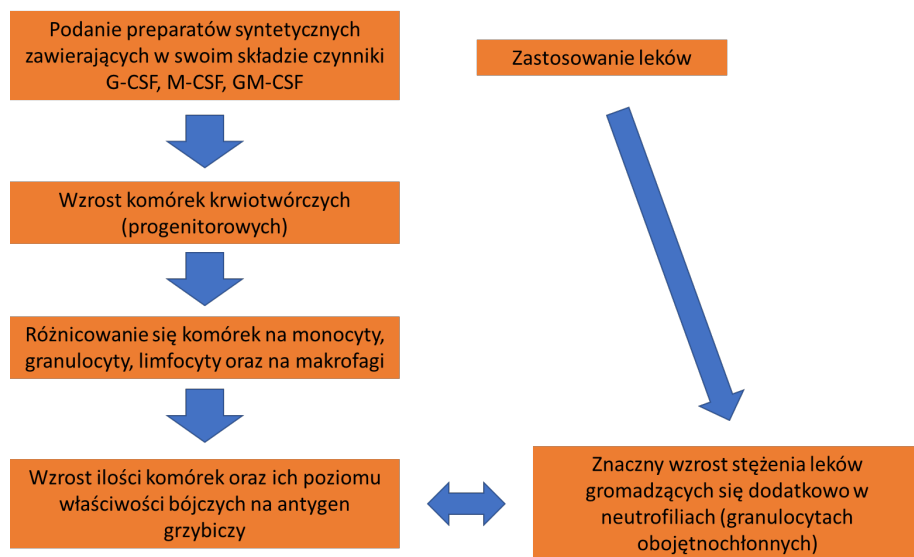
²Wydział Medycyny Weterynaryjnej,

Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej

Częstość zakażeń grzybami oportunistycznymi na przestrzeni ostatnich lat wykazuje tendencję wzrostową. Związane jest to przede wszystkim z powszechnym stosowaniem antybiotyków o szerokim spectrum działania oraz wprowadzaniem coraz bardziej inwazyjnych metod diagnostycznych i terapeutycznych [8, 19]. Zależność pomiędzy mechanizmami obronnymi gospodarza i samymi grzybami jest niezwykle złożona, a czynnikiem decydującym jest odporność typu komórkowego [29].

Inwazyjne zakażenia grzybicze, głównie narządowe, nie są w weterynarii diagnozowane zbyt często, mogą być przyczyną powikłań układowych, a nawet śmierci [5, 12, 17, 44]. Są związane np. z neutropenią, która z reguły pojawia się przy chemioterapii stosowanej w przypadku białaczek. Duże zagrożenie grzybicami narządowymi wynika też z przeszczepiania narządów, które z różnym powodzeniem są prowadzone od wielu lat. Metoda ta daje szansę leczenia zwierząt w przypadkach onkologicznych [2, 15, 31, 34, 43, 45]. Pojawiający się coraz większy problem z leczeniem grzybic, w tym także narządowych, powodowanych przez szczepy oportunistyczne, skłania do poszukiwania nowych, dość często niekonwencjonalnych metod. Jedną z nich jest immunoterapia, a niekiedy połączenie jej z niektórymi lekami.

W pracy przeanalizowano niektóre czynniki mające wpływ na wzrost poziomu odporności w przebiegu grzybic układowych. Przedstawiono również możliwości i uzyskane efekty wynikające z łączenia tych czynników z niektórymi lekami (rys.).



