

Efficacia del carbossimetilbetaglucano nella regressione delle alterazioni citologiche cervicali di basso grado HPV correlate

P. SCARDAMAGLIA, C. CARRARO, P. MANCINO, P. STENTELLA

Estratto da MINERVA GINECOLOGICA

Vol. 62 - N. 5 - Pag. 389-394 (Ottobre 2010)

EDIZIONI MINERVA MEDICA - TORINO

Efficacia del carbossimetilbetaglucano nella regressione delle alterazioni citologiche cervicali di basso grado HPV correlate

P. SCARDAMAGLIA^{1,2}, C. CARRARO^{1,2}, P. MANCINO^{1,2}, P. STENTELLA^{1,2}

EFFECTIVENESS OF THE TREATMENT WITH BETA-GLUCAN IN THE HPV-CIN1 LESIONS

Aim. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of the beta-glucan in women with abnormal cytology, including the women with a positive screening for ASCUS-LSIL furtherly divided in women with positive cytology (ASCUS or LSIL) and negative colposcopy and women with abnormal cytology, positive colposcopy and human papilloma virus (HPV)-CIN1 histology who opted for follow-up.

Methods. From September 2007 to December 2008, 60 women whit ASCUS-LSIL diagnosis were recruited at the ambulatory of Lasersurgery and Cervico-Vaginal Patology, Department of Gynecology and Obstetrics of Policlinico Umberto I of Rome. The women was subdivided in two groups: 1) women with cytological diagnosis of ASCUS or LSIL and negative colposcopy; 2) women with abnormal cytology, positive colposcopy and HPV-CIN1 histology, who opted for follow-up. All the women were treated with two cycles of a daily topical application of beta-glucan for 20 consecutive days with a suspension of 10 days. The effects of beta-glucan were analyzed with colposcopy and cytology at 3.6 and 12 months from the beginning of the therapy.

Result. After 3 months of treatment, of the 30 women with positive cytology and negative colposcopy, 80% with ASCUS diagnosis resulted negative, 35% with LSIL diagnosis resulted

¹Centro di Laserchirurgia e Patologia Cervico-Vaginale

Università degli Studi "Sapienza", Roma, Italia

²Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericoltura
Policlinico Umberto I, Roma, Italia

negative; after 6 months 100% with ASCUS diagnosis resulted negative, 70% with LSIL diagnosis resulted negative; after 12 months 85% with LSIL diagnosis resulted negative. Of the 30 women with positive cytology, positive colposcopy and HPV-CIN1 histology after 3 months 20% resulted negative, after 6 months 60% resulted negative and after 12 months 80% resulted negative. The persistence of the HPV-CIN1 histology was verified in the 13% of the women. For these women the definitive treatment was the TFD.

Conclusion. Our study demonstrate the effectiveness of the treatment with beta-glucan in the women with ASCUS-LSIL lesions and HPV-CIN1 lesions, increasing of the regressions rate after 12 months of the treatment of the 15-20%.

Key words: Beta-glucans - Colposcopy - Cell biology.

La correlazione tra infezione genitale da Papilloma virus umano (*human papilloma virus*, HPV) e neoplasia cervicale è stata formulata per la prima volta agli inizi degli anni '80 dal virologo tedesco Harold zur Hausen e successivamente confermata da numerosi Autori nel corso degli anni

Pervenuto il 1 giugno 2010.
Accettato il 17 settembre 2010.

Autore di contatto: P. Scardamaglia, Policlinico Umberto I, Viale del Policlinico, 00100, Roma, Italia.
E-mail: paola.scr@libero.it

successivi. Il carcinoma cervicale è il primo cancro ad essere riconosciuto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come totalmente riconducibile a un'infezione ^{1,3}.

