

Działanie immunostymulujące wodnego wyciągu z liści aloesu drzewiastego (*Aloe arborescens* Mill.)

Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków, Narodowy Instytut Leków w Warszawie
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. farm. Elżbieta L. Anuszevska

IMMUNOSTIMULATORY ACTIVITY OF WATER
EXTRACT FROM LEAVES OF ALOE ARBORESCENS
MILL.

SUMMARY

Genus Aloe was traditionally applied for the medicinal practice over thousands of years and used for treatment of wide range of medical indication from stomach disorders to cancer. Fresh leaves of Aloe arborescens contain various groups of chemical compounds such as: glycoproteins, polysaccharides, hydroxyanthraquinone derivatives, vitamins, minerals, aminoacids and many others, which show multidirectional therapeutic action. These active components are responsible for immunomodulatory, antiinflammatory and antimicrobial effects of Aloe arborescens.

Therefore the aim of our study was to demonstrate that water Aloe arborescens extract positively affects the survival of mouse thymocytes in cultures with hydrocortisone (cytotoxicity test) and increases the count of splenocytes forming spontaneous rosettes with sheep red blood cells (E-rosette test). The immature thymocytes have steroid receptors on their surface, therefore being sensitive to the lytic action of hydrocortisone, which induces an active process of autodestruction leading to apoptosis. During maturation and obtainment of immunological power the cells lose these receptors and become resistant to steroids. The ability of splenocytes to bind sheep erythrocytes to form spontaneous rosettes depends on the binding of glycoprotein structures present on the surface with lipids present on the surface of sheep red blood cells.

The obtained results show that water Aloe arborescens extract increases survival rate of Balb-c mouse thymocytes in cultures with hydrocortisone and increases the ability of splenocytes to attach to sheep erythrocytes in E-rosette test. Comparison of the results for water extract from the Aloe arborescens leaves with those obtained for synthetic immunostimulators: levamisol and isoprinosine, shows no differences between the immunostimulatory activity of both.

KEY WORDS: WATER ALOE ARBORESCENS EXTRACT –
IMMUNOSTIMULATION – CELL RESPONSE

Wstęp

Aloes drzewiasty (*Aloe arborescens* Mill.) jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych gatunków z rodzaju *Aloe* L. Z uwagi na szerokie zastosowanie w przemyśle żywnościowym, kosmetycznym i farmaceutycznym, poza stanowiskami naturalnymi, uprawiany jest na plantacjach, głównie w Japonii,

Chinach, obu Amerykach, a także w Polsce. Liście aloesu zawierają do 98% wody; w pozostałych kilku procentach zawartości znajduje się duża liczba biologicznie aktywnych składników (1, 2). Od dziesiątków lat preparaty aloesowe stosowane są w profilaktyce i terapii ludzi i zwierząt, w szeregu takich chorób, jak zakażenia bakteryjne i wirusowe, rany i owrzodzenia oraz choroby układu pokarmowego (3-8). Właściwości przeciwutleniające i stymulujące układ odpornościowy aloesu drzewiastego wykorzystywane są także w profilaktyce i leczeniu wspomagającym chorób cywilizacyjnych; cukrzycy i nowotworów (9, 10).

Od lat pięćdziesiątych na terenie Polski dopuszczony do obrotu jest produkt leczniczy o nazwie Biostymina; płyn doustny, będący wodnym wyciągiem z liści aloesu drzewiastego, pochodzącego z hodowli własnej Zakładów Zielarskich Phytopharm Kłęka S.A. Liście roślin trzyletnich po procedurze mycia poddaje się bioaktywacji zgodnie z teorią Fiłatowa. Zakłada ona, że przechowywanie w zimnie i w ciemności powoduje powstanie biogennych stymulatorów w tkankach roślinnych, odpowiedzialnych za efekty terapeutyczne (8). Po okresie bioaktywacji, rozdrobnione liście poddaje się ekstrakcji wodą redestylowaną, na drodze gotowania przez okres 10-20 min. Ekstrakty wodne po filtracji i sterylizacji są ampułkowane i wyjaławiane.