Rys. Ogólny schemat działania immunostymulatorów na antygeny grzybicze – indywidualnie i w połączeniu z lekami

Tabela 1
Czynniki wzrostu i ich odpowiedniki handlowe

Czynnik	Składnik aktywny	Nazwa handlowa	Miejsce
G-CSF	filgrastim	Neupogen®	USA, Kanada, Australia, Europa
	filgrastim	Gran®	Korea, Tajwan, Chiny, Japonia
	lenograstim	Granocyte®	Australia, Europa
	lenograstim	Neutrogin®	Chiny, Japonia
GM-CSF	nartograstim	Neu-Up®	Japonia
	sargramostim	Leukine®	USA
	molgramostim	Leukomax®	Kanada, Europa

Tabela 2

Skróty i synonimy używane dla G-CSF

Skrót	Objaśnienie
CSF-G	Colony stimulating factor granulocyte
CSF-β	Colony stimulating factor β
CSF-3	Colony stimulating factor 3
MGI-IG	Macrophage granulocyte inducer IG
MGI-2	Macrophage granulocyte inducer 2
G/M-CSA	Granulocyte/macrophage colony stimulating activity
DF	Differentiation factor
pCSF	Pluripotent colony stimulating factor

Tabela 3

Skróty i synonimy używane dla GM-CSF

Skrót	Objaśnienie
CSF-GM	Colony stimulating factor-granulocyte macrophage
CSF-α	Colony stimulating factor α
CSF-2	Colony stimulating factor 2
NIF-T	T cell-derived neutrophil migration inhibition factor
HCGF	Hematopoietic cell growth factor
Eo-CSF	Eosinophil colony stimulating factor
KTGF	Keratinocyte-derived T cell growth factor

Początkowo preparat stosowany jest w dawce 1-3 µg/kg/dobę w celu obserwacji wczesnej odpowiedzi terapeutycznej w odniesieniu do krwinek białych. Okres ten powinien trwać od 2 do 4 dni. W kolejnych dniach należy monitorować poziom leukocytów i neutrofilii, w celu utrzymania ich na odpowiednim poziomie. Pierwsze efekty stosowania preparatu widoczne są już w ciągu 1-4 godzin, a maksymalny efekt pojawia się już w ciągu 5-14 godzin od podania pierwszej dawki. Badania przeprowadzone na makakach wskazują, że dożylnie podanie preparatu w ilości 15 µg/kg/dobę jest w stanie zapewnić maksymalną reakcję przez okres 5 kolejnych dni [17, 26, 27].

W dalszym ciągu jednym z najbardziej wszechstronnych leków stosowanych w grzybicach narządowych jest amfoterycyna B. Będąc skutecznym lekiem, lecz nie pozbawionym działań ubocznych, z powodzeniem jest wykorzystywana w terapii grzybic narządowych u zwierząt, głównie psów i kotów. Lek ten otrzymywany jest z promieniowca *Streptomyces nodosus*. Mechanizm działania polega na wiązaniu ze sterolami błon fosfolipidowych grzyba [33]. Napływ jonów wodoru do komórki grzyba, przy jednoczesnym wypływie jonów potasu, powoduje zakwaszenie jej środowiska. W celu zniwelowania nefrotoksyczności stosowana jest postać liposomalna, w dawce od 0,5 mg/kg do 3 mg/kg masy ciała [32, 36]. Ograniczenia stosowania amfoterycyny B sprowadzają się do unikania łączenia jej z preparatami przeciwnowotworowymi, diuretycznymi, naparstnicowymi oraz aminoglikozydami. Długotrwałe stosowanie prowadzi do nefrotoksyczności, a to z kolei dość często staje się przyczyną przewlekłej niewydolności nerek [35, 46]. Amfoterycyna B jest lekiem skutecznym, lecz wspólne podanie z M-CSF pozwala na znaczne ograniczenie jej dawki. Może to mieć szczególne znaczenie w przypadku *Candida albicans*. Znacznie większa skuteczność występuje przy połączeniu amfoterycyny B z M-CSF niż flukonazolu z M-CSF. Z kolei zastosowanie M-CSF pozwala na znaczne ograniczenie dawki samej amfoterycyny. Zastosowanie jedynie M-CSF lub też samej amfoterycyny B nie jest już tak skuteczne, co potwierdziły wcześniejsze badania [35, 40, 41]. Badania przeprowadzone z użyciem rekombinowanego