Ad oggi sono stati individuati più di 100 genotipi di HPV che infettano l'uomo. Tra questi, circa un terzo è associato a patologie del tratto genitale, sia benigne che maligne. Si distinguono HPV a basso (*human papilloma virus low risk*, HPV-LR) ed alto rischio (*human papilloma virus high risk* HPV-HR) di trasformazione neoplastica. Tale differenziazione si basa sul fatto che la capacità trasformante del virus è limitata all'infezione persistente dei sottotipi ad alto rischio che sono in grado di integrare il proprio genoma in quello della cellula ospite e interagire con i delicati meccanismi della replicazione cellulare ⁴.

I genotipi virali ad alto rischio più frequentemente implicati nel carcinoma cervicale, fino al 70% dei casi, sono il 16 (50%) e il 18 (20%), i restanti ceppi (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82...) sono coinvolti nel rimanente 30% delle neoplasie ^{5,6}.

La popolazione maggiormente colpita dall'infezione da HPV è quella femminile. Oltre il 75% delle donne sessualmente attive si infetta nel corso della vita, con un picco massimo poco prima dei 25 anni di età. La storia naturale dell'infezione virale è correlata al funzionamento del sistema immunitario delle pazienti. Nella maggior parte dei casi l'infezione è transitoria in quanto il virus viene, naturalmente, eliminato dal sistema immunitario ben funzionante entro i 12-24 mesi. Nella restante parte dei casi invece, la persistenza virale evolve verso lesioni displastiche fino al cervico-carcinoma, attraverso un processo graduale che, per compiersi, può richiedere diversi anni ^{8,9}.

Ciò spiega perché l'incidenza del carcinoma della cervice aumenta dalla quarta decade di vita e non è frequente nelle donne più giovani, tra le quali invece l'infezione da HPV ha una prevalenza elevata. Esistono inoltre una serie di cofattori che influenzano la storia naturale dell'infezione virale portando ad un aumento del rischio di sviluppare lesioni displastiche nelle donne HPV positive. Tra i più studiati: la contem-

poranea infezione con altri agenti sessualmente trasmessi (Chlamydia t, Neisseria g, HSV), il fumo di sigaretta, l'uso prolungato di contraccettivi orali (> di 5 anni), l'elevato numero di gravidanze (> di 7) e infine anche condizioni di ipovitaminosi ^{2,3,6}.

In letteratura è dimostrato come il trattamento dei CIN1 non modifica l'evoluzione a distanza. Tali lesioni, sia da HPV-HR che da HPV-LR, regrediscono nella maggior parte dei casi spontaneamente in pochi anni soprattutto in donne giovani. La percentuale di regressione spontanea senza trattamento si aggira intorno al 50%. Su questa considerazione si basa il rationale dell'attesa al di sotto dei 35 anni e della tendenza, al di sopra dei 35 anni, al trattamento conservativo in caso, soprattutto, di lesioni persistenti, di lesioni colposcopiche ampie, ed, in ogni caso, di bassa compliance socio-economica al follow-up ^{8,10}.

Se ad oggi esistono modalità di trattamento efficaci nei confronti delle lesioni evidenti prodotte dal virus HPV, non esiste una terapia capace di influenzare lo stato di sieropositività delle pazienti o di agevolare una migliore attività del sistema immunitario delle stesse per migliorarne la risposta.

Vari studi in letteratura hanno dimostrato l'esistenza di una sostanza in natura, il beta-glucano, componente della parete cellulare di numerosi lieviti, funghi e batteri, che non viene sintetizzato dall'organismo umano e viene pertanto riconosciuto come non-self dal sistema immunitario, capace di modulare la risposta immunitaria tessutale tramite legame specifico ai recettori TLR (Toll-Like-Receptor) presenti sulla superficie dei macrofagi e delle cellule dendritiche. I TLR sono deputati al riconoscimento e al legame di antigeni patogeni ¹⁵. L'attivazione dei TLR determina la fagocitosi del patogeno e l'attivazione del metabolismo dell'acido arachidonico con produzione di citochine pro-infiammatorie. Tali citochine attivano le cellule natural-killer (NK) e i linfociti T, potenziando quindi la risposta infiammatoria ed innescando la risposta immunitaria specifica ¹⁸. Il legame del beta-glucano al TLR è in grado di modulare tale risposta infiammatoria determinando una modifi-

cazione della concentrazione e del pattern di citochine liberate con ridotta attivazione delle cellule NK e dei linfociti T. Questa stimolazione, controllata dell'attività immunitaria, ha una azione protettiva nei confronti di organismi patogeni, tossine e cancerogeni ambientali ^{16, 17}.

