

Właściwości lecznicze i kosmetologiczne drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*)

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków
Kierownik Katedry: dr hab. Halina Ekiert, prof. nadzw. UJCM

MEDICINAL AND COSMETOLOGICAL PROPERTIES OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE

SUMMARY

Saccharomyces cerevisiae are one cellular organisms, occurring under natural conditions in all environments that contain carbohydrates. They are without a doubt among the organisms, where the biochemical activity man had used at the earliest. Already in antiquity Hippocrates recommended the use of a beverage prepared from yeast as the vitaminic and vitalizing. In the Pharmacopoeia of Polish II, are monographs of *Faex medicinalis* (*Fermentum cerevisiae*) – medical yeasts used as a vitamin solution and to the drawing up of tablets. *S. cerevisiae* are an integral part of the microflora of different foods and are traditionally used in industrial fermentation processes (production of bread, beer, wine). Currently for consumers yeast are produced in the form of dried or lyophilized. There are a wide range of food products of plant and animal, which would have a significant impact on the organoleptic properties. *Saccharomyces cerevisiae* in recent decades are available as supplements due to the high content of vitamins of group B, proteins, amino acids and minerals – zinc, phosphorus, magnesium, selenium, and chromium. Yeasts are the model organism for molecular biology of eucarionts. In addition, *Saccharomyces cerevisiae* are inexpensive in cultivation, nontoxic and nonpathogenic. These organisms so are good material for research. For over a quarter of a century, yeasts are used successfully for the production of medicines, for example: hirudin, insulin, and vaccines against hepatitis B. In addition, yeasts are important in the study of the phenomenon of the multi-medicines resistance. In recent years demonstrated that the yeast can be used for the production of anticancer vaccines. *S. cerevisiae* is now an ideal model to study human neurodegenerative diseases.

KEY WORDS: SACCHAROMYCES CEREVISIAE – YEAST
NEURODEGENERATIVE DISORDERS – ANTICANCER
VACCINES

Wstęp

Drożdże piekarnicze (*Saccharomyces cerevisiae*) są jednokomórkowymi grzybami, występującymi w warunkach naturalnych we wszystkich środowiskach zawierających węglowodany. Jest to bez wątpienia jeden z mikroorganizmów, którego aktywność biochemiczną ludzie wykorzystywali najwcześniej. Już w starożytności Hipokrates zalecał stosowanie napoju

przygotowanego z drożdży, jako preparatu witaminowego i wzmacniającego.

W Farmakopei Polskiej II znajdują się monografie dotyczące *Faex medicinalis* (syn. *Fermentum cerevisiae*) – drożdży lekarskich, stosowanych, jako środek witaminowy i do sporządzania tabletek. *S. cerevisiae* są nieodłączną częścią mikroflory różnych pokarmów i są tradycyjnie stosowane w przemysłowych procesach fermentacyjnych (piekarnictwo, produkcja piwa, wina). Obecnie na rynku można spotkać je w postaci wysuszonej lub liofilizowanej. Występują w szerokiej gamie produktów spożywczych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, gdzie mają istotny wpływ na właściwości organoleptyczne. Zarówno drożdże piekarnicze, jak i piwne, w ostatnich dziesięcioleciach dostępne były jako suplementy diety ze względu na wysoką zawartość witamin z grupy B, białek, aminokwasów oraz związków mineralnych – cynk, fosfor, magnez, selen, chrom. Drożdże są modelowym organizmem w biologii molekularnej eukariotów. Ponadto są łatwe w hodowli, tanie w utrzymaniu, nietoksyczne i niechorobotwórcze. Dzięki temu są dobrym materiałem do badań. Drożdże są pierwszym organizmem eukariotycznym, którego genom został zsekwencjonowany i opublikowany (w 1996 roku) i od tego czasu stał się przedklinicznym modelem i cennym narzędziem do analizy podstawowych procesów komórkowych u eukariotów (1). Znacznie ułatwiło to badania nad genomami różnych organizmów. Ponadto istnieje możliwość heterologicznej ekspresji genów innych eukariotów, która nabrała większego znaczenia w momencie, kiedy okazało się, że wiele chorobotwórczych, a nawet letalnych mutacji znajduje się w genach ludzkich, które mają homologiczne geny w genomie drożdży. Według oszacowań naukowców, około 23% genomu drożdży jest takie samo jak genomu ludzkiego.

Od ponad ćwierć wieku drożdże są wykorzystywane z powodzeniem do produkcji leków, między innymi hirudyny (białka o działaniu przeciwzakrzepowym), insuliny (2) oraz szczepionek przeciwko WZW typu B (3). Ponadto, drożdże mają znaczenie w badaniach nad zjawiskiem wielooporności lekowej. Ostatnie lata

udowodniły, że drożdże mogą być też wykorzystywane do produkcji szczepionek przeciwnowotworowych.

S. cerevisiae stanowią obecnie idealny model do badania ludzkich chorób neurodegeneracyjnych, gdyż wiele ścieżek sygnałowych i białek związanych z chorobami neurologicznymi jest konserwatywna u tego eukariota. Zdolność fermentacji powoduje, że drożdże są również dobrym modelem do badań chorób związanych z dysfunkcją mitochondriów oraz do badań nad właściwościami białek prionowych. Należy dodać, że drożdże używane są także jako probiotyczny suplement pirogronianu w leczeniu zapalenia okrężnicy, wywołanego przez *Clostridium difficile*.

Drożdże nie są drogim surowcem, a ich dodatek do różnych kosmetyków daje nam możliwość zwalczania wielu niedoskonałości i chorób skóry, takich jak trądzik, łojotok, nadmierne rogowacenie naskórka, czy też rozstępy (4).

Związki i pierwiastki o aktywności biologicznej występujące w komórkach *Saccharomyces cerevisiae*

Drożdże są źródłem łatwo przyswajalnego białka. Zbudowane są w 40% z aminokwasów proteinogennych, peptydów i protein. Ze ściany komórkowej drożdży został izolowany zymosan (wzór zymosanu przedstawia rycina 1), związek będący β -1,3-glukanem, działającym aktywująco na układ immunologiczny poprzez pobudzenie makrofagów (5). Wśród witamin z grupy B, które biorą udział w przemianach węglowodanów, tłuszczów i białek, drożdże zawierają witaminę H (biotynę, zwaną także witaminą B7), która przywraca włosom sprężystość, a także hamuje siwienie i wypadanie włosów. Objawami niedoboru biotyny są zmiany skórne – wysypki, stany zapalne, a także wypadanie włosów, podwyższony poziom cholesterolu oraz zmiany zapalne jelit.

