

\*Paweł Krzyżek

## Polisacharydy alg i roślin w terapii chorób wywołanych przez *Helicobacter pylori*

### Algal and plant polysaccharides in the treatment of diseases caused by *Helicobacter pylori*

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Grażyna Gościniak

---

#### SUMMARY

The mucus layer that covers the stomach surface is a strongly hydrophilic colloid composed of numerous high molecular weight mucins. These glycoproteins play a key role in the protection against proteolytic enzyme activity and the acidic pH of gastric juice. They act as receptors for the mucosal microorganisms, including *Helicobacter pylori*. Adhesion of microorganisms to epithelial cells is essential for efficient colonization because it favors the virulence factors delivery to eukaryotic cells and prevents the microorganisms removal from the host organism. Because of this, disturbance of the interaction between bacteria and gastric mucosa sugar structures can protect against the development of infection. Polysaccharides derived from algae and plants have many useful features that increase their application, i.e. high stability, biodegradability, non-toxicity and ability to form gels. They show a number of beneficial biological activities including anti-inflammatory, antioxidant, immunomodulating, detoxifying and anti-adhesive. Therapy with polysaccharides isolated from algae and plants may be effective in reducing gastric mucosa inflammation and preventing *H. pylori* reinfection after completion of eradication therapy.

**Keywords:** adhesion, *H. pylori*, phytotherapy, polysaccharides

---

#### STRESZCZENIE

Warstwa śluzu pokrywająca powierzchnię żołądka jest silnie hydrofilowym koloidem, złożonym m.in. z licznie występujących wielcząsteczkowych mucyn. Glikoproteiny te pełnią kluczową rolę w ochronie przed proteolityczną aktywnością enzymów i działaniem kwaśnego pH soku żołądkowego. Stanowią także receptory dla drobnoustrojów zasiedlających śluzówkę tego organu, w tym dla *Helicobacter pylori*. Adhezja drobnoustrojów do komórek epitelialnych jest kluczowa dla skutecznej kolonizacji, ponieważ sprzyja dostarczeniu czynników wirulencji do komórek eukariotycznych i uniemożliwia usunięcie drobnoustrojów z organizmu gospodarza. Z tego względu zaburzenie interakcji między bakteriami a strukturami cukrowymi śluzówki żołądka może chronić przed rozwojem zakażenia. Polisacharydy pochodzące z alg i roślin mają wiele użytecznych cech zwiększających ich zastosowanie, tj. wysoką stabilność, biodegradowalność, nietoksyczność i zdolność do tworzenia żelu. Wskazują szereg korzystnych właściwości biologicznych, w tym przeciwzapalną, przeciwutleniającą, immunoregulującą, odtruwającą oraz przeciwadhezyjną. Terapia z zastosowaniem polisacharydów izolowanych z alg i roślin może okazać się skuteczna w łagodzeniu stanów zapalnych śluzówki żołądka oraz w zapobieganiu przed powtórny zakażeniem *H. pylori* po ukończonej terapii leczniczej.

**Słowa kluczowe:** adhezja, *H. pylori*, fitoterapia, polisacharydy

---

#### Wstęp

Pierwszą barierą ochronną występującą w przewodzie pokarmowym, w tym także w żołądku, jest warstwa śluzu (1). Taka powłoka izoluje komórki epitelium przed działaniem niekorzystnych czynników chemicznych, enzymatycznych, mikrobiologicznych oraz mechanicznych. Co więcej, śluz ułatwia także przemieszczanie się treści pokarmowej oraz stanowi swego rodzaju pułapkę dla mikroorganizmów grzęznących w zwartej strukturze polimeru. Szacuje się, że w obrębie żołądka

grubość powłoki śluzu wynosi około 300  $\mu\text{m}$  i składa się z dwóch obszarów, tj. warstwy zewnętrznej, luźno przylegającej do ściany żołądka, oraz ściśle przylegającej warstwy wewnętrznej (2). Ten silnie hydrofilowy koloid składa się głównie z wody (ok. 95%), ale również z lipidów (fosfolipidów, cholesterolu, kwasów tłuszczowych), białek (przeciwciał, defensyn, czynników wzrostowych i lizozymu) oraz polisacharydów. Istotną część śluzu stanowi heterologiczna rodzina wielkokompleksowych glikoprotein, tzw. mucyn.