G-CSF myszy (rmG-CSF) wskazują, że podczas terapii z użyciem amfoterycyny B lub też flukonazolu tylko w nieznaczny sposób dochodzi do redukcji populacji grzyba, w porównaniu z zastosowaniem jedynie samych leków. Czynniki te powoduje zwiększenie liczby neutrofilii będących w miejscu zarażenia, co prowadzi do wzrostu stężenia leków, które akumulują się w neutrofilach. Niektórzy autorzy zwracają uwagę na bardziej wzmożone działanie czynników CSF w połączeniu także z innymi lekami. Odnosi się to szczególnie do worykonazolu oraz flukonazolu, przy których G-CSF i GM-CSF wykazują wzmożoną aktywność przeciwgrzybiczą [39]. W doświadczeniach przeprowadzonych na zwierzętach zastosowanie cyklofosfamidu w celu obniżenia odporności, a następnie podanie M-CSF wyraźnie wskazało na wzrost poziomu aktywności przeciwgrzybiczej szczególnie w odniesieniu do *Candida albicans* [20, 30]. Badania przeprowadzone na szczurach i myszach wskazują również na dużą skuteczność M-CSF w zwalczaniu kandydozy, poprzez zwiększanie liczby monocytów we krwi [47, 48]. Należy zaznaczyć, że nie wszystkie cytokiny uwolnione przez komórki CD-4 powodują degradację komórek grzyba. Obecność IL4 powoduje znaczne osłabienie aktywności przeciwgrzybiczej neutrofilów, natomiast IL10 ma działanie pozytywne i zarazem negatywne charakteryzujące się wzrostem poziomu fagocytozy, przy jednoczesnym zaburzeniu mechanizmu tlenowego w odniesieniu do komórek jednojądrzastych [1, 4, 6, 28, 37]. Wysoka aktywność monocytów i granulocytów obojętnochłonnych przypisywana jest również połączeniu worykonazolu i flukonazolu z GM-CSF i G-CSF. Natomiast bardzo wysoka efektywność, nawet 10-krotna, stosowania samego worykonazolu wynika z synergistycznego działania na monocyty oraz neutrofile [3, 9].

Inne czynniki wpływające na odporność

Z innych czynników mających wpływ na immunomodulację zwrócić należy uwagę na sześć peptydów [11, 24]. Zalicza się do nich: heksapeptyd (89/215), dwa glikopeptydy (89/729 i 90/341), pentapeptyd (SP-5) oraz dwa lipopeptydy (86/450) i (84/201). W kandydozie sztucznie wywołanej u myszy stwierdzono wyjątkową skuteczność heksapeptydu (89/215), lipopeptydu (86/450) oraz glikopeptydu (90/341). Stwierdzono również, że stosowanie lipopeptydu (86/450) powoduje dodatkowo aż 7-krotny wzrost poziomu miana hemaglutynacji przeciwciał oraz wzrost poziomu erytrocytów o 218% [38]. Szczególna skuteczność w przypadku *Aspergillus fumigatus* przypisywana jest rekombinowanemu interferonowi gamma (rINFγ), którego działanie jest podobne do GM-CSF. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach zakażonych *Cryptococcus sp.* zauważono znaczny wzrost odporności podczas terapii przy użyciu jedynie INFγ oraz jednocześnie z amfoterycyną B, a podobna reakcja, lecz o mniejszym nasileniu, wystąpiła przy połączeniu flukonazolu i INFγ [23]. Duże nadzieje związane są z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych (mAb), co potwierdzono w badaniach na zwierzętach doświadczalnych [26, 27]. Działanie tych immunoglobulin jest niezależne od stanu układu immunologicznego i polega na postępującej opsonizacji oraz całkowitej eliminacji antygeny z surowicy [25]. Stwierdzono, że u myszy podanie przeciwciał monoklonalnych (mAb) powoduje mniejszą inwazję tkanek poprzez intensywniejsze niszczenie grzybnicy [7]. Typowym przykładem takiego przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciwko *Cryptococcus neoformans* jest 18B7 [23]. Z innych substancji mających działanie grzybobójcze wymienia się pentaksynę 3 (PTX3), wydzielaną przez mononuklearne fagocyty. Badania przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych wskazują na dużą skłonność do zakażeń *Aspergillus fumigatus* u zwierząt ze znacznie zredukowanym poziomem PTX3 [10].