Biostymina stosowana jest najczęściej w profilaktyce i leczeniu zakażeń górnych dróg oddechowych (1, 4, 6). Warto zaznaczyć, że działanie immunostymulujące Biostyminy zależy od dawki i drogi podania.

Cel pracy

Celem pracy jest potwierdzenie immunostymulującego działania Biostyminy otrzymywanej w aktualnym procesie wytwarzania i porównanie jej działania z aktywnością syntetycznych immunostymulatorów. Do oceny działania immunostymulującego zastosowano testy: cytotoksyczności z hydrokortyzonem i rozetowy, przy czym prawidłowe przeprowadzenie immunizacji zwierząt sprawdzano za pomocą testu hemaglutynacji.

Materiały i metody

Zwierzęta

Myszy szczepu wsobnego Balb-c, samice, w wieku 4 tyg. o masie ciała ok. 16 g (test cytotoxyczności) oraz 6-8 tyg. o masie ciała ok. 20 g (test tworzenia rozet E i test hemaglutynacji czynnej). Zwierzęta pozyskiwano z hodowli Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny. Doświadczenia z udziałem zwierząt wykonano za zgodą IV Lokalnej Komisji Etycznej; nr 47/2013 (06/NIL/2010).

Płyny hodowlane

- Podłoże hodowlane RPMI-1640, z dodatkiem Hepes 20 mM/l (IITD Wrocław);
- Zbuforowany roztwór soli fizjologicznej, PBS (IITD Wrocław);
- Płyn Hanksa z dodatkiem 0,5% hydrolizatu laktoalbuminy (IITD Wrocław).

Odczynniki

- Hydrokortyzon – (Corhydron) 100 mg, proszek i rozpuszczalnik (Jelfa);
- Krwinki czerwone owcy (SRBC), GRASO Biotech, stabilizowane w płynie Alsewera;
- Płyn Alsewera: glukoza, cytrynian sodu, chlorek sodu, kwas cytrynowy (wszystkie odczynniki POCH);
- Izofluran – (AErrane), płyn (Baxter); Surowica cielęca płodowa (Bioprodukt); Błękit trypanu, substancja (Merck); Fiolet krystaliczny, substancja (Merck); Gradisol L o gęstości 1,077 g/ml (Aqua Medica).

Immunostymulatory

- Biostymina, płyn doustny (Phytopharm, Kłęka);
- Produkt leczniczy Biostymina podawano w teście cytotoxyczności, w dawkach: 2, 4, 6 i 8 μ l/ml hodowli; w teście hemaglutynacji i rozetowym w dawkach: 2 i 4 μ l/mysz (podanie doustne) (1);
- Isoprinosine, substancja (Synthelabo); Levamisole hydrochloride, substancja (Sigma). Oba związki stosowano w stężeniach: 1,00; 0,10 i 0,01 mg/ml hodowli (11).

Test cytotoxyczności

W teście oceniano wpływ danego czynnika na przeżywalność tymocytów myszy w 18-20 godz. hodowli z hydrokortyzonem (12). Niedojrzałe tymocyty mają na swojej powierzchni receptory dla sterydów, przez co są wrażliwe na lityczne działanie hydrokortyzonu, który indukuje aktywny proces autodestrukcji i wywołuje apoptozę (13, 14).

Podczas dojrzewania i nabywania przez limfocyty kompetencji immunologicznych, komórki tracą te receptory i stają się sterydooporne. Hodowle tymocytów są dobrym modelem doświadczalnym dla szybkiej oceny czynników mogących przyspieszać dojrzewanie limfocytów T, a więc wywierających działanie tymomimetyczne, podobne do działania hormonów grasicy.