W tkance żołądkowej wytwarzane są dwa rodzaje mucyn wydzielniczych: MUC5AC i MUC6, wytwarzane odpowiednio przez nabłonkowe komórki powierzchniowe i gruczoły żołądkowe, a także związana z komórkami błonowa MUC1 (2-4). Związki te wykazują tendencję do agregacji i tworzenia żelu, co warunkowane jest dużymi rozmiarami cząsteczek, obecnością domen hydrofobowych i hydrofilowych, wiązaniami wodorowymi oraz oddziaływaniem elektrostatycznym (5). Mucyny zawierają liczne wiązania O-glikozylowane, stanowiące nawet 70% całej masy cząsteczki. Taka modyfikacja chemiczna zabezpiecza śluz przed aktywnością proteolityczną enzymów i działaniem kwaśnego pH soku żołądkowego. Prócz tego często obserwuje się także występowanie antygenów grup krwi Lewis (2, 3). Ogromna różnorodność glikozylacji, która występuje zarówno na poziomie osobniczym, jak i w obrębie mucyn pojedynczej osoby sprawia, że łączną liczbę struktur oligosacharydowych szacuje się na 258 (6). Struktury cukrowe pełnią ważną rolę jako receptory dla drobnoustrojów, zwłaszcza patogennych, zasiedlających błony śluzowe. Interakcja z tymi strukturami jest kluczowa w inicjowaniu bezpośredniej adhezji do tkanki gospodarza, niszczeniu nabłonka oraz promowaniu stanów zapalnych śluzówki (1, 3). Jednym z takich mikroorganizmów jest *Helicobacter pylori*.

### Charakterystyka *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* jest Gram-ujemną, spiralną, mikroaerofilną pałeczką kolonizującą śluzówkę żołądka. Obecność tej bakterii często przyczynia się do zmian zapalnych w tkance żołądka, prowadzących do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego śluzówki (*gastritis*), choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy lub rozwoju procesu nowotworowego (7). Bakteria ta rozwinęła szereg przystosowań umożliwiających skuteczną, szybką kolonizację śluzówki żołądka. Pojedyncze komórki *H. pylori* przylegają bezpośrednio do komórek epitelium, natomiast większość bakterii (ok. 70%) przytwierdzona jest do mucyn MUC5AC w obrębie powierzchniowej warstwy śluzu (1, 8). Bezpośrednia adhezja *H. pylori* do komórek epitelialnych żołądka jest czynnikiem warunkującym przetrwanie zakażenia tego organu, ponieważ przyczynia się do ochrony przed usunięciem drobnoustrojów z żołądka (obrót metaboliczny warstwy mucyn, ruchy perystaltyczne) oraz umożliwia dostarczenie czynników zakaźnych do komórek eukariotycznych (8).

Jednym z elementów sprzyjających przewlekłemu zakażeniu śluzówki jest lipopolisacharyd (LPS) *H. pylori*. Struktura ta składa się z części lipidowej, oligosacharydowego rdzenia i O-swoistego łańcucha

polisacharydowego. Podczas gdy u większości bakterii Gram-ujemnych obserwuje się silny efekt toksyczny LPS, ten syntetyzowany przez *H. pylori* powoduje słabą odpowiedź ze strony układu odpornościowego gospodarza (9). Dodatkowo, O-swoisty łańcuch tej bakterii zawiera antygeny o homologii strukturalnej z ludzkimi antygenami Lewis (Le), w tym: Le<sup>x</sup>, Le<sup>y</sup>, Le<sup>a</sup> i Le<sup>b</sup>. Uważa się, że takie podobieństwo odgrywa ważną rolę w adhezji do śluzówki żołądka i zjawisku mimikry molekularnej (10).

Najistotniejszym czynnikiem determinującym kolonizowanie śluzówki żołądka są białka błony zewnętrznej (ang. *outer membrane proteins* – OMP). Ocenia się, że 4% genomu *H. pylori* koduje informacje o wytwarzaniu OMP (ok. 64 białek). W przeciwieństwie do większości Gram-ujemnych bakterii, profil OMP *H. pylori* charakteryzuje się występowaniem różnych rodzin tych białek. Nie obserwuje się dominacji żadnej z nich (11). Pierwszą zidentyfikowaną adhezyzną *H. pylori* była BabA (adhezyzna wiążąca antygeny grup krwi; HopS/OMP28). Białko to wpływa na łączenie bakterii z antygenami Le<sup>b</sup> i H typu 1, dzięki czemu wykazuje powinowactwo względem mucyny MUC5AC (1, 8). W badaniach *in vitro* i *in vivo* stwierdzono, że taki typ interakcji jest kluczowy dla przenoszenia czynników zakaźnych *H. pylori* do komórek gospodarza (12). Drugą ważną adhezyzną jest SabA (adhezyzna wiążąca kwas sjałowy; HopP/OMP17). Podczas zakażenia w tkance żołądka obserwuje się inicjację procesu zapalnego i zależnego od tego tworzenia sjało-Le<sup>a</sup>, sjało-Le<sup>b</sup> oraz sjało-Le<sup>x</sup> (zjawisko przyłączenia reszt kwasu sjałowego do antygenów Lewis). Ten proces sprzyja przyleganiu *H. pylori* do zmienionej zapalnie tkanki żołądka przy pomocy adhezyny SabA (8, 13). Wśród innych ważnych adhezyn wymienia się AlpA (związana z adhezją lipoproteiną A; HopC/OMP20) oraz OipA (zewnętrzne białko zapalne A; HopH/OMP13), które także ułatwiają kolonizację śluzówki żołądka przez *H. pylori* oraz zapoczątkowują wydzielanie cytokin prozapalnych (8).