Oprócz syntetycznych immunomodulatorów hamujących rozwój grzybic systemowych należy zwrócić uwagę na substancje naturalne uzyskiwane z roślin. Należą tutaj irydoidy glikozydowe (arbotristoside A i C) wyizolowane z rośliny

Nyctanthes arbor-tristis. Związki te przygotowane w 50% etanolu wykazują szczególną aktywność w odniesieniu do *Candida albicans* i mogą być stosowane w ilości 5 mg/kg na dobę doustnie, profilaktycznie lub razem z innymi lekami. Badania przeprowadzone na myszach wykazały wyższy poziom ochrony przeciwgrzybiczej, wynoszący 77,7%, w stosunku do arbortristoside C wobec 44,4% w odniesieniu do arbortristoside A [13, 14, 16, 35, 40].

Terapia łączona

W literaturze zwraca się również uwagę na dużą skuteczność terapii łączonej wykorzystującej GM-CSF i INF γ z postacią liposomalną amfoterycyny B (LAMB), w odniesieniu do mukormykozy. Badania przeprowadzone na zwierzętach wskazują na skuteczniejszą eliminację grzybów z rodziny *Mucoraceae* przy łączeniu LAMB z GM-CSF niż LAMB z INF γ . Znacznie gorsze efekty odnotowano w przypadku stosowania monoterapii, przy pojedynczym stosowaniu LAMB, GM-CSF lub INF γ . Badania myszy ze stwierdzoną kryptokokozą wskazały na większą skuteczność podawanego INF γ w połączeniu z amfoterycyną B niż INF γ z flukonazolem. Wysoką przeżywalność myszy wykazano także przy stosowaniu anty-CD40 w połączeniu z IL12. W tym przypadku występowało znaczne zmniejszenie inwazji grzybiczej szczególnie w mózgu oraz w nerkach, przy jednoczesnym wzroście stężenia INF γ i TNF α w surowicy [49].

Podsumowanie

Zapobieganie grzybicom narządowym u zwierząt, ze szczególnym uwzględnieniem immunoterapii jest postępowaniem, z którym wiązane są duże nadzieje. Wykorzystywanie przede wszystkim czynników CSF, INF γ oraz przeciwciał monoklonalnych w zwalczaniu kandydozy i aspergilozy, jako najczęściej spotykanych grzybic systemowych u zwierząt, może być bardzo obiecujące. Preparaty te nie tylko zwiększają aktywność przeciwgrzybiczą, lecz także w znaczny sposób potęgują działanie terapeutyczne leków przeciwgrzybiczych, a ponowne infekcje notowane są znacznie rzadziej niż w przypadku stosowania samych leków [34]. Wzajemne powiązanie preparatów immunologicznych z lekami może w znaczny sposób pomóc w opracowaniu schematów terapeutycznych u zwierząt dla określonych stanów klinicznych, w przypadku znacznej dysfunkcji układu immunologicznego [15, 21, 42].

