

Wpływ preparatu Immunostim-Plus na aktywność fagocytarną i metabolizm tlenowy leukocytów krwi szczurów intoksykowanych kadmem

ROMAN WÓJCIK, JOANNA MAŁACZEWSKA, MARIA JEDLIŃSKA-KRAKOWSKA*,
KAROL JAKUBOWSKI*, ANDRZEJ K. SIWICKI

Zespół Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych,
*Zespół Patofizjologii Katedry Patologii i Farmakologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 9, 10-957 Olsztyn

Wójcik R., Małaczewska J., Jedlińska-Krakowska M., Jakubowski K., Siwicki A. K.

Effect of Immunostim-Plus on the phagocyte activity and oxidative metabolism of blood leukocytes in rats intoxicated by cadmium

Summary

The purpose of the study was to determine the influence of Immunostim-Plus on the phagocyte activity and oxidative metabolism of blood neutrophils and monocytes in rats intoxicated by cadmium. The study was performed on 40 Wistar/Han rats, divided into 4 groups (I-IV), 10 animals in each. Rats from group II were administered Immunostim-Plus in their drinking water at a dose of 3.15 mg/rat/day, rats from group III received cadmium chloride in their drinking water at a dose of 2.1 mg/rat/day, and rats from group IV received cadmium chloride with Immunostim-Plus in similar doses. Rats from group I were administered water only (control group). Following day 50 of the experiment, blood from the rats of each group was taken for immunology examinations. The Phagotest was used to study phagocyte activity and Bursttest was used to study the oxidative metabolism of blood neutrophils and monocytes by flow cytometry. The results indicated that Immunostim-Plus modulated the phagocyte activity and oxidative metabolism of blood neutrophils and monocytes suppressed by cadmium in rats. The study indicated the immuno-restorative activity of Immunostim-Plus.

Keywords: rat, Immunostim-Plus

Układ immunologiczny jest stale narażony na negatywne oddziaływanie czynników środowiskowych różnego pochodzenia. Każde negatywne działanie tego typu czynników prowadzi do licznych modyfikacji układu odpornościowego, najczęściej jednak do immunosupresji. Może ona wystąpić przy niekorzystnych zjawiskach, takich jak: zakażenia patogenami (wirusowe, bakteryjne, grzybicze), stres, niedobory żywieniowe, brak dostępu do wody, mykotoksyny, pesty-, fungi- i herbicydy, metale ciężkie oraz inne ksenobiotyki. Mogą one działać indywidualnie bądź łącznie, mając bezpośredni wpływ na wzrost zachorowalności na choroby zakaźne, alergiczne, autoimmunologiczne, a w skrajnych przypadkach również nowotworowe. W przypadku metali ciężkich, wpływających bezpośrednio lub pośrednio na komórki immunokompetentne, nieswoiste mechanizmy obronne oraz odporność przeciwważną, ich oddziaływanie na układ immunologiczny uwarunkowane może być m.in. zmianami w podstawowych procesach metabolicznych komórek, zakłóceniami w produkcji białek oraz uszkodzeniem organelli komórkowych (1, 2, 6, 10, 11).

Jednym z wielu niebezpiecznych dla zdrowia ludzi i zwierząt metali ciężkich zanieczyszczających środowisko jest kadm, emitowany do atmosfery głównie przez przemysł metalurgiczny. Charakteryzuje się on bardzo długim okresem rozpadu, określanym na 10 do 30 lat. Do organizmu najłatwiej wchłania się przez układ oddechowy, jednak może przedostawać się również drogą pokarmową poprzez zanieczyszczoną karmę. Kumuluje się w nerkach, wątrobie, jądrach oraz w kościach. Kadm może wpływać niekorzystnie nie tylko na układ nerwowy, krwiotwórczy i szkieletowy, ale również na układ immunologiczny.