Interakcja z mucynami oraz komórkami epitelium gospodarza odbywa się poprzez swoiste rozpoznawanie struktur cukrowych przez *H. pylori*. Z tego względu terapia z zastosowaniem polisacharydów blokujących oddziaływanie między bakterią a antygenami może chronić przed rozwojem zakażenia (14).

### Zastosowanie polisacharydów w terapii *H. pylori*

Polisacharydy są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i mogą pochodzić z różnych źródeł, w tym z glonów (alginiany, fukany), roślin (pektyny,

mannany), drobnoustrojów (dekstrany, ksantany) lub zwierząt (chitozan, chondroityna). Związki te wykazują wiele użytecznych cech zwiększających ich zastosowanie, tj. wysoką stabilność, biodegradowalność, brak toksyczności, zdolność do tworzenia żelu czy łatwość w przemianach chemicznych (15). Wykazano ponadto, że polisacharydy mogą znaleźć swoje zastosowanie w terapii przeciwdrobnoustrojowej jako czynniki o właściwościach przeciwadhezyjnych, chroniących przed powtórny zakażeniem po zakończonej terapii antybiotykami (14).

## Algi

Algi są bardzo ważnym surowcem w pozyskiwaniu polisacharydów, ponieważ substancje te stanowią około 60% suchej biomasy tych organizmów. Wśród węglowodanów prostych i złożonych wymienia się: mukopolisacharydy (glikozaaminoglukany), alginiany (sole sodowe, potasowe i magnezowe kwasu alginowego), karageniny i fukany (laminaryna i fukoidyna), naturalne hydrokoloidy, agar, alkohole cukrowe (mannitol, erytrytol, rybitol, sorbitol) oraz cyklitol (mezoinozytol, laminitol i scylitol) (16, 17).

W badaniu *in vitro* Loke i wsp. (18) oceniali wpływ polisacharydów izolowanych z mikroalg *Chlorella* (PC) oraz *Spirulina* (PS) na zdolność *H. pylori* do łączenia się ze świńskimi mucynami żołądkowymi w środowisku o różnym pH. Zaobserwowano, że 35  $\mu\text{g}$  PS obniżało poziom adhezji *H. pylori* o 90% i efekt ten był dużo silniejszy niż dla PC, ponieważ podobne działanie uzyskano dopiero przy 80  $\mu\text{g}$  tych polimerów. Dodatkowo zauważono, że najsilniejsza aktywność badanych cukrów złożonych ma miejsce w kwaśnym pH. Właściwość ta umożliwia wykorzystanie polisacharydów mikroalg w terapii chorób żołądka, bez niebezpieczeństwa degradacji związków w środowisku tego organu. Uzyskane wyniki potwierdzono w doświadczeniu na myszach, którym przez okres 4 tyg. przed zakażeniem *H. pylori* podawano polisacharydy *Chlorella* i *Spirulina*. Po zastosowaniu terapii uzyskano obniżenie kolonizacji śluzówki gryzoni przez *H. pylori* odpowiednio o 87 i 94% (18).

Fukoidany są kompleksem zbudowanym z siarkowych polisacharydów, składających się głównie z L-fukozy i grup siarkowych oraz niskiej zawartości D-glukozy, D-mannozy, D-ksylozy i kwasu uronowego (19-21). Polimer ten pozyskiwany jest z substancji międzykomórkowej brunatnic, takich jak: morskocyn pęcherzykowaty (*Fucus vesiculosus*), wielkomorszcz gruszkonośny (*Macrocystis pyrifera*), undaria pierzastodzielna (*Undaria pinnatifida*) oraz workoliść członowaty (*Ascophyllum nodosum*) (19). Fukoidany wykazują szereg korzystnych cech biologicznych, w tym

przeciwzkrzepową, immunoregulującą, przeciwalną, przeciwutleniającą, przeciwbólową, przeciwdrobnoustrojową oraz hamującą rozwój nowotworów (19-22).

Chua i wsp. (20) badali aktywność fukoidanów pochodzących z brunatnic *F. vesiculosus* i *U. pinnatifida* względem adhezji *H. pylori* NCTC 11637 do ludzkich komórek nowotworowych raka żołądka (AGS). Stwierdzono, że w stężeniu 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  polisacharydy morskocynu obniżały zdolność przylegania tego drobnoustroju 2-6-krotnie, zaś fukoidany *Undaria* trzykrotnie (20). Podobne wyniki uzyskali Shibata i wsp. (23) w badaniach prowadzonych w warunkach *in vitro* z użyciem szczepu *H. pylori* ATCC 43504. Wykazano, że w środowisku o pH w granicach 2-4 stężenia 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  fukoidanów izolowanych z brunatnic *Cladosiphon* obniżają adhezję bakterii do mucyn żołądkowych o 60%. W wyższej dawce, tj. 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , efekt hamowania był bliski 100%. Hamowanie przylegania drobnoustrojów zostało silnie obniżone ( $\leq 25\%$ ) w pH obojętnym, wskazując na potencjalne wzmocnienie działania aktywności polisacharydów w środowisku żołądka. Przeprowadzono dodatkowo badania *in vivo* na myszokoczkach zakażonych *H. pylori*, którym podawano dwa stężenia (0,05% i 0,5%) fukoidanów *Cladosiphon*. Terapia taka obniżała liczbę osobników zakażonych zarówno przy dawkach 0,05% (4/10), jak i 0,5% (2/10), jeśli polisacharydy podawane były 3 dni przed zakażeniem, aż do zakończenia badania. Włączenie terapii po 2 tyg. od zakażenia zmniejszało jej skuteczność (7/10) i było niezależne od stężenia fukoidanów. Podawanie polisacharydów *Cladosiphon* obniżało także liczbę krwotoków i obrzęków żołądka (23).