Literatura: 1. Anaissie E.J., 1998 – Immunomodulation for the treatment of invasive fungal infections. *Clinical Infectious Diseases* 26, 1264-1265. 2. Bagtzoglou A.D., Dwivedi P., Ioannidou E., Shaqman M., Hull D., Burleson J., 2009 – Oral *Candida* infection and colonization in solid organ transplant recipients. *Oral Microbiology Immunology* 24, 249-254. 3. Brummer E., Stevens D.A., 1996 – Synergy of human neutrophils with fluconazole in killing *Candida* species. *Mycopathologia* 134, 115-120. 4. Capilla J., Clemons K.V., Stevens D.A., 2007 – Animal models: an important tool in mycology. *Medical Mycology* 45, 657-684. 5. Chen C., Su C.H., Lee L.W., 2008 – Systemic candidiasis due to *Candida albicans* in a dog: first case reported from Taiwan. *Japanese Journal Veterinary Dermatology* 14, 185-189. 6. Costa A.C., Pereira C.A., Junqueira J.C., Jorge A.O., 2013 – Recent mouse and rat methods for the study of experimental oral candidiasis. *Virulence* 4, 391-399. 7. Falk R., Hacham M., Nyska A., Foley J.F., Domb A.J., Polachek I., 2005 – Induction of interleukin-1 β , tumour necrosis factor- α and apoptosis in mouse organs by amphotericin B is neutralized by conjugation with arabinogalactan. *Journal Antimicrobial Chemotherapy* 55, 713-720. 8. Fischer L., Sterneck M., 2005 – Invasive fungal infections in patients after liver transplantation. *Mycoses* 48, 27-35. 9. Garcha U.K., Brummer E., Stevens D.A., 1995 – Synergy of fluconazole with human monocytes or monocyte-derived macrophages for killing *Candida* species. *Journal of Infectious Diseases* 172, 1620-1623. 10. Garlandia C., Hirsch E., Bozza S., Salustri A., De Acetis M., Nota R., Maccagno A., 2002 – Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in antifungal innate immune response. *Nature* 420, 182-186. 11. Guz K., Bugla-Płoskońska G., 2007 – Immunomodulatory and przeciwzapalne właściwości wybranych antybiotyków i che-