Myszy usypiano izofluranem i pobierano jałowo grasicę, które następnie przecierano przez metalowe sito (średnica oczek około 300 μ m, produkcji firmy Sigma). Tymocyty otrzymane z rozdrobnionych grasic przepłukiwano trzykrotnie RPMI-1640 i wirowano (1800 obr./min przez 7-8 min). Po ostatnim wirowaniu tymocyty w liczbie 4×10^6 komórek/ml zawieszano w RPMI z dodatkiem 10% płodowej surowicy cielęcej. Zawiesinę tymocytów rozlewano po 1 ml do jałowych probówek i dodawano po 2, 4, 6 lub 8 μ l Biostyminy lub lewamizolu i izoprinozyny w stężeniu: 1,00; 0,10 i 0,01 mg/ml. Po upływie 1 godz. dodawano hydrokortyzon w dawce 50 μ g/ml hodowli tymocytów. Tak przygotowane próby inkubowano przez 18-20 godz. w temp. 37°C w atmosferze CO₂. Po tym czasie obliczano dla każdej hodowli liczbę żywych i martwych komórek po zabarwieniu 0,04% roztworem błękitu trypanu. Test przeprowadzano w warunkach jałowych.

Warunkiem prawidłowo przeprowadzonego doświadczenia jest odpowiednia żywotność tymocytów. Pod mikroskopem liczono 100 komórek, oddzielnie żywe i martwe. Odsetek komórek żywych w kontroli bez hydrokortyzonu powinien wynosić powyżej 80%; w przeprowadzonych badaniach żywotność tymocytów w hodowlach kontrolnych wynosiła od 86,3-91,3%. Względna przeżywalność komórek (stosunek komórek żywych w hodowli z hydrokortyzonem do komórek żywych w kontroli) powinien mieścić się w granicach 50-65% wynosiła średnio 56,93% (względna przeżywalność komórek poniżej 50% lub powyżej 65% dyskwalifikuje doświadczenie). Wyniki przeliczano jako procentowy wzrost (lub spadek) liczby żywych komórek w hodowlach z badanymi czynnikami w stosunku do hodowli z hydrokortyzonem.

Test rozetowy

Przyjmuje się, że wszystkie limfocyty T mają receptory dla krwinek czerwonych owcy (15, 16). Zdolność limfocytów T do łączenia się z krwinkami owcy i tworzenia z nimi spontanicznych rozet (tzw. rozet E) zależy od wiązania się struktur glikolipidowych na powierzchni błony komórkowej limfocytów z lipidami powierzchniowymi erytrocytów owcy. Wszystkie czynności związane z testem wykony-

wano w lodzie. Wirowanie prowadzono w wirówce z chłodzeniem.

Myszom, w celu immunizacji, podawano dootrzewnowo jednorazową dawkę 4×10^8 erytrocytów owcy (SRBC) (17). Zwierzęta kontrolne otrzymywały PBS. Biostyminę podawano doustnie w dawkach 2 i 4 μl /mysz. W 5 dniu po immunizacji myszy usypiano izofluranem i pobierano śledzionę, którą używano następnie do wykonania testu rozetowego. Otrzymane ze śledziony splenocyty homogenizowano, nawarstwiano na Gradisolu L o gęstości 1,077 g/ml i wirowano 15 min przy 3000 obr./min. Uzyskane z granicy faz limfocyty dwukrotnie płukano w płynie Hanksa, ponownie wirowano i zawieszano w podłożu, uzyskując końcową liczbę komórek $2 \times 10^6/\text{ml}$ hodowli. Dla każdej próby określano procent splenocytów martwych (obecność martwych komórek w ilości powyżej 10% dyskwalifikuje próbę do dalszych badań). Następnie do hodowli splenocytów dodawano 1% zawiesiny SRBC w płynie Hanksa. Po 15 min inkubacji w temp 37°C hodowle inkubowano 20 godz w temp 4°C . Po zabarwieniu 0,1% roztworem fioletu krystalicznego zliczano pod mikroskopem odsetek splenocytów, wokół których utworzyły się rozety (za rozetę uważano splenocyt otoczony co najmniej trzema erytrocytami owcy). Dla każdego badania testem rozetowym wykonywano test hemaglutynacji, jako kontrolny test prawidłowo wykonanej immunizacji. Użyte do testu rozetowego myszy były również źródłem surowicy.