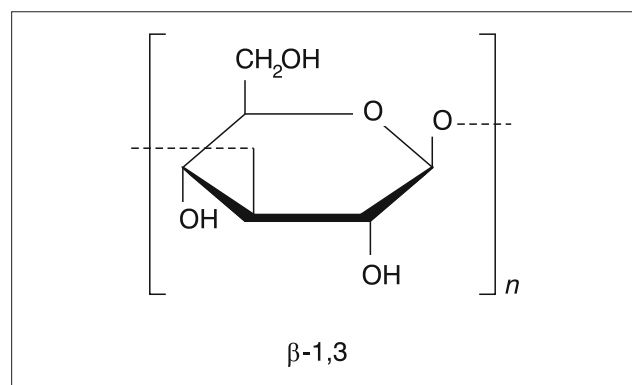
Drożdże są także bogatym źródłem kwasu pantotenowego, błędnie utożsamianego z witaminą B5, będą-

cą mieszaniną następujących związków chemicznych: kwasu pantotenowego, panteiny (pochodnej kwasu pantotenowego), pantenolu (należącego do grupy alkoholi, niewystępującego w przyrodzie, ale aktywnego biologicznie dla zwierząt) oraz koenzymu A (aktywnej biologicznie formy kwasu pantotenowego). Kwas pantotenowy jest niezbędny do prawidłowego metabolizmu białek, cukrów i tłuszczów oraz do syntezy niektórych hormonów; przyspiesza gojenie ran, bierze udział w wytwarzaniu tłuszczów, cholesterolu, hormonów i neuroprzekazników, uczestniczy w regeneracji tkanek, poprawia pigmentację i stan włosów. Objawami jego niedoboru są zaburzenia układu nerwowego, omdlenia, wypadanie włosów, przedwczesna siwizna, łysienie, zmiany skórne i obstrukcja.

Ponadto drożdże zawierają witaminy: B₁, B₂, B₆, PP, kwas foliowy i inozytol.

Obecny w drożdżach cynk jest niezbędny do prawidłowego metabolizmu glukozy i poziomu cukru we krwi. Oprócz innych istotnych funkcji, cynk jest potrzebny do wytwarzania i wydzielania insuliny przez trzustkę. Współpracuje on z chromem i innymi składnikami diety w celu ułatwienia wykorzystania insuliny przez komórki. Diabetycy szybciej niż zdrowi ludzie wydalają cynk z organizmu. U osób z zaćmą często występują niedobory cynku, co prowadzi między innymi do problemów, takich jak osłabiony metabolizm glukozy w soczewkach. Brak cynku w siatkówce oka bardzo często prowadzi do zwyrodnienia plamki żółtej. Wpływ cynku na syntezę białka i związane z tym procesy biologiczne sprzyjają regeneracji tkanek skóry. Szereg podwójnie ślepych prób klinicznych wskazuje również na skuteczność cynku w leczeniu trądziku. Poza jego wpływem na gojenie się zmian chorobowych, ważną rolę odgrywają również jego prawdopodobne właściwości immunologiczne, wpływ na gospodarkę hormonalną oraz zdolność pobudzania wytwarzania prostaglandyn o działaniu przeciwzapalnym.

Ze względu na groźne następstwa zdrowotne związane z niedoborem selenu, na rynku farmaceutycznym pojawiło się wiele preparatów zawierających ten pierwiastek. Są to głównie preparaty wielowitaminowe i wielominerałowe. Selen wchodzący w ich skład na ogół występuje w postaci selenianu sodu, ale również i drożdży selenowych. Są to produkty przygotowane na bazie drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces uvarum* z wbudowanym w procesie biotechnologicznym jodem Se²⁺ w aminokwasy białka drożdży. Dla organizmu człowieka dzienne zapotrzebowanie wynosi około 60 $\mu\text{g/g}$, natomiast dawki powyżej 800 $\mu\text{g/g}$ powodują zatrucia. Wszystkie związki selenu dobrze wchłaniają się z przewodu pokarmowego oraz z układu oddechowego. Selen



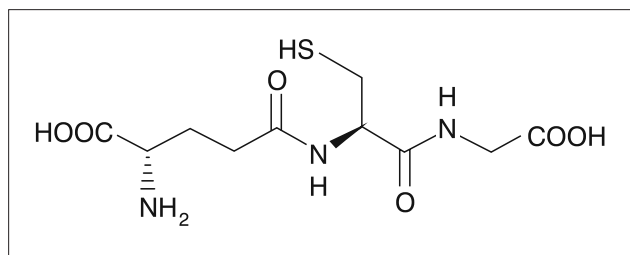
Ryc. 1. Wzór strukturalny zymosanu.

jako przeciwutleniacz ogranicza szkodliwe procesy peroksydacji lipidów, DNA i RNA, a więc chroni komórki przed deformacją i uszkodzeniami genetycznymi. Na poziomie komórkowym odpowiada za detoksykację wszystkich wolnych rodników. Wchodzi w skład peroksydazy glutationu, działającej jako czynnik antyoksydacyjny, zaliczany do grupy tzw. zmiataaczy wolnych rodników, co wykorzystuje się w terapii przeciwnowotworowej. Ostatnio stwierdzono pozytywny wpływ selenu na przebieg takich chorób, jak AIDS i stwardnienie rozsiane (6).

Ponadto suche drożdże zawierają 8-9% soli mineralnych, w tym 605 mg fosforu, 20 mg wapnia i 4,9 mg żelaza w 100 g drożdży, 1% ergosterolu będącego prowitaminą D₂, 4% lecytyny, enzymy (zymazę, inwertazę, maltazę), a także 0,1% glutationu – tripeptydu kwasu glutaminowego, cysteiny oraz glicyny (wzór glutationu przedstawiono na rycinie 2). Biologiczne funkcje, jakie spełnia on w komórkach, wiążą się z obecnością aktywnej grupy sulfhydrylowej, dzięki której bierze on udział w reakcjach antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych. Obecny w drożdżach selen jest antyoksydantem wspomagającym działanie witaminy E, aktywizuje system immunologiczny, a także opóźnia rozwój nowotworów (7).