Lutay i wsp. (24) wykazali, że fukoidany hamują także adhezję jelitowo-wątrobowych gatunków *Helicobacter* (ang. *enterohepatic Helicobacter species* – EHS), tj. *H. bilis*, *H. hepaticus* oraz *H. pullorum*, względem mysiej linii makrofagów J774A1. Stopień zahamowania zakażenia mieścił się w granicach 63-93%. Zaobserwowano istnienie silnej korelacji między hydrofilowością komórek bakterii a właściwościami przeciwadhezyjnymi fukoidanów, ponieważ gatunek o najwyższej hydrofobowości (*H. bilis*) utracił w najmniejszym stopniu właściwości przylegania (24).

## Aloes zwyczajny

Ważnym źródłem polisacharydów jest aloes zwyczajny (*Aloe vera* L.). Opisano wiele właściwości korzystnych dla zdrowia u osób stosujących ekstrakty z liści tej rośliny. Jedną z nich jest aktywność hepatoprotectywna, obniżająca poziom glukozy



i lipidów we krwi, zwiększająca insulinowrażliwość oraz przyczyniająca się do zmniejszenia masy ciała osób otyłych. Ekstrakty z aloesu stosowane są przy leczeniu wielu chorób skórnych, takich jak: egzema, oparzenia, łuszczyca, nowotwory skóry. Efekt ten uwarunkowany jest działaniem przeciwutleniającym, przeciwzapalnym i immunoregulującym *A. vera* (25). Ekstrakty z liści tej rośliny stymulują procesy odnowy ran poprzez wzmożenie podziału fibroblastów oraz wytwarzania kwasu hialuronowego i hydroksyproliny (26). Wykazano, że żel aloesowy jest skuteczny w terapii nawracającego aftowego zapalenia jamy ustnej, ponieważ przyczynił się do obniżenia wielkości owrzodzeń, stanów zapalnych oraz wysięków (27). Co więcej, aloes może być użyty w terapii przeciwwrzodowej jako czynnik obniżający wytwarzanie kwasu solnego i stymulującego zabliznianie ran (25). Tabletki zawierające składniki występujące w *A. vera*, w połączeniu z dawką 50 mg/kg amoksycyliny, były bardziej skuteczne w leczeniu choroby wrzodowej wywołanej przez *H. pylori* ( $74,8 \pm 0,86\%$ ) niż użycie samego antybiotyku ( $30,6 \pm 0,75\%$ ) (28).

W skład aloesu wchodzi ponad 75 potencjalnie aktywnych biologicznie substancji, wśród których znajdują się: rozpuszczalne w wodzie i tłuszczach witaminy, substancje mineralne, enzymy, polisacharydy proste i złożone, flawonoidy, saponiny, związki fenolowe oraz kwasy organiczne (25). Jedną z najważniejszych grup metabolitów wtórych aloesu są antrachinony (trójcykliczne chinony), główny składnik mlecznej wydzieliny aloesu. W żelu tej rośliny występują natomiast w małych dawkach (25, 29). W największej ilości w aloesie występuje aloemodyna (39,2%) i chryzofanol (30,5%). Pośród innych, mniej licznych antrachinonów, wykryto obecność fisjonu, emodyny i reiny, których ilość mieściła się w zakresie 5,1-16,4% (30). Antrachinony wykazują silną aktywność przeciwdrobnoustrojową, determinowaną podobieństwem strukturalnym do tetracyklin. Te z kolei obniżają biosyntezę białek przez wiązanie się z podjednostką 30S rybosomów (25). Tetracykliny są klasą antybiotyków o wysokiej skuteczności względem *H. pylori*, stąd też antrachinony mogłyby być z powodzeniem stosowane w zwalczaniu tego drobnoustroju (31). Badania Cellini i wsp. (30) dowiodły, że 50% badanych szczepów *H. pylori* wykazywało wrażliwość na stężenia 100 mg/ml, zaś 90% na dawki 400 mg/ml ekstraktu z aloesu. Efekt bakteriobójczy był niezależny od poziomu oporności na antybiotyki.

Cennym składnikiem *Aloe vera* są polisacharydy, stanowiące główną część suchej masy żelu aloesowego. Ich działanie polega na buforowaniu kwasów i zasad, działaniu odtruwającym i przeczyszczającym oraz

aktywności immunoregulującej (aktywacja układu dopełniacza i opsonizacji) (29). Jednym z polisacharydów o właściwościach stymulujących układ odpornościowy, w szczególności makrofagi, jest aleoryd. Związek ten jest wielkocząsteczkowym polimerem o masie 4-7 MDa, stanowiącym około 0,015% suchej masy rośliny (32).