Regenerację upośledzonych mechanizmów obronnych, szczególnie nieswoistych, umożliwia stosowanie immunomodulatorów czy preparatów korygujących upośledzoną reaktywność immunologiczną. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania tego typu preparatami, szczególnie pochodzenia naturalnego (13, 14, 17, 20-22). Jednym z nich jest Immunostim-Plus, zastosowany w niniejszych badaniach (15, 16).

Celem badań była ocena wpływu preparatu Immunostim-Plus na nieswoiste komórkowe mechanizmy

obronne, na podstawie cytometrycznej analizy aktywności fagocytarnej i metabolizmu tlenowego granulocytów i monocytów krwi obwodowej szczurów, intoksykowanych kadmem.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 40 samicach szczurów, szczepu Wistar/Han o przeciętnej masie ciała $256 \text{ g} \pm 25 \text{ g}$, pochodzących z hodowli własnej (Zakład Patofizjologii UWM w Olsztynie).

Układ doświadczenia. Wszystkie zwierzęta podzielone zostały losowo na cztery grupy (I-IV) po 10 zwierząt w każdej. Następnie szczurom w poszczególnych grupach podawano do picia: grupa II – rozpuszczony w wodzie podwójnie destylowanej Immunostim-Plus, III – rozpuszczony w wodzie podwójnie destylowanej chlorek kadmu, IV – rozpuszczony w wodzie podwójnie destylowanej chlorek kadmu łącznie z preparatem Immunostim-Plus. Szczury grupy I stanowiły kontrolę i otrzymywały do picia wodę podwójnie destylowaną. Zwierzęta wszystkich grup żywione były granulowaną paszą dla gryzoni Murigran (Akropol, Motycz) i pojone *ad libitum* – przy jednoczesnym codziennym kontrolowaniu pobranej przez zwierzęta wody i roztworów. W trakcie trwania doświadczenia spożycie wody wynosiło przeciętnie około 50 ml/szczura/dobę (grupa I) i około 42 ml/szczura/dobę roztworów (grupy II-IV). Doświadczenie kontynuowano przez okres 50 dni, a następnie od wszystkich zwierząt w narkozie halotanowej (Narcotan Leciva, Praha) pobierano, metodą punkcji serca, maksymalną ilość krwi, aż do całkowitego skrwawienia zwierząt, w celu oznaczenia i porównania kształtowania się wskaźników nieswoistej odporności komórkowej.

Zastosowano preparat naturalny, który w badaniach wstępnych wykazał właściwości immunostymulujące (15, 16) – Immunostim-Plus firmy Herbapol (Lublin) kapsułki 300 mg, stanowiący połączenie żeńszenia syberyjskiego (*Eleutherococcus rad. extr. siccum*) 155 mg i cytryńca chińskiego (*Schizandrae fruct. extr. Siccum*) 100 mg, plus substancje pomocnicze. Podawano go w wodzie do picia w stężeniu 75 mg/l. Przeciętna dzienna dawka Immunostimu-Plus pobranego przez szczury kształtowała się na poziomie 3,15 mg/szczura/dobę.

Jako ksenobiotyku użyto chlorku kadmu cz. d. a. ($\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{ H}_2\text{O}$) firmy POCH S.A. (Gliwice), podawanego w wodzie do picia w stężeniu 50 mg/l. Przeciętna dzienna dawka chlorku kadmu pobranego przez szczury kształtowała się na poziomie 2,1 mg/szczura/dobę.