Partendo da questi presupposti lo studio si propone di valutare l'efficacia del carbossimetilβglucano (Colpofix®) in pazienti con citologia anormale includendo pazienti che allo screening presentano citologia deponente per ASCUS-LSIL, suddivise poi in pazienti con referto citologico di ASCUS o LSIL e colposcopia negativa e pazienti con citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1, le quali, avendo prospettato loro la possibilità di scelta tra trattamento fisico distruttivo e follow-up, decidono per il follow-up.

Materiale e metodi

Presso l'ambulatorio di Laserchirurgia e Patologia Cervico-Vaginale dell'Istituto di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericultura dell'Università degli Studi "Sapienza" di Roma, sede Policlinico Umberto I, nel periodo compreso tra settembre 2007 e dicembre 2008 sono state reclutate un totale di 60 pazienti che allo screening presentavano citologia deponente per ASCUS-LSIL suddivise in due sottogruppi:

1. pazienti con referto citologico di ASCUS o LSIL e colposcopia negativa;
2. pazienti con citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1, le quali, avendo prospettato loro la possibilità di scelta tra trattamento fisico distruttivo e follow-up, hanno deciso per il follow-up.

Sono stati presi in considerazione: l'età anagrafica, l'età del coitarca, il numero di partners sessuali, la frequenza dei rapporti mensili, il numero di parti, l'utilizzo di contraccettivi orali, il fumo. I criteri di esclusione riguardano le pazienti con colposcopia insoddisfacente (GSC non visualizzata, lesione endocervicale o non completamente

visualizzata), quelle sottoposte a trattamento fisico distruttivo entro i 18 mesi precedenti, quelle trattate per lesioni di alto grado, le immunodepresse o in terapia cortisonica o immunosoppressiva e le pazienti in gravidanza. Il trattamento prevede la somministrazione di carbossimetilβglucano gel nebulizzante in ragione di una applicazione al giorno (5 erogazioni) per 20 giorni, seguiti da 10 giorni di pausa ed un ulteriore ciclo di 20 giorni. Applicato in vagina mediante appositi applicatori monouso, si distribuisce in modo uniforme su tutta la superficie vaginale, non lasciando residui né dando come effetti collaterali bruciore o prurito. Le pazienti sono state valutate con controllo colpo-citologico a 3, 6 e 12 mesi dalla fine della terapia. L'esame citologico è stato eseguito prelevando il materiale sia a livello esocervicale, mediante spatola di Ayre, sia a livello endocervicale, mediante cytobrush, e i risultati sono stati interpretati secondo la classificazione Bethesda 2001. L'esame colposcopico è stato eseguito con colposcopio Zeiss e i quadri colposcopici sono stati interpretati secondo la classificazione colposcopica internazionale (Barcellona 2002).

Risultati

L'età media delle pazienti prese in esame era di 24 anni (range 18-35 anni), l'età media del coitarca era di 17 anni (range 14-24 anni), 10 il numero medio di partners sessuali (range 3-20), 2 a settimana la frequenza media dei rapporti (range 1-6), il numero medio di parti era 1 (range 0-3). Inoltre, il 20% delle pazienti utilizzava regolarmente Estro-Progestinici e circa il 40% era fumatrice. Tutte le pazienti hanno seguito la terapia con Colpofix® secondo lo schema terapeutico proposto. Non sono state segnalate complicanze o effetti collaterali e nessuna delle pazienti ha interrotto la terapia.