Drożdże jako suplement diety

Definicja suplementów diety, opublikowana w ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 171 poz. 1225), wskazuje, że są to środki spożywcze, których celem jest uzupełnienie normalnej, prawidłowo zróżnicowanej diety. Środki te muszą być skoncentrowanym źródłem witamin, składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny. Na polskim rynku co roku pojawia się coraz więcej nowych preparatów zawierających wyciąg z drożdży (4). Preparat Dromin, produkowany swego czasu przez firmę Apipol-Farma, polecany był w okresie intensywnego wzrostu młodzieży, w okresach osłabienia wynikającego z niezrównoważonej diety i przemęczenia, a zwłaszcza w tych wszystkich przypadkach, które objawiają się problemami skórными. Z kolei preparat Lewitan, ze względu na zawartość



Ryc. 2. Wzór strukturalny glutationu (C₁₀H₁₇N₃O₆S).

witamin B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₂, B₁₅, a także kwasu rybonukleinowego, zalecany jest osobom po przebytej chorobie, czy też zabiegu operacyjnym. Wpływa on korzystnie na skórę, włosy i paznokcie, poprawia również stan cery u młodzieży w okresie dojrzewania. Reguluje pracę wątroby i trzustki, a także jest ważnym elementem diety diabetyków.

Zawarte w drożdżach witaminy z grupy B bardzo korzystnie oddziałują na system nerwowy, łagodząc objawy stresu i psychicznego wyczerpania. Przeprowadzono wiele eksperymentów, podając drożdże osobom z poważnymi dolegliwościami psychicznymi. Nawet w takiej chorobie, jak schizofrenia, rezultaty były zaskakujące. Niezwykłe działanie drożdży na psychikę człowieka ma bardzo proste wytłumaczenie. Odkrycia medyczne wskazują, że zaburzenia umysłowe bardzo często są związane z niedoborem witaminy B₃, nazywanej również witaminą PP, a jej bogatym źródłem są właśnie drożdże. Dlatego mogą być one stosowane pomocniczo w psychoterapii. Drożdże mają ponadto zastosowanie, jako lek wspomagający, w leczeniu rwy kulszowej i zapalenia nerwów.

Drożdże znajdują także zastosowanie w walce z nadwagą. Okazuje się, że w tym obszarze są bardzo skuteczne. Co roku miliony ludzi na całym świecie wydaje olbrzymie pieniądze na różnego rodzaju środki odchudzające. Mimo tego nie mogą oni pozbyć się zbędnych kilogramów lub tracą je na krótko, by ponownie przytyć. Rodzi się pytanie, jaka jest tego przyczyna? Podstawowym powodem jest źle funkcjonujący układ trawienny. Za jego prawidłowe działanie odpowiada między innymi witamina B₆, która aktywizuje enzymy w organizmie człowieka. Niedobór tej witaminy prowadzi do zachwiania procesów przemiany materii, w konsekwencji prowadząc do nadwagi. Osoby otyłe, które często cierpią na migreny, mają niedobory witaminy B₆. Niedobór tej witaminy jest również ważnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy, zwiększającej się możliwość powstania udaru czy choroby niedokrwiennej serca.

W ostatnich latach chrom odgrywa ważną rolę jako środek wspomagający odchudzanie, gdyż dzięki zdolności regulowania poziomu cukru we krwi może być pomocny w ograniczaniu apetytu. Bogatym źródłem tego mikroelementu są właśnie drożdże. Kuracja drożdżowa może przynieść dużo lepsze i trwalsze efekty, niż wiele innych diet, likwidując nadwagę oraz uporczywe bóle głowy.

Zastosowanie *Saccharomyces cerevisiae* w chorobach neurodegeneracyjnych

Choroby neurodegeneracyjne należą obecnie do najbardziej niszczycielskich chorób w populacji osób

starszych. Zrozumienie i leczenie ich jest jednym z największych wyzwań stawianych współczesnej medycynie w krajach rozwiniętych. Neurodegeneracyjne proteinopatie są grupą chorób, w których pojedyncze białko lub zespół białek zaczyna przyjmować anormalne konformacje, sprzyjające agregacji i tworzeniu złogów amyloidowych. Ich umiejscowienie w tkankach lub organach jest charakterystyczne dla każdej choroby neurodegeneracyjnej (8, 9). Następstwem anormalnej konformacji białek jest utrata ich funkcji lub nabycie właściwości cytotoksycznych. Oba te przypadki doprowadzają najczęściej do śmierci organizmu. Kształt złogów amyloidowych zawsze, niezależnie od tego, z jakich białek powstały, przyjmuje postać fibryli o strukturze β -harmonijki. W początkach badań nad złogami uważano, że pojawienie się ich w komórce zawsze wiązało się z działaniem cytotoksycznym. Obecne badania wskazują na to, że takie właściwości mają tylko małe agregaty – dimery i oligomery (10).

Podstawowe mechanizmy i ścieżki leżące u podstaw chorób neurodegeneracyjnych są bardzo dobrze skorelowane w komórkach ludzkich i drożdży. Dzięki temu istnieje możliwość szczegółowych badań molekularnych. Jeśli gen zaangażowany w daną chorobę ma homolog w komórkach drożdży, możliwe staje się przebadanie go bezpośrednio. Z drugiej strony, jeśli gen leżący u podstawy choroby jest nieobecny w drożdżach, ale wywołuje chorobę u ludzi, to może być modelowany poprzez heterologiczną ekspresję ludzkiego genu w komórkach drożdży (11).

Choroba Huntingtona

Choroba Huntingtona ma podłoże genetyczne i obejmuje ośrodkowy układ nerwowy. Jej nazwa pochodzi od nazwiska lekarza Georga Huntingtona, który jako pierwszy opisał ją w 1872 roku. Powoduje ona obumieranie komórek (neuronów) w niektórych częściach mózgu: jądrze ogoniastym i skorupie oraz w miarę rozwoju choroby w korze mózgowej. Jądro ogoniaste i skorupa powiązane są z wieloma innymi rejonami mózgu i pomagają w kontrolowaniu ruchów ciała, emocji, myślenia oraz w postrzeganiu świata (12, 13). Płasawica Huntingtona spowodowana jest mutacją w obrębie chromosomu 4. Choroba ta dziedziczona jest autosomalnie dominująco, niekiedy zdarzają się również mutacje spontaniczne. Rezultatem mutacji jest wielokrotne powtórzenie sekwencji trójki nukleotydów CAG (kodon oznaczający glutaminę), w obrębie eksonu 1, powodujące powstawanie długich regionów poliglutaminowych (poliQ) na N-końcowym fragmencie białka (14, 15). Im więcej powtórzeń sekwencji CAG w obrębie chromosomu 4, tym wcześniej dochodzi do wystąpienia pierwszych

objawów chorobowych i tym cięższy jest jej przebieg kliniczny. Konsekwencją mutacji jest utrata neuronów w obszarach mózgowia, zwanych jądrem ogoniastym i skorupą, wytwarzających neuroprzekaźniki: kwas γ -aminomasłowy (GABA) oraz substancję P. Choroba Huntingtona w równym stopniu dotyczy obu płci.