Wyniki uzyskane w teście cytotoxyczości i rozetowym poddano ocenie statystycznej, obliczając SE – standardowy błąd średniej oraz statystyczną istotność różnic dla dwóch prób powiązanych (program Medistat).

Test hemaglutynacji wg Adlera (17) w modyfikacji własnej (18)

W teście hemaglutynacji wykorzystuje się reakcję swoistego łączenia przeciwciał z antygenem w postaci erytrocytów. Komórki łącząc się ze swoistymi przeciwciałami tworzą kompleksy i wypadają z zawiesiny reakcyjnej w postaci kłęczków. Pobraną krew inkubowano w cieplarni przez 15 min, następnie umieszczano na 30 min w temp 4°C i odcinano skrzep, wirowano 10 min przy 2500 obr./min i zbierano surowicę z każdej próbki. W celu inaktywacji dopełniacza surowice umieszczano w łaźni wodnej w temp 56°C na 30 min. Do przygotowanych na mikropłytkach kolejnych rozcieńczeń surowic dodawano 1% zawiesinę SRBC i inkubowano przez 2 godz. w 37°C , a następnie inkubowano w temp 4°C przez 18-20 godz. Kontrolę stanowiły surowice myszy, którym podawano PBS. Za miano aglutynacyjne surowicy (szacunkowa ilość

przeciwciał w surowicy) uważano największe jej rozcieńczenie, w którym następuje jeszcze aglutynacja (ocena mikroskopowa – co najmniej 3 zlepy w polu widzenia pod powiększeniem 200x).

Wyniki

Uzyskane wyniki w teście cytotoxyczości z hydrokortyzonem i rozetowym potwierdziły stymulujący wpływ Biostyminy na odpowiedź komórkową układu odpornościowego.

W tabeli 1 zestawiono wyniki oceny żywotności tymocytów uzyskanych z myszy szczepu Balb-c, po dodaniu do ich hodowli Biostyminy w dawkach 2, 4, 6 i 8 $\mu\text{l}/\text{ml}$, a następnie hydrokortyzonu. Kontrolę stanowiły hodowle z hydrokortyzonem, a żywotność tymocytów w hodowlach kontrolnych przyjęto za 100%. Biostymina w dawkach 2 i 4 $\mu\text{l}/\text{ml}$ istotnie statystycznie zwiększała liczbę żywych tymocytów, przy czym żywotność tymocytów przy zastosowaniu większych dawek (6 i 8 $\mu\text{l}/\text{ml}$) nie różniła się istotnie.

Wyniki dotyczące wpływu Biostyminy na liczbę splenocytów tworzących spontaniczne rozety E przedstawiono w tabeli 2. Zastosowano dawki Biostyminy 2 i 4 $\mu\text{l}/\text{ml}$, gdyż przy tych dawkach obserwowano najwięz-

Tabela 1. Wpływ Biostyminy na żywotność tymocytów w 18-20 godz. hodowlach z hydrokortyzonem.

Dawka Biostyminy ($\mu\text{l}/\text{ml}$ hodowli)	Odsetek żywych tymocytów w odniesieniu do układu kontrolnego (%)
2	$117,4 \pm 7,98$ n = 16 *
4	$121,1 \pm 10,49$ n = 15 *
6	$116,5 \pm 14,03$ n = 8
8	$108,3 \pm 9,86$ n = 8

*p < 0,0001

Tabela 2. Wpływ Biostyminy na liczbę splenocytów tworzących rozety.