mioterapeutyków. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 61, 828-837. 12. Heseltine J.C., Panciera D.L., Saunders G.K., 2003 – Systemic candidiasis in a dog. *Journal American Veterinary Medical Association* 223, 821-824. 13. Ibrahim F., Gershkovich P., Sivak O., 2012 – Efficacy and toxicity of a tropically stable lipid-based formulation of amphotericin B (iCo-010) in a rat model of invasive candidiasis. *International Journal of Pharmaceutics* 436, 318-323. 14. Ibrahim F., Sivak O., Wasan E.K., Bartlett K., Wasan K.M., 2013 – Efficacy of an oral and tropically stable lipid-based formulation of amphotericin B (iCo-010) in an experimental mouse model of systemic candidiasis. *Lipids Health Diseases* 12, 158-162. 15. Ikoma A., Nakada K., Suzuki T., Nakamura K., Reynolds J.C., Todo S., Starzl T.E., 1994 – Gastrointestinal motility in the immediate postoperative period after intestinal transplantation with special reference to acute rejection. *Transplantation Proceedings* 26, 1657-1658. 16. Khan Z.K., Manglani A., Shukla P.K., Puri A., Saxena R.P., Tandon J.S., 1995 – Immunomodulatory effect of plant extracts and iridoid glucosides from *Nyctanthes arbor-tristis* against systemic candidiasis in mice. *International Journal of Pharmacology* 33, 297-304. 17. Khosravi A.R., Mardjanmehr H., Shokri H., Naghshineh R., Rostamibashman M., Naseri A., 2009 – Mycological and histopathological findings of experimental disseminated candidiasis in dogs. *Iranian Journal Veterinary Research* 10, 228-234. 18. Kowalski M., 2000 – Immunologia kliniczna. Mediton, Łódź. 19. Krockenberger M.B., Malik R., Ngamskulrungron P., Trilles L., Escandon P., Dowd S., Allen C., Himmelreich U., Canfield P.J., Sorrell T.C., Meyer W., 2010 – Pathogenesis of pulmonary *Cryptococcus gattii* infection: a rat model. *Mycopathologia* 170, 315-330. 20. Kuhara T., Uchida K., Yamaguchi H., 2000 – Therapeutic efficacy of human macrophage colony-stimulating factor, used alone and in combination with antifungal agents, in mice with systemic *Candida albicans* infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 19-23. 21. Kullberg B.J., Oude Lashof A.M., Netea M.G., 2004 – Design of efficacy trials of cytokines in combination with antifungal drugs. *Clinical Infectious Diseases* 39, 218-223. 22. Kushwaha N., Kushwaha S.K., 2012 – Immunomodulators as Therapeutic Agent. *Journal Drug Delivery & Therapeutics* 2, 51-60. 23. Larsen R.A., Pappas P.G., Perfect J., Aberg J.A., Casadevall A., Cloud G.A., 2005 – Phase in evaluation of the safety and pharmacokinetics of murine-derived anticryptococcal antibody 18B7 in subject with treated cryptococcal meningitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49, 952-958. 24. Mizerska-Dudka M., Andrejko M., Kandefor-Szerszeń M., 2011 – Przeciwwirusowe peptydy kationowe człowieka i owadów. *Postępy Mikrobiologii* 50, 209-216. 25. Mukherjee S., Lee S., Mukherjee J., Scharff M.D., Casadevall A., 1994 – Monoclonal antibodies to *Cryptococcus neoformans* capsular polysaccharide modify the course of intravenous infection in mice. *Infection and Immunity* 62, 1079-1088. 26. Mukherjee J., Nassbaum G., Scharf M.D., Casadevall A., 1995 – Protective and nonprotective monoclonal antibodies to *Cryptococcus neoformans* originating from one B-cell. *Journal Experimental Medicine* 181, 405-409. 27. Mukherjee J., Pirofski I.A., Scharf M.D., Casadevall A., 1993 – Antibody mediated protection in mice with lethal intracerebral *Cryptococcus neoformans* infection. *Proceedings National Academy Science USA* 90, 3636-3640. 28. Naglik J.R., Fidel P.L., Odds F.C., 2008 – Animal models of mucosal *Candida* infection. *FEMS Microbiology Letters* 283, 129-139. 29. O'Brien C.R., Krockenberger M.B., Martin P., Wigney D.I., Malik R., 2006 – Long-term outcome of therapy for 59 cats and 11 dogs with cryptococcosis. *Australian Veterinary Journal* 84, 384-392. 30. Odds F.C., Van Nuffel L., Gow N.A.R., 2000 – Survival in experimental *Candida albicans* infections depends on inoculum growth conditions as well as animal host. *Microbiology* 146, 1881-1889. 31. Oliverius M., Král D., Honsová E., Lodererová A., Kudla M., Baláz P., Valsamis A., Čáp J., 2010 – Surgical technique of small bowel transplantation in a large animal model. *Acta Veterinaria Brno* 79, 281-287. 32. Papich M.G., 2007 – Saunders Handbook of Veterinary Drugs. 2-ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 31-32. 33. Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M., Flower R.J., 2007 – Rang and Dale's Pharmacology. 6-ed. Churchill & Livingstone Elsev., Philadelphia, USA, 692-694. 34. Richardson M.D., 2005 – Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *Journal Antimicrobial Chemotherapy* 56, 5-11. 35. Risovic V., Rosland M., Sivak O., Wasan K.M., Bartlett K., 2007 – Assessing the Antifungal Activity of a New Oral Lipid-Based Amphotericin B. Formulation Following Administration to Rats Infected with *Aspergillus fumigatus*. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 33, 703-707. 36. Risovic V., Sachs-Barrable K., Boyd M., Wasan K.M. 2004 – Potential mechanisms by which Peceol increases the gastrointestinal absorption of amphotericin B. *Drug De-*