Nel gruppo di pazienti con citologia positiva e colposcopia negativa, su un totale di 30, 10 (33%) presentavano diagnosi di ASCUS, 20 (67%) di LSIL. Al primo controllo colpo-citologico a 3 mesi 8 su 10 pazienti (80%) con diagnosi iniziale di ASCUS sono

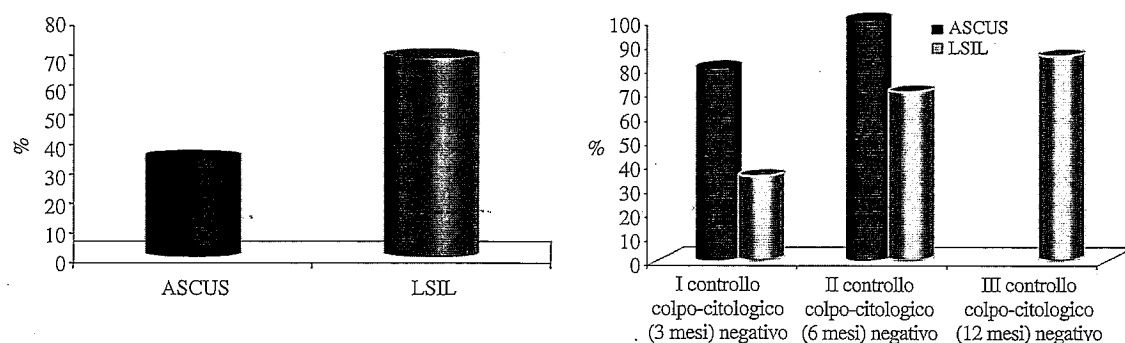


Figura 1.—Gruppo con citologia positiva e colposcopia negativa. A) ASCUS e LSIL; B) controlli colpo-citologici.

risultate negative, 7 su 20 pazienti (35%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative; al controllo colpo-citologico a 6 mesi 10 su 10 pazienti (100%) con diagnosi iniziale di ASCUS sono risultate negative, 14 su 20 pazienti (70%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative; al controllo a 12 mesi 17 su 20 pazienti (85%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative mentre 3 pazienti (15%) sono andate perse al follow-up (Figura 1).

Delle 30 pazienti che presentavano allo screening citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1 al primo controllo colpo-citologico a 3 mesi 6 su 30 pazienti (20%) sono risultate negative, al controllo colpo-citologico a 6 mesi 18 su 30 pazienti (60%) sono risultate negative, al controllo colpo-citologico a 12 mesi 24 su 30 pazienti (80%)

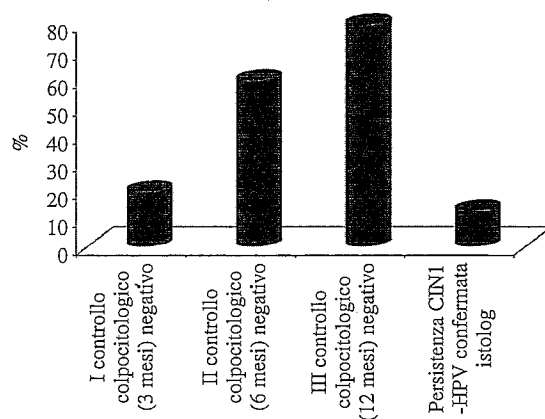


Figura 2.—Pazienti con citologia anormale, colposcopia positiva e esame istologico HPV-CIN1.

sono risultate negative. La persistenza di CIN1-HPV, confermata istologicamente, è stata riscontrata in 4 su 30 pazienti (13%), per le quali è stata scelta la terapia fisico distruttiva come trattamento finale, mentre 2 su 30 pazienti (6%) sono andate perse al follow-up (Figure 2,3).