Dawka Biostyminy ($\mu\text{l}/\text{mysz}$)	Wzrost liczby rozet w odniesieniu do układu kontrolnego (%)
2	$153,8 \pm 56,40$ n = 17 **
4	$167,8 \pm 58,8$ n = 18 *

*p < 0,001, **p < 0,01

szą przeżywalność tymocytów w teście cytotoksyczności. Kontrolę stanowiły splenocyty uzyskane z myszy otrzymujących tylko PBS. Przedstawione wyniki wskazują na istotny statystycznie wpływ Biostyminy na zwiększenie liczby splenocytów zdolnych do przyłączania krwinek czerwonych owcy (tworzenie rozet).

Porównano także działanie immunostymulujące Biostyminy z działaniem syntetycznych immunostymulatorów: izoprynozyny i lewamizolu. Otrzymane wyniki w teście cytotoksyczności dla izoprynozyny i lewamizolu (tab. 3) potwierdzają ich aktywność immunostymulującą na poziomie porównywalnym do Biostyminy. Obserwowane działanie było proporcjonalne od zastosowanego stężenia. Izoprynozynę i lewamizol stosowano w stężeniach nietoksycznych dla tymocytów, w zakresie 1,0-0,01 mg/ml hodowli.

Test hemaglutynacji traktowany jest jako element wewnętrznej kontroli jakości przeprowadzonej procedury i uzupełnienie testu rozetowego. Pozwala na stwierdzenie, czy immunizacja myszy erytrocytami owcy przebiegała prawidłowo i czy wszystkie zwierzęta mogą być brane pod uwagę przy obliczaniu aktywności biologicznej testem rozetowym. Uzyskane w teście hemaglutynacji wyniki wykazały poprawne przeprowadzenie procedury immunizacji myszy.

Dyskusja

Sprawny układ immunologiczny działa na kilku poziomach i możemy wyróżnić dwa główne mechanizmy obrony przed czynnikami chemicznymi, fizycznymi, czy biologicznymi.

Pierwszy mechanizm tworzy odporność nieswoista (wrodzona), na którą składają się między innymi: bariera mechaniczna w postaci nieuszkodzonej skóry i błon śluzowych, operujące na powierzchni ciała czynniki humoralne (lizozym, niskie pH) i mechaniczne (ruch rzęsek, łzy), czynniki humoralne działające w komórkach i płynach komórkowych (interferony,

układ dopełniacza, białka ostrej fazy), makrofagi, komórki NK oraz granulocyty.

Drugim mechanizmem jest odporność swoista (nabyta), na którą składają się dwie odpowiedzi immunologiczne: odpowiedź humoralna – zależna od wytwarzania swoistych przeciwciał neutralizujących patogeny oraz odpowiedź komórkowa, w której biorą udział klony limfocytów T pomocniczych i cytotoksycznych, rozpoznających antygeny drobnoustrojów.

Aktywność immunostymulującą wodnego wyciągu z liści aloesu drzewiastego potwierdziło w swoich pracach, w różnych okresach czasowych, wielu autorów (1, 3-6). Wykazano także, że liście młodych roślin (3-6-letnich) zawierają więcej substancji aktywnych biologicznie, niż liście roślin wieloletnich (19). Istotną rolę w aktywności biologicznej wyciągu wodnego z aloesu drzewiastego odgrywa sposób przygotowania wyciągu i zastosowany eluent. Cooposamy i Naidoo (20) wykazali silniejszą aktywność przeciwdrobnoustrojową wyciągu etanolowego z liści aloesu drzewiastego niż wyciągu wodnego, przygotowanego przez gotowanie. Wydaje się również, że wyciągi z aloesu drzewiastego przygotowane przez gotowanie działają silniej przeciwutleniająco niż wyciągi przygotowane w procedurze bez ogrzewania (21). Tak jak dla większości immunostymulatorów, efekt działania wyciągu z liści aloesu drzewiastego zależy od drogi podania, dawki i czasu trwania terapii. W porównaniu do chemioterapeutyków, optymalnego efektu terapeutycznego w tym przypadku nie uzyskuje się przez zwiększanie dawki i wydłużanie czasu terapii. Wysokie dawki i przewlekłe stosowanie produktów aloesowych mogą zaszkodzić pacjentowi (1, 22, 23).