Ocena parametrów nieswoistej odporności komórkowej. Aktywność fagocytarną granulocytów i monocytów określono metodą cytometrii przepływowej, używając zestawu Phagotest (Orpegen Pharma, Heidelberg). Umożliwia on określenie odsetka fagocytykujących monocytów i granulocytów (pochłonięcie jednej lub więcej bakterii przez komórkę) oraz ich aktywności fagocytarnej (średnia intensywność fluorescencji (MFI) pozwala ocenić ilość pochłoniętych bakterii przez jedną komórkę fagocytykującą). Metabolizm tlenowy monocytów i granulocytów (efektywność wybuchu oddechowego w pojedynczych komórkach) oceniono przy użyciu zestawu Bursttest (Orpegen Pharma, Heidelberg). W teście tym zastosowano nie będącą barwnikiem fluoroscencyjnym dihydrorodaminę (123 DHR). Ulega ona głównie w mitochondriach utlenieniu w obecności H_2O_2 powstałego po stymulacji komórek – nie tylko silnym aktywatorem (PMA – Phorbol Myristate Acetate) wybuchu oddechowego, lecz także nawet słabszymi aktywatorami (chemotaktyczny peptyd – fMLP – N-formyl-MetLeuPhe, TNF) – do kationowej rodamin 123

(R 123), która emituje sygnał fluorescencyjny. W obu zestawach oznaczeń dokonano zgodnie z zaleceniami i wskazaniami producenta.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie metodą jednoczynnikowej analizy wariancji (One-way ANOVA) testem Bonferroni z wykorzystaniem programu komputerowego GraphPad Prism.

Badania na zwierzętach wykonano zgodnie z wytycznymi ustawy o ochronie zwierząt i zaleceniami Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy UWM w Olsztynie (Opinia nr 42/N wydana dnia 19.11.2004).

Wyniki i omówienie

W badaniach przeprowadzonych na intoksykowanych kadmem szczurach, po raz pierwszy w takim układzie, oceniono efekt immunokorygującego działania mieszaniny wyciągów z żeńszenia syberyjskiego (*Eleutherococcus senticosus*) i cytryńca chińskiego (*Schizandra chinensis*) – Immunostimu-Plus na wybrane parametry nieswoistej odporności komórkowej.

Najliczniejszą populacją komórek układu odpornościowego, będącą pierwszą linią obrony organizmu, są niewielkich rozmiarów granulocyty obojętnochłonne (neutrofile). Ich zadaniem jest aktywna nieswoista fagocytoza bakterii, pasożytów oraz obcych substancji toksycznych, które dostały się do organizmu. Granulocyty stanowią ok. 55-75% wszystkich leukocytów. Przyczyną tak dużej liczby jest ich niezbędność dla ochrony organizmu przed zarazkami i krótki, parodniowy, czas życia.

Monocyty są heterogenną populacją komórek (2-4% ogółu leukocytów), które, z jednej strony, stanowią stadium przejściowe makrofagów tkankowych oraz części komórek dendrytycznych, a z drugiej – same uczestniczą w odpowiedzi układu odpornościowego. Stanowią drugą po granulocytach populację komórek napływowych w miejscu zapalnym, zdolnych nie tylko do fagocytozy oraz zabijania drobnoustrojów, ale również do prezentacji antygenów limfocytom T (pamięci).

Uzyskane wyniki badań wykazały, że kadm w zastosowanym stężeniu powodował obniżenie aktywności komórek fagocytycznych, co może być wynikiem jego bezpośredniego oddziaływania toksycznego na fagocyty lub pośrednio poprzez zaburzenia procesów metabolicznych, zmieniających funkcjonowanie tych komórek. Ponadto stwierdzono, że kadm hamuje odpowiedź proliferacyjną limfocytów T na mitogeny PHA (fitohemaglutynina) i PWM (mitogen szkarłatki), czego nie stwierdzono po stymulacji ConA (konkawalina A), a w przypadku użycia mitogenu LPS (lipopolisacharyd) obserwowano wręcz odwrotne zjawisko – aktywacji limfocytów B (3, 7-9, 18).