Dziedziczenie autosomalne dominujące oznacza, że wadliwy gen znajduje się na jednym z chromosomów autosomalnych (nie płciowych), a odziedziczenie już jednej kopii wadliwego genu, od jednego z rodziców, powoduje wystąpienie choroby.

Dla choroby Huntingtona charakterystyczne jest wystąpienie mimowolnych ruchów płasawicznych, czyli niekontrolowanych, nagłych skurczów mięśni, często mięśni rąk i twarzy, które nasilają się w czasie wykonywania ruchów zależnych od woli. Dodatkowo obserwuje się taneczny chód, mimowolne grymasy twarzy, jak również tak zwany brak wytrwałości ruchowej, np. niezdolność do utrzymania wysuniętego języka. Ruchy płasawiczne często ulegają nasileniu w czasie bodźców emocjonalnych, w sytuacjach stresowych, a zanikają w czasie snu. Chorobie towarzyszy otępienie, postępujące zaburzenia pamięci, apatia. Charakterystyczne są również zaburzenia osobowości. Ponadto występują zaburzenia nastroju – możliwe jest pojawienie się depresji, zespołów psychotycznych, schizofrenii oraz innych zaburzeń psychicznych. Chorzy bywają pobudzeni, drażliwi, izolują się od otoczenia. W badaniu fizycznym przez lekarza da się zauważyć obniżone napięcie mięśni oraz silne odruchy ścięgnięte. W postaci młodzieńczej choroby Huntingtona napięcie mięśni jest wzmożone. Choroba ma charakter postępujący. Do zaburzeń ruchowych typu ruchów płasawicznych mogą dołączyć napady padaczkowe.

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* nie mają genu IT15 kodującego huntinginę (Htt). Dzięki heterologicznej ekspresji ludzkiego i mysiego genu Htt w komórkach drożdży wyjaśniona została toksyczność tego białka dla komórek eukariotycznych (16). Pierwsze badania prowadzone na drożdżach pokazały, że agregacja domen poliQ jest zależna od liczby powtórzonych glutamin (17, 18). Kolejne badania przeprowadzone na modelu drożdżowym wykazały, że toksyczność agregatów Htt zależy nie tylko od samej domeny poliQ. Ważne są także sekwencje otaczające, zwłaszcza region bogaty w prolinę, gdyż ta domena przekształca toksyczną postać poliQ w nietoksyczną (19). Badania fragmentów poliQ w drożdżach wykazały, że ich wydłużone regiony, poprzez nadmierną asocjację do zewnętrznej błony mitochondrialnej, zaburzają funkcję tego organellum. Naukowcy wysnuli przypuszczenia, że toksyczny charakter poliQ polega na zaburzaniu

procesów oddechowych w wyniku uszkodzenia mitochondriów (20).

Ekspresja w komórkach drożdży N-końcowego fragmentu Htt, przymocowanego do białka o zielonej fluorescencji (*green fluorescent protein* – GFP), skutkuje powstawaniem cytoplazmatycznych inkluzji w zależnej od toksyczności poliQ, która może być uwidoczniła za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego (10).

Model drożdżowy pozwolił także na wykazanie związku agregacji poliQ z procesem endocytozy. Toksyczność poliQ była zwiększona w mutantach z zaburzonym procesem endocytozy. Natomiast gdy agregaty poliQ pojawiały się w komórkach dzikich, następowało zatrzymanie procesów endocytozy.

Międzynarodowe projekty delecji genów drożdżowych pozwoliły na utworzenie kolekcji szczepów *S. cerevisiae* z usuniętymi poszczególnymi genami. W jednym z testów, do komórek mutantów wprowadzano toksyczne poliQ i wyszukiwano szczepy o zwiększonej przeżywalności. Wynikiem przeprowadzonego testu było potwierdzenie tezy, że sama obecność domen poliQ nie warunkuje cytotoksyczności (21). Zidentyfikowano także m.in. geny odpowiedzialne za transport pęcherzykowy i białka prionowe. Jednym z genów warunkujących toksyczny charakter poliQ okazał się gen BNA4, który koduje monoooksydazę kinureinową. Jest to enzym ze szlaku degradacji tryptofanu (22).

Dostępność modelu drożdży w chorobie Huntingtona pozwoliła na identyfikację nowych substancji leczniczych, które mogą zostać wykorzystane do celów leczniczych w tej chorobie.

Choroba Alzheimer

Choroba Alzheimer jest najbardziej rozpowszechnioną chorobą neurodegeneracyjną na świecie. W odniesieniu do choroby Alzheimer używa się również określenia otępienie lub demencja. Otępieniem (demencją) nazywa się utratę lub znaczne upośledzenie wyższych czynności korowych, takich jak pamięć, myślenie, orientacja, rozumienie, liczenie, zdolność uczenia się, zdolność oceny sytuacji. Choroba Alzheimer jest najczęściej występującym rodzajem otępienia. Drugim pod względem częstości występowania rodzajem demencji jest otępienie naczyniopochodne. Znacznie rzadziej występujące otępienie czołowo-skroniowe i otępienie z ciałami Lewy'ego. Liczbę chorych na chorobę Alzheimer na świecie szacuje się na 15-21 milionów, w Polsce na ok. 350 tysięcy. Występowanie choroby Alzheimer gwałtownie wzrasta z wiekiem. Według różnych badań częstość występowania choroby ocenia się na: 1-3% w grupie

wiekowej 65-74 lata, 3-6% w grupie wiekowej 75-79 lat, 12-20% w grupie wiekowej 80-84 lata i 21-47% w grupie powyżej 85 lat (23). Choroba Alzheimer charakteryzuje się upośledzeniem sprawności intelektualnej. Upośledzenie to zwykle narasta stopniowo, od nieznacznie nasilonego zapominania do całkowitej niesprawności umysłowej. Osoba cierpiąca na otępienie zwykle ma trudności z zapamiętywaniem, ale w zależności od stopnia zaawansowania choroby, może mieć też problemy z rozumieniem, wnioskowaniem, osądzaniem.