Analiza składu węglowodanów znajdujących się w żelu aloesowym wykazała obecność: arabinanu, arabinoramnogalakтанu, galaktanu, galaktogalakтанu, glukogalakտomanu, galaktoglukoarabinomannanu, polisacharydów zawierających kwas glukuronowy, pektyn, celulozy oraz polimerów mannozy, tzw. polimannanów (15). Ważnym polisacharydem żelu aloesowego jest acetylowany glukomannan o masie 30-40 kDa, tj. acetomannan. Jest on polimerem składającym się z podjednostek glukozy i mannozy w stosunku 1:3, o działaniu przeciwzapalnym, immunoregulującym, przeciwnowotworowym i stymulującym gojenie ran (25, 33). Cataldi i wsp. (34) określali wpływ żelu *Aloe vera* na zdolność szczepów *H. pylori* do formowania biofilmu. Zaobserwowano, że stężenia subinhibicyjne (sub-MIC) tej rośliny obniżają dwukrotnie masę biowarstwy bakterii. Xu i wsp. (35) sprawdzali działanie dwóch kwasowych frakcji polisacharydów izolowanych z aloesu zwyczajnego na adhezję *H. pylori* do komórek raka żołądka (MKN-45). Użycie frakcji zawierającej kwas galakturonowy, glukozę i arabinozę hamowało przyleganie drobnoustrojów w sposób zależny od dawki, tj. 0,1 mg/ml – 12%, 0,5 mg/ml – 24% oraz 1 mg/ml – 36%. Druga frakcja, składająca się z cukrów prostych (mannozy, glukozy i galaktozy), nie hamowała adhezji *H. pylori*. Wyniki te sugerują, że polisacharydem o aktywności przeciwadhezyjnej był kwas glukuronowy.

### Porzeczka czarna

Napary z owoców i liści czarnej porzeczki (*Ribes nigrum* L.) stosuje się najczęściej w leczeniu dolegliwości ze strony układu krwionośnego (miażdżyca, nadciśnienie tętnicze), gorączki, krwawienia dziąseł i stanów zapalnych jamy ustnej oraz w łagodzeniu bólów żołądka (36, 37). Wśród substancji izolowanych z owoców porzeczki wymienia się: nienasycone kwasy tłuszczowe, antocyjany, flawonoidy, pektyny, kwasy organiczne oraz polisacharydy (36, 38). Zaobserwowano, że związki cukrowe izolowane z porzeczki mają zdolność do aktywacji makrofagów i hamowania wzrostu komórek nowotworowych, co zależne było od indukcji syntezy cytokin IL-2, IL-4, IL-10 oraz IFN- $\gamma$  (39). Charakterystyka składu węglowodanów ekstrahowanych z nasion czarnej porzeczki wykazała obecność galaktozy (28%), ksylozy (15%), arabinozy (13%)

i kwasu uronowego (10%). Kwasowe polisacharydy, w szczególności wielkocząsteczkowe galaktany, posiadają aktywność antyadhezyjną. Przy inkubacji *H. pylori* z różnymi stężeniami tych związków dostrzeżono zależny od dawki efekt hamowania przylegania bakterii do bioptatów śluzówki żołądka. Zastosowanie 0,01%, 0,05% i 0,1% ekstraktów obniżało adhezję *H. pylori* odpowiednio o 16,7, 33,4 i 50% (38). W doświadczeniu Messing i wsp. z nasion *R. niger* wyizolowano białko arabinogalaktonowe (ang. *arabinogalactan protein* – AGP), które jest glikoproteiną obecną w ścianie komórkowej roślin. W tkance embrionalnej nasion pełni kluczową rolę w rozwoju zarodków, germinacji i formowaniu ksylemu. Analizując skład chemiczny, stwierdzono, że dominującymi monomerami cukrów były D-galaktoza (28,3%), L-arabinoza (24,5%), D-ksyloza (15,7%) oraz kwasy uronowe (23%), zaś najliczniejszymi aminokwasami były histydyna i prolina (po 12,1%) oraz hydroksyproliny (10,9%). W teście *in vitro* wykazano, że dawka 4 mg/ml AGP jest zdolna do redukcji adhezji *H. pylori* do komórek AGS o blisko 40%. Białko arabinogalaktonowe przyczyniało się do obniżenia łączenia bakterii z antygenami Le<sup>b</sup>, H typu 1 i fibronektyną, natomiast nie zaburzało interakcji z sjalo-Le<sup>a</sup> i sjalo-Le<sup>b</sup>. Z tego względu wnioskowano, że białko arabinogalaktonowe wpływa na zaburzenie zdolności przylegania adhezyny BabA *H. pylori*, ale nie SabA (36).