Conclusioni

Anche se, come appare chiaro da dati della letteratura internazionale, circa il 5-17% delle pazienti con diagnosi citologica di ASCUS e, circa il 15-30% di quelle con diagnosi citologica di L-SIL, possono presentare diagnosi istologica finale di CIN II-CIN III, la gestione di questi casi non deve destare atteggiamenti aggressivi¹⁴. Le attuali linee guida propongono un controllo colpo-citologico a 3 mesi e una valutazione più attenta del canale cervicale e della vagina ad esame colposcopico negativo. La per-

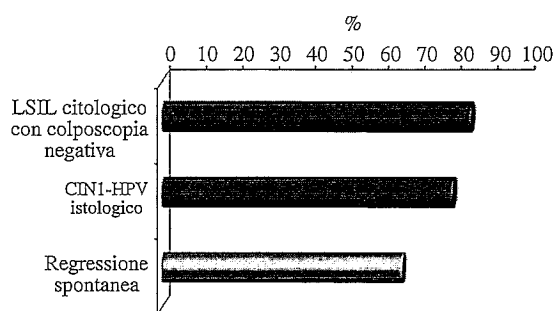


Figura 3.—Percentuale di regressione con trattamento carbosimetilglucano (12 mesi).

centuale di regressione spontanea di lesioni citologiche a 3 mesi si aggira intorno al 40% nelle giovani donne ¹⁴. Per quel che riguarda invece la diagnosi istologica CIN1-HPV, la revisione della letteratura pone l'attenzione su un duplice atteggiamento:

— wait and see (controlli colpo-citologici ogni 6 mesi per un tempo massimo di 2 anni);

— trattamento fisico distruttivo immediato.

L'atteggiamento attendistico trova il suo razionale nella buona percentuale di LSIL che regrediscono spontaneamente e nella possibilità di intervenire con successo nei casi di progressione. Gli svantaggi di questo atteggiamento sono invece da imputare allo stato di ansietà che si produce nella paziente nel corso dei follow-up, ai casi di progressione non controllati e dalla necessità di rivolgersi a centri specializzati di II livello. Di contro, il trattamento fisico distruttivo presenta come vantaggio il trattamento immediato delle lesioni in pazienti con scarsa compliance ai follow-up e per le pazienti alle quali la diagnosi ha creato un particolare stato ansioso. Gli svantaggi possono essere correlati agli effetti collaterali connessi alle terapie fisico distruttive, ai costi e alle eventuali recidive ^{11, 12}.

Essendo stato ormai ampiamente dimostrato in letteratura il ruolo giocato dal sistema immunitario nel determinare la regressione/progressione delle lesioni, l'utilizzo di una molecola che riesca ad innescare in maniera modulata e controllata la risposta immunitaria fisiologica dell'organismo ai patogeni potrebbe rappresentare un valido aiuto ¹⁰. E questo è quello che si propone di fare il betaglucano. La produzione di citochine pro infiammatorie determinate dalla sua azione e la conseguente attivazione delle NK e dei linfociti T, determinerebbe una maggiore stimolazione del tessuto cervicale alla rigenerazione e la riparazione ¹⁹⁻²¹. Il nostro studio ha evidenziato, con un follow-up semestrale di 12 mesi, in donne che hanno fatto regolare uso secondo lo schema proposto del carbosimetilbetaglucano, la totale regressione delle lesioni citologiche di LSIL, con colposcopia negativa, dell'85%,

e la totale regressione delle lesioni istologiche di CIN1-HPV dell'80%, valori che, se paragonati alle percentuali di regressione spontanea delle suddette lesioni osservate in letteratura (66-70%), dimostrano una modificazione significativa di questa percentuale del 15-20%.

La terapia medica con carbosimetilbetaglucano, secondo schema terapeutico, per 2 mesi con follow-up colpo-citologico a 3, 6 e 12 mesi, rappresenterebbe quindi una valida alternativa al trattamento fisico distruttivo immediato e al semplice "wait and see", in quanto provvista di una buona tollerabilità al farmaco, basso costo, alta adesione delle pazienti e netto miglioramento dell'indice di regressione delle lesioni a 12 mesi.