velopment and Industrial Pharmacy 30, 767-774. **37. Samaranzake Z.H., Samaranyake L.P.**, 2001 – Experimental oral candidiasis in animal models. *Clinical Microbiology Reviews* 14, 398-429. **38. Segal B.H., Kwon-Chung J., Walsh T.J., Klein B.S., Battiwalla M., Almyroudis N.G., Holland S.M., Romani L.**, 2006 – Immunotherapy for fungal infections. *Clinical Infectious Diseases* 42, 507-515. **39. Sionov E., Segal E.**, 2003 – Polyene and cytokine treatment of experimental aspergillosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 39, 221-227. **40. Sivak O., Bartlett K., Risovic V., Choo E., Marra F., Scotty Batty D., Wasan K.M.**, 2004 – Assessing the antifungal activity and toxicity profile of amphotericin B lipid complex (ABLC; Abelcet 1) in combination with caspofungin in experimental systemic Aspergillosis. *Journal of Pharmaceutical Science* 93, 1382-1389. **41. Sivak O., Gershkovich P., Lin M., Wasan E., Zhao J., Owen D., Clement J., Wasan K.**, 2011 – Tropically stable novel oral lipid formulation of amphotericin B (iCo-010): Biodistribution and toxicity in a mouse model. *Lipids Health Diseases* 10, 135-137. **42. Stevens D.A., Kullberg B.J., Brummer E., Casadevall A., Netea M.G., Sugar A.M.**, 2000 – Combined treatment: antifungal drugs with antibodies, cytokines or drugs. *Medical Mycology* 38, 305-315. **43. Todo S., Kam J., Lynch S., Starzl T.E.**, 1985 – Animal research in liver transplantation with special reference to the dog. *Seminars Liver Disease* 5, 309-317. **44. Tunca R., Guvenc T., Hazirolu R., Ataseven L., Ozen H., Toplu N.**, 2006 –

Pathological and immunohistochemical investigation of naturally occurring systemic *Candida albicans* infection in dogs. *Turkish Journal Veterinary Animal Science* 30, 545-551. **45. Upton A., Kirby K.A., Carpenter P., Boeckh M., Marr K.A.**, 2007 – Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *Clinical Infectious Disease* 44, 531-540. **46. Wasan E.K., Bartlett K., Gershkovich P., Sivak O., Banno B., Wong Z., Gagnon J., Gates B., Leon C.G., Wasan K.M.**, 2009 – Development and characterization of oral lipid-based amphotericin B formulations with enhanced drug solubility, stability and antifungal activity in rats infected with *Aspergillus fumigatus* or *Candida albicans*. *International Journal Pharmaceutics* 372, 76-84. **47. Vitt C.R., Fidler J.M., Ando D., Zimmerman R.J., Aukerman S.L.**, 1994 – Antifungal activity of recombinant human macrophage colony-stimulating factor in models of acute and chronic candidiasis in the rat. *Journal of Infectious Diseases* 169, 369-374. **48. Zaragoza O., Alvarez M., Telzak A., Rivera J., Casadevall A.**, 2007 – The relative susceptibility of mouse strains to pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection is associated with pleiotropic differences in the immune response. *Infection and Immunity* 75, 2729-2739. **49. Zhou Q., Gault R.A., Kozel T.R., Murphy W.J.**, 2006 – Immunoglobulin with CD-40 stimulation and interleukin-2 protects mice from disseminated cryptococcosis. *Infection and Immunity* 74, 2161-2168.