Badania własne wykazały jednoznacznie, że zastosowany do intoksykacji szczurów kadm w stężeniu 2,1 mg/szczura/dobę spowodował zarówno w przypadku granulocytów, jak i monocytów statystycznie istotny spadek ich aktywności fagocytarnej, wyrażonej w postaci odsetka komórek fagocytykujących oraz średniej intensywności fluorescencji, w porównaniu z grupą kon-

trolną (tab. 1). Natomiast w odniesieniu do aktywności metabolizmu tlenowego leukocytów szczurów intoksykowanych obserwowano nieco zaskakujące wyniki, zróżnicowane w zależności od rodzaju stosowanego mitogenu i komórki efektorowej. W przypadku monocytów szczurów intoksykowanych, statystycznie istotne różnice, w porównaniu z grupą kontrolną, stwierdzono jedynie po ich stymulacji bakteriami *E. coli* i tylko w odniesieniu do odsetka komórek pobudzonych (tab. 2), podczas gdy średnia intensywność fluorescencji granulocytów szczurów traktowanych kadmem, tak po stymulacji miogেনem PMA, jak i bakteriami *E. coli*, była istotnie niższa niż w grupie kontrolnej. Jednak procent komórek pobudzonych, wśród granulocytów szczurów intoksykowanych, był statystycznie istotnie niższy

niż w grupie kontrolnej jedynie po stymulacji mitogেনem PMA (tab. 3).

Podobny efekt obserwowali inni autorzy u myszy i szczurów (4, 5, 6, 10-12, 18, 19) i, jak sugerują, działanie kadmu jest związane z jego bezpośrednim lub pośrednim (poprzez metalotioneiny, których rolą jest magazynowanie oraz dystrybucja jonów kadmu, co w efekcie obniża stężenie wolnych jonów do wartości fizjologicznych) wpływem na syntezę i zawartość wewnątrzkomórkowego NO. Wpływ kadmu na metabolizm NO jest ściśle związany z oddziaływaniem kadmu na procesy oksydoredukcyjne i zwiększonym wytwarzaniem wolnych rodników. Poza tym wpływa on również na produkcję nadtlenu wodoru i O_2 oraz adherencję komórek fagocytujących.

Tab. 1. Wpływ preparatu Immunostim-Plus na aktywność fagocytarną granulocytów i monocytów krwi szczurów intoksykowanych kadmem

Grupa	Granulocyty		Monocyty	
	% komórek fagocytujących	średnia intensywność fluorescencji	% komórek fagocytujących	średnia intensywność fluorescencji
I (kontrola)	93,06 ± 1,288	25,14 ± 2,078	55,54 ± 6,734	7,53 ± 0,909
II (Immunostim Plus)	95,66 ± 0,896	65,52* ± 26,76	72,72* ± 3,559	24,94* ± 9,584
III (kadm)	89,96* ^{a,c} ± 1,736	22,8 ^a ± 1,666	36,88* ^{a,c} ± 6,357	6,18 ^{a,c} ± 1,129
IV (kadm + Immunostim Plus)	96,52* ± 1,775	53,12 ± 17,73	79,42* ± 3,936	22,67* ± 6,494

Objaśnienia: * – różnica statystycznie istotna $p < 0,05$ w stosunku do kontroli; a – różnica statystycznie istotna $p < 0,05$ pomiędzy grupami II a III; b – różnica statystycznie istotna $p < 0,05$ pomiędzy grupami II a IV; c – różnica statystycznie istotna $p < 0,05$ pomiędzy grupami III a IV

Tab. 2. Wpływ preparatu Immunostim-Plus na wewnątrzkomórkową aktywność bójczą granulocytów krwi szczurów intoksykowanych kadmem

Grupa	Granulocyty					
	fMLP		PMA		bakterie <i>E. coli</i>	
	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji
I (kontrola)	6,05 ± 4,589	2,30 ± 0,622	93,12 ± 2,127	27,34 ± 11,35	73,24 ± 11,65	3,12 ± 0,487
II (Immunostim Plus)	5,97 ± 4,258	2,54 ± 1,128	95,62 ± 0,999	25,56 ± 6,062	75,26 ± 3,092	3,02 ± 0,499
III (kadm)	3,16 ^c ± 1,22	1,85 ± 0,460	86,88* ^{a,c} ± 1,406	7,97* ^a ± 2,092	68,42 ^c ± 4,985	2,19* ^{a,c} ± 0,132
IV (kadm + Immunostim Plus)	15,84 ± 11,49	2,63 ± 0,228	96,14 ± 1,815	18,82 ± 3,651	92,1* ^b ± 3,243	3,18 ± 0,192