Mózg chorego charakteryzuje się głębokim zanikiem komórek nerwowych, zwłaszcza neuronów i synaps w tych rejonach mózgu, które odpowiedzialne są za uczenie i zapamiętywanie. Ponadto w mózgu zidentyfikowano zewnątrzkomórkowe płytki amyloidowe, tzw. płytki starcze (24). Są one zbudowane z 39-43 płytek amyloidu β ($A\beta$). Peptyd ten jest produktem rozszczepienia $A\beta$ PP, transbłonowego białka typu 1 o nieznannej funkcji. U zdrowych osób wytwarzanie $A\beta$ nie działa toksycznie, jednak białko to jest główną przyczyną wywołującą chorobę (23).

Gen kodujący białko $A\beta$ PP znajduje się na 21 chromosomie. Białko to ulega rozszczepieniu pod wpływem sekretaz. Dwie proteazy aspartylowe odpowiedzialne za konwersację tego białka do $A\beta$ określane są, jako β - i γ -sekretazy. Jednakże większość cząsteczek $A\beta$ PP ulega rozszczepieniu przez α -sekretazę, która dzieli białko w pobliżu środka domeny $A\beta$, w wyniku czego produkt rozszczepienia z dużą rozpuszczalną ektodomeną ($A\beta$ PP_s- α) uwalniany jest do przestrzeni pozakomórkowej (23).

W początkowej fazie badań prowadzonych na modelu drożdżowym, wykorzystano heterologiczną ekspresję ludzkiego białka $A\beta$ PP. Zhang i wsp. (25) wykazał, że powstałe białko jest nietoksycznie dla mikroorganizmu. Białko to w komórkach drożdży ulegało podzieleniu na dwie części. N-końcowy fragment usuwany był na zewnątrz komórki, natomiast C-końcowa domena pozostawała w cytoplazmie. Było to dowodem istnienia w komórkach drożdży białka o aktywności zbliżonej do α -sekretazy ludzkiej (23).

Kolejnym procesem badanym w drożdżach była aktywność β - i γ -sekretazy, które są głównymi białkami powodującymi powstanie domeny $A\beta$ 42. Domena ta zdolna jest do agregacji. Użycie modelu drożdżowego pozwoliło na ustalenie warunków odpowiednich do badań nad toksycznym charakterem niefibrylarnych i fibrylarnych postaci $A\beta$ 42. Bharadwaj i wsp. (23) potwierdzili, że zwiększona ekspresja białka APP i tworzenie płytek starczych w wyniku oligomeryzacji $A\beta$ 42 jest główną przyczyną zaburzeń systemu nerwowego w chorobie Alzheimer. Testy przeżywalności

komórek *S. cerevisiae* umożliwiają również badanie wpływu różnych warunków fizycznych i chemicznych na żywotność komórek drożdżowych, w których zachodzi ekspresja poszczególnych izoform A β 42. Dzięki temu możliwa staje się identyfikacja potencjalnych inhibitorów toksycznych postaci tej domeny (26).

Wykorzystanie modelu drożdżowego w badaniu choroby Alzheimera przedstawiono w tabeli 1.

Ataksja Friedreicha

Jest to choroba o podłożu genetycznym, dziedziczona w sposób autosomalnie recesywny, która prowadzi do postępującego zwyrodnienia niektórych części układu nerwowego, a także mięśnia sercowego. Po raz pierwszy opisana została przez niemieckiego lekarza Nikolausa Friedreicha w 1863 roku.

Choroba spowodowana jest mutacją w pierwszym intronie genu FXN, znajdującym się na chromosomie 9. Gen ten zawiera informacje o wytwarzaniu białek w organizmie, w tym m.in. informacje o białku – frataksynie. Mutacja w 2% przypadków jest punktowa, natomiast w pozostałych 98% przypadków mutacja polega na ekspansji krótkiego fragmentu sekwencji genu (w tym przypadku trójki nukleotydów GAA w pierwszym intronie genu) – jest to tzw. mutacja dynamiczna. Łańcuch DNA tworzą cztery rodzaje nukleotydów: adenina, guanina, cytozyna, tymina. Każda genetyczna informacja powstaje dzięki ułożeniu setek tych nukleotydów w trójki, w różnych kombinacjach. U pacjentów z chorobą Friedreicha kolejność nukleotydów w genie, odpowiedzialnych za budowę frataksyny, jest nieprawidłowa. W takim DNA ważna jest liczba złych powtórzeń trójek nukleotydowych. U zdrowej osoby takie powtórzenia występują 7-22 razy. U pacjenta z FA zdarza się to 150-1800 razy. Powoduje to niedobór prawidłowo zbudowanej i działającej

frataksyny. Do zmiany liczby powtórzeń dochodzi głównie podczas mejozy: zwiększenia lub zmniejszenia liczby powtórzeń (zazwyczaj w chromosomie pochodzenia ojcowskiego dochodzi do zmniejszenia powtórzeń). W niektórych tkankach może dojść do niestabilności powtórzeń także podczas mitozy. Gen FXN koduje mitochondrialne białko frataksynę, które bierze udział w metabolizmie żelaza. Wystąpienie nadmiernej liczby powtórzeń trójki nukleotydowej GAA powoduje regresję transkrypcji tego genu, jednak mechanizm tej regresji nie jest dokładnie poznany. Brak frataksyny powoduje gromadzenie się żelaza w mitochondriach, zaburzenia w aktywności białek żelazo-siarkowych (Fe-S) i zwiększony stres oksydacyjny. Niektóre przypadki ataksji Friedreicha (FRDA2) łączy się z mutacjami innego genu na chromosomie 9.

Ataksja Friedreicha była jedną z pierwszych chorób, w badaniu której wykorzystano model drożdżowy. Badania nad homologiem 1 genu drożdżowej frataksyny (YFH1) rzuciły światło na podstawową wiedzę na temat etiologii tej choroby. Wiele dowodów sugeruje, że ludzka i drożdżowa frataksyna odgrywa podobną rolę w komórce. Zarówno YFH1p jak i frataksyna, są zlokalizowane w mitochondriach. Usunięcie YFH1 z drożdży skutkuje niezdolnością do wzrostu komórek tego drobnoustroju w obecności substancji niefermentujących, co jest wskaźnikiem wad fosforylacji oksydacyjnej i utraty funkcji mitochondriów. Dodatkowo zakłócenie ekspresji tego genu prowadzi do zwiększonej wrażliwości na stres oksydacyjny, wzrostu reaktywnych form tlenu (ROS) i niedoboru białek żelazo-siarkowych w mitochondriach (10).

Inne prace wykazały, że YFH1 ochrania fenotyp zmutowanego szczepu drożdży, który nie jest w stanie rosnąć na podłożu z ograniczonym dostępem do żelaza. Potwierdza to hipotezę, że frataksyna wpływa na homeostazę żelaza. Na podstawie tych badań wysnuto

Tabela 1. Wykorzystanie modelu drożdżowego w badaniu choroby Alzheimera (wg 23, 25 i 26).