Riassunto

Obiettivo. Lo studio si propone di valutare l'efficacia del carbosimetilβglucano (Colpofix®) in pazienti con citologia anormale includendo pazienti che allo screening presentano citologia deponente per ASCUS-LSIL, suddivise poi in pazienti con referto citologico di ASCUS o LSIL e colposcopia negativa e pazienti con citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1, le quali, avendo prospettato loro la possibilità di scelta tra trattamento fisico distruttivo e follow-up, decidono per il follow-up.

Metodi. Presso l'ambulatorio di Laserchirurgia e Patologia Cervico-Vaginale dell'Istituto di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericultura dell'Università degli Studi "La Sapienza" di Roma, sede Policlinico Umberto I, nel periodo compreso tra settembre 2007 e dicembre 2008 sono state reclutate un totale di 60 pazienti che allo screening presentavano citologia deponente per ASCUS-LSIL suddivise in due sottogruppi: pazienti con referto citologico di ASCUS o LSIL e colposcopia negativa e pazienti con citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1, le quali, avendo prospettato loro la possibilità di scelta tra trattamento fisico distruttivo e follow-up, hanno deciso per il follow-up. Il trattamento prevede la somministrazione di carbosimetilβglucano gel nebulizzante in ragione di una applicazione al giorno (5 erogazioni) per 20 giorni, seguiti da 10 giorni di pausa ed un ulteriore ciclo di 20 giorni. Le pazienti sono state valutate con controllo colpo-citologico a 3, 6 e 12 mesi dalla fine della terapia.

Risultati. Nel gruppo di pazienti con citologia positiva e colposcopia negativa, su un totale di 30, 10 (33%) presentavano diagnosi di ASCUS, 20 (67%) di

LSIL. Al primo controllo colpo-citologico a 3 mesi 8 su 10 pazienti (80%) con diagnosi iniziale di ASCUS sono risultate negative, 7 su 20 pazienti (35%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative; al controllo colpo-citologico a 6 mesi 10 su 10 pazienti (100%) con diagnosi iniziale di ASCUS sono risultate negative, 14 su 20 pazienti (70%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative; al controllo a 12 mesi 17 su 20 pazienti (85%) con diagnosi iniziale di LSIL sono risultate negative mentre 3 pazienti (15%) sono andate perse al follow-up. Delle 30 pazienti che presentavano allo screening citologia anormale, colposcopia positiva ed esame istologico deponente per HPV-CIN1 al primo controllo colpo-citologico a 3 mesi 6 su 30 pazienti (20%) sono risultate negative, al controllo colpo-citologico a 6 mesi 18 su 30 pazienti (60%) sono risultate negative, al controllo colpo-citologico a 12 mesi 24 su 30 pazienti (80%) sono risultate negative. La persistenza di CIN1-HPV, confermata istologicamente, è stata riscontrata in 4 su 30 pazienti (13%), per le quali è stata scelta la terapia fisico distruttiva come trattamento finale, mentre 2 su 30 pazienti (6%) sono andate perse al follow-up.

Conclusioni. Il nostro studio ha evidenziato, con un follow-up semestrale di 12 mesi, in donne che hanno fatto regolare uso secondo lo schema proposto del carbossimetilbetaglucano, la totale regressione delle lesioni citologiche di LSIL, con colposcopia negativa, dell'85%, e la totale regressione delle lesioni istologiche di CIN1-HPV dell'80%, rappresentando quindi una valida alternativa al trattamento fisico distruttivo immediato e al semplice "wait and see", in quanto provvista di una buona tollerabilità al farmaco, basso costo, alta adesione delle pazienti e netto miglioramento dell'indice di regressione delle lesioni a 12 mesi.

Parole chiave: Beta-glucani - Colposcopia - Biologia cellulare.