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 3. Wpływ preparatu Immunostim-Plus na wewnątrzkomórkową aktywność bójczą monocytów krwi szczurów intoksykowanych kadmem

Grupa	Monocyty					
	fMLP		PMA		bakterie <i>E. coli</i>	
	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji	% komórek pobudzonych	średnia intensywność fluorescencji
I (kontrola)	2,60 ± 1,766	3,03 ± 2,17	5,98 ± 1,776	12,72 ± 3,943	5,88 ± 1,868	2,72 ± 1,56
II (Immunostim Plus)	2,52 ± 1,394	6,22 ± 4,371	7,60 ± 9,560	10,00 ± 12,11	5,79 ± 0,762	2,75 ± 0,849
III (kadm)	1,48 ± 0,686	1,84 ± 0,595	1,98 ± 0,283	2,48 ± 1,642	2,08* ^{a,c} ± 0,617	1,89 ^c ± 0,283
IV (kadm + Immunostim Plus)	3,57 ± 0,551	2,95 ± 0,598	6,28 ± 0,671	9,87 ± 3,324	10,16* ^b ± 2,224	4,97* ^b ± 0,912

Objaśnienia: jak w tab. 1

W badaniach własnych efekt immunosupresji był zamierzony i wywołany w celu oceny zdolności immunokorekcyjnych preparatu – Immunostim-Plus. Jak wiadomo z wcześniejszych badań własnych (15, 16), Immunostim-Plus przy prawidłowo działającym układzie odpornościowym u myszy silnie pobudzał aktywność chemiluminescencyjną granulocytów krwi – zwiększał zdolność granulocytów obojętnochłonnych do zabijania drobnoustrojów w mechanizmie powstawania wolnych rodników tlenowych. Obserwowano stymulację proliferacji limfocytów zależnej od mitogenów, a także aktywności metabolicznej i fagocytarnej leukocytów, badanej zarówno na myszach, jak i u świń. Ponadto preparat ten zwiększał aktywność chemokinetyczną limfocytów śledzionowych myszy oraz produkcję przeciwciał anti-SRBC.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań aktywności fagocytarnej leukocytów (tab. 1) należy stwierdzić, że w odniesieniu do monocytów, wykazuje ona statystycznie istotny wzrost w porównaniu z grupą kontrolną i intoksykowaną, zarówno w grupie szczurów traktowanych kadmem i Immunostimem-Plus, jak i tylko stymulowanych tym preparatem, wyrażoną odsetkiem komórek fagocytykujących oraz średnią intensywnością fluorescencji. Natomiast procent granulocytów fagocytykujących nieoczekiwanie był istotnie wyższy tylko w grupie intoksykowanych szczurów i stymulowanych Immunostimem-Plus niż w grupie kontrolnej i intoksykowanej, podczas gdy ekspresja fagocytykujących granulocytów, wyrażona średnią intensywnością fluorescencji, pomimo iż była wyższa w grupie zwierząt stymulowanych Immunostimem-Plus oraz intoksykowanej i stymulowanej niż w grupie kontrolnej i intoksykowanej, to jednak statystycznie istotny wzrost obserwowano tylko u szczurów, którym aplikowano Immunostim-Plus.