### Bylica włosowata

Rośliny z rodzaju bylica (*Artemisia* sp.) stosowane są tradycyjnie w leczeniu chorób układu krwionośnego, jako czynnik przeciwskurczowy, obniżający ciśnienie tętnicze i poziom glukozy we krwi. Prócz tego rośliny z tego rodzaju wykazują działanie moczopędne, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwpasożytnicze oraz przeciwnowotworowe (40). W badaniach *in vitro* Park i wsp. (41) oznaczyli efekt przeciwzapalny ekstraktu z bylicy włosowatej (*A. capillaris*) wobec zdrowych komórek żołądka (RGM-1) zakażonych *H. pylori* i zmienionych nowotworowo (MKN-28). Dostrzeżono normalizację poziomu mediatorów stanu zapalnego i procesu karcynogenezy, tj. COX-2, iNOS oraz IL-8. Dodatkowo w komórkach nowotworowych ekstrakt bylicy wpływał na wzrost nieprawidłowo obniżonego poziomu procesu apoptozy przez obniżenie poziomu enzymu kaspazy 3 i wzrost ekspresji proapoptotycznego czynnika Bcl-2. Woo i wsp. (42) izolowali związki cukrowe pochodzące z bylicy włosowatej i stwierdzili, że kwasowa frakcja polisacharydów zawiera arabinozę, galaktozę, glukozę i kwas galakturonowy. Ekstrakt o wysokiej zawartości kwasu uronowego (47,7%) wykazywał silną aktywność

przeciwadhezyjną względem *H. pylori* oraz zdolność do hamowania zależnej od tego drobnoustroju hemaglutynacji już przy stężeniu 0,63 mg/ml.

### Lukrecja gładka

Lukrecja gładka (*Glycyrrhiza gabra* L.) jest rośliną wykazującą działanie przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Zawiera ponad 20 triterpenów oraz blisko 30 flawonoidów, wśród który najistotniejszymi związkami przeciwdrobnoustrojowymi są: glicyryzyna, kwas 18β-glicyryzynowy, aglikon likwirytygeniny, likochalkony A i B oraz glabrydyna (43). Wittschier i wsp. (44) charakteryzowali skład ekstraktu wodnego uzyskanego z korzeni lukrecji gładkiej i ustalili, że dominującymi związkami były polisacharydy (arabinoza, galaktoza, glukoza i kwas glukuronowy), stanowiące 81% wszystkich substancji. Ekstrakt ten w stężeniu 1 mg/ml preinkubowano przez 2 godz. z *H. pylori*, uzyskując 40% obniżenie zdolności przylegania tych bakterii do śluzówki żołądka. Preinkubacja ekstraktu z komórkami epitelialnymi nie obniżała adhezji *H. pylori* do tkanki żołądka, co wskazuje na możliwość interakcji polisacharydów *Glycyrrhiza gabra* z białkami OMP tego drobnoustroju. Autorzy wykazali, że stężenia 1-2 mg/ml aktywnych biologicznie substancji *G. gabra* są możliwe do uzyskania w organizmie człowieka. Dzielne spożycie 5-15 g korzeni lukrecji umożliwia osiągnięcie takiego poziomu związków w płynach ustrojowych.

### Piżman jadalny

Piżman jadalny (*Abelmoschus esculentus* L. (Moench)) jest rośliną rosnącą w klimacie tropikalnym i subtropikalnym. Przypisuje się jej szereg właściwości biologicznych, tj. cytoochronną, przeciwzapalną, obniżającą poziom glukozy i lipidów we krwi, odnawiającą, a także pomocniczą w leczeniu biegunek, zapalenia jelit oraz żołądka (45). Wśród substancji śluzowych izolowanych z piżmanu do najważniejszych związków zalicza się ramnogalakturnony. Thöle i wsp. (46) przeprowadzili analizę wpływu dwóch ekstraktów pozyskanych z *A. esculentus* (w stężeniu 1 mg/ml) na zdolność adhezji *H. pylori*. Dostrzeżono zależny od ilości polisacharydów efekt hamujący, tj. 60% roztwór redukował adhezję o 68 ± 15%, zaś 90% roztwór o 75 ± 11%. Preinkubacja bakterii z badanymi ekstraktami obniżała zdolność do łączenia się z antygenami Le<sup>x</sup> oraz sjalo-Le<sup>a</sup>, sugerując zdolność polimerów cukrowych piżmanu do interferencji z OMP *H. pylori*.

Podobnych obserwacji dokonali Messing i wsp. (47), którzy określali poziom adhezji trzech szczepów

*H. pylori* (wzorcowego J99 i dwóch klinicznych 26313 i 26322) z komórkami żołądka, przy obecności różnych stężeń ekstraktu z piżmanu. Stężenia w zakresie 0,27-2,7 mg/ml hamowały przyleganie *H. pylori* J99 o 20-70%. W przypadku szczepów klinicznych osiągnięto jeszcze silniejszy efekt, ponieważ przy zastosowaniu najwyższych dawek (2,7 mg/ml) uzyskano obniżenie adhezji o 98% dla *H. pylori* 26313 i 82,3% dla *H. pylori* 26322. Polisacharydy *A. esculentus* przyczyniały się także do zmniejszenia łączenia adhezyn BabA i SabA z ich swoistymi ligandami, takimi jak antygeny Le<sup>b</sup> i H typu 1 oraz sjało-Le<sup>a</sup> i lamina.