Patologia w chorobie Alzheimera	Model drożdżowy
Proteoliza białka prekursorowego APP	ekspresja ludzkiego APP
γ – Sekretaza	koekspresja ludzkiego APP z kompleksem γ -sekreazy
β – Sekretaza	ekspresja ludzkiej β -sekreazy w drożdżach
C99	przetwarzanie fragmentu C99
Oligomeryzacja A β	badania <i>in vivo</i> dynamiki agregacji systemem dwuhybrydowym ekspresja fuzji białka A β /GFP ekspresja fuzji białka A β /Sup35p
Zewnątrzkomórkowa toksyczność A β	toksyczność oligomerycznych i fibrylarnych form A β
Fosforylacja białka tau	ekspresja ludzkich izoform białka tau-3R i tau-4R

kolejną hipotezę, że YFH1 funkcjonuje jako białko chroniące żelazo mitochondrialne, gdyż wiąże labilne żelazo (Fe^{2+}). Żelazo jest podstawowym elementem do biosyntezy grupy hemowej cytochromów i białek żelazo-siarkowych, a tym samym odgrywa istotną rolę w funkcji mitochondrium. Poziom komórkowego żelaza jest pod ścisłą kontrolą, ponieważ uczestniczy ono w reakcji Fentona, która katalizuje przemianę nadtlenu wodoru w wysoko reaktywny rodnik hydroksylowy. Deregulacja homeostazy żelaza może prowadzić do zbyt wysokiego poziomu ROS, który z kolei może przyczynić się do niedoboru białek żelazo-siarkowych. Stąd uważa się, że akumulacja żelaza jest przyczyną stresu oksydacyjnego i utraty funkcji mitochondriów, obserwowanych w ataksji Friedricha (10).

Pomimo wielu dyskusji prowadzonych w związku z tą chorobą, nie można zaprzeczyć, że drożdże w znacznym stopniu przyczyniły się do zrozumienia jej mechanizmu.

Choroba Parkinsona

Choroba Parkinsona (PD) jest zaburzeniem funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego. Jej nazwa pochodzi od nazwiska Jamesa Parkinsona, pierwszego lekarza zajmującego się tematyką tego schorzenia. U chorych na chorobę Parkinsona dochodzi do obumierania komórek w śródmózgowiu, a konkretnie w istocie czarnej (*substantia nigra pars compacta*) (27). Wskutek tego, upośledzone jest wytwarzanie dopaminy – neuroprzekaźnika odpowiedzialnego za koordynację ruchów i napięcie mięśni. Przyczyny zachorowań nie są do końca wyjaśnione. Uważa się również, że powodem może być kontakt z pewnymi substancjami chemicznymi, zwłaszcza pestycydami i środkami chwastobójczymi. Czynniki ryzyka są poza tym: wiek (im osoba jest starsza, tym łatwiejsze jest zachorowanie), płeć (częściej chorują mężczyźni) oraz niski poziom estrogenów. Na rozwój PD wpływ mają także czynniki genetyczne, jednak rodzinna postać tej choroby występuje rzadko. Do tej pory poznano kilka genów związanych z PD. Pierwszym genem był α -syn, który koduje białko α -synukleinę. Mutacje oraz duplikacje miejsca genu α -syn na chromosomie powiązane z rodzinną postacią tej choroby (28, 29).

Ciałka Lewy'ego, zbudowane głównie z α -synukleiny, pojawiają się w komórkach chorych na PD. Białko to występuje w zdrowych komórkach OUN; w warunkach fizjologicznych wpływa na homeostazę dopaminy (30). Patologiczna forma α -synukleiny traci tę właściwość, co doprowadza do nagromadzenia dopaminy w komórkach. Konsekwencją tego jest wytwarzanie wolnych rodników, które uszkodzają DNA i białka (31).

Aby wnikać w biologię genu α -syn, został opracowany model drożdżowy. Co więcej, wiele cech

charakterystycznych dla PD zostało pomyślnie odtworzonych w drożdżach. W badaniach tych wykazano, że ekspresja genu α -syn hamuje wzrost drożdży i doprowadza do śmierci komórki. Ekspresja białka α -syn-GFP w drożdżach wykazała jego agregację w postaci małych skupisk w błonie komórkowej. Agregacja ta wiązała się z inhibicją fosfolipazy D, blokowaniem transportu pomiędzy aparatem Golgiego i siateczką endoplazmatyczną oraz zaburzeniami endocytozy (32, 33). Postać zmutowana A30P, w odróżnieniu od formy dzikiej (WT) genu α -syn, umiejscawia się tylko w cytoplazmie i nie wykazuje skłonności do agregacji. Użycie różnych mutantów drożdżowych wykazało, że same inkluzje genu α -syn nie są toksyczne dla komórki. Volles i wsp. (wg 29) wykazali, że cytotoksyczność zależy od zdolności formowania α -harmonijki, a nie tworzenia struktur fibrylarnych. Szczepy drożdżowych mutantów delecyjnych okazały się bardzo przydatne w określeniu genów związanych z lokalizacją genu α -syn w komórce. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* wykorzystano również w wyszukaniu ewentualnych chemioterapeutyków inhibujących cytotoksyczne działanie genu α -syn. Toksyczność genu α -syn w komórkach drożdży uwarunkowana jest także modyfikacjami potranslacyjnymi (10).

Szczepionki oparte na drożdżach

W ostatnich latach w dziedzinie immunoterapii nowotworów nastąpił bardzo duży postęp z powodu sukcesu próbnych szczepionek na bazie drożdży działających przeciwnowotworowo: Sipuleucel-T i Prostavac-VF. Sipuleucel-T jest autologiczną szczepionką opartą na komórkach dendrytycznych (34). W niedawno przeprowadzonej III fazie badania przedklinicznego, u pacjentów z zaawansowanym rakiem prostaty w grupie losowo otrzymującej Sipuleucel-T wykazano 33% obniżenie ryzyka zgonu i znaczny wzrost czasu przeżycia (do 4,3 miesiąca) w porównaniu z pacjentami otrzymującymi placebo. Prostavac-VF jest szczepionką składającą się z dwóch rekombinowanych wektorów wirusowych. Każdy z nich koduje transgeny dla antygeny swoistego dla prostaty i trzech odpornościowych cząsteczek kostymulujących (B 7.1, ICAM-1 i LFA-3). Ostatnie opublikowane dane z fazy II badania klinicznego Prostavac-VF wykazały, że w przerzutowym nieoperacyjnym raku prostaty, szczepionka ta jest dobrze tolerowana i przyczynia się do zmniejszenia śmiertelności o 44% oraz wzrostu czasu przeżycia do 8,5 miesiąca, w porównaniu z placebo (35).