Uzyskane obecnie wyniki potwierdzają, że Biostymina otrzymywana w bieżącym procesie technologicznym wpływa na odpowiedź komórkową układu odpornościowego, przyspiesza dojrzewanie tymocytów i nabywanie przez nie kompetencji immunologicznych. Zwiększa również zdolność łączenia splenocytów z krwinkami owcy i tworzenia rozet. Stymulacja odpowiedzi komórkowej przez Biostyminę, obserwowana w teście cytotoksyczności z hydrokortyzonem, jest porównywalna z aktywnością syntetycznych immunostymulatorów: izoprynozyny i lewamizolu. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że użycie liści trzyletnich roślin, zastosowanie wody jako eluentu i elucja w temperaturze wrzenia wody, daje produkt o wysokiej zawartości substancji czynnych i o optymalnym składzie. Biostymina – wodny wyciąg z liści aloesu drzewiastego, działa stymulująco na odpowiedź komórkową układu odpornościowego, i zgodnie z danymi z piśmiennictwa, może być stosowana w profilaktyce i szerokim zakresie wskazań leczniczych.

Tabela 3. Wpływ syntetycznych immunostymulatorów na żywotność tymocytów w 18-20-godzinnych hodowlach z hydrokortyzonem.

Stężenie (mg/ml)	Izoprynozyna	Lewamizol
1,00	114,1% ± 11,50 n = 30 *	132,3% ± 8,49 n = 12 *
0,10	106,2% ± 12,12 n = 29 ***	127,2% ± 11,64 n = 12 *
0,01	89,3% ± 17,54 n = 18 ***	88,0% ± 12,20 n = 12 **

*p < 0,0001, **p < 0,01, ***p < 0,05

Wnioski

1. Biostymina, w przyjętym układzie doświadczalnym, istotnie statystycznie zwiększała żywotność tymocytów w hodowlach z hydrokortyzonem.
2. Biostymina w zastosowanych dawkach istotnie statystycznie zwiększała liczbę splenocytów zdolnych do tworzenia rozet z erytrocytami owcy.
3. Działanie immunostymulujące Biostyminy było na porównywalnym poziomie do działania syntetycznych immunostymulatorów: izoprinozyny i lewamizolu.

Piśmiennictwo

1. Białas-Chromiec B, Skopińska-Różewska E, Strzelecka H i wsp. Immunomodulujące właściwości Biostyminy – wodnego wyciągu z liści roślin trzyletnich *Aloe arborescens* Mill. *Onkol Pol* 2000; 3(2):85-9. 2. Jia Y, Zhao G, Jia J. Preliminary evaluation: The effects of *Aloe ferox* Miller and *Aloe arborescens* Miller on wound healing. *J Ethnopharmacol* 2008; 120(2):181-9. 3. Demkow U, Skopińska-Różewska E. Wpływ preparatu Bioaron C na odporność. [W:] Rola immunomodulatorów pochodzenia naturalnego w zapobieganiu i leczeniu chorób (red. E. Skopińska-Różewska, AK Siwicki). *Wyd Medyk* 2003; 51-56. 4. Glatthaar-Saalmüller B, Michalak A, Bastion P i wsp. Ocena aktywności przeciwwirusowej *in vitro* preparatów Biostymina i Bioaron C względem ludzkiego rinowirusa (HRV14). *Post Fitoter* 2012; (3):156-61. 5. Rekiel A, Belga K, Kuczyńska B. Wpływ wybranych immunomodulatorów na wskaźniki fizjologiczno-produkcyjne u loch. *J Centr Eur Agric* 2008; 9(2):329-36. 6. Furowicz AJ, Czernomysy-Furowicz D, Lewandowska S. Wykorzystanie Biostyminy w terapii i profilaktyce bronchopneumonii cieląt. *Przeegl Hodowl* 1989; (9):10-5. 7. Budny A, Kupczyński R, Sobolewska S i wsp. Samolecznictwo i ziołolecznictwo w profilaktyce i leczeniu zwierząt gospodarskich. *Acta Sci Pol Med Vet* 2012; 11(1):5-24. 8. Białas-Chromiec B. Immunotropowe działanie aloesu. [W:] Wpływ substancji naturalnych na układ odpornościowy (red. E. Skopińska-Różewska). *Fund Prom Zdrowia – Med Nat* 2002; 43-52. 9. Beppu H, Shimpo K, Chihara T i wsp. Antidiabetic effects of dietary administration of