Obserwowano również pozytywne działanie Immunostimu-Plus na aktywność metabolizmu tlenowego, tak granulocytów (tab. 2), jak i monocytów (tab. 3), po stymulacji bakteriami *E. coli*, wyrażoną w postaci odsetka komórek pobudzonych oraz średniej intensywności fluorescencji. Jednak statystycznie istotny wzrost tej aktywności stwierdzono tylko w grupie intoksykowanych szczurów i stymulowanych Immunostimem-Plus, w porównaniu zarówno z grupą kontrolną, jak i stymulowaną Immunostimem-Plus. Także po stymulacji PMA aktywność metabolizmu tlenowego granulocytów była statystycznie istotnie wyższa zarówno w grupie szczurów stymulowanych Immunostimem-Plus, jak i intoksykowanych i stymulowanych tym preparatem, niż w grupie kontrolnej i intoksykowanej. Dodatkowo po stymulacji granulocytów mitogenem fMLP odsetek komórek pobudzonych był istotnie wyższy w grupie zwierząt intoksykowanych kadmem i stymulowanych Immunostimem-Plus niż w grupie intoksykowanej.

Uzyskane u szczurów wyniki badań, dotyczące immunomodulujących właściwości Immunostimu-Plus, wskazują na możliwość praktycznego wykorzystania tego preparatu do korygowania upośledzonej odporności

ci komórkowej zwierząt. Dodatkowo stanowią zachętę do dalszych badań nad ewentualnym wykorzystaniem tego preparatu do korygowania upośledzonej odporności u innych gatunków zwierząt oraz oceny innych parametrów zarówno swoistej, jak i nieswoistej odporności.