### Podsumowanie

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa można wnioskować, że polisacharydy izolowane z alg i roślin

stanowią skuteczne narzędzie ograniczające adhezję *H. pylori* do śluzówki żołądka. Co więcej, polimery te wykazują szereg cech umożliwiających łagodzenie stanów zapalnych. Są to czynniki przeciwzapalne, przeciwutleniające, immunoregulujące oraz stymulujące zabliznianie ran. Aktywność przeciwadhezyjna polisacharydów wynika najprawdopodobniej z homologii strukturalnej między tymi związkami a mucynami wyścielającymi powierzchnię żołądka. Takie podobieństwo w skuteczny sposób ogranicza aktywność adhezyn *H. pylori* (np. BabA i SabA) i przyczynia się do ograniczonej kolonizacji przewodu pokarmowego. Ponieważ źródło polisacharydów jest łatwo dostępne, terapia pomocnicza z zastosowaniem tych substancji może stanowić tanią i bezpieczną metodę ochrony przed zakażeniami wywołanymi *H. pylori*.

### Piśmiennictwo

- Lindén SK, Wickström C, Lindell G i wsp. Four modes of adhesion are used during *Helicobacter pylori* binding to human mucins in the oral and gastric niches. *Helicobacter* 2008; 13:81-93.
- Linden SK, Sutton P, Karlsson NG i wsp. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol* 2008; 1:183-97.
- Radziejewska I. The role of gastric mucins in interactions with *Helicobacter pylori*. *Post Hig Med Dośw* 2012; 66:60-6.
- Buisine MP, Devisme L, Maunoury V i wsp. Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. I. Stomach: A relationship to gastric carcinoma. *J Histochem Cytochem* 2000; 48:1657-65.
- Bansil R, Turner BS. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2006; 11:164-70.
- Jin C, Kenny DT, Skoog EC i wsp. Structural diversity of human gastric mucin glycans. *Mol Cell Proteomics* 2017; pii: mcp.M117.067983. DOI: 10.1074/mcp.M117.067983.
- Yamaoka Y, Graham DY. *Helicobacter pylori* virulence and cancer pathogenesis. *Futur Oncol* 2014; 10:1487-500.
- Oleastro M, Ménard A. The role of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins in adherence and pathogenesis. *Biology* 2013; 2:1110-34.
- Esmacilli D, Mobarez AM, Salmanian AH i wsp. Bioactivity and immunological evaluation of LPS from different serotypes of *Helicobacter pylori*. *Iran J Microbiol* 2013; 5:142-6.
- Altman E, Chandan V, Li J i wsp. A reinvestigation of the lipopolysaccharide structure of *Helicobacter pylori* strain Sydney (SS1). *FEBS J* 2011; 278:3484-93.
- Alm RA, Bina J, Andrews BM i wsp. Comparative genomics of *Helicobacter pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infect Immun* 2000; 68:4155-68.
- Ishijima N, Suzuki M, Ashida H i wsp. BabA-mediated adherence is a potentiator of the *Helicobacter pylori* type IV secretion system activity. *J Biol Chem* 2011; 286:25256-64.
- Mahdavi J, Sondén B, Hurtig M i wsp. *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science* 2002; 297:573-8.
- Ayala G, Escobedo-Hinojosa WI, de la Cruz-Herrera CF i wsp. Exploring alternative treatments for *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20:1450-69.
- Hamman JH. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. *Molecules* 2008; 13:1599-616.
- Pielesz A. Skład chemiczny alg brązowej *Fucus vesiculosus* L. *Post Fitoter* 2011; (1):9-17.
- Czerpak R, Jabłońska-Trypuć A, Pietryczuk A. Znaczenie terapeutyczne, kosmetyczne i dietetyczne niektórych glonów. *Post Fitoter* 2009; (3):168-74.
- Loke MF, Lui SY, Ng BL i wsp. Antiadhesive property of microalgal polysaccharide extract on the binding of *Helicobacter pylori* to gastric mucin. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 50:231-8.
- Li B, Lu F, Wei X i wsp. Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules* 2008; 13:1671-95.
- Chua E-G, Verbrugge P, Perkins TT i wsp. Fucoidans disrupt adherence of *Helicobacter pylori* to AGS cells *in vitro*. *eCAM* 2015; 2015:1-6.
- Jękot B, Muszyńska B, Mastalerz T i wsp. Fukoidan – polisacharyd o wielokierunkowej aktywności biologicznej. *Post Fitoter* 2015; 4:250-7.
- Besednova NN, Zaporozhets TS, Somova LM i wsp. Review: Prospects for the use of extracts and polysaccharides from marine algae to prevent and treat the diseases caused by *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2015; 20:89-97.
- Shibata H, Imuro M, Uchiya N i wsp. Preventive effects of *Cladosiphon* fucoidan against *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2003; 8:59-65.
- Lutay N, Nilsson I, Wadström T i wsp. Effect of heparin, fucoidan and other polysaccharides on adhesion of enterohepatic *Helicobacter* species to murine macrophages. *Appl Biochem Biotechnol* 2011; 16:1-9.
- Radha MH, Laxmipriya NP. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *J Tradit Complement Med* 2015; 5:21-6.
- Liu L, Chen X, Wu B i wsp. Influence of *Aloe* polysaccharide on proliferation and hyaluronic acid and hydroxyproline secretion of human fibroblasts *in vitro*. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2010; 8: 256-62.