Drożdże wykorzystano także do produkcji szczepionek przeciwko chorobom zakaźnym spowodowanym przez wirusy zapalenia wątroby typu B oraz ludzkiego

brodawczaka. W tych szczepionkach drożdże są używane do wytwarzania podjednostek białkowych lub cząsteczek wirusopodobnych (36, 37). Celem profilaktycznych szczepionek jest zapewnienie prezentacji białek zawartych w szczepionce układowi odpornościowemu w taki sposób, aby ułatwić odpowiedź immunologiczną za pośrednictwem limfocytów T zależnych od komórek B, które są w stanie wyprodukować przeciwciała neutralizujące, skierowane przeciwko wirusom (38). Wynikiem tej terapii jest utrzymująca się u 50-75% pacjentów stała odpowiedź immunologiczna, przy czym u niektórych pacjentów działanie szkodliwe lub brak skuteczności podkreśla potrzebę dodatkowego leczenia farmakologicznego (39).

Profilaktyczne szczepionki zapewniają ochronę przed chorobami zakaźnymi. Drożdże są obiecującym terapeutycznym środkiem, który ze względu na zdolność do generowania odpowiedzi immunologicznej przeciwko komórkom nowotworowym i wirusom, może być zastosowany jako szczepionka (40).

Drożdże w kosmetyce

Drożdże już w starożytności wykorzystywano jako lek na choroby i obrzęki skóry, w leczeniu hemoroidów, ran po oparzeniach i jako środek przeciw zmianom skórny. Łączono je także z innymi substancjami: okłady z mirtem zwyczajnym zmiękczały ogniska zapalne, a gotowane z figami wykazywały działanie przeciw swędzącym wypryskom i owrzodzeniom (4).

Trądzik jest dość powszechnym schorzeniem i walczy z nim wielu młodych, a czasem starszych ludzi. W toku leczenia tej choroby skóry, drożdże przyczyniają się do regulowania ilości wydzieliny z gruczołów łojowych, przez co zapobiegają powstawaniu łojotoku. Ponadto drożdże przyczyniają się do zmniejszenia liczby powstających zaskórników, będących pierwszą oznaką trądziku.

Jednym ze sposobów leczenia drożdżami jest stosowanie specjalnych maseczek. Takie preparaty można zakupić w drogeriach lub przygotować je samodzielnie. Jednym z najprostszych zastosowań jest połączenie drożdży piekarniczych z ciepłym mlekiem lub płynnym miodem. W przypadku cery suchej preparat można wzbogacić niewielką ilością oliwy z oliwek. Kuracja drożdżami to również specjalnie przygotowane napoje. Przygotowując napój drożdżowy należy pamiętać, żeby drożdże piekarnicze zalać wrzącą wodą (żywe fermentują w żołądku i wiążą z ustroju witaminę H). Kuracja taka nie powinna trwać dłużej niż czterdzieści dni, przy czym po pięciu dniach terapii należy przerwać ją na osiem – dziesięć dni.

Kolejna aplikacja kosmetyczna drożdży polega na ich stosowaniu w zapobieganiu występowania

rozstępów skórnych. Rozstępy są to pasma skóry o zabarwieniu różowym, pojawiające się najczęściej w okolicy brzucha i bioder. Mechanizm ich powstawania jest skomplikowany, a główną przyczyną jest zanikanie obecnych w skórze włókien sprężystych odpowiedzialnych za prawidłowe jej napięcie i elastyczność. Główne grupy osób, które narażone są na powstanie rozstępów to osoby otyłe i kobiety w ciąży (pojawiają się one u większości kobiet ciężarnych, przeważnie pod koniec 6. miesiąca ciąży, zwykle w postaci różowych przejaśnień na powierzchni ud, brzucha i piersi). Problem ten dotyczy również osób z zaburzeniami hormonalnymi. Przykładem może być choroba Cushinga. Rozstępy skórne występują także u osób przewlekłe leczonych kortykosteroidami.

Naukowcy z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi przeprowadzili badanie aplikacyjne, monitorujące skuteczność deklarowaną przez producenta preparatów serii Rilastil Intensive włoskiej firmy Istituto Ganassini, które w swoim składzie zawierają wyciąg z drożdży i przeznaczone są do zapobiegania rozstępom (41). U wszystkich pacjentek zaobserwowano znaczny wzrost elastyczności skóry. Rozstępy stały się mniej widoczne, płystsze i zmniejszyły swoje rozmiary. Średnia redukcja szerokości tych zmian wynosiła 1 mm, a średnie zmniejszenie ich długości wyniosło 8,33 cm. Ponadto zanotowano średni wzrost nawilżenia skóry, która była poddana zabiegom o 8,4%, a natłuszczenia o 19,4%. W przypadku świeżych rozstępów efekty były o wiele lepsze. Nastąpiła znaczna redukcja zmian i poprawa kondycji skóry.

Podsumowanie

Drożdże powszechnie stosowane w przemyśle piekarniczym i piwowarskim, obecnie również używane są z powodzeniem w przemyśle farmaceutycznym i biotechnologii. Drożdże są dobrym modelem do badań chorób związanych z dysfunkcją mitochondriów. *Saccharomyces cerevisiae* są również dogodnym modelem do badań nad właściwościami białek prionowych, wielorakiej oporności komórek na różnego rodzaju inhibitory, w tym leki przeciwnowotworowe i w chorobach neurodegeneracyjnych. W przyszłości przewiduje się szczepionki drożdżowe do walki z takimi nowotworami oraz chorobami wirusowymi, jak czerniak złośliwy, czy HIV. Biorąc pod uwagę bezpieczeństwo stosowania drożdży w leczeniu chorych na raka we wczesnych stadiach choroby, możemy uważać to za rozsądne podejście. Należy dodać, że drożdże używane są także, jako probiotyczny suplement pirogronianu, w leczeniu zapalenia okrężnicy spowodowanego przez *Clostridium difficile*. Drożdże znalazły zastosowanie w przemyśle kosmetycznym,

co pozwala na zwalczanie takich chorób skóry, jak trądzik, łojotok, czy zaburzenia rogowacenia oraz rozstępów. Dzięki dużej zawartości wielu mikroelementów i witamin, chętnie wykorzystywane są w suplementach diety.