Piśmiennictwo

1. Burchiel S. W., Hadley W. M., Cameron C. L., Fincher R. H., Lim T. W., Elias L., Stewart C. C.: Analysis of heavy metal immunotoxicity by multiparameter flow cytometry: correlation of flow cytometry and immune function data in B6CF1 mice. *Int. J. Immunopharmacol.* 1987, 9, 597-610.
2. Daum J. R., Shepherd D. M., Noelle R. J.: Immunotoxicology of cadmium and mercury on B-lymphocytes – I. Effects on lymphocyte function. *Int. J. Immunopharmacol.* 1993, 15, 383-394.
3. Dreła N., Żesko I., Biernat P.: Wpływ pyłowych zanieczyszczeń powietrza na ekspresję cytokin wewnątrzkomórkowych i receptorów dla cytokin limfocytów T myszy, [w:] Siwicki A. K. (red.): Wpływ ksenobiotyków na organizm zwierząt i człowieka. Wydawnictwo IRS, Olsztyn 1999, 199-217.
4. Hernandez M., Macia M., Conde J. L., De la Fuente M.: Cadmium and nickel modulation of adherence capacity of murine peritoneal macrophages and lymphocytes. Intersexual comparisons. *Int. J. Biochem.* 1991, 23, 541-544.
5. Hilbert U., Krämer U., De Reiter N., Bagiński B.: Effects of cadmium and lead on oxidative metabolism and phagocytosis by mouse peritoneal macrophages. *Toxicology* 1986, 39, 47-57.
6. Irato P., Santovito G., Piccinni E., Albergoni V.: Oxidative burst and metallothionein as a scavenger in macrophages. *Immunol. Cell Biol.* 2001, 79, 251-254.
7. Izdebska-Szymona K.: Skażenia powietrza w aspekcie immunotoksykologii, [w:] Siwicki A. K. (red.): Wpływ ksenobiotyków na organizm zwierząt i człowieka. Wydawnictwo IRS, Olsztyn 1999, 189-198.
8. Izdebska-Szymona K., Galecka J., Zielińska A.: Działanie pyłowych zanieczyszczeń powietrza z Górnego Śląska na funkcje makrofagów mysich, [w:] Siwicki A. K. (red.): Wpływ ksenobiotyków na organizm zwierząt i człowieka. Wydawnictwo IRS, Olsztyn 1999, s. 225.
9. Izdebska-Szymona K., Kopeć-Szlezak J.: Modulacja odpowiedzi odpornościowej przez metale ciężkie. *Polish J. Immunol.* 1994, 19, 179-193.
10. Kataranowski M., Kataranowski D., Savić D., Jovčić G., Bogdanović Z., Jovanović T.: Granulocyte and plasma cytokine activity in acute cadmium intoxication in rats. *Physiol. Res.* 1998, 47, 453-461.
11. Kataranowski M., Popović S., Kataranowski D.: Differential effects of in vivo cadmium administration on lymphocytes and granulocytes in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 1999, 41, 200-204.
12. Leibbrandt M. E., Khokha R., Koropatnick J.: Antisense down-regulation of metallothionein in a human monocytic cell line alters adherence, invasion, and the respiratory burst. *Cell Growth Differ.* 1994, 5, 17-25.
13. Nartowska J., Skopińska-Różewska E., Siwicki A. K.: Nowe immunomodulatory pochodzenia roślinnego, [w:] Siwicki A. K., Skopińska-Różewska E., Świderski F. (red.): Immunomodulacja – nowe możliwości w ochronie zdrowia. Edycja, Olsztyn 2004, 7-21.
14. Siwicki A. K., Klein P., Morand M.: Immunomodulacja – aktualny stan wiedzy, [w:] Siwicki A. K. (red.): Wpływ ksenobiotyków na organizm zwierząt i człowieka. Wydawnictwo IRS, Olsztyn 1999, 231-235.
15. Siwicki A. K., Skopińska-Różewska E., Nartowska J., Augustynowicz J., Wójcik R., Malaczewska J., Trąpkowska S., Mierzwińska-Nastalska E., Sommer E., Demkow U., Filewska M., Skurzak H., Bany J., Makula J., Lewicka-Tarchalska M.: Aktywność immunotropowa mieszaniny wyciągów korzenia żeńszenia syberyjskiego i owocu cytryny chińskiego, [w:] Siwicki A. K., Skopińska-Różewska E., Świderski F. (red.): Immunomodulacja – nowe możliwości w ochronie zdrowia. Edycja, Olsztyn 2004, 39-50.
16. Siwicki A. K., Skopińska-Różewska E., Nartowska J., Malaczewska J., Wójcik R., Sommer E., Trąpkowska S., Filewska M., Skurzak H.: Effect of Immunostim Plus – a standardized fixed combination of Schizandra chinensis with Eleutherococcus senticosus extracts on granulocytes activity and tumour angiogenesis in mice. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2004, 48, 489-492.
17. Świąćicka-Grabowska G., Rotkiewicz Z., Wójcik R., Wiśniewski J.: Przeciwwirusowa odpowiedź immunologiczna kurcząt stymulowana Propionibacterium acnes. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 669-671.
18. Thomas P. T., Ratajczak H. V., Aranyi C., Gibbons R., Fenters J. D.: Evaluation of host resistance and immune function in cadmium-exposed mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985, 80, 446-456.
19. Wei X., Xue B., Hang X.: Effects of cadmium chloride on the function of peritoneal macrophage in mice. *Chinese J. Prev. Med.* 1998, 32, 159-161.
20. Wójcik R., Świąćicka-Grabowska G.: Parametry biochemiczne oraz odporności nieswoistej u indyków uodpornionych wirusem ND po podaniu KLP-602 i Mycobacterium chelonae. *Medycyna Wet.* (w druku).
21. Wójcik R., Świąćicka-Grabowska G.: Wpływ KLP-602 i Mycobacterium chelonae na odporność swoistą u indyków szczepionych wirusem ND. *Medycyna Wet.* (w druku).
22. Wójcik R., Świąćicka-Grabowska G., Siwicki A. K.: Wpływ lewamizolu i izoprynozyny na odporność nieswoistą u indyków supresorowanych karbarylem. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 437-440.

Adres autora: dr Roman Wójcik, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn; e-mail: brandy@uwm.edu.pl