27. Mansour G, Ouda S, Shaker A i wsp. Clinical efficacy of new *Aloe vera* – and myrrh-based oral mucoadhesive gels in the management of minor recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blind, vehicle-controlled study. *J Oral Pathol Med* 2014; 43:405-9.
28. Ranade AN, Wankhede SS, Ranpise NS i wsp. Development of bilayer floating tablet of amoxicillin and *Aloe vera* gel powder for treatment of gastric ulcers. *AAPS PharmSciTech* 2012; 13:1518-23.
29. Cieślak E, Turcza K. Właściwości prozdrowotne aloesu zwyczajnego *Aloe vera* (L.) Webb. (*Aloe barbadensis* Mill.). *Post Fitoter* 2015; (2):117-24.
30. Cellini L, Di Bartolomeo S, Di Campli E i wsp. *In vitro* activity of *Aloe vera* inner gel against *Helicobacter pylori* strains. *Lett Appl Microbiol* 2014; 59:43-8.
31. Safavi M, Sabourian R, Foroumadi A. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: Current and future insights. *World J Clin Cases* 2016; 4:5-19.
32. Pugh N, Ross SA, ElSohly MA i wsp. Characterization of aloeride, a new high-molecular-weight polysaccharide from *Aloe vera* with potent immunostimulatory activity. *J Agric Food Chem* 2001; 49:1030-4.
33. Gołąb K, Gburek J, Warwas M. Acemannan – właściwości i użyteczność w lecznictwie. *Post Fitoter* 2016; (17):268-73.
34. Cataldi V, Di Bartolomeo S, Di Campli E i wsp. *In vitro* activity of *Aloe vera* inner gel against microorganisms grown in planktonic and sessile phases. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015; 28:595-602.
35. Xu C, Ruan X-M, Li H-S i wsp. Anti-adhesive effect of an acidic polysaccharide from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berger on the binding of *Helicobacter pylori* to the MKN-45 cell line. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62:1753-9.
36. Messing J, Niehues M, Shevtsova A i wsp. Antiadhesive properties of arabinogalactan protein from *Ribes nigrum* seeds against bacterial adhesion of *Helicobacter pylori*. *Molecules* 2014; 19:3696-717.
37. Jessa J, Hozyasz KK. Czarna porzeczka i olej z jej nasion – fitoterapeutyczne panaceum? *Probl Hig Epidemiol* 2016; 97:14-23.
38. Lengsfeld C, Deters A, Faller G i wsp. High molecular weight polysaccharides from black currant seeds inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Planta Med* 2004; 70:620-6.
39. Takata R, Yamamoto R, Yanai T i wsp. Immunostimulatory effects of a polysaccharide-rich substance with antitumor activity isolated from black currant (*Ribes nigrum* L.). *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69:2042-50.
40. Ben-Nasr H, Ali M, Abderrahim B i wsp. Potential phytotherapy use of *Artemisia* plants: Insight for anti-hypertension. *J Appl Pharm Sci* 2013; 3:120-5.
41. Park J-M, Hahm K-B, Kwon S-O i wsp. The anti-inflammatory effects of acidic polysaccharide from *Artemisia capillaris* on *Helicobacter pylori* infection. *J Cancer Prev* 2013; 18:161-8.
42. Woo JS, Ha BH, Kim TG i wsp. Inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion by acidic polysaccharide isolated from *Artemisia capillaris*. *J Microbiol Biotechnol* 2003; 13:853-8.
43. Wang L, Yang R, Yuan B i wsp. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5:310-5.
44. Wittschier N, Faller G, Hensel A. Aqueous extracts and polysaccharides from Licorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.) inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *J Ethnopharmacol* 2009; 125:218-23.
45. Roy A, Shrivastava SL, Mandal SM. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): traditional claims and scientific evidences. *Plant Sci Today* 2014; 1:121-30.
46. Thöle C, Brandt S, Ahmed N i wsp. Acetylated rhamnogalacturonans from immature fruits of *Abelmoschus esculentus* inhibit the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric cells by interaction with outer membrane proteins. *Molecules* 2015; 20:16770-87.
47. Messing J, Thöle C, Niehues M i wsp. Antiadhesive properties of *Abelmoschus esculentus* (Okra) immature fruit extract against *Helicobacter pylori* adhesion. *PLoS One* 2014; 9:e84836. DOI: 10.1371/journal.pone.0084836.

**Konflikt interesów****Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 13.06.2017

zaakceptowano/accepted: 26.07.2017

Adres/address:

\*mgr Paweł Krzyżek

Katedra i Zakład Mikrobiologii

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

ul. Chałubińskiego 4, 50-368 Wrocław

tel.: +48 508-688-128

e-mail: krojcerpawel@gmail.com