Aloe arborescens Miller components on multiplex low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics aloe components. *J Ethnopharmacol* 2006; 103(3):468-77. 10. Lissoni P, Rovelli F, Brivio F i wsp. A randomized study of chemotherapy versus biochemotherapy with chemotherapy plus *Aloe arborescens* in patients with metastatic cancer. *In Vivo* 2009; 23(1):171-5. 11. Drozd J, Tautt J. Badania porównawcze aktywności immunostymulującej *Fructus Myrtilli* ze związkami o ustalonym działaniu na układ odpornościowy. *Biul Inst Lek* 2002; 46(1-2):43-8. 12. Trainin N, Levo Y, Roter V. Resistance to hydrocortisone conferred upon thymocytes by a thymic humoral factor. *J Immunol* 1974; (4):634-7. 13. Fearnhead HO, Chwaliński M, Snowden RT i wsp. Dexamethasone and etoposide induce apoptosis in rat thymocytes from different phase of the cell cycle. *Biochem Pharmacol* 1994; 48:1073-9. 14. Ahmed SA, Sriranga N. Differential effects of dexamethasone on the thymus and spleen: alternation programmed cell death, lymphocyte subsets and activation of T cells. *Immunopharmacol* 1994; 28:55-66. 15. Kuratowska Z, Lutyński A, Dwilewicz-Trojaczek J. Wybrane zagadnienia immunologii klinicznej. PZWL, Warszawa 1982. 16. Bach JG, Dardenne M. Antigen recognition by T lymphocytes. *Cell Immunol* 1972; 3(1):1-21. 17. Adler FL. Studies on mouse antibodies. I. The response to sheep red cells. *J Immunol* 1965; 95:26-38. 18. Sawicka T, Prosińska J, Drozd J. Wpływ wybranych kwasów porostowych na odpowiedź komórkową i humoralną układu immunologicznego myszy. *Biul Inst Lek* 1997; 41:17-24. 19. Gutterman Y, Chauser-Volfson E. The distribution of the phenolic metabolites barbaloin, aloeresin and aloenin as a peripheral defense strategy in the succulent leaf parts of *Aloe arborescens*. *Biochem Syst Ecol* 2000; 28(9):825-38. 20. Cooposamy RM, Naidoo KK. A comparative study of three *Aloe* species used to treat skin diseases in South African rural communities. *J Altern Complement Med* 2013; 19(5):425-8. 21. Beppu H, Koike T, Shimpo K i wsp. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic inlet B-cell destruction in rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 89:37-45. 22. Kucharska E. Wpływ Biostyminy na niektóre procesy immunologiczne. *Ann Acad Med* 1980; 26:369-86. 23. Roge A, Kość A, Warwas M. Przydatność w leczeniu i mechanizmy działania aloesu – współczesne poglądy. *Farm Pol* 2000; 56(8):381-5.

otrzymano/received: 20.02.2014
zaakceptowano/accepted: 28.02.2014

Adres/address:
*prof. dr hab. n. farm. Elżbieta Anuszewska
Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków
Narodowy Instytut Leków
ul. Chełmska 30/34, 00-725 Warszawa
tel./fax: +48 (22) 841-54-31
e-mail: e.anuszewska@nil.gov.pl