Prozdrowotna aktywność wybranych składników mleka w aspekcie zmniejszania ryzyka rozwoju chorób cywilizacyjnych

Karolina Nahajło

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Instytut Nauk Weterynaryjnych,
Zakład Anatomii Zwierząt

Mleku oraz jego przetworom przypisywanych jest szereg walorów prozdrowotnych. Zarówno siara, niezwykle ważna w aspekcie odchowu potomstwa, jak i mleko stanowią bogactwo aktywnych biologicznie składników, takich jak białka, tłuszcze, minerały, węglowodany i witaminy [76]. W ostatnim czasie popularna stała się tzw. żywność funkcjonalna, czyli żywność charakteryzująca się właściwościami prozdrowotnymi, wynikającymi głównie z obecności bioaktywnych substancji, które wywierają pozytywny wpływ na przebieg procesów metabolicznych oraz o właściwych proporcjach poszczególnych składników [45]. Żywność funkcjonalna, poza zasadniczą funkcją odżywczą ma służyć poprawie stanu zdrowia oraz samopoczucia i/lub zmniejszeniu ryzyka wystąpienia chorób, przy czym korzystny efekt prozdrowotny musi być udowodniony naukowo [63].

Obecnie spożywanie żywności funkcjonalnej postrzegane jest jako możliwość poprawy stanu zdrowia całego społeczeństwa. Choroby cywilizacyjne, w szczególności choroby układu krążenia, nowotwory, zaburzenia wydzielania wewnętrznego, zaburzenia stanu odżywiania i przemiany meta-

bolicznej (w tym cukrzyca) są głównymi przyczynami wysokiej śmiertelności Polaków (ok. 80%) [20, 69]. Dlatego tak istotne jest wprowadzanie produktów prozdrowotnych do codziennej diety oraz promowanie ich walorów w społeczeństwie. Koncepcja rozwoju żywności funkcjonalnej opiera się głównie na zawartych w niej substancjach bioaktywnych. Przywiązuje się również dużą wagę do pozyskiwania tych substancji, zwanych nutraceutykami [71]. Bioaktywne składniki diety uważa się za cząsteczki sygnałowe, przenoszące informacje ze środowiska zewnętrznego i wpływające na poziom ekspresji genów w komórce. Dogłębne poznanie mechanizmów działania bioaktywnych substancji w ekspresji genów oraz ciągły rozwój nutrigenomiki być może przyczyni się do planowania takiego sposobu odżywiania, który będzie można zastosować w profilaktyce i leczeniu [18] oraz w żywieniu ludzi o konkretnych schorzeniach, jak alergii, otyłości, cukrzyca, choroby układu sercowo-naczyniowego (CVD) lub obciążonych ryzykiem wystąpienia tych chorób [15].

Żywność funkcjonalną można podzielić według kilku kryteriów, m.in. biorąc pod uwagę sposób oddziaływania fizjologicznego w organizmie (np. żywność dla osób obciążonych stresem, żywność zmniejszająca ryzyko chorób układu krążenia, chorób nowotworowych, regulująca prawidłowe funkcjonowanie przewodu pokarmowego), czy też ze względu na przeznaczenie (np. żywność dla niemowląt, kobiet w ciąży, osób starszych, sportowców) [53]. Biorąc pod uwagę sposób, w jaki otrzymuje się produkty kwalifikowane jako żywność funkcjonalna, można wyróżnić m.in. produkty naturalne (tradycyjne) [45]. Prowadzone na całym świecie badania potwierdzają biologiczną aktywność wielu spośród składników mleka w zmniejszeniu ryzyka rozwoju chorób cywilizacyjnych [9].

Właściwości prozdrowotne mleka i jego przetworów są powodem, dla którego wykorzystuje się je w lecznictwie i profilaktyce niektórych chorób, jak m.in. choroby nowotworowe (zawartość laktoferyny, białek serwatkowych, CLA, wapnia) czy choroby układu krążenia (zawartość czynnika zmniejszającego poziom cholesterolu, peptydów antytrombocytowych (przeciwzakrzepowych)) [45]. Substancje bioaktywne mleka obecne są zarówno w fazie emulsyjnej (tłuszcze), koloidalnej (białka), jak i wodnej (witaminy rozpuszczalne w wodzie, sole mineralne, laktoza). Obecne w mleku immunoglobuliny, limfocyty, makrofagi, lizozym, laktoferyna i laktoperoksydaza zwiększają odporność młodego organizmu. Peptydy pochodzące