Bibliografia

1. Wright TC Jr. Natural history of HPV infections. *J Fam Pract* 2009;58(9 Suppl HPV):S3-7.
2. Verhoeven V, Baay M, Weyler J, Avonts D, Lardon F, Van Royen P et al. Concomitant Chlamydia trachomatis and human papilloma virus infection cannot be attributed solely to sexual behaviour. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:735-7.
3. Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. *BMC Infect Dis* 2009 ;9:119.
4. Huh WK. Human papillomavirus infection: a concise review of natural history. *Obstet Gynecol* 2009;114:139-43.
5. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Human papillomavirus and cervical neoplasia. *Cad Saude Publica* 2009;25:953-64.
6. Doerfler D, Bernhaus A, Kottmel A, Sam C, Koelle D, Joura EA. Human papilloma virus infection prior to coitarche. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:487.e1-5.
7. Dames DN, Ragin C, Griffith-Bowe A, Gomez P, Butler R. The prevalence of cervical cytology abnormalities and human papillomavirus in women infected with the human immunodeficiency virus. *Infect Agent Cancer* 2009;4 Suppl 1:S8.
8. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110(3 Suppl 2):S4-7.
9. Xue X, Gange SJ, Zhong Y, Burk RD, Minkoff H, Masad LS et al. Marginal and mixed-effects models in the analysis of human papillomavirus natural history data. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:159-69.
10. Trimble CL, Peng S, Thoburn C, Kos F, Wu TC. Naturally occurring systemic immune responses to HPV antigens do not predict regression of CIN2/3. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:799-803.
11. Stanley MA. Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J Med Res* 2009;130:266-76.
12. Aerssens A, Claeys P, Garcia A, Sturtewagen Y, Velasquez R, Vanden Broeck D et al. Natural history and clearance of HPV after treatment of precancerous cervical lesions. *Histopathology* 2008;52:381-6.
13. Haidopoulos D, Voulgaris Z, Protopapas A, Rodolakis A, Vlachos G, Tsetsa P et al. Cervical intraepithelial neoplasia in young women. *J Obstet Gynaecol* 2007;27:709-12.
14. SICPCV: Gestione della paziente con pap-test anormale. Linee Guida Edizione 2006. Anno XXI; N. 1 Dicembre 2006.
15. Czop JK, Austen KF. A b-glucan inhibitable receptor of human monocytes: its identity with the phagocytic receptor for particulate activators of the alternative complement pathway. *J Immunol* 1985;134:2588-93.
16. Brown GD, Gordon S. Immune recognition of fungal Beta-glucans. *Cell Microbiol* 2005;7:471-9.
17. Ikeda Y, Adachi Y, Ishibashi K, Miura N, Ohno N. Activation of toll-like receptor-mediated NF-kappa B by zymosan-derived water-soluble fraction: possible contribution of endotoxin-like substances. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2005;27:285-98.
18. Suram S, Brown GD, Ghosh M, Gordon S, Loper R, Taylor PR et al. Regulation of cytosolic phospholipase A2 activation and cyclooxygenase 2 expression in macrophages by the Beta-glucan receptor. *J Biol Chem* 2006;281:5506-14.
19. Berner MD, Sura ME, Alves BN, Hunter KW Jr. IFN-gamma primes macrophages for enhanced TNF-alpha expression in response to stimulatory and non-stimulatory amounts of microparticulate. Beta-glucan. *Immunol Lett* 2005;98:15-22.
20. Rasmussen LT, Seljelid R. Dynamics of blood components and peritoneal fluid during treatment of murine E. coli sepsis with Beta-1,3-D polyglucose derivatives. *Scand J Immunol* 1990;32:321-31.
21. Czop JK, Valiante NM, Janusz MJ. Phagocytosis of particulate activators of the human alternative complement pathway through monocyte Betaglucan receptors. *Prog Clin Biol Res* 1989;297:287-96.