Piśmiennictwo

1. Goedert M. Parkinson's disease and other alpha-synucleinopathies. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39:308-12. 2. Kayser O. Podstawy biotechnologii farmaceutycznej. Wyd UJ, Kraków 2006; 70-1. 3. Szczepara FM, Chandelier C, Villeret C i wsp. Total biosynthesis of hydrocortisone from a simple carbon source in yeast. *Nat Biotechnol* 2003; 21:143-9. 4. Glinka M, Kępka I. Zastosowanie drożdży w kosmetyce. *Pol J Cosmetol* 2007; 10:156-65. 5. Sato M, Sano H, Iwaki D. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF-kappa B activation and TNF-alpha secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A. *J Immunol* 2003; 171:417-25. 6. Falandy J. Selenium in edible mushrooms. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2008; 26:256-99. 7. Molski M. Chemia piękna. Wyd Nauk PWN, Warszawa 2009; 273-4. 8. Kaye R, Head E, Thompson JL i wsp. Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science* 2003; 300:486-9. 9. Rochet JC, Lansbury PT. Amyloid fibrillogenesis: themes and variations. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 74:1587-95. 10. Miller-Fleming L, Giorgini F, Outeiro TF. Yeast as a model for studying human neurodegenerative disorders. *Biotechnol J* 2008; 3:325-38. 11. Wawrzycka D. Drożdże jako model w badaniach chorób neurodegeneracyjnych. *Post Hig Med Dośw* 2011; 65:325-37. 12. Bocharova N, Chave-Cox R, Sokolov S i wsp. Protein aggregation and neurodegeneration: clues from a yeast model of Huntington's disease. *Biochem (Mosc)* 2009; 74:231-4. 13. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet* 2007; 369:218-28. 14. Rubinsztein DC. Phenotypic characterization of individuals with 30-40 CAG repeats in the Huntington disease (HD) gene reveals HD cases with 36 repeats and apparently normal elderly individuals with 36-39 repeats. *Am J Hum Genet* 1996; 59:16-22. 15. Dueannwald ML, Jagadish S, Muchowski PJ i wsp. Flanking sequences profoundly alter polyglutamine toxicity in yeast. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103:11045-50. 16. Giorgini F, Guidetti P, Nguyen Q i wsp. A genomic screen in yeast implicates kynurenine 3-monooxygenase as a therapeutic target for Huntington disease. *Nat Genet* 2005; 37:526-31. 17. Muchowski PJ, Schaffar G, Sittler A i wsp. Hsp 70 and hsp 40 chaperones can inhibit self-assembly of polyglutamine proteins into amyloid-like fibrils. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97:7841-6. 18. Krobitch S, Lindquist S. Aggregation of huntingtin in yeast varies with the length of the polyglutamine expansion and the expression of chaperone proteins. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97:1589-94. 19. Dehay B, Bertolotti A. Critical role of the proline-rich region in huntingtin for aggregation and cytotoxicity in yeast. *J Biol Chem* 2006; 281:35608-15. 20. Drewes G. Marking tau for tangles and toxicity. *Trends Biochem Sci* 2004; 29:548-55. 21. Gauthier LR, Charring BC, Borell-Pages M i wsp. Huntingtin controls neurotrophic support and

survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell* 2004; 118:127-38. 22. Winzeker EA. Functional characterization of the *S. cerevisiae* genome by gene deletion and parallel analysis. *Science* 1999; 285:901-6. 23. Bharadwaj P, Martins R, Macreadie I. Yeast as a model for studying Alzheimer's disease. *FEMS Yeast Res* 2010; 10:961-9. 24. Price JL, Davis PB, Morris JC i wsp. The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1991; 12:295-312. 25. Zhang W, Espinoza D, Hines V i wsp. Characterization of beta-amyloid peptide precursor processing by the yeast Yap3 and Mkc7 proteases. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1359:110-22. 26. Lüthi U, Schaerer-Brodbeck C, Tanner S i wsp. Human beta-secretase activity in yeast detected by a novel cellular growth selection system. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1620:167-78. 27. Hughes SR, Goyal S, Sun J E i wsp. Two-hybrid system as a model to study the interaction of beta-amyloid peptide monomers. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:2065-70. 28. Hardy J, Cai H, Cookson MR i wsp. Genetics of Parkinson's disease and parkinsonism. *Ann Neurol* 2006; 60:389-98. 29. Hanato T, Kubo S, Sato S i wsp. Pathogenesis of familial Parkinson's disease: new insights based on monogenic forms of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2009; 111:1075-93. 30. Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R i wsp. Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett* 1998; 251:205-8. 31. Volles MJ, Lansbury PT. Relationships between the sequences of alpha-synuclein and its membrane affinity, fibrillization propensity, and yeast toxicity. *J Mol Biol* 2007; 366:1510-22. 32. Dixon C, Mathias N, Zweig RM i wsp. alpha-Synuclein targets the plasma membrane via the secretory pathway and induces toxicity in yeast. *Genetics* 2005; 170:47-59. 33. Zabrocki P, Pelens K, Vanhelmont T i wsp. Characterization of alpha-synuclein aggregation and synergistic toxicity with the protein tau in yeast. *FEBS J* 2005; 272:1380-400. 34. Higano CS, Schellhammer PF, Small EJ i wsp. Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trials of active cellular immunotherapy with Sipuleucel-T in advanced prostate cancer. *Cancer* 2009; 115:3670-9. 35. Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA i wsp. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:1099-105. 36. McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ i wsp. Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature* 1984; 307:178-80. 37. Schiller JT, Castellsague X, Villa LL i wsp. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine (Suppl 10)* 2008; 26:K53-K61. 38. Stanley M. Immunobiology of HPV and HPV vaccines. *Gynecol Oncol* 2008; 109:S15-S21. 39. Forde K A, Reddy KR. Hepatitis C virus infection and immunomodulatory therapies. *Clin Liver Dis* 2009; 13:391-01. 40. Ardiani A, Higgins JP, Hodge JW. Vaccines based on whole recombinant *Saccharomyces cerevisiae* Cells *FEMS Yeast Res* 2010; 10:1060-9. 41. Glinka M, Kępka I. Ocena skuteczności preparatów z suchym ekstraktem drożdży w zabiegach poprawiających wygląd skóry z rozstępami. *Pol J Cosmetol* 2007; 10(3):199-03.

otrzymano/received: 06.11.2012
zaakceptowano/accepted: 05.12.2012

Adres/address:
*dr Bożena Muszyńska
Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej UJCM
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków
tel.: +48 (12) 620-54-30
e-mail: muchon@poczta.fm